

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Nauki medyczne i nauki o zdrowiu

Część III



www.mlodzinaukowcy.com

Poznań 2019

Redakcja naukowa

dr inż. Jędrzej Nyckowiak, UPP

dr hab. Jacek Leśny prof. UPP

Wydawca

Młodzi Naukowcy

www.mlodzinaukowcy.com

wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com

ISBN (całość 978-83-66139-81-7)

ISBN (wydanie online 978-83-66392-17-5)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-66392-18-2)

Ilość znaków w książce: 667 tys.

Ilość arkuszy wydawniczych: 16.7

Data wydania: sierpień 2019

Niniejsza pozycja jest monografią naukową. Jej rozdziały zostały wydrukowane zgodnie z przesłanymi tekstami po ich zaakceptowaniu przez recenzentów. Odpowiedzialność za zgodne z prawem wykorzystanie użytych materiałów ponoszą autorzy poszczególnych rozdziałów.

Spis treści

1. Wirusowe zagrożenia personelu medycznego – HBV i HCV	7
<i>Zofia Kiersnowska, Ewelina Lemiech-Mirowska, Dobrochna Ginter-Kramarczyk, Izabela Kruszelnicka</i>	
2. Sytuacja epidemiologiczna w jednostkach ochrony zdrowia	13
<i>Zofia Kiersnowska, Ewelina Lemiech-Mirowska, Dobrochna Ginter-Kramarczyk, Izabela Kruszelnicka</i>	
3. Epidemiologia zakażeń o etiologii <i>Streptococcus pneumoniae</i>	21
<i>Ewelina Lemiech-Mirowska, Zofia Kiersnowska, Dobrochna Ginter-Kramarczyk, Izabela Kruszelnicka</i>	
4. Toksynotwórcze szczepy <i>Clostridium difficile</i> – diagnostyka	28
<i>Ewelina Lemiech-Mirowska, Zofia Kiersnowska, Dobrochna Ginter-Kramarczyk, Izabela Kruszelnicka</i>	
5. Przegląd zastosowania różnego typu organoidów	34
<i>Paula Chlebanowska, Anna Tejchman, Marcin Majka</i>	
6. Kolonizacja błon śluzowych nosogardzieli i gardła osób zdrowych przez pałeczki Gram-ujemne z uwzględnieniem ich wrażliwości na antybiotyki beta-laktamowe	41
<i>Chwiejczak Edyta, Kosikowska Urszula, Stępień-Pyśniak Dagmara, Urban Barbara, Malm Anna</i>	
7. Schizofrenia a nieprawidłowości siatkówki – przegląd badań	48
<i>Adam Domagała, Rafał Ziemiński, Patrycja Gierszon</i>	
8. Wczesna separacja macierzyńska jako zwierzęcy model depresji	54
<i>Joanna Filarowska, Małgorzata Łupina, Gabriela Bielecka-Papierz, Małgorzata Łopatyńska-Mazurek, Paweł Grochecki, Jolanta Kotlińska</i>	
9. Potencjał uzależniający marihuany i amfetaminy oraz motywy którymi kierują się młodzi ludzie zażywając te narkotyki	59
<i>Michał Gałaszewski</i>	
10. Najczęstsze powody wzywania służb ratunkowych i zgłaszania się pacjentów do jednostek pomocy doraźnej	66
<i>Gałaszka Dominik, Angelika Poznańska</i>	
11. Perspektywy zawodowe przyszłych absolwentów kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy	72
<i>Kamila Janicka, Wiktoria Janicka, Daria Jaskólska, Paulina Szostak</i>	
12. Zdrowie - różne ujęcia	78
<i>Kaczmarek-Tabor Anna</i>	
13. Częstość kolonizacji górnych dróg oddechowych przez <i>Candida</i> spp. wśród mieszkańców domu pomocy społecznej	84
<i>Martyna Kasela, Agnieszka Grzegorzczak, Edyta Chwiejczak, Mateusz Ossowski, Anna Malm</i>	
14. Mikrobiota dróg oddechowych człowieka	91
<i>Martyna Kasela, Edyta Chwiejczak, Mateusz Ossowski, Urszula Kosikowska, Anna Malm</i>	
15. Szczepić czy nie szczepić, wyzwanie XXI wieku	97
<i>Karolina Kiełbik, Izabela Korona-Główniak, Grażyna Niedzielska, Anna Malm</i>	

16. Powikłania urologiczne w operacjach ginekologicznych wykonywanych drogą laparoskopową	103
<i>Kołodzyńska A., Bogusiewicz M., Monist M., Ziemiński R., Kuliniec I., Rechberger T.</i>	
17. Zakażenia układu moczowego u pacjentek leczonych z powodu schorzeń uroginekologicznych	109
<i>Kołodzyńska A., Bogusiewicz M., Kuliniec I., Ziemiński R., Gierszon P., Rechberger T.</i>	
18. Struktura i funkcja jąder uzdeczki	115
<i>Joanna Mackiewicz, Dominika Kawka, Roksana Jagodzińska, Patrycja Uniatowska, Kinga Ostrowska, Grażyna Jerzemowska, Karolina Plucińska</i>	
19. Nowotworowe komórki macierzyste	121
<i>Aleksandra Nurzyńska, Marta Murawska, Kamila Talarek</i>	
20. Antyoksydanty – rola w organizmie człowieka	127
<i>Anna Ploch-Jankowska, Danuta Pentak, Lidia Szymczak-Mazur, Anita Karp, Małgorzata Maciążek-Jurczyk</i>	
21. Budowa i funkcje jąder szwu	133
<i>Protokowicz Karolina, Ptaszek Kacper</i>	
22. Analiza różnic płciowych w wybranych etapach metabolizmu tryptofanu	139
<i>Iwona Sirocka, Kacper Ptaszek</i>	
23. Neurotoksykologia	145
<i>Katarzyna Stelmasiak, Ewelina Szwedo-Brzozowska, Magdalena Ogórek, Adriana Zasybska, Magdalena Borówka, Anna Szkatuła-Łupina, Paweł Halczuk</i>	
24. Zagrożenie wypaleniem zawodowym personelu medycznego	152
<i>Dorota Szałabska, Sandra Kryska, Grajek Mateusz, Sobczyk Karolina, Działach Eliza, Suchoń Przemysław</i>	
25. Motywacja i komunikacja wśród personelu medycznego	158
<i>Dorota Szałabska, Mateusz Grajek, Eliza Działach, Karolina Sobczyk, Sandra Kryska, Przemysław Suchoń</i>	
26. Nowe narkotyki – aspekty prawne, epidemiologia, budowa, diagnostyka i objawy zatrucia	164
<i>Typiak Anna, Włodyka Gabriela, Tracz Paulina, Witkowska Karina, Sączawa Michał, Pieciewicz-Szczęsna Halina</i>	
27. Wybrane zagadnienia dotyczące nerwu błędnego	171
<i>Oskar Wiśniewski, Aneta Brzezińska</i>	
28. Wielokierunkowość różnicowania adipopochodnych komórek macierzystych	177
<i>Woroszyło Szymon, Wojnar Tomasz, Gwiżdż Joanna, Simka Klaudia</i>	
29. Wpływ TNF-α na procesy nowotworzenia	183
<i>Woroszyło Szymon, Gmyrek Weronika, Drzyzga Rafał, Skowronek Bartłomiej</i>	

Przedmowa

Szanowni Państwo, wydawnictwo „Młodzi Naukowcy” oddaje do rąk czytelnika kolekcję monografii. Znajdują się tutaj pozycje dotyczące nauk przyrodniczych, nauk medycznych i nauk o zdrowiu, nauk technicznych i inżynierskich oraz szeroko pojętych nauk humanistycznych i społecznych.

W prezentowanych monografiach poruszany jest szeroki przekrój zagadnień, jednak każda z osobna składa się z kilkunastu rozdziałów, spójnych tematycznie, dających jednocześnie bardzo dobry przegląd tematyki naukowej jaką zajmują się studenci studiów doktoranckich lub ich najmłodszy absolwenci, którzy uzyskali już stopień doktora.

Czytelnikom życzymy wielu przemyśleń związanych z tematyką zaprezentowanych prac. Uważamy, że doktoranci i młodzi badacze z pasją i bardzo profesjonalnie podchodzą do swojej pracy, a doświadczenie jakie nabierają publikując prace w monografiach wydawnictwa „Młodzi Naukowcy”, pozwoli im udoskonalać swój warsztat pracy. Dzięki temu, z pewnością wielu autorów niniejszych prac, z czasem zacznie publikować prace naukowe w prestiżowych czasopismach. Przyczyni się to zarówno do rozwoju nauki, jak i każdego autora, budując jego potencjał naukowy i osobisty.

Redakcja

1. Wirusowe zagrożenia personelu medycznego – HBV i HCV

Viral threats to medical personnel - HBV and HCV

Zofia Kiersnowska⁽¹⁾, Ewelina Lemiech-Mirowska⁽¹⁾, Dobrochna Ginter-Kramarczyk⁽²⁾, Izabela Kruszelnicka⁽²⁾

⁽¹⁾ Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Projekt InterDoktorMen

⁽²⁾ Wydział Inżynieria Środowiska, Politechnika Poznańska

Zofia Kiersnowska:zofiakersnowska.p@gmail.com

Słowa kluczowe: czynniki biologiczne, ryzyko zawodowe, zakażenia krwiopochodne

Key words: biological agents, blood borne infections, occupational risk

Streszczenie

Najbardziej narażeni na zakażenia krwiopochodne są pracownicy, którzy stale mają kontakt z potencjalnie zakaźnym materiałem biologicznym. Ekspozycja zawodowa na krew zdarza się u większości pracowników medycznych przynajmniej raz w ciągu roku, a najczęściej ekspozycją częścią ciała są ręce. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) na przekrójny kontakt z krwiopochodnymi patogenami co roku na świecie narażonych jest 3 miliony pracowników medycznych, z czego 2 miliony z wirusem HBV, 900 tysięcy z wirusem HCV.

Summery

The most exposed to blood-borne infections are workers who are constantly in contact with potentially infectious biological material. Occupational exposure to blood happens to most medical workers at least once a year, and hands are the most exposed part of the body. According to the World Health Organization (WHO), 3 million medical workers are exposed to perinatal contact with blood-borne pathogens every year, of which 2 million are infected with HBV, 900,000 with HCV.

1. Wstęp

Stały kontakt z ludzkim cierpieniem, nadmierne obciążenie wysiłkiem fizycznym i psychicznym, narażenie na różnorodne czynniki niebezpieczne i szkodliwe, nieustanny kontakt z materiałem zakaźnym często zagrażającym zdrowiu i życiu. Grupę zawodową, która narażona jest na wspomniane czynniki reprezentują pracownicy służby zdrowia.

Pracownicy tego sektora w szczególności narażeni są na kontakt ze szkodliwymi czynnikami biologicznymi, w których skład wchodzi: drobnoustroje komórkowe, jednostki bezkomórkowe, zdolne do replikacji lub przenoszenia materiału genetycznego, hodowle komórkowe oraz pasożyty wewnętrzne człowieka. Ryzyko zakażenia się drobnoustrojem w dużym stopniu zależy od częstości i rodzaju ekspozycji na dany materiał zakaźny, dawki zakażającej oraz odsetka zakażonej populacji (Beltrami i Williams 2000). Najczęstszą ekspozycją na patogeny jest zranienie skóry skażonym narzędziem np.: igłą, skalpelem lub nożyczkami oraz gdy dojdzie do kontaktu błon śluzowych oczu, nosa, ust albo uszkodzonej skóry ze zakażoną krwią lub płynami ustrojowymi pacjenta (Rybacki 2013). Według Centrum Zwalczenia i Zapobiegania Chorobom (*Centers for Disease Control and Prevention – CDC*) szacuje się, że wśród personelu medycznego w Stanach Zjednoczonych każdego roku dochodzi do 385 tysięcy sytuacji związanych z przypadkowym przerwaniem ciągłości tkanek w trakcie wykonywania pracy zawodowej.

Najczęstszym ryzykiem zawodowym w opiece zdrowotnej są zakażenia wywołane wirusami, które wiążą się przede wszystkim z ryzykiem transmisji wirusów zapalenia wątroby typu B (hepatitis B virus - HBV), wirusów zapalenia wątroby typu C (hepatitis C virus - HCV) oraz wirusa upośledzającego odporność (HIV) (Rybacki 2013). W Polsce w 2017 roku w ogniskach epidemicznych zakażeniu uległo 271 pracowników medycznych. Zakażenia te dotyczyły patogenów alarmowych, w których wkład wchodzi HBV i HCV. Według Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (*National Institute for Occupational Safety and Health*) po zakłuciu

zainfekowaną igłą najwyższe ryzyko zakażenia stanowi HBV około 6-30%, zaś HCV stanowi około 2-7%, oraz na poziomie 0,3-0,5% stanowi HIV. Narażeni na czynniki biologiczne są zarówno fachowy personel medyczny, jak i personel pomocniczy.

Wirusy HBV i HCV nazywane są wirusami pierwotnie hepatotropowymi, co oznacza, że są ukierunkowane na niszczenie hepatocytów. Cechy poszczególnych wirusów pierwotnie hepatotropowych zostały przedstawione w Tab.1 Rozpoznanie wirusowego zapalenia wątroby jest procesem kilkuetapowym, na który składa się dokładny wywiad osoby zakażonej, badanie fizykalne, wykonanie badań biochemicznych, w tym poziomu enzymów wątrobowych oraz wykonanie badań specjalistycznych, w tym testów serologicznych (Rybacki 2013).

Tab.1 Cechy wirusów pierwotnie hepatotropowych (Rybacki 2013).

Cecha	Wirus				
	HAV	HBV	HCV	HDV	HEV
Średnica [nm]	27	42	40-60	6	32
Kwas nukleinowy	RNA	DNA	RNA	RNA	RNA
Okres wylęgania w dniach	15-49	28-160	15-160	21-140	15-65
Obecność wirusa w kale	TAK	NIE	NIE	NIE	TAK
Zakażenie drogą pokarmową	TAK	NIE	NIE	NIE	TAK
Zakażenie perinatalne (z zakażonej matki na dziecko w czasie ciąży)	NIE	TAK	TAK	TAK	NIE
Ryzyko przewlekłego zapalenia wątroby	NIE	TAK	TAK	TAK	NIE
Ryzyko marskości wątroby	NIE	TAK	TAK	TAK	NIE
Ryzyko pierwotnego raka wątroby	NIE	TAK	TAK	brak danych*	NIE
Występowanie w Polsce	TAK	TAK	TAK	TAK	możliwe**
Szczepionka	TAK	TAK	NIE	TAK***	NIE

* Samoistnie nie występuje, jednak według niektórych źródeł przyczynia się on także do powstania pierwotnego raka wątroby. ** Jest możliwe „zawleczenie” wirusa z podróży zagranicznych. *** Szczepienie przeciw HBV jest zarazem szczepieniem przeciw HDV, ponieważ wirus ten nie może istnieć bez wirusa typu B.

Postać WZW (wirusowe zapalenie wątroby) może mieć charakter ostry lub przewlekły. Ostre wirusowe zapalenie wątroby cechuje szybko rozwijające się zmiany zapalne i martwicze w wątrobie. Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby może prowadzić do marskości wątroby lub rozwoju nowotworu. Przewlekła choroba wątroby (HBV i HCV) trwa dłużej niż 6 miesięcy, z utrzymującą się replikacją wirusa.

Objawy kliniczne ostrego i przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby są podobne, niezależnie od czynnika etiologicznego. Ostre WZW charakteryzuje zwiększona aktywność aminotransferaz we krwi, co świadczy o uszkodzeniu hepatocytów, a także przewagą zwiększonej aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT) nad asparaginianową (AST) (tzw. wskaźnik de Ritisa). W okresie prodromalnym pojawia się osłabienie, stany podgorączkowe, uczucie rozbicia oraz dolegliwości żołądkowo-jelitowe takie jak: nudności, ucisk w prawym nadbrzuszu oraz może wystąpić wysypka skórna i bóle stawowe. Następnym etapem jest faza objawów wątrobowych, wyjątek stanowią dzieci, gdzie u około 30% chorych pojawia się żółtaczka. Ostatnią fazą choroby jest okres zdrowienia. Ostre wirusowe zapalenie wątroby to choroba samoograniczająca się, choć może powodować powikłania np. ostrą niewydolność wątroby lub przechodzić w przewlekłe zapalenie wątroby, w przypadku HBV i HCV. Wyróżnia się ostre wirusowe zapalenie wątroby: HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, HGV i TTV (transfusion transmitted virus) (Szczeklik 2005).

Ograniczenie ryzyka zakażenia się WZW przez pracownika służby zdrowia możliwe jest przede wszystkim dzięki zastosowaniu barier mechanicznych np. stosowanie okularów ochronnych, które stanowią istotną przeszkodę dla potencjalnie zakaźnych płynów oraz korzystanie z rękawic lateksowych. Używanie samych rękawic lateksowych redukuje liczbę potencjalnych patogenów

o 46%-86% (Mast i in. 1993). Przy HBV najlepszym sposobem zapobiegania jest szczepienie, które głównie polega na wykonaniu serii trzech zastrzyków w okresie sześciu miesięcy. Na HCV nie wynaleziono szczepionki i dlatego należy podejmować ogólne środki ostrożności.

Ważnym czynnikiem minimalizującym ryzyko jest przestrzeganie procedur bezpiecznej pracy z materiałem biologicznym, na co składa się: traktowanie każdego materiału biologicznego jako wysoce zakaźnego, przestrzeganie reguły mycia rąk, unikanie skażeń i nie narażanie innych na skażenia, wykorzystywanie bezpieczniejszych technik, rozwiązań i wyposażenia, odpowiednie szkolenia, ustanowienie instrukcji postępowania w przypadku wystąpienia ekspozycji, stosowanie procedury mycia i dezynfekcji powierzchni, stosowanie środków ochrony osobistej oraz metod bezpieczeństwa i higieny pracy, odkładanie próbek z krwią w specjalnie do tego przeznaczonym miejscu oraz prowadzenie prawidłowej organizacji pracy (przygotowanie stanowisk pracy, odpowiednia liczba personelu, warunki lokalowe) (Świątkowska 2010).

2. Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV)

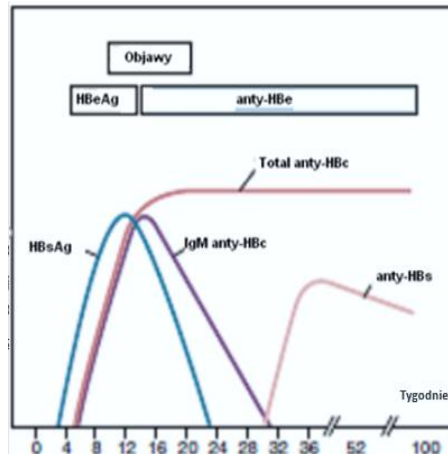
Czynnikiem etiologicznym HBV jest wirus DNA należący do rodziny Hepadnaviridae, o średnicy około 42 nm. W budowie morfologicznej wirusa wyodrębniono białko powierzchniowe – HBsAg (hepatitis B surface antigen) i białko rdzeniowe – HBcAg (hepatitis B core antigen). HBsAg stanowi składnik osłonki lipoproteinowej wirusa. HBV DNA koduje produkty genów z 4 otwartych ramek odczytu (ORF): S dla antygenu powierzchniowego (HBsAg); C dla nukleokapsydu (core) i antygenu „e” (HBcAg i HBeAg); P dla polimerazy; X dla białka X (HBx). HBV dzieli się na 8 genotypów, oznaczonych literami alfabetu od A do H, w zależności od stopnia zróżnicowania sekwencji DNA (Okamoto i in. 1988).

Wirus HBV zachowuje zakaźność w szerokim wachlarzu temperatury od -20°C do 25°C i jest oporny na działanie promieniowania UV. Utrzymuje zdolność do zakażenia w zaschniętej kropli krwi, a do przeniesienia infekcji wystarcza zaledwie 0,00004 ml krwi. HBV posiada zdolność przetrwania około tygodnia na przedmiotach, a przy temperaturze -20 °C przez ponad 20 lat. Zniszczeniu ulega w standardowych warunkach sterylizacji, jest wrażliwy na środki dezynfekcyjne zawierające chlor, a jego wrażliwość na różne czynniki zewnętrzne i zakaźność są zależne od miana wirusa w próbce (Beltrami i Alvarado-Ramy 2001).

Okres wylęgania HBV trwa od 25 do 180 dni (Leevy i in. 1994). Okres zaraźliwości rozpoczyna się kilka tygodni przed wystąpieniem objawów chorobowych, w ostrym okresie chorobowym i nawet przez lata w przypadku, gdy dojdzie do choroby przewlekłej.

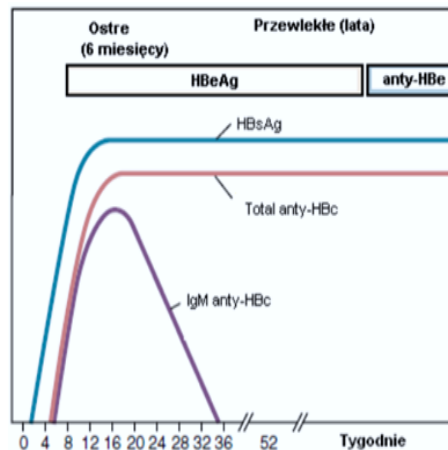
Objawy kliniczne HBV można podzielić w zależności od czasu, na ostre i przewlekłe oraz w zależności od lokalizacji na wątrobowe i pozawątrobowe. Objawy pozawątrobowe, które mogą zdarzyć się w trakcie ostrej i przewlekłej fazy zakażenia notuje się w rzadkich przypadkach np. zapalenie stawów, niedokrwiistość aplastyczną lub kłębuszkowe zapalenie nerek. Do chorób o manifestacji wątrobowej należą: ostre wirusowe zapalenie wątroby (owzwB), przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby (pwzwB), nosicielstwo HBV, marskość wątroby i HCC (nowotwór złośliwy wątroby).

Ostre wirusowe zapalenie wątroby typu B charakteryzuje się głównie osłabieniem i brakiem apetytu, rzadziej wymiotami i dyskomfortem w jamie brzusznej. W badaniu fizykalnym stwierdza się zwykle powiększenie wątroby. W badaniach laboratoryjnych najczęściej stwierdza się podwyższenie aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST) w granicach 1000-2000 IU/l (Marszałek 2015). Natomiast utrzymywanie się podwyższonej aktywności ALT powyżej 6 miesięcy świadczy o progresji w kierunku pwzwB. Pierwszym markerem serologicznym, który pojawia się w surowicy jest HBsAg. W ciągu pierwszego miesiąca po pojawieniu się HBsAg i na 1-2 tygodnie przed wzrostem aktywności aminotransferaz, można wykryć przeciwciała w klasie IgM przeciwko antygenowi „c” HBV (anty-HBcAg IgM). Podczas zdrowienia miano anty-HBc IgM obniża się, a anty-HBc w klasie IgG podwyższa. Po zaniku antygenu powierzchniowego HBsAg pojawiają się przeciwciała anty-HBsAg (Mandell i in. 2010). Na Rys.1 został przedstawiony typowy przebieg parametrów laboratoryjnych u pacjenta z owzwB.



Rys.1 Typowy przebieg parametrów laboratoryjnych u pacjenta z owzwb (Marszałek 2015).

Przewlekle wirusowe zapalenie wątroby typu B głównie diagnozowane jest przypadkowo w momencie wykrycia podwyższonej aktywności aminotferaz. Czasem w badaniach laboratoryjnych aktywność aminotferaz może być w normie lub nieznacznie podwyższona. W surowicy krwi stwierdza się markery replikacji HBV, takie jak: HBsAg, HBV-DNA. Podczas serokonwersji do anty-HBe może dojść do podwyższenia aktywności prób wątrobowych. Częstość spontanicznej serokonwersji zależy od wieku pacjenta, u dorosłych wynosi 10-20% na rok (Marszałek 2015). Na Rys.2 został przedstawiony typowy przebieg parametrów laboratoryjnych u pacjenta z pwzwb. Przy badaniu fizykalnym stwierdza się powiększoną wątrobę. Do objawów klinicznych, jeśli w ogóle występują, zalicza się osłabienie, nudności, brak apetytu, tkliwość w górnym prawym kwadrancie brzucha.



Rys.2 Typowy przebieg parametrów laboratoryjnych u pacjenta z pwzwb (Marszałek 2015).

W pwzwb wyróżnia się 4 fazy tj.: faza tolerancji immunologicznej, faza klirensu immunologicznego, faza kontroli immunologicznej (nosicielstwa), faza reaktywacji.

Fazy te zależą od interakcji pomiędzy wirusem a gospodarzem, a na ich sekwencyjność ma wpływ okres życia, w którym doszło do zakażenia (Marszałek 2015).

W fazie immunotolerancji pacjent nie ma objawów klinicznych. Zmiany zapalne w tkance wątroby są minimalne. W surowicy wykrywa się HBeAg, HBV-DNA powyżej 107 IU/ml oraz aktywność aminotferaz w granicach referencyjnych (Yim i Lok 2006). W fazie klirensu immunologicznego przy początkowym okresie w surowicy krwi wykrywa się HBeAg i wysokie wartości HBV-DNA (Yim i Lok 2006). Komórki immunokompetentne rozpoznają HBeAg i HBeAg, co skutkuje podwyższeniem aktywności aminotferaz, a w wątrobie stwierdza się zmiany

martwiczo-zapalne. W tym okresie może dojść do niewydolności wątroby (Liaw i in. 1983). Natomiast faza kontroli immunologicznej odpowiada za nieaktywne nosicielstwo HBsAg. Aktywność aminotransferaz jest w granicach referencyjnych, obecne są przeciwciała antyHBe, niewykrywalny jest HBeAg. W powtarzalnych oznaczeniach HBV-DNA uzyskuje się wyniki wirerii 2×10^3 IU/ml i niższe (Lok i McMahon 2007). W fazie reaktywacji, zwanej też reaktywacją zakażenia w okresie pięcioletniej obserwacji dochodzi do około 25% nosicieli HBsAg, w surowicy stwierdza się brak HBeAg, obecność anty-HBe i podwyższone wartości HBV-DNA. W biopsji wątroby można wykazać zmiany martwiczo-zapalne (Marszałek 2015).

3. Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV)

HCV należy do grupy wirusów hepatotropowych odpowiedzialnych za rozwój zapalenia wątroby typu C. Do zakażenia dochodzi najczęściej w wyniku naruszenia ciągłości tkanek, stąd do pacjentów szczególnie narażonych na działanie wirusa zalicza się chorych dializowanych, leczonych na oddziałach zabiegowych oraz noworodki wskutek przeniesienia HCV od matki drogą wertykalną. Grupą zawodową szczególnie obciążoną ryzykiem zakażenia jest personel medyczny. Drogą dominującą w transmisji HCV jest ekspozycja na krew (przetoczenie krwi lub produktów krwiopochodnych, inwazyjne procedury medyczne wykonywane przy użyciu niesterylnego sprzętu, zakłucia). Działanie wirusa na organizm człowieka niejednokrotnie przebiega bezobjawowo. Szacuje się, że nawet 50% osób z WZW typu C nie jest świadoma tego faktu. Ostra postać choroby najczęściej przebiega bezobjawowo i w blisko 80% przypadków przechodzi w formę przewlekłą, która wiąże się z wysokim ryzykiem powikłań takich jak wystąpienie marskości wątroby i/lub pierwotnego raka wątroby. Pierwsze oznaki związane z działaniem wirusa mogą pojawić się dopiero po pół roku od momentu ekspozycji (objawy manifestują się średnio po 8 tygodniach) (Simon i Pazgan-Simon 2011; Halota i in. 2012).

Pierwszym markerem zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C jest jego materiał genetyczny (HCV-RNA) pojawiający się już po 14 dniach od zainfekowania. Okres ten zwany „okienkiem serologicznym” trwa ok. 60-80 dni aż do momentu pojawienia się odpowiedzi swoistej. Na tym etapie wykrycie wirusa możliwe jest dzięki zastosowaniu takich metod diagnostycznych jak: RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction), reakcja łańcuchowa ligazy, NASBA (nucleic acid sequence-based amplification) czy hybrydyzacja z amplifikacją sygnału (Halota i in. 2012).

W kolejnym etapie wykrywane są przeciwciała anty-HCV, które pojawiają się we krwi po około 8-10 tygodniach od ekspozycji. Diagnostyka w tym wypadku oparta jest na testach serologicznych (EIA drugiej i trzeciej generacji, ELISA) oraz metodzie immunoblottingu Western blot (test potwierdzenia). U pacjentów z ujemnym wynikiem RNA wirusa, testem uzupełniającym pozwalającym na wykrycie przeciwciał anty-HCV są rekombinowane testy immunoblot (RIBA) (Halota i in. 2012).

4. Podsumowanie

Za podstawowy sposób przeciwdziałania ekspozycjom zawodowym uznaje się właściwą higienę pracy i świadomość, wśród samych pracowników, o możliwości zakażeniu, a w szczególności stosowania zasady, zgodnie z którą każda krew jest potencjalnie zakaźna i w związku z tym każde użyte narzędzie mające kontakt z materiałem biologicznym jest uznawane za potencjalne źródło drobnoustrojów chorobotwórczych.

Pracownik medyczny winien stosować wszelkie skuteczne, dostępne i wzajemnie uzupełniające się działania medyczne, technologiczne i organizacyjne oraz posiadać właściwą wiedzę i sprawdzone umiejętności praktyczne.

5. Piśmiennictwo

Beltrami EM, Alvarado-Ramy FI (2001) Guidelines for the Management of Occupational Exposures to HBV, HCV, and HIV and Recommendations for Postexposure Prophylaxis. Morbidity and Mortality Weekly Report 50(RR-11): 1-52.

- Beltrami EM, Williams IT, (2000). Risk and management of blood borne infections in health care workers. *Clin Microbiol Rev.* 13(3):385– 407.
- Halota W, Flisak R, Boroń-Kaczmarek A i in. (2012) Standardy leczenia wirusowego zapalenia wątroby typu C. Rekomendacje Polskiej Grupy Ekspertów HCV – 2011. *Przegląd Epidemiologiczny* 66: 83-88.
- Leevy CM, Sherlock S, Tygstrup N (1994) *Diseases of the liver and biliary tract.* Raven Press 76-82.
- Liaw YF, Chu CM, Su IJ, Huang MJ (1983) Clinical and histological events preceding hepatitis B e antigen seroconversion in chronic type B hepatitis. *Gastroenterology.* 84:216-219.
- Lok AS, McMahon BJ (2007) AASLD practice guidelines chronic hepatitis B. *Hepatology* 45:507-539.
- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (2010) *Principles and practice of infectious diseases, 7th ed.* Philadelphia, PA.2066.
- Marszałek A. (2015) rozprawa doktorska: Retrospektywna analiza przebiegu przewlekłego zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B nabytego w dzieciństwie: 15-23.
- Mast ST, Woolwine JD, Geberding JL (1993) Efficacy of gloves in reducing blood volumes transferred during simulated needlestick injury. *Infectious Diseases* 168(6): 1589-1592.
- Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H. i in. (1988) Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol.* 69:2575-2583
- Rybacki M (2013) Kompleksowy program profilaktyczny dotyczący chorób zakaźnych u personelu medycznego. *IMP w Łodzi* 67-68.
- Simon K, Pazgan-Simon M (2011) Terapia zakażenia HCV: zindywidualizowane podejście do leczenia. *Przegląd Epidemiologiczny* 65: 21-25.
- Szczeklik A (2005) Choroby wewnętrzne. *Medycyna Praktyczna* 56-89.
- Świątkowska B (1994) Zagrożenia zawodowe pracowników opieki zdrowotnej: Co wiemy i co możemy zrobić? *IMP w Łodzi* 91(4): 522-529.
- Yim HJ, Lok AS (2006) Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology* 43:173-181.

2. Sytuacja epidemiologiczna w jednostkach ochrony zdrowia

Epidemiological situation in health care units

Zofia Kiersnowska⁽¹⁾, Ewelina Lemiech-Mirowska⁽¹⁾, Dobrochna Ginter-Kramarczyk⁽²⁾, Izabela Kruszelnicka⁽²⁾.

⁽¹⁾ Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Projekt InterDoktorMen

⁽²⁾ Wydział Inżynieria Środowiska, Politechnika Poznańska

Zofia Kiersnowska:zofiakersnowska.p@gmail.com

Słowa kluczowe: wielooporne drobnoustroje chorobotwórcze, czynniki ryzyka, zakażenie szpitalne

Key words: multiresistant pathogens, risk factors, healthcare-associated infections

Streszczenie

Wiele gatunków bakteryjnych wykazuje brak wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki, co znacznie ogranicza możliwości terapii, w szczególności ciężkich zakażeń. Eksperci wskazują, że najczęstszą przyczyną oporności jest nadużywanie antybiotyków, głównie w przypadkach, w których są bezużyteczne, na przykład infekcje wirusowe górnych dróg oddechowych, brak izolacji chorych zakażonych, a także przyjmowanie do oddziału chorych zakażonych poza szpitalem. Obecnie uważa się, że na poziom oporności na antybiotyki wpływają trzy czynniki tj.: ile bakterii zostało przyniesionych z zewnątrz, ile utworzyło się de novo oraz jak wygląda kontrola rozprzestrzeniania się zakażeń w szpitalu. Największy niepokój budzą bakterie odporne jednocześnie na wiele antybiotyków, na przykład zawartych w akronimie ESKAPE. Część szczepów opornych może się stać szczególnie opornymi, a w końcu całkowicie opornymi. Zrozumienie mechanizmów odporności tych bakterii ma kluczowe znaczenie dla opracowania nowych środków przeciwdrobnoustrojowych lub innych alternatywnych narzędzi.

Summery

Many species of bacteria show lack of sensitivity to antibiotics and chemotherapeutics, which greatly reduces capabilities of therapy, especially in case of severe infections. Experts indicate that the most common cause is overusing antibiotics, mainly in cases in which they are useless, for example viral infections of the upper respiratory tract, lack of isolation of infected patients, and admitting people infected outside of the hospital. At present it is believed that three factors influence the level of antibiotic resistance i.e. how many bacteria were brought from the outside, how many were created de novo, and what is the control of the spread of infections in the hospital. The most worrying bacteria are the ones resistant to many antibiotics, for example those included in the acronym ESKAPE. Some resistant strains can become especially resistant, and eventually completely resistant. Understanding the defensive mechanisms of those bacteria is crucial for the development of new antimicrobials or other alternative tools.

1. Wstęp

Zakażenia szpitalne to odwieczny problem towarzyszący jednostkom służby zdrowia na całym świecie. Poważnym zagrożeniem chorobowym stanowią szczepy wieloopornych bakterii ujętych w akronimie ESKAPE. Nazwa ta określa 6 gatunków lekoopornych bakterii odpowiedzialnych za 2/3 wszystkich zakażeń szpitalnych (Rice 2010). Według raportu European Center for Disease Prevention and Control (ECDC) znajdujemy się w gronie krajów, w których bakterie wykazują szczególnie wysoką oporność na leczenie. Statystyki pokazują, iż w warunkach polskich co najmniej 5-10% pacjentów jest narażonych na zakażenia szpitalne o różnej etiologii, a roczny koszt leczenia tych zakażeń wynosi blisko 800 mln zł (Krysiak 2011).

Sytuacja epidemiologiczna w Polsce w 2017 roku w zakresie występowania ognisk epidemicznych zakażeń szpitalnych w porównaniu z rokiem 2016 wzrosła o 27,4 % co stanowi łącznie zakażonych w ogniskach epidemicznych 4170 osób (Raport GIS 2017). Zakażenia szpitalne zwiększają zachorowalność, śmiertelność, koszty leczenia chorych oraz przyczyniają się do trudnego

do opisanego bólu i cierpienia. ECDC podaje, że około 4,5 mln osób w UE pada ofiarą zakażeń szpitalnych i jak się ocenia, nawet do 40 tys. pacjentów umiera bezpośrednio z tego powodu.

Oporności na antybiotyki wśród bakterii już od wielu lat stale wzrasta. Drobnoustroje bronią się przed antybiotykami przede wszystkim trzema drogami tak zwanego horyzontalnego transferu genów – koniugacją, transdukcją i transformacją. Przekazują sobie geny związane z opornością na antybiotyki i atakują ludzi ze zdwojoną siłą. Sytuacji tej sprzyja masowe korzystanie z antybiotyków w przypadkach, w których są bezzużyteczne, na przykład infekcje wirusowe górnych dróg oddechowych.

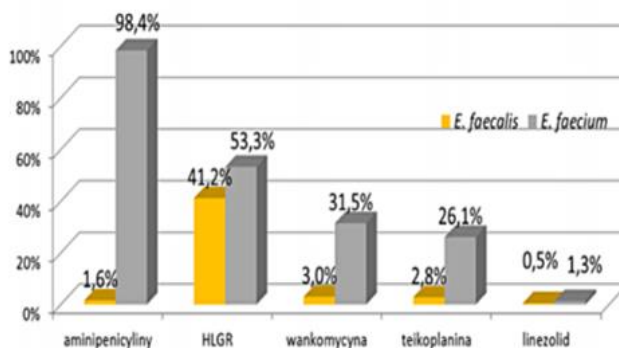
Największy niepokój budzą bakterie odporne jednocześnie na wiele antybiotyków, zawartych w akronimie ESKAPE. Część szczepów opornych może się stać szczególnie opornymi, a w końcu całkowicie opornymi. Coraz częściej spotyka się szczepy drobnoustrojów, które charakteryzują oporność na co najmniej jeden antybiotyk z trzech lub więcej klas leków przeciwbakteryjnych, aktywnych wobec danego gatunku (MDR, ang. multi-drug resistance), ale także z rozszerzoną opornością (XDR, ang. extensively drug resistance), gdy drobnoustrój pozostaje wrażliwy na 1 lub więcej antybiotyków we wszystkich, z wyjątkiem 2 lub mniej klas antybiotyków np. *Klebsiella pneumoniae* ESBL – dodatnia produkująca karbapenemazę KPC, *E. faecium* oporny na aminoglikozydy (HLAR) oraz glikopoeptydy (VRE), a nawet z całkowitą opornością (PDR, ang. pandrug resistance), co oznacza brak wrażliwości na wszystkie antybiotyki, we wszystkich klasach aktywnych wobec danego gatunku drobnoustroju.

Poniżej zostały przedstawione gatunki lekoopornych bakterii, wywołujących ciężkie zakażenia szpitalne, określone akronimem ESKAPE. Skrót ten oznacza grupę bakterii obejmującą zarówno gatunki Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne, złożone z *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.. Bakterie te są najczęstszymi przyczynami zakażeń szpitalnych, zagrażającymi życiu wśród osób krytycznie chorych i z obniżoną odpornością, charakteryzują się potencjalnymi mechanizmami oporności na leki (Rice 2010).

2. Enterokoki odporne na wankomycynę (VRE - Vancomycin-Resistant Enterococcus)

Nadmierne stosowanie antybiotyków takich jak cefalosporyny, aminoglikozydy, fluorochinolony oraz glikopeptydy stworzyły korzystne warunki umożliwiające rozwój wielolekoopornych szczepów z rodzaju *Enterococcus* (Wardal i Hryniewicz 2009). Z łatwością kolonizują sprzęt medyczny a także wyposażenie sal chorych, mogą utrzymywać się na rękach pacjentów i personelu medycznego nawet do godziny co znacząco ułatwia transmisję patogenu w środowisku szpitalnym. Do czynników ryzyka związanych z nabyciem nosicielstwa należy podwyższony wiek, stosowana antybiotykoterapia, przedłużona hospitalizacja, upośledzone funkcje układu odpornościowego oraz brak właściwego nadzoru epidemiologicznego zwłaszcza w zakresie wykrywania nosicielstwa i izolacji pacjentów. Szczególną grupę ryzyka stanowią chorzy leczeni doustnie wankomycyną w przebiegu biegunki poantybiotykowej wywołanej toksynotwórczymi szczepami *Clostridium difficile* (Ulu-Kilic i in. 2016). Kolonizacja dotyczy głównie przewodu pokarmowego, ale znane są przypadki zasiedlenia pochwy, cewki moczowej czy jamy ustnej (Top i in. 2007). Nie zaleca się przeprowadzania eradykacji nosicielstwa VRE ze względu na niski poziom skuteczności i liczne wznowy. Analizując częstość zakażeń szpitalnych większe znaczenie odgrywa gatunek *Enterococcus faecium* w porównaniu z *Enterococcus faecalis* (Wardal i Hryniewicz 2009, O'Driscoll i Crank 2015) (Rys.1).

Zaobserwowano powstanie kompleksów klonalnych *E. faecium* (Clonal Complex), które w znacznej mierze odpowiadają za rozprzestrzenienie w jednostkach ochrony zdrowia oraz stwarzają poważne problemy terapeutyczne. Izolowane w Polsce Vancomycin Resistant *E. faecium* (VREfm) w znakomitej większości zostały zaklasyfikowane do kompleksu klonalnego CC17 charakteryzującego się opornością na ampicylinę i ciprofloksacynę oraz zwiększonym potencjałem zjadliwości (Wardal i Hryniewicz 2009, Top i in. 2007). W Tab.1 przedstawione typy oporności enterokoków na antybiotyki glikopeptydowe.



Rys.1 Odsetek izolatów opornych *Enterococcus faecalis* (n=758) i *Enterococcus faecium* (n=410) izolowanych z krwi, (dane sieci EARS-Net. 2016).

Tab.1 Typy oporności enterokoków na antybiotyki glikopeptydowe (Wardal i Hryniewicz 2009).

Oporność	Nabyta					Wrodzona niskiego poziomu
	Wysokiego poziomu	Zmiennego poziomu	Średniego poziomu		Niskiego poziomu	
Typ	VanA	AanB1/B2/B3	VanD	VanG	VanE	VanC1/C2/C3
MIC wankomycyny	64-1000 mg/L	4-1000 mg/L	64-256 mg/L	16 mg/L	8-32 mg/L	2-32 mg/L
MIC teikoplaniny	16-1000 mg/L	0,5-1 mg/L	2-256 mg/L	0,5 mg/L	0,5 mg/L	0,5-1 mg/L
Koniugacja	+	+	-	+	-	-
Przeniesienie oporności	<i>Tn1546</i>	<i>Tn1547</i> <i>Tn1549</i> <i>Tn5382</i>	nieznane	nieznane	nieznane	nie dotyczy
Gatunki	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. avium</i> <i>E. durans</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. raffinosus</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. faecalis</i>
Ekspresja	Indukowana		konstytutowana lub indukowana	indukowana		konstytutowana
Lokalizacja	plazmid		chromosom	chromosom		Chromosom
Modyfikacja str. docelowej	D-Ala-D-Lac			D-Ala-D-Ser		

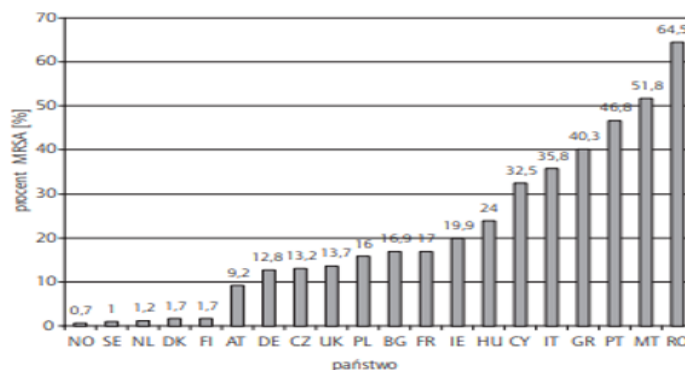
3. *Staphylococcus aureus* odporne na metycylinę (MRSA -methicillin resistant *Staphylococcus aureus*)

Gronkowiec złocisty należy do patogenów stanowiących bardzo wysokie zagrożenie zdrowotne dla pacjentów. Stale rosnąca liczba przypadków zakażeń tą bakterią w przebiegu udzielania świadczeń medycznych w publicznych placówkach opieki zdrowotnej wpływa

niekorzystnie na stan finansów podmiotu leczniczego. W toku ewolucji wykształcone zostały mechanizmy warunkujące oporność na powszechnie stosowane antybiotyki. Jednym z najważniejszych jest mechanizm związany ze zmianą strukturalną w obrębie białek PBP (penicilin-binding proteins) (Harris i in. 2002). Inaktywowane białko określane jako PBP2a lub PBP2' traci swoje powinowactwo do penicyliny oraz innych antybiotyków β -laktamowych. Produkcję białka PBP2a determinuje gen zlokalizowany w chromosomie bakteryjnym – *mecA* (Deresinski 2008). Szczepy *Staphylococcus aureus* wykazujących oporność na metycylinę zwyczajowo dzielone są na izolaty pochodzenia szpitalnego (HA-MRSA), pozaszpitalnego (CA-MRSA) oraz odzwierzęce (FA-MRSA).

Zakażenia wywołane przez szczepy MRSA według różnych danych mogą sięgać nawet do 60% w stosunku do wszystkich zakażeń o etiologii *S. aureus* (Sacha i in. 2008). Ze względu na dużą powszechność występowania patogenu w środowisku szpitalnym zagrożeniem jest kontakt ze skolonizowanym chorym ale także nosicielstwo wśród personelu medycznego, zanieczyszczenie sprzętu medycznego, zanieczyszczenie powierzchni oraz brak badań mikrobiologicznych w kierunku MRSA u pacjentów przyjmowanych do leczenia szpitalnego.

Na Rys.2. został przedstawiony procentowy udział szczepów MRSA u pacjentów z bakteriami o etiologii gronkowcowej na terenie Europy w 2013 r.



Rys.2 Procentowy udział szczepów MRSA u pacjentów z bakteriami o etiologii gronkowcowej na terenie Europy w 2013 r.

4. Enterobacteriaceae wytwarzające β -laktamazy ESBL (extended-spectrum beta-lactamases)

Zakażenia wywołane przez pałeczki Gram-ujemne z rodziny Enterobacteriaceae (szczepy istotne klinicznie to m.in. *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia marcescens*) są jednym z najczęstszych czynników wywołujących zakażenia szpitalne i pozaszpitalne (Bartoszko-Tyczkowska i in. 2008). Odpowiadają zarówno za infekcje w obrębie układu oddechowego, układu moczowego jak również zakażenia pooperacyjne i zakażenia inwazyjne. Bakteriemia dotyczy najczęściej pacjentów z oddziałów intensywnej terapii - zaintubowanych, zacewnikowanych, z upośledzoną odpornością oraz chorobami współtowarzyszącymi. Kolonizacja pacjentów obserwowana jest już w drugiej dobie od przyjęcia do szpitala. W przypadku enterobakterii najczęściej obserwowanym mechanizmem oporności jest wytwarzanie β -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym, które warunkują brak wrażliwości na antybiotyki β -laktamowe w tym także na cefalosporyny III i IV generacji (Dzierżanowska i Fangrat 2008). Aktywność mogą wykazywać cefamycyny, połączenia antybiotyków β -laktamowych z inhibitorami (kwasem klawulanowym, sulbaktamem, tazobaktamem) jednakże leczenie zakażeń wywołanych przez szczepy ESBL-dodatnie oparte jest w znacznej mierze na zastosowaniu karbapenemów, które stanowią leki z wyboru. Konsekwencją nadużywania karbapenemów było powstanie pałeczek wytwarzających metalo- β -laktamazy (MBL) hydrolizujące karbapenemy i karbapenemaz KPC. Enterobacteriaceae ESBL-dodatnie niejednokrotnie wykazują oporność na

fluorochinolony i aminoglikozydy (synteza enzymów modyfikujących lek, zaburzenia w systemie transportu antybiotyku do cytoplazmy) co znacząco zawęża opcje terapeutyczne.

Tab. 2 Wybrane elementy klasyfikacji funkcjonalnej i strukturalnej β -laktamaz (Jacoby i Bush 2005).

Grupa funkcyjna		Klasa strukturalna	Wybrane substraty	Wrażliwość na inhibitory		Wybrane enzymy	
				klawulanian tazobaktam	EDT A		
1	1	C	cefalosporyny (I, II, III)*	NIE	NIE	Cefalosporynazy AmpC E. coli i P. aeruginosa, CMY-2, FOX-I, MIR-1, P99	
	1e		cefalosporyny (I, II, III, IV)	NIE	NIE	GCl,CMY-37	
2	2a	A	penicyliny z wyjątkiem izoksazolilowych	TAK	NIE	PCI	
	2b		Penicyliny i cefalosporyny (I)	TAK	NIE	SHV-1,TEM-1, TEM-2, TLE-1 (TEM-90)	
	2be		penicyliny, cefalosporyny (I, II, III, IV), monobaktamy	TAK	NIE	CTX-M-15, CTX-M-44 (TOHO-1), PER-1, SFO-1, SHV-5, TEM-10, TEM-26, VEB-1	
	2br		Penicyliny i cefalosporyny (I)	NIE	NIE	TEM-30, TEM-76, TEM-103, SHV-10, SHV-26	
	2be r		penicyliny, cefalosporyny (I, II, III, IV) i monobaktamy	NIE	NIE	TEM-50, TEM-68, TEM-89	
	2c		karboksypenicyliny	TAK	NIE	PSE-I,CARB-3	
	2d		D	penicyliny izoksazolilowe	Słaba	NIE	OXA-1,OXA-10
	2de			penicyliny, cefalosporyny (I, II, III, IV)	Słaba	NIE	OXA-II,OXA-15
	2df			penicyliny, karbapenemy	Słaba	NIE	OXA-23, OXA-48
	2e		A	cefalosporyny (I, II, III, IV)	TAK	NIE	CepA
2f	karbapenemy	TAK		NIE	IMI-1, KPC-2, KPC-3, SME-1, GES-1		
3	3a	B	penicyliny, cefalosporyny (I, II, III, IV), karbapenemy	NIE	TAK	IMP-1, LI, NDM-1, VIM-1	
	3b		karbapenemy	NIE	TAK	CphA, S_-1	

Geny kodujące ESBL umiejscowione są na plazmidach koniugacyjnych dzięki czemu możliwa jest szybka wymiana materiału genetycznego pomiędzy gatunkami. Zidentyfikowano ponad 300 mutacji w genach kodujących β -laktamazy, większość należy do rodziny TEM, SHV, CTX-M (Gniadkowski 2008). Zapobieganie zakażeniom powinno być oparte na ograniczeniu dróg szerzenia

się patogenów oraz racjonalnej polityce antybiotykowej, która ma znaczący wpływ na selekcję szczepów opornych. Wykazuje brak wrażliwości na ampicylinę, amoksycylinę (również w połączeniu z kwasem klawulanowym), cefazolinę, cefotaksym, ceftriakson, ertapenem, fosfomycynę, trimetoprim.

5. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii to Gram-ujemna, niefermentująca pałeczka należąca do rodziny Moraxellaceae, wytwarzająca wiele naturalnych mechanizmów oporności na antybiotyki stosowane w obiegu szpitalnym oraz posiada wysoce rozwinięte zdolności nabywania nowych determinantów oporności. MDRAB to wielolekooporne szczepy *A. baumannii* wykazujące oporność na minimum 3 klasy antybiotyków. Geny kodujące zlokalizowane są w obrębie integronów i transpozonów w efekcie ułatwiają rozprzestrzenianie się w środowisku szpitalnym (Potron i in. 2015). Niepokojącym zjawiskiem jest narastająca oporność wobec karbapenemów wywołana wytwarzaniem karbapenemaz, utratą porów błonowych oraz wytworzenie mechanizmu efflux polegającym na aktywnym usuwaniu leku z komórki (Fonseca i in. 2013, Coyne i in. 2011). Skuteczna terapia zakażeń wywołanych przez szczepy *A. baumannii* powinna być oparta na terapii skojarzonej. Szeroko poznane jest synergistyczne działanie β -laktamów z aminoglikozydami i fluorochinolonami, jednakże w przypadku MDRAB są one nieskuteczne. Kluczowym lekiem pozostają polimyksyny, które w przypadku drobnoustrojów niewrażliwych na karbapenemy powinny być stosowane w zestawieniu z tigecykliną lub cefoperazonem/sulbaktamem lub piperacyliną/tazobaktamem. W przypadku ciężkiego zapalenia płuc uzasadniona jest kombinacja kolistyny wraz z rifampicyną (Viehman i in. 2014).

Acinetobacter baumannii jako patogen oportunistyczny stanowi niezwykle poważne zagrożenie dla pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej terapii poddanych intubacji (zapalenia płuc typu VAP - ventilator-associated pneumonia związane ze zdolnością wytwarzania biofilmu). Tworzenie biofilmu znacząco upośledza działanie antybiotyków i chemioterapeutyków w tym procesie szczególną rolę odgrywają fimbrie oraz białko OmpA, białko błony zewnętrznej, synataza AbaI oraz locus pgaABCD (Longo i in. 2014).

6. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa jest groźnym patogenem bakteryjnym, posiadającym dużą zdolność przystosowania się do środowiska (4-43°C) i tworzenia różnych czynników zjadliwości i dysponowania różnymi mechanizmami chorobotwórczości. Gram-ujemne pałeczki niefermentujące należące do gatunku *Pseudomonas aeruginosa* – pałeczki ropy błękitnej, rozpowszechnione w środowisku naturalnym – glebie i zbiornikach wodnych, stanowiące część mikroflory niektórych zwierząt i roślin.

Bakteria ta jest określana jako patogen oportunistyczny, który na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat stał się niezwykle groźny w środowisku szpitalnym. Odpowiedzialna są za około 10% wszystkich zakażeń szpitalnych a jej zakres jest dość rozległy od powierzchniowych do szybko postępującej sepsy.

Pałeczki *P. aeruginosa* są przyczyną zakażeń, często o skomplikowanym przebiegu, u osób z osłabioną odpornością, np. pacjentów onkologicznych czy po przeszczepach, pacjentów długo hospitalizowanych, u osób starszych. Odpowiedzialne są za szpitalne zakażenia układu oddechowego, układu moczowego, zakażenia ran zwłaszcza oparzeniowych, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i ropień mózgu (Hauser i Sriram 2005).

Bakteria *P. aeruginosa* jest naturalnie oporna na szeroką gamę zróżnicowanych strukturalnie antybiotyków, dotyczy to części antybiotyków β -laktamowych (aminopenicyliny wraz z ich połączeniami z inhibitorami β -laktamaz, cefalosporyny I i II generacji), chloramfenikolu, trimetoprimu czy tetracyklin. Dzieje się tak, ze względu na niską przepuszczalność błony zewnętrznej, aktywność molekularnych pomp zdolnych pozbywać się aktywnie antybiotyku z przedziałów wewnątrzkomórkowych, a także chromosomowo kodowane enzymy, zdolne do inaktywacji określonych leków (Lister i in. 2009).

7. Podsumowanie

Największym problemem epidemiologicznym w Polsce jest wzrost udziału patogenów alarmowych w zakażeniach szpitalnych. Najczęstszą przyczyną oporności jest nadużywanie antybiotyków, brak izolacji chorych zakażonych, a także przyjmowanie do oddziału chorych zakażonych poza szpitalem. Należy podejmować wszelkie działania, aby częstość występowania zakażeń szpitalnych ograniczyć. Ważną kwestią jest dbanie o zasady higieny pomieszczeń szpitalnych i prawidłowe warunki sterylizacji narzędzi np. chirurgicznych, a także zachowanie warunków aseptycznych ze strony personelu szpitalnego.

8. Piśmiennictwo

- Bartoszko-Tyczkowska A, Gaszyński W, Tyczkowska-Sieroń E (2008) Analiza sytuacji epidemiologicznej oraz fenotypu oporności patogenów wyizolowanych od pacjentów oddziału intensywnej terapii USK nr 1 w Łodzi w latach 2002-2006. *Med Dośw Mikrobiol* 60: 223 – 30
- Coyne S, Courvalin P, Perichon B (2011) Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrob. Agents Chemother* 55, 947–953.
- Deresinski S (2005) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. *Clin Infect Dis* 40(4): 562-573.
- Dzierżanowska D, Fangrat A (2008) Patogeny bakteryjne zakażeń szpitalnych. *Zakażenia szpitalne*. Bielsko-Biała 9 - 73.
- Fonseca E, Scheidegger E, Freitas F i in. (2013) Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil: role of carO alleles expression and bla(OXA-23) gene. *BMC Microbiol* 13, 245.
- Gniadkowski M (2008) Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* 14: 11 - 32.
- Harris LG, Foster SJ, Richards RG (2002) An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. *Eur Cell Mater* 4: 39-60
- Hauser AR, Sriram P (2005) Severe *Pseudomonas aeruginosa* infections. Tackling the conundrum of drug resistance. *Postgrad. Med.* 117: 41-48
- Jacoby GA, Bush K (2005) β -Lactam Resistance in the 21st Century (w) *Frontiers in Antimicrobials Resistance*. red. D.G White, M.N. Alekshun, P.F. Mcdermott, S.B. Levy, ASM Press USA 53–65
- Krysiak L (2011) Stop zakażeniom szpitalnym. *Gazeta Lekarska* 248: 42-43.
- Lister PD, Wolter DJ, Hanson N, (2009). Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 582-610
- Longo F, Vuotto C, Donelli G (2014) Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol.* 37, 119–127.
- O'Driscoll T, Crank CW (2015) Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect Drug Resist* 8: 217-230.
- Potron A, Poirel L, Nordmann P (2015) Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 45, 568–585.
- Rice L (2010) Progress and challenges in implementing the research on ESKAPE pathogens. *Infection Control and Hospital Epidemiology.* 31(supplement 1):S7–S10. doi: 10.1086/655995
- Sacha P, Wiczorek P, Jakoniuk P (2008) Wrażliwość *Staphylococcus aureus* na nowe antybiotyki makrolidowe. *Prz Lek.* 65(5): 225-228.
- Top J, Willems R, Blok H, et al. (2007) Ecological replacement of *Enterococcus faecalis* by multiresistant clonal complex 17 *Enterococcus faecium*. *Clin Microbiol Infect* 13(3): 316-319.
- Ulu-Kilic A, Özhan E, Altun D, et al. (2016) Is it worth screening for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* colonization?: Financial burden of screening in a developing country. *Am J Infect Control* 44(4): e45-e49.

- Wardal E, Hryniewicz W (2009) Enterokoki odporne na wankomycynę – groźny patogen zakażeń szpitalnych. *Nowa Klin Med Zakażeń* 16: 711-716.
- Viehman JA, Nguyen M, Doi Y (2014) Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Drugs*. 74, 1315–1333.

3. Epidemiologia zakażeń o etiologii *Streptococcus pneumoniae*

Epidemiology of streptococcus pneumoniae infections

Ewelina Lemiech-Mirowska⁽¹⁾, Zofia Kiersnowska⁽¹⁾, Dobrochna Ginter-Kramarczyk⁽²⁾, Izabela Kruszelnicka⁽²⁾

⁽¹⁾ Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Projekt InterDoktorMen

⁽²⁾ Wydział Inżynieria Środowiska, Politechnika Poznańska

Ewelina Lemiech-Mirowska: ewelina2105@wp.pl

Słowa kluczowe: czynniki biologiczne, leczenie, szczepienia przeciw pneumokokom

Key words: biological agents, treatment, pneumococcal vaccinations

Streszczenie

Choroba pneumokokowa wywoływana przez *Streptococcus pneumoniae* jest jednym z głównych zakaźnych czynników chorobotwórczych u małych dzieci do 2 r.ż. oraz u osób powyżej 65 r.ż. Stanowi istotny problem zdrowia publicznego pod względem epidemiologicznym, klinicznym i leczniczym. Przyczynia się do zapalenia płuc, zapalenia ucha środkowego i zatok obocznych nosa, a także zakażeń inwazyjnych, takich jak bakteriemia i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. W 2017 r. do *Głównego Inspektoratu Sanitarnego* zgłoszono 1187 przypadków zachorowań na inwazyjną chorobę pneumokokową (zapadalność 3,09/100 000). Zwalczanie i zapobieganie zakażeniom pneumokokowym powinno być priorytetowym działaniem w walce z chorobami zakaźnymi.

Summery

Pneumococcal disease caused by *Streptococcus pneumoniae* is one of the main infectious pathogens in young children up to 2 years of age and people over 65 years of age. It is a significant public health issue in terms of epidemiology, clinical and therapeutic. It contributes to pneumonia, otitis media and paranasal sinusitis, as well as invasive infections, such as bacteriemia and meningitis. In 2017, 1187 cases of invasive pneumococcal disease (incidence 3.09 / 100,000) were reported to the *Main Sanitary Inspectorate*. Combating and preventing pneumococcal infections should be a priority in the fight against infectious diseases.

1. Wstęp

Dwoinka zapalenia płuc, pneumokok (*Streptococcus pneumoniae, pneumococcus*) jest bakterią gram-dodatnią, posiadającą Anaerob fakultatywny, należącą do paciorkowców alfa-hemolizujących. Pneumokoki nie mają rzęsek, więc nie wykazują zdolności ruchu na podłożach hodowlanych. Charakteryzują się obecnością otoczki polisacharydowej swoistej dla danego serotypu. Otoczka jest głównym czynnikiem wirulencji pneumokoków. Ich rezerwuarem jest wyłącznie człowiek. Od chwili odkrycia pneumokoków zwraca się uwagę na ich wielką różnorodność, dotyczącą właściwości mikrobiologicznych oraz zjadliwości wobec ludzi i zwierząt laboratoryjnych.

Szerzą się drogą kropelkową, ze szczytem zachorowań jesienią i zimą, infekcja często jest poprzedzona wcześniejszą kolonizacją, zwłaszcza okolicy nosowo-gardłowej. Zakażeniu sprzyja osłabienie układu odpornościowego. Według danych WHO (*ang. World Health Organization*), pneumokoki wywołują około 15 milionów zachorowań rocznie na całym świecie. Szacuje się, że w 2005 roku były przyczyną 1,6 mln zgonów, z czego 0,7–1,0 mln dotyczyło dzieci poniżej 5 roku życia.

2. Kolonizacja nosogardła

Człowiek stanowi naturalny rezerwuuar dla dwoinek zapalenia płuc - *Streptococcus pneumoniae*. Drobnoustroje przenoszone są drogą kropelkową oraz poprzez kontakt bezpośredni. Przebywanie w dużych skupiskach ludzi takich jak żłobki, przedszkola, szkoły, więzienie, koszary, domy opieki sprzyja rozprzestrzenianiu się pneumokoków. Najwyższy poziom kolonizacji (35-60%)

obserwowany jest u niemowląt i dzieci do 5 r.ż., u młodzieży i dorosłych zazwyczaj nie przekracza 25% (Garcia-Rodriguez 2002; Ghaffar 1999). Istnieje bezpośredni związek pomiędzy liczbą zachorowań a nosicielstwem w populacji serotypów *Streptococcus pneumoniae* uważanych za szczególnie chorobotwórcze. Choroba pneumokokowa niezwykle rzadko wykrywana jest u osób skolonizowanych. Na rozwój zakażenia mają wpływ: wiek i status immunologiczny pacjenta (wcześnieństwo, zespoły niedoboru odporności, choroby nowotworowe), poziom wirulencji szczepu (Ghaffar 1999). Badania przeprowadzone u żołnierzy przebywających na terenie koszar wojskowych wykazały, że bezobjawowe nosicielstwo indukuje wytwarzanie przeciwciał przeciwotczkowych swoistych dla danego serotypu, a przypadki zachorowań wynikały z zasiedlenia nosogardzieli szczepem nieznanym dla układu odpornościowego (Gray 1980), (Syrjänen 2005). Analiza mikroflory górnych dróg oddechowych dzieci przeprowadzona przez Gray (1980) w zakresie związku nosicielstwa z chorobą pneumokokową potwierdziła, iż u 74% zakażenie wiązało się z kolonizacją nowym wariantem bakterii nabytym w czasie krótszym niż 4 tygodnie (Gray 1980). Rozbieżności w potencjale inwazyjności poszczególnych serotypów *Streptococcus pneumoniae* utrudniają potwierdzenie korelacji między okresowym pojawieniem się bakterii a rozwojem inwazyjnej choroby pneumokokowej (IChP). Spośród poznanych około 93 serotypów *S.pneumoniae*, 20 typów ma istotne znaczenie kliniczne odpowiadając za ponad 90% zakażeń (Müller-Graf 1999). Górne drogi oddechowe są powszechnie zasiedlane przez serogrupy 6, 7, 9, 12F, 14, 15, 18C, 19F, 24F, które są istotnymi czynnikami zakażeń zarówno u dzieci jak i dorosłych. Niezwykle rzadko identyfikowane jest nosicielstwo typami 1, 2, 3, 4, 5, 8, 46, ale są izolowane z zakażeń inwazyjnych. Szczepy najczęściej spotykane u pacjentów pediatrycznych to serotypy 6,14,19,23 (Müller-Graf 1999). W Tab.1 zostały przedstawione zachorowania na wybrane choroby zakaźne w Polsce.

Tab.1 Zachorowania na wybrane choroby zakaźne w Polsce od 1 stycznia do 30 czerwca 2018 r. oraz w porównywalnym okresie 2017 r. Liczba zachorowań i zapadalność na 100 tys. Ludności. *

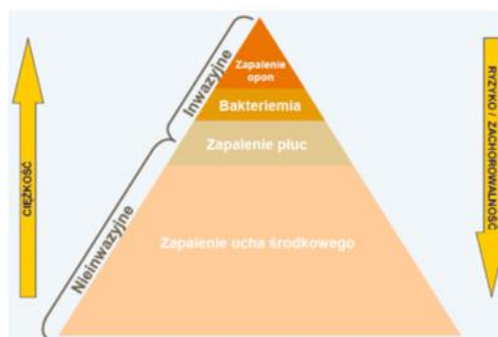
Jednostka chorobowa		1.01-30.06.2018 r		1.01-30.06.2017 r.	
		Liczba	Zapadalność	Liczba	Zapadalność
Choroba wywołana przez <i>Streptococcus pneumoniae</i> , inwazyjna UE	Ogółem	745	1,94	682	1,78
	zapalenie opon mózgowych i/lub mózgu	128	0,33	104	0,27
	posocznica	501	1,30	471	1,23
	inna określona i nie określona	305	0,79	271	0,71

* wstępne dane; Źródło: PZH i GIS Departament Zapobiegania oraz Zwalczenia Zakażeń i Chorób Zakaźnych u Ludzi.

3. Czynniki chorobotwórcze dwoinek *Streptococcus pneumoniae*

Dwoinka zapalenia płuc w toku ewolucji wykształciła szereg czynników wirulencji odpowiedzialnych za potencjał zjadliwości oraz zdolności adaptacyjne w zmiennych warunkach środowiskowych. Z ponad 500 białek błonowych, występujących w ścianie komórkowej oraz w połączeniu z lipoproteinami błony komórkowej, dobrze poznana została grupa 6 białek wiążących penicylinę (PBP -*penicillin binding protein*), neuraminidazy, proteaza IgA1, białka wiążące cholinę (CBP - *choline binding protein*). Białka CBP niekonwalencyjnie łączą się z elementami ściany komórkowej odgrywając rolę receptorów. W ich skład wchodzi białko powierzchniowe A (PspA – *pneumococcal surface protein A*), autolizyny (LytA, LytB i LytC) oraz białko adhezyjne PspC/CbpA (*Pneumococcal surface protein C/Choline-binding protein A*) (AlonsoDeVelasco 1995; Rosenow 1997). Komórki bakteryjne, które w wyniku mutacji w obrębie genomu nie produkują białek PspC nie mają zdolności kolonizacji nosogardzieli człowieka. Do induktorów rozwoju stanu zapalnego zalicza się składniki ściany komórkowej kwas N-acetylmuraminowy, polisacharyd ściany komórkowej, (kompleks kwasu teichojowego zawierającego fosforylocholinę, która jest rozpoznawana przez autolizynę LytA odpowiedzialną w pewnych warunkach za indukowaną lizę

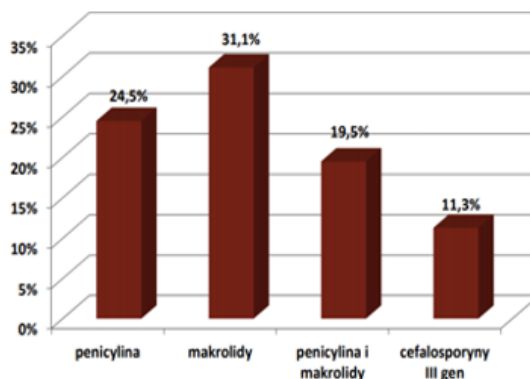
komórek *S. pneumoniae*) (AlonsoDeVelasco 1995). Właściwości fosforylocholino, związane z adhezją do receptorów cholinowych infektowanego organizmu, umożliwiają wystąpienie zakażenia (Cundell 1995). Obecna w cytoplazmie patogenu pneumolizyna uwalniana w trakcie lizy komórek pneumokoków stymuluje produkcję cytokin zapalnych przez monocyty gospodarza (Alcantara 2001). Wraz z tlenkiem wodoru bierze ona udział w upośledzeniu funkcji rzęsek wyściełających górne drogi oddechowe, a tym samym ułatwia kolonizację nosogardła. Zidentyfikowano odmiany zdolne do wytwarzania struktur zbliżonych budową do fimbrii o potwierdzonym powinowactwie w stosunku do nabłonka dróg oddechowych (Barocchi 2006). Głównym czynnikiem wirulencji *S. pneumoniae* jest oligosacharydowa otoczka chroniąca dwoinki przed opsonizacją przez przeciwciała i składniki C3b dopełniacza i hamują klasyczną drogę aktywacji dopełniacza (Watson 1995). Uznaje się, że szczepy otoczkowe w przebiegu choroby są 100 tys. bardziej zjadliwe od bezotoczkowych. Na Rys.1 zostały przedstawione choroby wywołane przez pneumokoki.



Rys.1. Choroby wywołane przez pneumokoki (*Streptococcus pneumoniae*) (Watson 1995).

4. Oporność na antybiotyki

W poczet drobnoustrojów alarmowych, zgodnie z załącznikiem do Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 23 grudnia 2011 roku, zaliczane są szczepy *Streptococcus pneumoniae* oporne na penicylinę lub cefalosporyny III generacji. Przez dziesięciolecia penicylina uznawana była za lek z wyboru w leczeniu zakażeń wywołanych przez *S. pneumoniae*. W ostatnich latach obserwuje się narastającą lekooporność na antybiotyki β -laktamowe, która w niektórych rejonach świata osiąga poziom 60-80% (Jones 1999). Według danych zebranych przez sieć EARS-Net (Rys.1) ponad 1/4 badanej populacji pneumokoków nie wykazywała wrażliwości wobec penicyliny, a blisko 1/3 manifestowała oporność na makrolidy. Na wykresie 1 przedstawiono odsetek izolatów niewrażliwych (n=230) na szczepy *Streptococcus pneumoniae*.



Rys.1 Odsetek izolatów niewrażliwych (n=230) na szczepy *Streptococcus pneumoniae* (Żabicka 2016).

Oporność na penicylinę wynika z mutacji w obrębie transpeptydaz glikopeptydowych zwanych białkami PBP (2x, 2b, 1a) skutkująca zmienionym powinowactwem do antybiotyku (inaktywacja białek jest możliwa przy wyższej koncentracji zastosowanego antybiotyku). W Tab. 2 zostały przedstawione warianty modyfikacji PBP wśród opornych na antybiotyki β -laktamowe klinicznych izolatów *S. pneumoniae*.

Tab.2 Warianty modyfikacji białek PBP wśród opornych na antybiotyki β -laktamowe klinicznych izolatów *S. pneumoniae*.

	Białka LMW					Białka HMW
	Klasa A			Klasa B		
	PBP 1a	PBP 1b	PBP 2a	PBP 2x	PBP 2b	PBP 3
Wariant 1	wt	wt	wt	*	wt	wt
Wariant 2	wt	wt	wt	wt	*	wt
Wariant 3	wt	wt	wt	*	*	wt
Wariant 4	wt	wt	*	*	wt	wt
Wariant 5	wt	wt	*	*	*	wt
Wariant 6	*	wt	wt	*	wt	wt
Wariant 7	*	wt	wt	*	*	wt
Wariant 8	*	wt	*	*	*	wt
Wariant 9	*	*	*	*	*	wt

(wt) – PBP typu dzikiego; * - PBP o obniżonym powinowactwie względem antybiotyków β -laktamowych (Asahi 1999; Barcus 1995).

Białka PBP odgrywają ważną rolę w procesie biosyntezy ściany komórkowej. Modyfikacje w ich strukturze przypisuje się nabywaniem przez wrażliwe szczepy *Streptococcus pneumoniae* fragmentów lub całych genów pbp od gatunków opornych takich jak *Streptococcus oralis* czy *S. mitis* (horyzontalny transfer genów) w efekcie powstają białka o budowie mozaikowej (Dowson 1989).

Badania prowadzone w wielu ośrodkach wskazują na wysoki odsetek szczepów opornych na antybiotyki makrolidowe (klarytromycynę, azytromycynę). Antybiotyki z tej grupy są zdecydowanie nadużywane w leczeniu ambulatoryjnym infekcji dróg oddechowych.

5. Profilaktyka choroby pneumokokowej

Najskuteczniejszą metodą zapobiegania inwazyjnej chorobie pneumokokowej jest zastosowanie szczepień ochronnych. Dostępne są dwa warianty szczepionek: koniugowane (10 lub 13-walentne) oraz nieskoniugowane (polisacharydowe, 23-walentne) (Korona-Główniak 2015). W Tab.2 podano charakterystykę szczepionek dostępnych w Polsce.

Tab. 2 Charakterystyka szczepionek dostępnych na terenie Polski (opracowano na podstawie Charakterystyk Produktów Leczniczych).

Szczepionka	Szczepienia dla gr. wiekowych:	Wskazania	Cykl szczepień
Koniugowana 10-walentna	Od ukończenia 6 tygodnia życia do ukończenia 5 lat.	Uodparnianie przeciwko: chorobie inwazyjnej, zapaleniu płuc, ostremu zapaleniu ucha środkowego.	Niemowlęta od ukończenia 6 tygodni do 6 miesięcy życia- 4 dawki (3+1): pierwsza dzień szczepienia; druga po miesiącu; trzecia po 2 miesiącach od dawki pierwszej; czwarta po 6 miesiącach od ostatniej. W sytuacji szczepień populacyjnych 3 dawki szczepionki (2+1): pierwsza dzień szczepienia; druga po miesiącu; trzecia po 6 miesiącach od ostatniej. Wcześniaki (urodzone po 27-36 tygodniach ciąży) (3+1): pierwsza dzień szczepienia; druga

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Szczepionka	Szczepienia dla gr. wiekowych:	Wskazania	Cykl szczepień
			po miesiącu; trzecia po 2 miesiącach od dawki pierwszej; czwarta po 6 miesiącach od ostatniej. Niemowlęta w wieku 7-11 miesięcy (2+1): pierwsza dzień szczepienia; druga po miesiącu; trzecia po dwóch miesiącach od ostatniej dawki w drugim roku życia. Dzieci w wieku 12 miesięcy 5 lat: pierwsza dzień szczepienia; druga po 2 miesiącach
Koniugowana 13-walentna	Od ukończenia 6 tygodnia do ukończenia 17 roku życia.	Od ukończenia 6. tygodnia do ukończenia 17. roku życia- czynne uodpornienie przeciwko chorobie inwazyjnej i zapaleniu płucchorobie inwazyjnej, zapaleniu płuc ostremu zapaleniu ucha środkowego.	Niemowlęta od ukończenia 6 tygodni do 6 miesięcy życia- 4 dawki (3+1):-pierwsza dzień szczepienia; druga po miesiącu; - trzecia po 2 miesiącach od dawki pierwszej; czwarta pomiędzy 11 a 15 miesiącem życia dziecka W sytuacji szczepień populacyjnych 3 dawki szczepionki (2+1): pierwsza dzień szczepienia; druga po 2 miesiącach; trzecia pomiędzy 11 a 15 miesiącem życia dziecka Wcześnieaki < 37 tygodnia ciąży 4 dawki (3+1): -pierwsza dzień szczepienia; -druga po miesiącu; - trzecia po 2 miesiącach od dawki pierwszej; -czwarta pomiędzy 11 a 15 miesiącem życia dziecka Niemowlęta 7- 11 miesięcy (2+1): pierwsza dzień szczepienia; -druga po miesiącu; -trzecia w drugim roku życia; Niemowlęta 12- 23 miesięcy -pierwsza dzień szczepienia; druga po 2 miesiącach; Dzieci i młodzież w wieku 2- 17 lat: - jedna dawka Dzieci szczepione wcześniej szczepionką 7- walentną: - jedna dawka w celu wywołania odpowiedzi immunologicznej na 6 dodatkowych serotypów.
	U dorosłych ≥18 lat i os. w podeszłym wieku.	Uodpornienie przeciwko: - chorobie inwazyjnej, - zapaleniu płuc.	Dorośli w wieku powyżej 18 lat i osoby w podeszłym wieku: - jedna dawka
Polisacharydowa 23-walentna	Dla osób w wieku 2 lat i powyżej.	Uodpornienie przeciwko: - zakażeniom wywołanym przez <i>Streptococcus pneumoniae</i> . Uwaga: nie zapobiega ostremu zapaleniu ucha środk., zapaleniu zatok i innym pow. występującym infekcjom górnych dróg oddechowych.	Osoby w wieku 2 lat i powyżej: - jedna dawka. Szczepienie przypominające Na podstawie aktualnej wiedzy, rutynowe szczepienie przypominające nie jest zalecane u osób, które otrzymały szczepienie podstawowe. Termin oraz konieczność szczepienia przypominającego powinna być ustalona zgodnie z oficjalnymi zaleceniami.

Szczepionki polisacharydowe w swoim składzie posiadają wielocukry otoczkowe wyizolowane od 23 serotypów *S. pneumoniae* (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F) a ich skuteczność u osób dorosłych oceniana jest na 60-70%.

Efekt immunizacji PCV23 obserwowany jest zwłaszcza w przypadku zapobiegania zakażeniom inwazyjnym (bakteriemia i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii *S. pneumoniae*). Szczepionka nieskoniugowana nie chroni przed zakażeniami górnych dróg oddechowych, nie indukuje trwałej pamięci immunologicznej u dzieci poniżej 2 r.ż. (Bruyn 1991). Druga generacja szczepionek to szczepionki skoniugowane oparte na białkach nośnikowych o wysokiej immunogenności (anatoksyna błonicza, anatoksyna tężcowa, oczyszczona nietoksyczna odmiana toksyny maczugowca błonicy, meningokokowy kompleks białkowy błony zewnętrznej). Wykazują wysoką skuteczność u dzieci poniżej 2 r.ż. poprzez wyzwalanie odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego (zależnej od limfocytów T). Przypuszczalnie indukcja przeciwciał aktywujących układ dopełniacza leży u podstaw protekcyjnego działania tego typu szczepionek (Peters 2002). Doświadczenia przeprowadzane na modelach zwierzęcych dotyczące nabywania nosicielstwa szczepami *S. pneumoniae* zwracają uwagę, że ochrona przeciwko kolonizacji i IChP (Inwazyjna Choroba Pneumokokowa) wynika zarówno z obecności przeciwciał przeciwootoczkowych, jak również tych skierowanych przeciwko antygenom białkowym patogenu. Pozwala to przypuszczać, iż wykorzystanie pneumolizyny, adhezyny PsaA lub powierzchniowego białka PspA umożliwi w przyszłości na indukcję oporności na większość poznanych dotąd serotypów dwoinki zapalenia płuc (Peters 2002).

6. Podsumowanie

Szczepienia stanowią najskuteczniejszy mechanizm nabywania odporności przeciwdziałający wystąpieniu choroby pneumokokowej. Nosicielstwo u niemowląt i dzieci w wieku przedszkolnym może sięgać nawet 60%. Rozwój choroby zachodzi w wyniku złożonego procesu oddziaływania patogenu z infekowanym organizmem, którego pierwszym etapem jest kolonizacja nosogardła gospodarza. Nadużywanie antybiotyków zwłaszcza w leczeniu ambulatoryjnym oraz horyzontalny transfer genów przyczyniają się do problemu narastającej lekooporności wśród szczepów *Streptococcus pneumoniae*. Do kluczowych elementów kontroli tego procesu należą szczepienia ochronne, racjonalna polityka antybiotykowa oraz monitorowanie aktualnej sytuacji epidemiologicznej występującej w danym regionie.

7. Piśmiennictwo

- Alcantara R, Preheim L, Gentry-Nielsen M (2001) Pneumolysin-induced complement depletion during experimental pneumococcal bacteremia. *Infect. Immun.* 69, 3569–3575.
- AlonsoDeVelasco E, Verheul A, Verhoef J (1995) *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors, pathogenesis and vaccines. *Microbiol. Rev.* 59, 591–603.
- Asahi Y, Takeuchi Y, Ukubata K (1999) Diversity of substitutions within or adjacent to conserved amino acid motifs of penicillin-binding protein 2X in cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43, 1252–1255.
- Barcus V, Ghanekar K, Yeo M, (1995) Genetics of high level penicillin resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 126, 299–303.
- Barocchi MA, Henriques-Normark B i in. (2006) A pneumococcal pilus influences virulence and host inflammatory responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 2857–2862.
- Bruyn G, van Furth R (1991) Pneumococcal polysaccharide vaccines: indications, efficacy and recommendations. *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.* 10, 897–910.
- Cundell D, Gerard N, Gerard C (1995) Idanpaan-Heikkila I., Tuomanen E.I.: *Streptococcus pneumoniae* anchor to activated human cells by the receptor for platelet-activating factor. *Nature*, 377, 435–438.

- Dowson C, Hutchison A, Brannigan J i in. (1989) Horizontal transfer of penicillin-binding protein genes in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86, 8842-8846.
- Garcia-Rodriguez J, Martinez MJ (2002) Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *J. Antimicrob. Chemother.* 50;S59-73.
- Ghaffar F, Friedland I, McCracken G (1999) Dynamics of nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae*. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 18, 638-646.
- Gray B, Converse G, Dillon H (1980) Epidemiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: acquisition, carriage, and infection during the first 24 months of life. *J. Infect. Dis.* 142, 923-933.
- Jones R (1999) The impact of antimicrobial resistance: changing epidemiology of community-acquired respiratory-track infections. *AM. J. Health Syst. Pharm.* 56, (Suppl 3): S4-11.
- Korona-Główniak I, Malm A (2015) *Streptococcus pneumoniae*–kolonizacja a rozwój choroby pneumokokowej. *Advances in Microbiology* 54.4, 309-315.
- Müller-Graf C, Whatmore A, King S I in (1999) Population biology of *Streptococcus pneumoniae* isolated from oropharyngeal carriage and invasive disease. *Microbiology* 145, 3283-3293.
- Peters T, Edwards K (2002) Pneumococcal vaccines: present and future. *Pediatr. Ann.* 31, 261-268.
- Rosenow C, Ryan P, Weiser J I in. (1997) Contribution of novel choline-binding proteins to adherence, colonization and immunogenicity of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol. Microbiol.* 25, 819-829.
- Syrjänen R, Auranen K, Leino T, I in. (2005) Pneumococcal acute otitis media in relation to pneumococcal nasopharyngeal carriage. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 24, 801-806.
- Watson D, Musher D, Verhoef J (1995) Pneumococcal virulence factors and host immune responses to them. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 14, 479-490.
- Żabicka D (2016) Odsetek izolatów niewrażliwych na szczepy *Streptococcus pneumoniae* 24.

4. Toksynotwórcze szczepy *Clostridium difficile* – diagnostyka

Toxic strains of *Clostridium difficile*

Ewelina Lemiech-Mirowska⁽¹⁾, Zofia Kiersnowska⁽¹⁾, Dobrochna Ginter-Kramarczyk⁽²⁾, Izabela Kruszelnicka⁽²⁾

⁽¹⁾ Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Projekt InterDoktorMen

⁽²⁾ Wydział Inżynieria Środowiska, Politechnika Poznańska

Ewelina Lemiech-Mirowska: ewelina2105@wp.pl

Słowa kluczowe: starszy wiek, diagnostyka, leczenie, zapobieganie CDI

Key words: older age, diagnosis, treatment, prevention of CDI

Streszczenie

Zakażenia wywoływane przez *Clostridium difficile* stanowią jeden z najpoważniejszych problemów epidemiologicznych związanych z udzielaniem świadczeń w jednostkach ochrony zdrowia. W 2005 roku po raz pierwszy w Polsce wykryto hiperwirulentny szczep *Clostridium difficile* określany w Europie jako rybotyp PCR 027 (znany w krajach Ameryki Północnej jako North American Pulsed Field Type 1, NAP1/BI/027). Cechą charakterystyczną szczepu jest wysoce rozwinięta zdolność produkcji toksyn (16-krotnie wyższa dla toksyny A i 23-krotnie wyższa dla toksyny B w zestawieniu z pozostałymi szczepami) oraz produkcja toksyny binarnej, która wykazuje budowę i właściwości zbliżone do toksyny wytwarzanej przez *Clostridium perfringens*. Rezultatem rozprzestrzeniania się rybotypu PCR 027 jest cięższy przebieg choroby oraz trudności terapeutyczne związane m. in. ze zmniejszoną wrażliwością na metronidazol.

Summery

Infections caused by *Clostridium difficile* are one of the biggest epidemiological dangers related to providing services in healthcare units. In 2005, for the first time in Poland, a hypervirulent strain of *C. difficile* referred to in Europe as ribotype PCR 027 (in Latin American countries known as North American Pulsed Field Type 1, NAP1/BI/027). The characteristic feature of this strain is its highly developed ability to produce toxins (16 times higher for toxin A and 23 times higher for toxin B combined with other strains) and production of a binary toxin, which shows construction and properties similar to the toxin produced by *Clostridium perfringens*. The result of PCR 027 is more severe course of the disease and therapeutic difficulties related to i.a. decreased sensitivity to metronidazol.

1. Wstęp

Clostridium difficile (CD) jest szeroko rozpowszechnioną w środowisku gram dodatnią, beztlenową laseczką o kształcie pałeczkowatym. Występuje w postaci wegetatywnej, ale może wytwarzać przetrwalniki (spory), co ułatwia jej bytowanie w organizmach pacjentów, środowisku oraz odgrywa znaczącą rolę w transmisji zakażeń. *Clostridium difficile* jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym wywołującym biegunki szpitalne. Po raz pierwszy wyizolowano ją ze smółki zdrowego noworodka w 1935 r. przez dwóch amerykańskich badaczy O'Toole i Halla (wówczas jako *Bacillus difficilis*) (Cianciara 2016), a za czynnik chorobotwórczy uznano dopiero po czterdziestu latach.

Wzrost konsumpcji antybiotyków, zwiększenie liczby pacjentów z obniżoną odpornością, starzejące się społeczeństwo oraz mikroewolucja gatunku *C. difficile* doprowadziły od początku bieżącego stulecia do ogólnosiwiatowego, znaczącego wzrostu liczby zapaleń jelit powodowanych przez tę bakterię. Około 90% przypadków zakażeń wywołanych przez *C. difficile* (CDI) wykryto w następstwie antybiotykoterapii poprzedzającej wystąpienie objawów klinicznych (dane zebrane od pacjentów w trakcie wywiadów lekarskich). Szacuje się, że u 5-35% pacjentów przebywających w placówkach opieki zdrowotnej i otrzymujących antybiotyki może rozwinąć się biegunka. *Clostridium difficile* jest przyczyną 30-50% biegunek poantybiotykowych, co stanowi olbrzymie

obciążenie kliniczne i ekonomiczne zwłaszcza ze względu na konieczność zapewnienia właściwej opieki nad chorym wymagającym izolacji (Culligan 2016).

Obecnie według Światowej Organizacji Zdrowia *Clostridium difficile* znajduje się w czołówce głównych przyczyn powodujących zgony. Hospitalizacja jest uznawana za jeden z najważniejszych czynników ryzyka zakażenia CD, co stanowi 20 do 30% u pacjentów hospitalizowanych w porównaniu do 3% ogólnej populacji (Grzesiowski 2008).

Postacie zakażenia *Clostridium difficile* mogą mieć różne nasilenie od łagodnych biegunek poantybiotykowych (AAD - antibiotic-associated diarrhea) po ciężko przebiegające rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego (PMC – pseudomembranous colitis) czy ostre martwicze zapalenie kątnicy u dzieci w immunosupresji. Występują one pod wspólną nazwą: CDAD (C difficile-associated disease). Wyraźny wzrost zapadalności na poantybiotykowe zakażenia wywołane przez *C. difficile* (CDI) oraz ciężkości ich przebiegu wiąże się z pojawieniem się nowego, zjadliwego klonu epidemicznego NAP1/BI/027 (North American Pulsed Field Type) — inaczej rybotypu-PCR 027 produkującego poza zwiększoną ilością toksyn A i B także toksynę binarną (ADP-rybozylotransferaza). Szczególnym problemem klinicznym są zakażenia nawrotowe, źle reagujące na standardowe leczenie.

2. Czynniki ryzyka

Wśród najważniejszych czynników ryzyka związanych z zapadalnością na CDI (*Clostridium difficile* infection) znalazły się: antybiotykoterapia, zwłaszcza długotrwała i wielolekowa, podeszły wiek oraz długa hospitalizacja. Inne czynniki to: zabiegi operacyjne w obrębie przewodu pokarmowego, żywienie przez zgłębnik nosowo-żołądkowy, zmniejszenie wydzielania kwasu żołądkowego (leczenie inhibitorami pompy protonowej – PPI) oraz ciężkie choroby lub choroby współistniejące (np. chorzy przewlekle dializowani) (Bauer 2012), szczególnie wymagające stosowania antybiotyków lub przedłużonej hospitalizacji, także zwiększają ryzyko zakażenia.

Antybiotyki o szerokim spektrum działania uważa się za ważny czynnik CDAD (*Clostridium difficile*-associated disease), gdyż w istotnym stopniu zaburzają skład flory jelitowej, przy tym stwarzając dobre warunki do namnażania CD. Nawet pojedyncza dawka antybiotyku, podawana jako profilaktyka zakażenia, może być przyczyną CDAD (Yee 1991). W 90% objawy pojawiają się między pierwszym a ósmym tygodniem po rozpoczęciu kuracji antybiotykowej. Są to: biegunka, skurczowe bóle brzucha i nieznacznie podwyższona temperatura ciała. Najczęściej występujące powikłania to: odwodnienie, zaburzenia elektrolitowe, niedrożność jelit, perforacja jelita.

Badania przeprowadzone przez zespół Browna wykazały, że zastosowanie antybiotyków takich jak cefalosporyny, fluorochinolony, klindamycyna jest obciążone wyższym ryzykiem wystąpienia biegunki poantybiotykowej w porównaniu z leczeniem makrolidami. W przypadku przyjmowania tetracyklin nie odnaleziono powiązań wskazujących na zwiększoną zapadalność (Brown 2013). W Tab.1 została przedstawiona skala ryzyka związana z zastosowaniem antybiotyków.

W odniesieniu do cefalosporyn należy zwrócić uwagę na sposób wydalania leku tj. I i IV generacja eliminowana jest z organizmu głównie przez nerki dzięki czemu stężenie osiągnęte w jelitach jest na niskim poziomie. Przekłada się to bezpośrednio na kondycję mikrobiomu przewodu pokarmowego zwłaszcza na populację bakterii beztlenowych ponadto niektóre cefalosporyny wpływają ograniczająco na rozwój *Clostridium difficile* (Ooiievaar 2017), niemniej jednak należy pamiętać, że każdy antybiotyk może wywołać biegunkę. Podstawowym zaleceniem w leczeniu zapalenia jelit wywołanego przez *C.difficile* (*Clostridium difficile*-associated disease – CDAD) jest zaprzestanie przyjmowania antybiotyku, który wywołał objawy chorobowe. Według zaleceń IDSA i SHEA leczenie CDAD powinno być oparte na zastosowaniu wankomycyny w formie doustnej (125 mg w dawkach co 6 godzin przez 10 dni, w uzasadnionych przypadkach dawkę wankomycyny należy zwiększyć do 500mg) lub fidaksomycyny (200mg co 12 godzin przez 10 dni). Wyłącznie w łagodnych stanach uznaje się za zasadne wdrożenia leczenia metronidazolem (Lamont 2015, Ooiievaar 2017).

Kolejnym ważnym czynnikiem ryzyka jest hospitalizacja. Ze względu na zdolność wytwarzania przetrwalników laseczki *Clostridium difficile* są rozpowszechnione zwłaszcza

w środowisku szpitalnym, łatwo przenoszą się na rękach zarówno pacjentów jak i personelu medycznego, przedmiotach codziennego użytku oraz sprzęcie medycznym. CDI w 73-97% przypadków występuje właśnie u osób, które przebywają lub niedawno przebywały w zakładach opieki zdrowotnej (np. hospitalizacja, ośrodki opieki długoterminowej). W tej grupie prawie 70% to ludzie po 65 rokiem życia i w większości (80%) leczeni antybiotykami w ciągu poprzedzającego miesiąca (Jarvis 2009, Hirshon 2011).

Tab.1 Ryzyko związane z zastosowaniem antybiotyków (Brown 2013, Lamont 2015).

Wysokie ryzyko	Umiarkowane ryzyko	Niskie ryzyko
Fluorochinolony Cefalosporyny II i III generacji Klindamycyna Ampicylina Amoksyacylina Penicyliny o szerokim spektrum działania z inhibitorami (oprócz tykarcyliny z klawulanianem i piperacyliny z tazobaktamem)	Makrolidy Trimetoprim /Sulfametoksazol Inne penicyliny Sulfonamidy	Aminoglikozydy Bacytracyna Metronidazol Teikoplanina Wankomycyna Rifampicyna Chloramfenikol Tetracyklina Karbapenemy Daptomycyna Tygecyklina

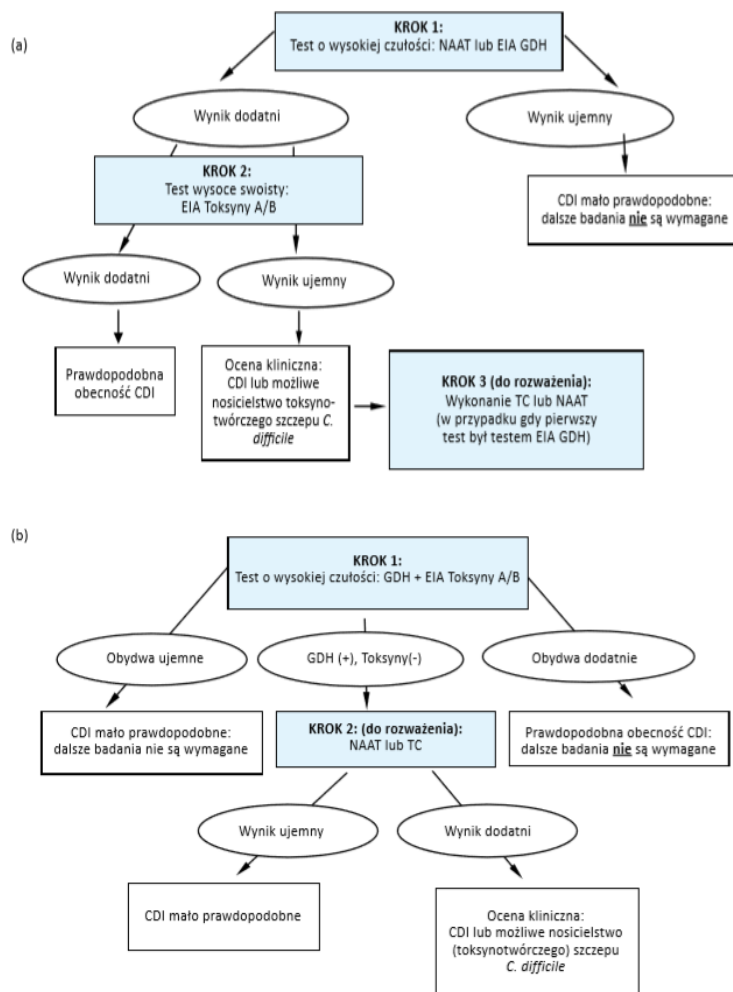
Clostridium difficile wykazuje wysoki poziom oporności na wiele antybiotyków stosowanych w obiegu szpitalnym. Większość bakterii beztlenowych oraz Gram-ujemnych wchodzących w skład naturalnej mikroflory jelitowej ulega degradacji w trakcie leczenia przeciwdrobnoustrojowego. Klindamycyna, która w spektrum działania obejmuje bakterie Gram-dodatnie ale również beztlenowce powoduje wystąpienie enterokoków opornych na wankomycynę (VRE, Vancomycin-Resistant Enterococcus). Wspomniane wcześniej cefalosporyny zaburzają stosunek ilościowy pomiędzy populacją bakterii tlenowych a beztlenowych oraz wpływają na wypełnienie niszy środowiskowej przez namnażające się grzyby z rodzaju *Candida*. Negatywne efekty stosowania penicylin objawiają się narastaniem oporności wśród bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* a także zwiększenie liczby szczepów Gram-dodatnich. Fluorochinolony stanowią grupę antybiotyków powszechnie stosowanych i w opinii wielu mikrobiologów zdecydowanie nadużywanych w jednostkach opieki zdrowotnej. Należą do leków o szerokim spektrum aktywności co objawia się poprzez obniżenie liczby bakterii beztlenowych, tlenowych ziarniaków Gram-dodatnich, *Enterobacteriaceae*, przerost grzybów z rodzaju *Candida* oraz namnażanie opornych szczepów *Bacteroides*. Należy podkreślić, że fluorochinolony wpływają na selekcję szczepów wykazujących wysoki poziom lekooporności stąd zaleca się ograniczenie stosowania tej grupy antybiotyków w lecznictwie zamkniętym. Mikroflora jelitowa u chorych z CDI ma zaburzoną różnorodność pod względem gatunkowym co zwiększa ryzyko nabycia nosicielstwa alert-patogenów (szczepy z nabytym fenotypem oporności) (Chang 2008).

3. Rozpoznanie zakażenia

Diagnoza CDI odbywa się na podstawie objawów klinicznych, do których zalicza się wystąpienie biegunki (≥ 3 luźnych stolców w ciągu doby), patologiczne poszerzenie jelita grubego widoczne w badaniu radiologicznym. Ważnym elementem diagnostycznym są badania mikrobiologiczne (hodowla metodami klasycznymi, wykrycie genów kodujących toksynę metodami amplifikacji kwasów nukleinowych NAAT, stwierdzenie obecności toksyn A/B) oraz potwierdzenie rzekomobłoniastego zapalenia jelit w badaniu histopatologicznym lub endoskopowym. Na Rys.1 zostały przedstawione algorytmy diagnostyczne zakażeń *C. difficile* zalecane przez ESCMID.

Właściwa diagnostyka mikrobiologiczna stanowi niezwykle ważny element w zakresie rozpoznania czynnika chorobotwórczego oraz prawidłowej opieki nad pacjentem hospitalizowanym.

Podstawowym materiałem do badań jest próbka kału pobrana od chorego z objawami wskazującymi na zakażenie *C. difficile*, która powinna odpowiadać typom 5-7 w skali Bristol (Lewis 1997). Badanie EUCLID wykazało problem niedostatecznej liczby badań przeprowadzanych w polskich szpitalach pod kątem CDI w wyniku czego u ponad 19% pacjentów zakażonych toksynotwórczymi szczepami *C. difficile* nie zlecono badań laboratoryjnych umożliwiających postawienie prawidłowej diagnozy (Pituch 2018). Należy zwrócić szczególną uwagę na fakt, że wszystkie osoby niezdiagnozowane stanowią poważne zagrożenie epidemiologiczne dla pozostałych pacjentów a brak wdrożonej terapii jest szczególnie niebezpieczny w przypadku chorych w podeszłym wieku co może przekładać się na zwiększone ryzyko śmiertelności.



Rys.1 Algorytmy diagnostyczne zakażeń *C. difficile* zalecane przez ESCMID (Grzesiowski 2008).
 Skróty: CDI – zakażenia *C. difficile*; GDH – dehydrogenaza glutaminianowa; NAAT (nucleic acid amplification test) – testy molekularne; TC – oznaczenie toksynotwórczości w szczepie wyhodowanym; EIA – testy immunoenzymatyczne; CCNA – test neutralizacji cytotoksyczności; EIA, testy immunoenzymatyczne.

Bakterie *Clostridium difficile* odznaczają się wysoką odpornością na dezynfekcję, a wytwarzane przez nie toksyny mogą ulec rozkładowi w temperaturze pokojowej warunkiem skutecznej diagnostyki jest prawidłowe pobranie i przechowywanie materiału. Podstawowym materiałem do badań laboratoryjnych w przypadkach podejrzenia CDI powinien być stolec biegunkowy (nieuformowany), przechowywany w zamkniętym pojemniku w czasie nie dłuższym niż 2 godziny od pobrania. Jeśli nie jest to możliwe, materiał powinien być przechowywany

w temperaturze 2–8°C (Hryniewicz 2011). Nie zaleca się przeprowadzania badań w prawidłowym stolcu, jak również nie mają uzasadnienia kontrolne badania mikrobiologiczne w celu potwierdzenia skuteczności leczenia.

Szybka diagnostyka laboratoryjna polega na badaniu kału z zastosowaniem testu do jakościowego oznaczania antygeny somatycznego *C. difficile* — dehydrogenazę glutaminianową (GDH, glutamate dehydrogenase) oraz toksyny A i toksyny B, jeżeli wynik jest wątpliwy pobiera się kał na badanie mikrobiologiczne. Następnie wykrywa się DNA *Clostridium difficile* metodą Real Time – PCR, jakościowo. Ważna jest też obserwacja objawów biegunkowych, sporadycznie wykonuje się kolonoskopię (obserwacja jelita oraz pobranie wycinka do badania mikrobiologicznego). W ciężkich postaciach CZCD, kiedy badanie endoskopowe jest przeciwwskazaniem (przy rozdzięciu jelita grubego), zalecana jest tomografia komputerowa. Charakterystycznymi zmianami w ciężkich zapaleniach jelita wywołanych przez CD są szaro-żółte plamki pokrywające błonę śluzową odbytnicy i esicy, nazywane są błonami rzekomymi (stąd nazwa rzekobłoniaste zapalenie jelita grubego). W lżejszych przypadkach zmiany są niewielkie albo ich nie widać; u ok 90% przypadków stwierdza się w wywiadzie przyjmowanie antybiotyków w okresie od 1-8 tygodni przed wystąpieniem objawów.

4. Dane epidemiologiczne

W ostatnim dziesięcioleciu w krajach wysoko rozwiniętych nastąpił wyraźny wzrost zapadalności na *Clostridium Difficile* Infection. Badania przeprowadzone w Uniwersyteckim Szpitalu w Krakowie na przestrzeni 2008 do 2014 roku wykazały, że u ponad 2/3 pacjentów ze zdiagnozowanym CDI zostało zakażonych w trakcie pobytu w szpitalu [14]. Według danych European *Clostridium Difficile* Infection Surveillance (ECDIS) zapadalność na CDAD w polskich szpitalach wynosi około 76 na 10 tys. hospitalizacji. *Clostridium difficile* jest przyczyną 30-50% biegunek poantybiotykowych, a u około 30% pacjentów dochodzi do nawracających zakażeń i aż u 45-65% z nich rozwijają się kolejne nawroty choroby.

Przebieg zakażenia *Clostridium difficile* stają się coraz większym problemem, jest nie tylko cięższy wśród osób starszych, gdzie zwiększa się zapadalność na CDAD oraz większe jest ryzyko ciężkiego przebiegu choroby czy zgonu, ale także u osób po zabiegach operacyjnych zwłaszcza przewodu pokarmowego, z niewydolnością krążenia jak również u pacjentów z obniżoną odpornością (Tab.2). W przypadku infekcji wysoce wirulentnym szczepem rybotypu 027, ryzyko zgonu u osób starszych jest 2–3-krotnie wyższe (Hryniewicz 2011). Dane pochodzące z USA i Europy wskazują na 10-90 przypadków CDI w przeliczeniu na 10 tys. hospitalizacji rocznie (Hryniewicz 2011).

Tab.2 Departament Zapobiegania oraz Zwalczenia Zakażeń i Chorób Zakaźnych u Ludzi GIS Zachorowania na wybrane choroby zakaźne w Polsce od 1 stycznia do 31 grudnia 2016 r. oraz w porównywalnym okresie 2015 i 2014 roku liczba zachorowań i zapadalność na 100 tys. (Raport GIS 2016).

Jednostka chorobowa	01.01-31.12.2016 r.		01.01 -31 12.2015 r.		01.01 -31 12.2014 r.	
	Liczba	zapadalność	Liczba	zapadalność	Liczba	zapadalność
Inne zakażenia bakteryjne ogółem						
Ecoli biegunkotwórcze	332	0,86	365	0,95	464	1,21
E. coli enterokrwotoczną	8	0,02	1	0,0	8	0,02
E. coli inną i BNO	230	0,85	495	1,29	597	1,55
Camphylobacter	790	2,06	657	1,71	652	1,69
Y.enterocolitica lub pseudotuberculosis	173	0,45	187	0,49	215	0,56
<i>Clostridium difficile</i>	8736	22,73	8790	23,31	6426	16,70
inne określone	953	2,48	926	2,41	991	2,58
nie określone	1711	4,45	1690	4,39	1979	5,14
Razem	13029	33,91	13,291	34,54	11332	29,45

Pod kątem analizy ryzyka zakażeń niezmiennie przodują oddziały intensywnej terapii anestezjologicznej oraz oddziały zabiegowe (m.in. neurochirurgii, chirurgii ogólnej). Większa wykrywalność patogenów alarmowych na powyższych oddziałach ma bezpośredni związek z częstością przeprowadzanych badań. Niestety dominującym trendem jest ograniczanie liczby badań (w Polsce o połowę mniejsza niż przewiduje norma europejska).

5. Podsumowanie

Wyniki wielu badań wskazują, że istotne znaczenie w szerzeniu zakażeń *C. difficile* ma obecność form przetrwalnikowych na rękach personelu medycznego. Wzrost ryzyka związanego z hiperwirulentnymi szczepami powoduje konieczność wprowadzenia procedur pozwalających na wczesne wykrywanie i eliminację źródeł zakażenia.

Wysoka częstość zakażeń *C. difficile* wśród pacjentów hospitalizowanych, w szczególności wśród osób w podeszłym wieku, stwarza ogromne problemy w zakresie zdrowia publicznego. Przyjęcie właściwych strategii zapobiegania, optymalizacja początkowego leczenia i zmniejszenie ryzyka nawrotu stanowi wyzwanie dla postępowania z pacjentami z CDI.

6. Piśmiennictwo

- Bauer M, Hensgens MP, Miller MA i in. (2012) Renal failure and leukocytosis are predictors of a complicated course of *Clostridium difficile* infection if measured on day of diagnosis. *Clin. Infect. Dis.* 55 (supl. 2): S149–S153.
- Brown KA, Khanafer N, Daneman N, Fisman DN (2013) Meta-analysis of antibiotics and the risk of community-associated *Clostridium difficile* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 2326-2332.
- Chang JY, Antonopoulos DA, Kalra A i in. (2008) Decreased diversity of the fecal microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J. Infect. Dis.* 197: 435-438.
- Cianciara J, Juszczyk J (2007) Choroby zakaźne i pasożytnicze. Lublin 649-654.
- Culligan EP, Sleator RD (2016) Advances in the Microbiome: Applications to *Clostridium difficile* Infection. *J Clin Med.* 5. pii: E83.
- Czepiel J, Kędzierska J, Biesiada G i in. (2015) Epidemiology of *Clostridium difficile* infection results of a hospital-based study in Krakow, Poland. *Epidemiol Infect* 143(15):3235-3243.
- Grzesiowski P (2008) Krytyczne procedury. *Menadżer zdrowia* 4, 44–48.
- Hryniewicz W, Martirosian G, Ozorowski T (2011) Zakażenia *Clostridium difficile*. Diagnostyka, terapia, profilaktyka. Wyd.1. Warszawa: Narodowy Instytut Leków 5-6.
- Hirshon JM, Thompson AD, Limbago B i in. (2011) *Clostridium difficile* infection in outpatients, Maryland and Connecticut, USA, 2002-2007. *Emerg Infect Dis* 17, 1946-9.
- Jarvis WR, Schlosser JA, Jarvis A (2009) National point prevalence of *Clostridium difficile* in US health care facility inpatients, 2008. *Am J Infect Control* 37, 263-70.
- Lamont T (2015) *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 372:1539-1548.
- Lewis S, Heaton K (1997) Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time, *Scand J Gastroenterol* 32: 920-924.
- Miller M, Gravel D, Mulvey M i in. (2010) Health care-associated *Clostridium difficile* infection in Canada: patient age and infecting strain type are highly predictive of severe outcome and mortality. *Clin. Infect. Dis.* 50: 194–201.
- Ooijsaar R, Beurden Y, Terveer E i in. (2018) Update of treatment algorithms for *C. difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2018; <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.12.022>.
- Pituch H, Obuch-Woszczatyński P, Lachowicz D i in. (2018) Prevalence of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhoea: Results of a Polish multicenter, prospective, biannual point-prevalence study. *Adv Med Sci* 63(2):290–295 [doi: 10.1016/j.advms.2018.03.003].
- Raport Stan Sanitarny Kraju (2016) Główny Inspektorat Sanitarny.
- Yee J, Dixon C, McLean A i in. (1991) *Clostridium difficile* disease in a department of surgery: the significance of prophylactic antibiotics. *Arch. Surg.* 126: 241–246.

5. Przegląd zastosowania różnego typu organoidów

An overview of various types of organoids

Paula Chlebanowska, Anna Tejchman, Marcin Majka

Zakład Transplantologii, Katedra Immunologii i Transplantologii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum
Opiekun naukowy Marcin Majka

Paula Chlebanowska: paula.chlebanowska@doctoral.uj.edu.pl

Marcin Majka: mmajka@cm-uj.krakow.pl

Słowa kluczowe: struktury 3D, hodowle w zawieszynie, komórki macierzyste, różnicowanie

Streszczenie

Hodowle 3D pozwoliły na zapoczątkowanie i rozwój struktur zwanych organoidami. Mogą być one tworzone z różnego typu komórek, stosowane protokoły różnicowania pozwalają utworzyć modele wielu tkanek. Szerokie możliwości zastosowania hodowli 3D pozwalają zarówno prześledzić dokładnie organogenezę, ale także stanowią doskonałe narzędzie do modelowania chorób, pomagają w poszukiwaniu skuteczniejszych metod leczenia. Co więcej w przyszłości mogą tworzyć doskonałe narzędzie dla medycyny regeneracyjnej. W niniejszej pracy przedstawiamy przegląd prac związanych z hodowlą tych struktur, metody ich zastosowania oraz podajemy przykłady dotychczasowego wykorzystania ich w badaniach.

1. Wstęp

Badania prowadzone na przestrzeni ostatnich lat pozwoliły poznać procesy odpowiedzialne za powstawanie komórek macierzystych. Wiele prac z zakresu biologii rozwoju pozwoliło zrozumieć jak kontrolować macierzystość komórek w tym ich samoodnowę, tworzyć progenitory różnego typu co pozwala na różnicowanie do linii specyficznych tkankowo. W tym samym czasie zostały opracowane metody, które pozwalają na regenerację tkanki przy pomocy komórek macierzystych, bądź bardziej zróżnicowanych typów komórek (Murry i Keller 2008). Ostatnia dekada dała możliwość badania tkanek oraz biologii organów poprzez tworzenie organoidów (Lancaster i Knoblich 2014). Fakt, że zróżnicowanie funkcjonalne zależy od architektury 3D, zostało przyjęte już jakiś czas temu. Wiele prac z ostatnich 50 lat wykazywało, że komórki hodowane w 2D nie odzwierciedlają naturalnego środowiska *in vivo*. Strukturalnie hodowle 2D nie zapewniają organizacji i interakcji komórkowych obserwowanych *in vivo*. Ponadto sieć sygnalizacji komórkowej jest zmieniona w formacie 2D w porównaniu z 3D, co prawdopodobnie wyjaśnia, dlaczego wyniki badań przesiewowych leków często nie odzwierciedlają stanu *in vivo* (Simian i Bissell 2016).

Jedną z najistotniejszych dat w historii tworzenia organoidów jest rok 1970. Wtedy właśnie Green i Rheinwald uzyskali ko-kulturę pierwotnych ludzkich keratynocytów wraz z fibroblastami (Rheinwald i Green 1975). Jednakże to i wiele innych prób w hodowli różnych linii komórkowych na sztucznych powierzchniach 2D nie pozwalało na badanie zachowania i interakcji komórek w naturalnym środowisku, które są nierozdzielnie związane z trójwymiarową organizacją komórek w tkankach i narządach. Wypracowanie systemu hodowli 3D, które skutkowało lepszym zrozumieniem biologii macierzy zewnątrzkomórkowej oraz rozwojem metod hodowli w zawieszynie, odegrało kluczową rolę w tworzeniu organoidów. Jednym z pierwszych przykładów tego, co dzisiaj moglibyśmy nazwać organoidami, były struktury pochodzące z gruczołu sutkowego. Pozwoliło to na wykazanie, że morfogeneza *in vitro* może być obserwowana na matrycach 3D bogatych w lamininę. Hodowle te prowadziły do otrzymania funkcjonalnych struktur przypominających pęcherzyki, które charakteryzowały się zarówno polaryzacją nabłonka, jak i wydzielaniem kierunkowym rozwiniętym dzięki ich interakcji z błoną podstawną (Rossi i Manfrin i Lutolf 2018). Jednak najbardziej przełomowe prace pojawiły się w roku 2009 pod kierownictwem Hans'a Clevers'a (Sato i in. 2009) oraz 2011 pod kierownictwem Yoshiki Sasai (Eiraku i in. 2011). To wtedy rozpoczął się przełom

związany z organoidami. Clevers wraz ze współpracownikami wykazali, że organoidy jelitowe (Sato i in. 2009) mogą pochodzić z jelitowych dorosłych komórek macierzystych (ASC), natomiast Sasai i współpracownicy wykazali, że indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPS) można wykorzystać do tworzenia *in vitro* tkanek mózgu (Eiraku i in. 2008) oraz pęcherzyków ocznych (Eiraku i in. 2011). Ich prace promowały ideę, że komórki macierzyste mają wewnętrzną zdolność do samoorganizacji w struktury 3D, które przypominają organy *in vivo*. Pozostaje to jedną z podstawowych koncepcji leżących u podstaw biologii organoidów. W efekcie tych pionierskich badań innym naukowcom udało się wygenerować organoidy z różnych źródeł oraz z różnych gatunków.

W obecnych czasach ciężko jest jednak jednoznacznie zdefiniować termin „organoidy”. Pojęcie organoidu zaczęło obejmować szereg technik hodowli komórkowych. Poniżej znajdują się przykłady definicji z ostatnich artykułów naukowych:

- A. „W dziedzinie biologii gruczołu sutkowego, termin organoidy odnosi się do pierwotnych eksplantów przewodów nabłonkowych hodowanych na macierzy zewnątrzkomórkowej 3D (ECM). Odwrotnie, w badaniach biologii jelit organoidy mogą odnosić się do klonalnych pochodnych pierwotnych nabłonkowych komórek macierzystych, które rosną bez mezenchym lub mogą odnosić się do ko-kultur nabłonkowo-mezenchymalnych pochodzących z embrionalnych komórek macierzystych lub indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych.” (Shamir i Ewald 2014)
- B. „Dlatego chcielibyśmy zdefiniować organoid jako strukturę zawierającą kilka typów komórek, które rozwijają się z komórek macierzystych lub prekursorów narządów i samoorganizują się poprzez segregację komórek i ograniczenie wchodzących w jego skład linii, podobnie jak w procesie *in vivo*” (Lancaster i Knoblich 2014)
- C. „Organoid jest teraz definiowany jako struktura 3D wyhodowana z komórek macierzystych i składająca się ze specyficznych dla narządu typów komórek, które się samoorganizują się poprzez segregację i ograniczenie przestrzenne zawartych w nim linii...” (Clevers 2016)
- D. „W tym miejscu definiujemy organoid jako strukturę komórek 3D *in vitro* pochodzącą wyłącznie z tkanki pierwotnej, embrionalnych komórek macierzystych lub indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych, zdolnych do samoodnowy i samoorganizacji oraz komórek wykazujących podobną funkcjonalność, jak organ, z którego pochodziła tkanka” (Fatehullah, Tan i Barker 2016)

Przez lata termin „organoidy” był definiowany oraz używany dla różnych typów kultur *in vitro*. Nadal definicja tego typu struktur nie jest określana jednakowo. Jednakże w tym przeglądzie, chcemy omówić organoidy jako złożone z komórek formy hodowli 3D, które wykazują strukturę oraz funkcjonalność podobną do organów *in vivo*. Rozwijają się z komórek macierzystych lub progenitorów specyficznych narządowo poprzez proces samoorganizacji (Clevers 2016; Lancaster i Knoblich 2014).

2. Otrzymywanie organoidów

Rozwój organoidów zwykle obejmuje samoorganizację dość jednorodnej populacji komórek. Samoorganizację można zdefiniować jako zdolność komórek, które początkowo nie mają uporządkowanej struktury, do przestrzennego rozmieszczenia kierowanego przez autonomiczne mechanizmy komórek, nawet jeśli są wystawione na jednolite środowisko czynników kierujących. Informacje dotyczące tego procesu pochodzą z dziesięcioleci badań w dziedzinie biologii rozwoju (Sasai 2013). W procesie samoorganizacji obserwowanej podczas tworzenia organoidów można zaobserwować:

Samokierunkowanie (self-patterning) jest to wytworzenie różnych ścieżek sygnałowych podczas różnicowania komórki w początkowo jednorodnej populacji, co skutkuje wytworzeniem autonomicznego systemu mechanizmów sygnałowych oraz lokalną komunikacją międzykomórkową (Rossi, Manfrin i Lutolf 2018).

Natomiast zmiany morfogenetyczne wynikają z organizacji różnych typów komórek w tkance oraz z reorganizacji systemu architektury komórek. W rozmieszczeniu komórek w tkance pośredniczą fizyczne interakcje pomiędzy różnymi typami komórek, które obejmują różnice

w adhezji komórka – komórka, a także napięcia, kurczliwość i ruchliwość komórek (Sasai 2013; Rossi, Manfrin i Lutolf 2018). Przeorganizownia architektury komórki są powodowane przez wewnętrzną mechanikę układu wynikającą ze zmian w kształcie komórki, skurczu komórek, ruchu komórek lub ekspansji różnicowania tkankowego (Sasai 2013).

Tworzenie organoidów polega na odtworzeniu tych procesów i wymaga starannego rozważenia trzech głównych cech: fizycznej charakterystyki środowiska hodowlanego; wymogów autonomicznego systemu komórki, tj. endogennych oraz egzogennych sygnałów; oraz wyjściowego typu komórek. Wybór dokonany w odniesieniu do każdej z tych cech może mieć wpływ na ostatecznie utworzony organoid (Sasai 2013).

Bardzo ważnym elementem tworzenia tego typu struktur jest środowisko hodowli. Najczęstszym sposobem otrzymania struktury 3D organoidów jest stosowanie białek macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) typu matrigel. Komórki mogą do niej przylegać, przez co wspierany jest ich wzrost. Naturalną macierzą zewnątrzkomórkową jest matrigel pozyskiwany z mięsaka Engelbreth-Holm-Swarm występującego u myszy. Jest to najczęściej stosowana matryca do trójwymiarowego pozyskiwania organoidów. Jelito, mózg, grasicca i organoidy gruczołu sutkowego są tylko niektórymi przykładami, które z powodzeniem wygenerowano stosując matrigel lub podobne hydrożele pochodzenia zwierzęcego, które naśladują błony podstawne. Istnieją również nieliczne przykłady stosowania matryc kolagenowych typu I do tworzenia organoidów gruczołu sutkowego oraz jelit. Główną zaletą naturalnych matryc jest obecność złożonej mieszanki składników matrycy zewnątrzkomórkowej i czynników wzrostu, co sprawia, że wzrost komórek i ich różnicowanie są bardziej wydajne. Jednak złożoność i zmienność składu utrudniają kontrolowanie środowiska hodowli, co może obniżyć odtwarzalność. Z tych powodów w ostatnim czasie wprowadzono chemicznie zdefiniowane hydrożele, jako substytut mniej zdefiniowanych naturalnych matryc. Te hydrożele umożliwiają kontrolowanie biochemii i mechaniki środowiska hodowli, ale są z natury mniej bioaktywne i muszą być indywidualnie dostosowane do specyficznych wymagań różnych organoidów (Rossi, Manfrin i Lutolf 2018).

Inną strategią, która została przyjęta do tworzenia organoidów jest hodowla agregatów komórek 3D w zawieszynie. Chociaż w zawieszynie nie wykorzystuje się matrycy do tworzenia struktur komórkowych, w niektórych przypadkach dodaje się niskie stężenia matrigelu (Eiraku i in. 2011). Innym podejściem, jak w przypadku tworzenia organoidów nerki, jest metoda powietrze – ciecz, w której komórki są hodowane na cienkiej, mikroporowatej membranie z medium do hodowli komórek tylko na jednej ze stron membrany. Tak utworzone struktury komórkowe organizują się wielowarstwowo, co przypomina mikroarchitekturę nerki (Takasato i in. 2014).

W obecnym momencie decyzja o zastosowaniu określonego protokołu otrzymywania organoidów jest w dużej mierze zależna od indywidualnego doświadczenia. W istocie brakuje systematycznych porównań różnych protokołów wyprowadzania określonego typu organoidów, co nie oznacza, że nie jest jeszcze możliwe oszacowanie względnych mocnych i słabych stron oraz zastosowań każdego protokołu. Większość organoidów pochodzi z wyjściowej populacji komórek, która została wystawiona na działanie specyficznych czynników w określonych punktach czasowych, co powoduje aktywację pożądanych szlaków sygnałowych. Sygnały te mogą z kolei wywołać samoorganizację, ale tylko wtedy, gdy wszystkie niezbędne składniki są obecne. Brakujące komponenty muszą być dostarczone egzogennie, aby samoorganizacja przebiegała prawidłowo (Rossi, Manfrin i Lutolf 2018).

Ogólnie rzecz ujmując, gdy protokół pozyskiwania organoidów zaczyna się od pojedynczej komórki, wymagany jest wczesny etap ekspansji komórek, zanim może nastąpić samoorganizacja. Inne podejście reprezentują protokoły obejmujące ko-hodowlę różnych typów komórek, które zostały oddzielnie wstępnie zróżnicowane, tak jak w przypadku organoidów wątrobowych pochodzących z komórek progenitorowych. W tych protokołach odmienny charakter komórek został już w dużym stopniu ustalony, dlatego samoorganizacja obejmuje przede wszystkim organizację komórek w obrębie struktury 3D i późniejsze przegrupowania jej architektury. Jednak organoidy uzyskane przez ko-hodowlę dostarczają mniej informacji w przypadku badania organogenezy niż modele, w których różne typy komórek są generowane jednocześnie (Rossi, Manfrin i Lutolf 2018).

3. Zastosowanie organoidów

3.1 Modelowanie chorób

Oczywistą zaletą kultur organoidów w modelowaniu chorób w porównaniu z tradycyjnymi hodowlami komórkowymi 2D jest ich zdolność do naśladowania patologii na poziomie narządów. W porównaniu z kulturami dwuwymiarowymi, organoidy mogą dostarczać bardziej szczegółowych informacji na temat rozwoju, homeostazy oraz patogenezы i mogą oferować nowe podejścia do diagnozowania i leczenia chorób. Na przykład organoidy mózgowe przedstawiają specyficzne dla człowieka procesy neurogenne, stwarzając w ten sposób okazję do badania rozwoju ludzkiego mózgu (Lancaster i in. 2013). W przypadku ludzkich organoidów mózgowych, zastosowane było długoterminowe obrazowanie *in situ*. System ten został użyty do modelowania fizyki fałdowania korowego. Organoidy mózgu zostały również wykorzystane do wykazania, że wirus Zika preferencyjnie infekuje progenitorowe komórki nerwowe i zmniejsza ich proliferację, a także żywotność, co z kolei może być przyczyną mikrocefalii (Li i Izpisua Belmonte 2019).

Co więcej, organoidy mogą być używane jako mikro systemy do badania zasad samoorganizacji komórek w tkance. Interesujący przykład pochodzi z badań nad embrionalnymi modelami zarodkowymi - gastrulacji (gastruloidów). W tych systemach komórki przyjmują przestrzennie zorganizowane struktury w wyniku jednolitej ekspozycji na konkretny czynnik, co oznacza, że same się organizują. W niektórych z tych badań zastosowano kombinację modeli matematycznych *in silico* i danych eksperymentalnych, aby przebadać określone mechanizmy molekularne. Modele te zostały następnie wykorzystane do przewidywania zachowania gastruloidów w odpowiedzi na zmianę warunków początkowych. Tego typu modelowanie może pomóc wyjaśnić mechanizmy leżące u podstaw samoorganizacji i przewidzieć wpływ różnych warunków na wynik, zwiększając w ten sposób naszą zdolność do kontrolowania złożonych struktur wielokomórkowych *in vitro* (Rossi, Manfrin i Lutolf 2018). Dobrym przykładem modelowania chorób są ludzkie organoidy żołądkowe. Mikroiniekcja bakteriami *Helicobacter pylori* z powodzeniem odtwarza typowe objawy tej infekcji bakteryjnej. Ten model jest szczególnie istotny, ponieważ specyficzne dla gatunku cechy żołądka sprawiają, że modele zwierzęce nie nadają się do badania patologii żołądka u ludzi. Zakażenie *H. pylori* u myszy nie przechodzi w owrzodzenie i raka, tak jak u ludzi (Bartfeld i in. 2015).

3.2 Badanie toksyczności leków oraz medycyna spersonalizowana

Powodowanie toksyczności względem organów jest główną przyczyną niepowodzeń w opracowywaniu leków oraz wycofywaniu ich z rynku (Siramshetty, Nickel i Omieczynski 2016). Obecne badania toksykologiczne, w których wykorzystuje się linie komórkowe i modele zwierzęce, często nie przewidują wszystkich niepożądanych skutków ubocznych u ludzi. Trójwymiarowe organoidy mogą stanowić dokładniejsze narzędzie w badaniu toksyczności. Inne zalety organoidów obejmują ich stabilność genetyczną i skalowalność w przypadku badań przesiewowych. Na przykład ludzkie komórki progenitorowe nerki mają prawie nieograniczoną zdolność do samoodnawiania się w kulturze trójwymiarowej, co może być dużą zaletą dla standaryzacji przesiewowych testów nefrotoksyczności. Agencja ds. Żywności i Leków rozpoczęła testowanie trójwymiarowych konstrukcji „liver-on-a-chip” do badania toksyczności wątrobowej związków stosowanych w dodatkach do żywności, suplementach diety i kosmetykach (Li i Izpisua Belmonte 2019).

Literatura donosi również o pionierskich wynikach stosowania organoidów w testowaniu leków na mukowiscydozę (CF), chorobę genetyczną spowodowaną przez defekty genu CFTR. Organoidy jelitowe pochodzące od pacjentów niosące mutacje CFTR, stanowią prawdopodobnie jedyny przykład organoidów, które zostały już zastosowane w medycynie spersonalizowanej. Organoidy pochodzące od jednego pacjenta z bardzo rzadką mutacją CFTR bez znanego leczenia, stosowano do badania przesiewowego istniejących leków na CF. Wykazano wrażliwość na lek już stosowany w leczeniu innych mutacji tej choroby, umożliwiając pacjentowi dostęp do leczenia o korzystnych skutkach (Rossi, Manfrin i Lutolf 2018).

3.3 Medycyna regeneracyjna

Materiał do przeszczepu jest zawsze rzadki i pilnie potrzebne są alternatywne źródła. W związku z tym, że organoidy mogą być tworzone z niewielkich ilości komórek dawcy, ekspandowane i różnicowane *in vitro*, mogą dostarczyć autologiczne komórki lub w przyszłości tkankę do przeszczepu. Organoidy zostały już przeszczepione do mysiej okrężnicy, gdzie wszczepiły się i zachowały typowe cechy narządów, takie jak architekturę tkanki i status różnicowania komórek. Podobnie, ludzkie wątrobowe organoidy zostały wszczepione do wątroby myszy, a przeszczepione organoidy nerki zostały unaczynione. Przyszłe badania muszą wykazać, czy przeszczepy będą wykazywać wszystkie funkcje tkanki. Autologiczne przeszczepienia organoidów umożliwiłyby również korektę genów za pośrednictwem narzędzi tj. CRISPR / Cas9 dla mutacji powodujących chorobę (Bartfeld i in. 2015).

Co więcej zdolność organoidów do dostarczania komórek, które są kompetentne do rekonstrukcji funkcji narządów, a równocześnie są też niszą, która chroni przeszczep, może stanowić zaletę tego typu terapii komórkowej. Hipoteza ta jest poparta badaniem, które wykazało, że przeszczepy struktur 3D lepiej integrują się z siatkówką u myszy niż zdysocjowane embrionalne progenitory siatkówki (Assawachananont i in. 2014).

3.4 Organoidy w onkologii

Rozwój nowotworu jest procesem wieloczynnikowym opartym na akumulacji aberracji genetycznych oraz czynników środowiskowych. Ustalenie wiarygodnych narzędzi badawczych dla różnych nowotworów jest utrudnione przez wiele czynników. Przede wszystkim dostępność materiału nowotworowego może być trudna. Ponadto powszechnie stosowane kultury 2D wytwarzane z pierwotnych nowotworów nie odzwierciedlają różnorodności heterogenicznej guza, oddziaływań środowiskowych na nowotwór oraz mają tendencję do gromadzenia dalszych mutacji po kilku pasażach. Mimo, że można ominąć wiele przeszkód, to jednak modele nowotworów z hodowli 2D w zwierzętach są niedokładne względem fizjologii danego organizmu, przez co nie odzwierciedlają w pełni ludzkiej genetyki i wpływów środowiska (Perkhofer i in. 2018).

Innym podejściem, bardziej precyzyjnym modelem są przeszczepy nowotworowe pochodzące od pacjenta do zwierzęcia. Świeżo wycięte fragmenty guza przeszczepia się myszom z obniżoną odpornością w postaci podskórnej (Morton i Houghton 2007). Model ten w większym stopniu odzwierciedla ludzką sytuację *in vivo* ze względu na niejednorodność guza, ale wymaga dużego nakładu pracy, czasu i zdolności. Tak więc, w przypadku niektórych typów nowotworów, pacjenci mogą nie przeżyć, do czasu zakończenia badania leku opartego na heteroprzeszczepie, który ma ujawnić zindywidualizowane podejścia do chemioterapii. Co więcej, heteroprzeszczepy nowotworowe pochodzące od pacjenta są mało przydatne jako wysokowydajne narzędzie przesiewowe (Perkhofer i in. 2018).

W ciągu ostatnich lat ustalono różne protokoły hodowli organoidów z różnych nowotworów. Wysiłki te doprowadziły do powstania organoidów nowotworowych pochodzących od pacjentów (PDO, ang Patient Derived Organoids), które mogą być generowane z wysoką wydajnością i są łatwe do utrzymania w określonych warunkach. PDO można wytworzyć albo z krążących komórek nowotworowych, albo z guzów litych. PDO mogą służyć jako uproszczone podejście do przewidywania działania leku, aktywności wiązania oraz wrażliwości na lek lub promieniowanie w poszczególnych dawkach. PDO są w stanie dokładniej odwzorować niejednorodność guza i mikrośrodowisko niż poprzednie systemy modelowe (Vlachogiannis i in. 2018).

4. Wnioski

Podsumowując, organoidy stanowią nową i szybko rozwijającą się technologię. Mają zdolność naśladowania specyficznych aspektów składu tkanek i funkcjonalności rzeczywistych narządów, przy jednoczesnym zachowaniu zalet uproszczonych i łatwo dostępnych modeli hodowli komórkowych. W związku z tym są bardzo obiecujące dla szeregu zastosowań biologicznych i biomedycznych. W badaniach biologii podstawowych tkanek i narządów potencjał wykorzystania organoidów do powielenia zjawisk *in vivo* został już wyraźnie ujawniony. Być może najbardziej

interesującą perspektywą w podstawowych badaniach organoidów jest zdolność do badania rozwoju człowieka (i chorób) bez ograniczeń dostępności tkanek.

Droga do szeroko zakrojonego przełożenia technologii organoidów na rzeczywiste zastosowania przedkliniczne i kliniczne jest znacznie trudniejsza. Niemniej jednak, jak omówiono powyżej, obecnie pojawiają się badania, które pokazują możliwy potencjał organoidów w medycynie personalizowanej, odkrywaniu leków, medycynie regeneracyjnej, a także terapii genowej.

Wiele już osiągnięto w odkrywaniu niesamowitego poziomu samoorganizacji, który komórki macierzyste mogą generować, gdy są hodowane w odpowiednich warunkach 3D. Opublikowano również przełomowe badania dotyczące zastosowania różnych typów organoidów. Jednak nadal istnieje wiele ograniczeń. Główne wyzwania obejmują regulację samoorganizacji w celu generowania organoidów, które rozwijają się do fizjologicznie istotnych kształtów i rozmiarów. Przedłużając żywotność organoidów, możliwe będzie stworzenie dojrzałej funkcjonalnie tkanki, która osiąga homeostazę i przedstawia model wieloczynnikowy poprzez włączenie dodatkowych kluczowych rodzajów tkanek (takich jak układ naczyniowy lub układ odpornościowy). Przewycięzenie tych wyzwań będzie wymagało wielodyscyplinarnego podejścia, a wiedza z dziedziny bioinżynierii będzie prawdopodobnie szczególnie istotna (Bartfeld i Clevers 2017; Lancaster i Knoblich 2014; Perkhofier 2018; Rossi, Manfrin i Lutolf 2018).

5. Literatura

- Assawachananont J, Mandai M, Okamoto S, et al. (2014) Transplantation of embryonic and induced pluripotent stem cell-derived 3D retinal sheets into retinal degenerative mice. *Stem Cell Rep.* 2: 662–674.
- Bartfeld S, Bayram T, van de Wetering M, et al. (2015) In vitro expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection. *Gastroenterology* 148: 126–136.
- Clevers H (2016) Modeling development and disease with organoids. *Cell* 165: 1586–1597.
- Fatehullah A, Tan SH, Barker N (2016) Organoids as an in vitro model of human development and disease. *Nat. Cell Biol.* 18: 246–254.
- Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, et al. (2011) Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature* 472: 51–56.
- Eiraku M, Watanabe K, Matsuo-Takasaki M, et al. (2008) Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals. *Cell Stem Cell* 3: 519–532.
- Lancaster MA, Knoblich JA (2014) Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 345: 1247125.
- Lancaster MA, Renner M, Martin CA, et al. (2013) Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature* 501: 373-9.
- Li M, Izpisua Belmonte JC (2019) Organoids – Preclinical Models of Human Disease. *N. Engl. J. Med.* 380(6): 569-579.
- Morton CL, Houghton PJ (2007) Establishment of human tumor xenografts in immunodeficient mice. *Nat. Protoc.* 2(2), 247–250.
- Murry CE, Keller G (2008) Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell* 132: 661–680.
- Perkhofier L, Frappart PO, Muller M, et al. (2018) Importance of organoids for personalized medicine. *Per. Med.* 15(6): 461-465.
- Rheinwald JG, Green H (1975) Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell* 6, 331-343.
- Rossi G, Manfrin A, Lutolf MP (2018) Progress and potential in organoid research. *Nat Rev Genet.* 19(11): 671-687.
- Sasai Y (2013) Cytosystems dynamics in self-organization of tissue architecture. *Nature* 493: 318–326.
- Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. (2009) Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 459: 262–265.

- Shamir ER, Ewald AJ (2014) Three-dimensional organotypic culture: Experimental models of mammalian biology and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15: 647–664.
- Simian M, Bissell MJ (2016) Organoids: A historical perspective of thinking in three dimensions. *J Cell Biol.* 216(1): 31-40.
- Siramshetty VB, Nickel J, Omieczynski C, et al. (2016) WITHDRAWN — a resource for withdrawn and discontinued drugs. *Nucleic Acids Res.* 44(D1): D1080-D1086.
- Takasato M, Er PX, Becroft M, et al. (2014) Directing human embryonic stem cell differentiation towards a renal lineage generates a self-organizing kidney. *Nat. Cell Biol.* 16: 118–126.
- Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. (2018) Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science* 359(6378): 920–926.

6. Kolonizacja błon śluzowych nosogardzieli i gardła osób zdrowych przez pałeczki Gram-ujemne z uwzględnieniem ich wrażliwości na antybiotyki beta-laktamowe

The colonization of nasopharyngeal and throat mucous membranes of healthy people with Gram-negative rods including beta-lactams sensitivity

Chwiejczak Edyta⁽¹⁾, Kosikowska Urszula⁽¹⁾, Sępień-Pyśniak Dagmara⁽²⁾, Urban Barbara⁽³⁾, Malm Anna⁽¹⁾

⁽¹⁾Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Zakład Chorób Ptaków, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽³⁾1 Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką SP ZOZ w Lublinie
Opiekun naukowy: Urszula Kosikowska

Edyta Chwiejczak: edytachwiejczak@interia.pl

Słowa kluczowe: mikrobiota, układ oddechowy, leki przeciwdrobnoustrojowe

Streszczenie

Kolonizacja układu oddechowego osób zdrowych przez pałeczki Gram-ujemne w niektórych sytuacjach (np. immunosupresja) może powodować problemy zdrowotne i terapeutyczne.

Celem badań była ocena występowania w gardle i nosogardzieli osób zdrowych pałeczek Gram-ujemnych i ich wrażliwości na beta-laktamy bez i w skojarzeniu z inhibitorem beta-laktamaz.

Izolaty pochodzące z wymazów z nosogardzieli i gardła pobranych od 50 zdrowych osób, zidentyfikowano z użyciem spektrometrii mas, ich lekowrażliwość oceniano przy użyciu VITEK 2 Compact.

Pałeczki Gram-ujemne występowały w nosogardzieli lub w gardle odpowiednio u 42% i 30% osób. Dominowały odpowiednio: *Enterobacteriaceae* (55% i 50%), pałeczki niefermentujące (9% i 28%), *Morganellaceae* (23% i 17%).

Wszystkie pałeczki niefermentujące glukozy były wrażliwe na ceftazydim, cefepim, imipenem i meropenem. Wśród *Enterobacteriaceae* wszystkie były odporne na ampicylinę, 48% na augmentin oraz 33% na cefuroksym; żaden z tych izolatów nie był odporny na pozostałe cefalosporyny i karbapenemy. Wśród *Morganellaceae* zidentyfikowano 38% izolatów naturalnie opornych na ampicylinę, augmentin i cefalosporyny II generacji. 50% izolatów *Proteus mirabilis* wrażliwych na meropenem wykazywało obniżoną wrażliwość na imipenem, natomiast pozostałe *Morganellaceae* wykazywały wrażliwość na karbapenemy.

Kolonizacja dróg oddechowych pałeczkami Gram-ujemnymi opornymi na beta-laktamy jest częsta. Ich obecność w mikrobiocie zdrowego człowieka stanowi rezerwuuar drobnoustrojów mogących wywoływać trudne do zwalczania zakażenia oportunistyczne.

1. Wstęp

Ogół mikroorganizmów komensalnych oraz potencjalnie patogennych bytujących w organizmie ludzkim nazywany jest mikrobiotą (dawniej flora fizjologiczna, mikroflora), natomiast po uwzględnieniu materiału genetycznego tych drobnoustrojów – mikrobiomem (Marchesi i Ravel 2015). Niemal wszystkie regiony ciała człowieka są zasiedlone przez specyficzne dla nich grupy drobnoustrojów, które odgrywają istotną rolę w utrzymaniu homeostazy, m.in. poprzez wspomaganie takich procesów jak wchłanianie witamin, rozkład niektórych związków organicznych (Thursby i Juge 2017). Mikrobiota pełni także w organizmie bardzo ważne funkcje ochronne, stanowi swoistą barierę obronną m.in. przed innymi bakteriami bądź wirusami obecnymi np. we wdychanym powietrzu (mikrobiota oddechowa), lub zawartymi w pożywieniu (mikrobiota układu pokarmowego).

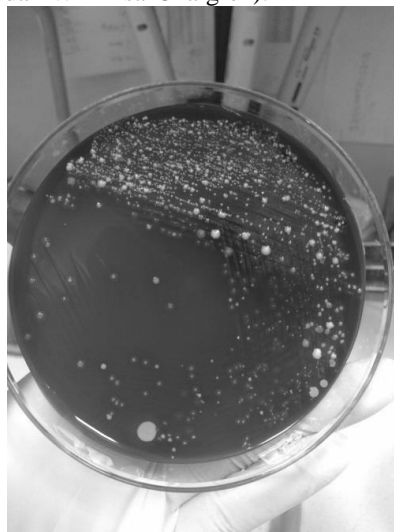
Drobnoustroje, które kolonizują wybrane regiony organizmu i budują jego mikrobiotę, w stanie równowagi z układem odpornościowym nie stanowią zagrożenia dla gospodarza. Dopiero w wyniku obniżenia odporności, translokacji tych mikroorganizmów do innych układów albo obszarów organizmu lub stosowania niektórych substancji, w tym leków przeciwdrobnoustrojowych, są one w stanie wywoływać zakażenia oportunistyczne, które mogą okazać się bardzo niebezpieczne i sprawiać trudności terapeutyczne. Zarówno diagnosta jak i lekarz klinicysta powinien posiadać wiedzę na temat drobnoustrojów, jakie tworzą mikrobiotę człowieka i potencjalnych zagrożeń wynikających z ich obecności oraz umieć różnicować kolonizację i infekcję. Kolonizacja jest to stan, w którym dany drobnoustrój bytuje w konkretnym rejonie organizmu nie wywołując odpowiedzi ze strony układu odpornościowego gospodarza i zmian związanych z występowaniem objawów infekcji (Dani 2014). Dlatego pacjent skolonizowany nie wymaga leczenia, używanie substancji przeciwdrobnoustrojowych jest dopuszczalne tylko w celu eradykacji danego drobnoustroju przed przeprowadzeniem inwazyjnego zabiegu.

Najlepiej poznaną mikrobiotą ludzkiego organizmu jest mikrobiota przewodu pokarmowego – wynika to z dużego bogactwa tworzących ją mikroorganizmów, a także wielu istotnych funkcji, jakie one pełnią. Kolejna niemal równie bogata mikrobiota występuje w układzie oddechowym. Naukowcy wykazali, że nie tylko górne, ale również dolne drogi oddechowe, do niedawna uważane za jałowe, są zasiedlone przez liczne drobnoustroje (Dickson i in. 2016). Mikrobiotę górnych dróg oddechowych człowieka tworzą głównie paciorkowce zieleniące z grupy *viridans*, gronkowce koagulazo-ujemne oraz potencjalnie patogenne lub oportunistyczne drobnoustroje takie jak pałeczki *Haemophilus* spp., *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* oraz grzyby z rodzaju *Candida* (Mathieu i in. 2018). Grupą drobnoustrojów, które najczęściej przejściowo kolonizują górne drogi oddechowe (głównie nosogardziel i gardło), są pałeczki Gram-ujemne, które mogą być czynnikiem etiologicznym wielu zakażeń o skomplikowanym przebiegu, w tym zakażeń inwazyjnych.

Celem badań było określenie częstotliwości kolonizacji błon śluzowych nosogardzieli i gardła przez pałeczki Gram-ujemne oraz ocena ich wrażliwości na standardowo stosowane w terapii ambulatoryjnej i szpitalnej antybiotyki z grupy beta-laktamów i preparaty skojarzone z inhibitorami beta-laktamaz.

2. Materiały i metody

Grupę badaną stanowiło 50 zdrowych ochotników, którzy nie wykazywali objawów infekcji górnych dróg oddechowych. Drobnoustroje izolowano z wymazów pobranych z nosogardzieli oraz gardła. Wymazy posiewano na podłoża mikrobiologiczne (agar krwawy (Rys. 1.) , podłoże Champana, MacConkeya, Sabourauda i Wilkina-Chalgren).



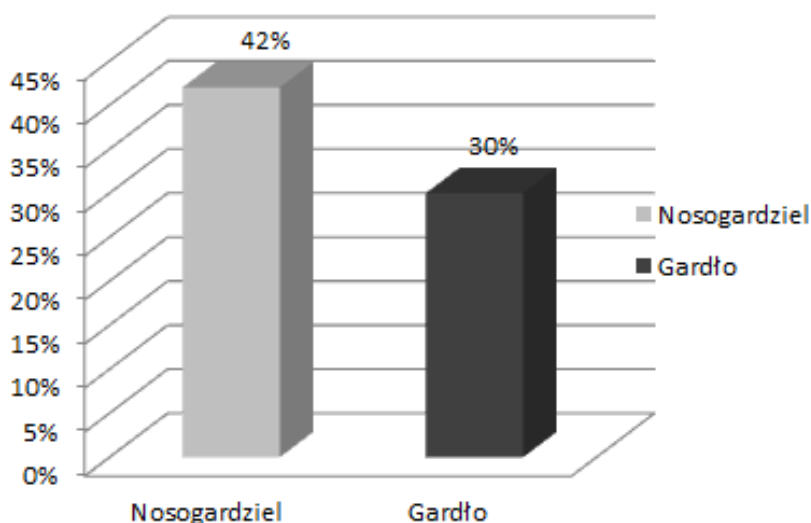
Rys. 1. Posiew redukcyjny wymazu z gardła na podłożu krwawym.

Pałeczki Gram-ujemne izolowano z podłoża MacConkeya, izolaty identyfikowano w oparciu o specyficzne profile białkowe mikroorganizmów z wykorzystaniem spektrometrii mas MALDI-TOF MS (ang. Matrix Assisted Laser Desorption and Ionisation – Time of Flight Mass Spectrometry). Lekowrażliwość izolatów oceniano przy użyciu Vitek 2 Compact, otrzymane wyniki interpretowano zgodnie z zaleceniami EUCAST (ang. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases). Określano wrażliwość drobnoustrojów na beta-laktamy bez (ampicylina, cefalosporyny II, III i IV generacji, karbapenemy) i z inhibitorem beta-laktamaz (amoksycylina z kwasem klawulanowym – augmentin).

3. Wyniki

3.1 Częstość kolonizacji nosogardzieli i gardła osób zdrowych

Wykazano, że pałeczki Gram-ujemne występowały u 42% (21/50) osób w nosogardzieli i u 30% (15/50) w gardle (Rys. 2.), wśród tych osób u 8 (16%) stwierdzono jednoczesną kolonizację pałeczkami Gram-ujemnymi w nosogardzieli i gardle.



Rys. 2. Występowanie pałeczek Gram-ujemnych w zależności od miejsca izolacji.

3.2 Pałeczki Gram-ujemne izolowane z nosogardzieli

W grupie 21 osób z nosogardzieli wyosobniono 22 izolaty pałeczek Gram-ujemnych (nosogardziel jednej z osób była skolonizowana dwoma gatunkami tych bakterii).

Wyodrębniono główne bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* i *Morganellaceae* oraz drobnoustroje kwalifikowane do grupy pałeczek niefermentujących. Izolowano także pojedyncze szczepy z rodziny *Erwiniaceae*, *Yersiniaceae* oraz *Xanthomonadaceae* (Tab. 1.).

3.3 Pałeczki Gram-ujemne kolonizujące gardło

Z wymazów pobranych z gardła 15 osób skolonizowanych przez pałeczki Gram-ujemne wyosobniono 18 izolatów. U dwóch osób w gardle wykazano więcej niż jeden gatunek pałeczek Gram-ujemnych (jeden pacjent skolonizowany jednocześnie dwoma gatunkami oraz jeden pacjent skolonizowany trzema gatunkami w tym samym czasie).

W gardle najczęściej izolowano pałeczki niefermentujące oraz bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* i *Morganellaceae*, wyosobniono także jeden szczep w rodzinie *Erwiniaceae* (Tab. 2.).

Tab. 1. Występowanie pałeczek Gram-ujemnych w nosogardzieli osób zdrowych.

Grupa drobnoustrojów	Gatunek	Liczba izolatów n=22 (%)
Pałeczki niefermentujące	<i>Pseudomonas koreensis</i>	1 (4,5)
	<i>Acinetobacter tandoii</i>	1 (4,5)
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	1 (4,5)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (18)
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (4,5)
	<i>Citrobacter koserii</i>	3 (14)
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	3 (14)
Morganellaceae	<i>Proteus mirabilis</i>	4 (18)
	<i>Morganella morganii</i>	1 (4,5)
Erwiniaceae	<i>Pantoea septica</i>	1 (4,5)
Yersiniaceae	<i>Serratia marcescens</i>	1 (4,5)
Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (4,5)

Tab. 2. Występowanie pałeczek Gram-ujemnych w gardle osób zdrowych.

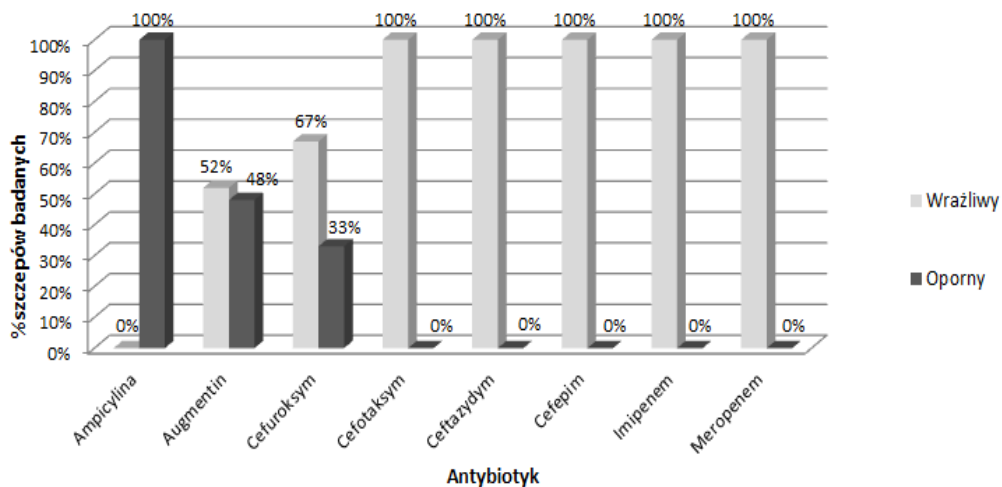
Grupa drobnoustrojów	Gatunek	Liczba izolatów n=18 (%)
Pałeczki niefermentujące	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (6)
	<i>Acinetobacter ursingi</i>	2 (11)
	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1 (6)
	<i>Acinetobacter junii</i>	1 (6)
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	1 (6)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (22)
	<i>Enterobacter cloace</i>	3 (17)
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (6)
Morganellaceae	<i>Proteus mirabilis</i>	1 (6)
	<i>Morganella morganii</i>	2 (11)
Erwiniaceae	<i>Pantoea agglomerans</i>	1 (6)

3.4 Ocena lekowrażliwości pałeczek Gram-ujemnych pochodzących od zdrowych osób Lekowrażliwość pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*

Badaniami objęto łącznie 21 izolatów z rodziny *Enterobacteriaceae* wyosobnionych z nosogardzieli oraz gardła. Wszystkie badane izolaty z tej rodziny wykazywały oporność na ampicylinę, przy czym u 90% (19/21) izolatów wynikała ona z naturalnej oporności bakterii *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. i *Citrobacter* spp. na ten antybiotyk.

Oporność na amoksylicynę z kwasem klawulanowym wykazano w przypadku 48% (10/21) szczepów, 33% (7/21) stanowiły naturalnie odporne na augmentin szczepy *Enterobacter* spp. Pozostałe badane pałeczki *Enterobacteriaceae* wykazywały wrażliwość na użyty w badaniach beta-laktam skojarzony z inhibitorem beta-laktamaz.

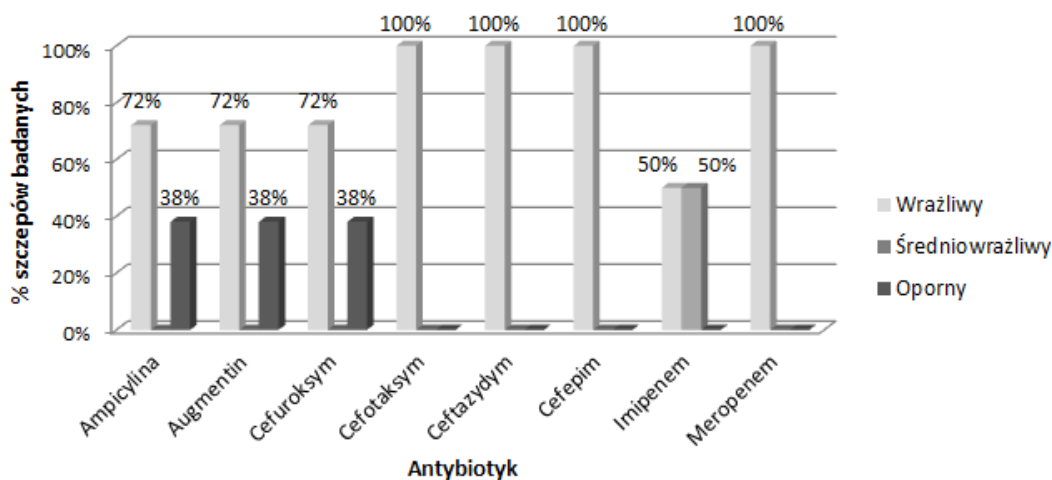
Wykazana na przykładzie cefuroksymu oporność na cefalosporyny II generacji charakteryzowała 33% (7/21) badanych szczepów *Enterobacteriaceae* i wynikała ona z naturalnego braku wrażliwości bakterii z rodzaju *Enterobacter* spp. na te antybiotyki. Wszystkie badane szczepy były wrażliwe na cefalosporyny III (ceftazydym) oraz IV (cefepim) generacji, a także karabapenemy (meropenem i imipenem) (Rys. 3.).



Rys. 3. Lekowrażliwość izolatów *Enterobacteriaceae*.

Lekowrażliwość pałeczek z rodziny *Morganellaceae*

Z nosogardzieli i gardła wyizolowano 8 szczepów z rodziny *Morganellaceae* (3 szczepy *Morganella morganii* oraz 5 szczepów *Proteus mirabilis*). 38% (3/8) drobnoustrojów z tej rodziny wykazywało oporność na ampicylinę, augmentin oraz cefuroksym (Rys. 4.). Brak wrażliwości na te antybiotyki wynikał z naturalnej oporności mikroorganizmów z gatunku *Morganella morganii*. Wszystkie izolaty z rodziny *Morganellaceae* wykazywały wrażliwość na cefotaksym, ceftazydym oraz meropenem. 50% (4/8) izolowanych drobnoustrojów wykazywało obniżoną wrażliwość na imipenem, do tej grupy należały wyłącznie drobnoustroje z gatunku *Proteus mirabilis*.



Rys. 4. Lekowrażliwość izolatów *Morganellaceae*.

Lekowrażliwość pałeczek niefermentujących

W badanej grupie wyosobniono 7 izolatów należących do pałeczek Gram-ujemnych niefermentujących (*Pseudomonas* spp. oraz *Acinetobacter* spp.). Ze względu na naturalną oporność tych gatunków na ampicylinę i amoksyycylinę z kwasem klawulanowym oznaczono wyłącznie ich wrażliwość na ceftazydym, cefepim, imipenem i meropenem, leki bardzo często stosowane w terapii zakażeń wywoływanych przez te drobnoustroje. Wszystkie badane pałeczki Gram-ujemne niefermentujące wykazywały wrażliwość na te antybiotyki.

4. Dyskusja

Niewiele jest pozycji literaturowych opisujących częstość kolonizacji i lekowrażliwość pałeczek Gram-ujemnych izolowanych od osób zdrowych. Badacze skupiają się na pacjentach klinicznych, w tym osobach z zaburzeniami w funkcjonowaniu układu immunologicznego. Z tego względu uzyskane w pracy dane są istotne dla zrozumienia mikrobioty człowieka oraz czynników mających potencjalne znaczenie w rozwoju chorób, w tym chorób infekcyjnych. Wykazano, że u osób zdrowych kolonizacja gardła i/lub nosogardzieli przez pałeczki Gram-ujemne o różnych cechach fenotypowych, w tym przez bakterie lekooporne, jest zjawiskiem częstym.

Islam i in. (2011) wykazali, że gardło części badanych przez nich osób zdrowych było skolonizowane przez pałeczki Gram-ujemne z rodziny *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella* spp.), *Morganellaceae* (*Proteus* spp.) oraz pałeczki niefermentujące głównie z rodzaju *Pseudomonas*.

Podobnie Kabra i in. (2004) izolowali z dróg oddechowych m.in. drobnoustroje z rodzaju *Pseudomonas*. De Lastours i in. (2015) w badaniach izolował pałeczki z gatunku *E. coli* kolonizujące gardło zarówno dzieci jak i osób dorosłych. Również według Robinsona (2004), pałeczki *Enterobacteriaceae* oraz pałeczki niefermentujące najczęściej kolonizują górne drogi oddechowe dzieci, mogą one jednak występować także w mikrobiocie osób dorosłych.

Zmiany lekowrażliwości drobnoustrojów kolonizujących organizm gospodarza w dużej mierze uwarunkowane są częstością i rodzajem stosowanej antybiotykoterapii. Przyjmowanie antybiotyków w dużych ilościach oraz w niewielkich odstępach czasu sprzyja selekcji szczepów opornych oraz kolonizacji drobnoustrojami naturalnie opornymi na wybrany antybiotyk. W pracy wykazano oporność pałeczek *P. mirabilis* na imipenem, co często w przypadku szczepów tego gatunku wynika ze zmian w przepuszczalności osłon, a nie wytwarzania karbapenemaz (enzymów rozkładających antybiotyki z grupy karbapenemów) (Wang i in. 2014). Także bakterie *Pseudomonas* spp. oraz *Acinetobacter* spp. są naturalnie odporne na ampicylinę i amoksyycylinę z kwasem klawulanowym.

W badaniach Zambare (2009) również oceniano lekowrażliwość pałeczek Gram-ujemnych. Wyizolowano m.in. szczepy *E. coli* odporne na ampicylinę. Podobnie wykazano, że wszystkie badane szczepy *K. pneumoniae* wykazywały oporność na ten antybiotyk. Filius i in. (2005) z wymazów pobieranych z gardła od pacjentów hospitalizowanych jak i po wypisaniu ich ze szpitala izolowali pałeczki Gram-ujemne *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. Wyosobnione przez nich szczepy *E. coli* (niezależnie od czasu izolacji) wykazywały oporność zarówno na ampicylinę jak i na augmentin. Ndip i in. (2005) oceniali lekowrażliwość pałeczek z rodzaju *Pseudomonas*. Badacze stwierdzili, iż większość wyizolowanych szczepów wykazywała oporność na różne grupy antybiotyków, w tym także na ceftazydym. Różnica w stosunku do zaprezentowanych powyżej rezultatów badań może wynikać z faktu, iż oceniane przez wspomnianych badaczy drobnoustroje były izolowane głównie z zakażeń od pacjentów klinicznych, a nie z kolonizacji.

5. Wnioski

Zaprezentowane wyniki wskazują, że kolonizacja błon śluzowych górnych dróg oddechowych przez pałeczki Gram-ujemne naturalnie odporne na niektóre antybiotyki beta-laktamowe jest często spotykanym problemem. Mikrobiota, którą często tworzą drobnoustroje o wysokiej naturalnej oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe, stanowi bogaty rezerwuar potencjalnych czynników etiologicznych zakażeń oportunistycznych, które mogą sprawiać trudności terapeutyczne.

6. Piśmiennictwo

- Dani A (2014) Colonization and infection. *Central European Journal of Urology* 67 (1): 86-87.
- De Lastours V, Malosh RE, Aiello AE i in. (2015) Prevalence of *Escherichia coli* carriage in the oropharynx of ambulatory children and adults with and without upper respiratory symptoms. *Annals of the American Thoracic Society* 12(3): 461-463.
- Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ i in. (2016) The microbiome and the respiratory tract. *Annual Reviews of Physiology* 10 (78): 481-504.
- Filius PM, Gyssens IC, Kershof IM i in. (2005) Colonization and resistance dynamics of Gram-negative bacteria in patients during and after hospitalization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (7): 2879-2886.
- Islam M, Hussin S, Rahman MM (2011) Respiratory bacterial flora from healthy as well as respiratory symptoms subjects. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 14 (7): 456-460.
- Kabra SK, Alok A, Kapil A i in. (2004) Can throat swab after physiotherapy replace sputum for identification of microbial pathogens in children with cystic fibrosis? *The Indian Journal of Pediatrics* 71 (1): 21-23.
- Marchesi JR, Ravel J (2015) The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* 3: 31.
- Mathieu E, Escribano-Vazquez U, Descamps D i in. (2018) Paradigms of lung microbiota functions in health and disease, particularly, in asthma. *Frontiers in Physiology* 9: 1168.
- Ndip RN, Dilonga HM, Ndip LM i in. (2005) *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from clinical and environmental samples in Buea, Cameroon: current status on biotyping and antibiogram. *Tropical Medicine International Health* 10 (1): 74-81.
- Robinson J (2004) Colonization and infection of the respiratory tract: What do we know? *Paediatrics & Child Health* 9 (1): 21-24.
- Thursby E, Juge N (2017) Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal* 474 (11): 1823-1836.
- Wang JT, Chen PC, Chang SC i in. (2014) Antimicrobial susceptibilities of *Proteus mirabilis*: a longitudinal nationwide study from the Taiwan surveillance of antimicrobial resistance (TSAR) program. *BMC Infectious Diseases* 14: 486.
- Zambare VP (2009) Antibiotic resistance and sensitivity pattern of pathogenic bacteria isolated from urinary tract infected sample. *Biomedical and Pharmacology Journal* 2 (1).

7. Schizofrenia a nieprawidłowości siatkówki – przegląd badań

Schizophrenia and retinal abnormalities – research review

Adam Domagała⁽¹⁾, Rafał Ziemiński⁽²⁾, Patrycja Gierszon⁽³⁾

⁽¹⁾ I Klinika Psychiatrii, Psychoterapii i Wczesnej Interwencji, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾ Katedra i Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾ Zakład Psychologii Stosowanej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: Marcin Olajossy

Adam Domagała: adam.domagala@aol.com

Słowa kluczowe: schizofrenia, siatkówka, OCT, ERG

Streszczenie

Schizofrenia jest chorobą psychiczną, na którą w ciągu życia zapada około 1% społeczeństwa. Charakteryzuje się urojeniami, zaburzeniami postrzegania, objawami negatywnymi oraz deficytami funkcji poznawczych.

W obrębie siatkówki swoją ekspresję wykazują licznie receptory dopaminowe, których dysfunkcje są jedną z teorii etiopatogenezy schizofrenii. Badanie siatkówki może nie tylko wskazać na przyczynny zaburzeń widzenia u osób ze schizofrenią, ale również umożliwia podjęcie próby nieinwazyjnego rozpoznania nieprawidłowości mózgu w schizofrenii i pokrewnych chorobach. W pracy zostały zebrane badania z ostatnich lat, które oceniały siatkówkę u osób ze schizofrenią za pomocą optycznej tomografii koherencyjnej oraz elektrotretinografii. We wspomnianych artykułach zwraca uwagę między innymi zmniejszona amplituda fal w ERG, zmniejszona objętość plamki oraz ścięczenie warstwy włókien nerwowych siatkówki. Zaobserwowanie tych zmian może być drogą do wyjaśnienia niektórych zaburzeń neurorozwojowych w schizofrenii. Możliwym jest, że wymienione powyżej nieprawidłowości mogą posłużyć jako biomarkery schizofrenii i pozwolą zidentyfikować osoby zagrożone rozwojem choroby oraz wdrożyć wcześniej leczenie.

1. Wstęp

Schizofrenia jest przewlekłą chorobą psychiczną, która znajduje się wśród ogólnoswiatowych, głównych przyczyn niepełnosprawności związanej ze schorzeniami. Dotyka około 0.5-1.5% społeczeństwa i ze względu na swój chroniczny przebieg tworzy duże koszty dla systemu ochrony zdrowia oraz ma poważne, społeczne konsekwencje. Konstelacja objawów schizofrenii jest bardzo rozległa i zawiera w sobie szereg różnych manifestacji takich jak: zaburzenia spostrzegania (halucynacje słuchowe, wzrokowe i z innych zmysłów), niekorygowane sądy pochodzenia chorobowego (urojenia), objawy negatywne (apatia, zubożenie reakcji emocjonalnej, wycofanie społeczne, autyzm, ubóstwo mowy, niezdolność do odczuwania przyjemności, rozkojarzenie) i deficyty funkcji poznawczych (osłabienie pamięci, funkcji wykonawczych, myślenia abstrakcyjnego)(WHO 2004). Etiologia oraz patofizjologia schizofrenii pozostają wciąż w całości nie wyjaśnione. Jednakże istnieje szereg dowodów sugerujących wpływ czynników środowiskowych, genetycznych, neurorozwojowych oraz neurodegeneracyjnych na proces chorobowy. Specyficzny biomarker schizofrenii jest poszukiwany od wielu lat. Jako taki nie tylko umożliwiłby wcześniejsze wykrycie rozwoju choroby, ale także udostępniłby możliwość monitorowania leczenia, dostosowywania terapii do pacjenta, śledzenia przebiegu choroby, a co za tym idzie znacząco podniosłoby jakość leczenia oraz życia pacjentów.

Wykorzystywanie zaawansowanych technik neuroobrazowania oraz neuropatologicznych jest użytkowane w różnych badaniach, które starają się potwierdzić neurorozwojową i neurodegeneracyjną hipotezę powstawania schizofrenii. Badania sekcyjne preparatów mózgów osób cierpiących z powodu schizofrenii wykazały ubytki istoty szarej. Badania przy pomocy rezonansu magnetycznego potwierdziły te obserwacje, wykazując utratę objętości istoty szarej w wielu regionach mózgu, których dysfunkcje łączone są z manifestacją objawów choroby (Shenton

i in. 2001). Jednakże dotychczas w badaniu rezonansem magnetycznym nie znaleziono przydatnych klinicznie markerów. Koszt, czas wykonywania oraz hałas podczas badania są czynnikami przemawiającymi przeciwko tej formie badań jako formy przesiewowej, dostosowanej do psychiatrycznych pacjentów.

Jako, że siatkówka oka ma takie samo embriologiczne pochodzenia jak centralny układ nerwowy, wykazuje wiele podobieństw w zakresie anatomii, funkcjonowania, odpowiedzi na bodziec oraz, będąc odseparowaną częścią mózgowia, nazywana jest „oknem mózgu” (London et al. 2013). Wypustki aksonalne komórek zwojowych siatkówki tworzące warstwę włókien nerwowych siatkówki (RNFL) są dobrym modelem umożliwiającym badanie procesów wpływających na drogi neuronalne w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych. Wspomniane wyżej aksony są niezmielinizowane, co umożliwia obrazowanie tych struktur bez zakłóceń pomiarów spowodowanych obecnością osłonki mielinowej. Z tego powodu zastosowanie optycznej koherentnej tomografii (OCT) może pozwolić uzyskać nowe obserwacje służące do poznania patologii w schizofrenii. W ostatnich latach wyżej wymieniona technika była używana w celu badania struktur siatkówki u pacjentów cierpiących z powodu różnych chorób neurodegeneracyjnych takich jak: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona oraz chorób zapalnych jak stwardnienie rozsiane. Jak się okazało w metaanalizach, u pacjentów cierpiących z powodu wyżej wymienionych chorób wykazano istotne zmniejszenie grubości oraz objętości niektórych struktur siatkówki (Kirbas i in. 2013; Petzold i in. 2010).

Optyczna koherentna tomografia (OCT) jest tanią i szybką metodą nieinwazyjnego obrazowania in vivo siatkówki, które służy między innymi do oceny grubości warstwy włókien nerwowych siatkówki (RNFL) oraz grubości i objętości plamki. Jako że RNFL składa się z niezmielinizowanych aksonów, zmniejszenie grubości tej warstwy prawdopodobnie odpowiada ogólnej utracie aksonów (Schönfeldt-Lecuona i in. 2016).

Oprócz oceniania struktur siatkówki mamy możliwość również zbadania jej funkcjonalnie przy pomocy elektretinografii (ERG). W elektretinografii odbierane są potencjały wywołane na siatkówce w odpowiedzi na bodziec świetlny. Wykonuje się dwufazowo: w adaptacji do ciemności (skotopowo) i w adaptacji do światła (fotopopowo). W adaptacji do ciemności badamy funkcjonowanie głównie pręcików, gdzie w adaptacji do światła oceniamy funkcjonowanie czopków. Fala ERG ma dwie główne składowe. Fala a, o ujemnym wychyleniu, odpowiada hiperpolaryzacji fotoreceptorów, a fala b, o dodatnim wychyleniu, prezentuje odpowiedź z komórek Müllera (komórek gębowych siatkówki) oraz komórek dwubiegunowych. Z tego powodu zaburzenia funkcjonowania wspomnianych wyżej grup komórek będą miały odzwierciedlenie w zapisie fali ERG. Aby wykonać badanie ERG przytwierdza się elektrodę do powierzchni oka, elektrodę uziemienia oraz odniesienia do skóry głowy zwykle do skóry czoła oraz kąta zewnętrznego oka. Wymagane jest rozszerzenie źrenicy badanego oka. W celu stymulacji światłem używa się czaszy Ganzfelda.

2. Opis zagadnienia

Używając wyrazów schizophrenia, ERG lub OCT, siatkówka w wyszukiwarkach portali PubMed, Scopus i WebofScience został dokonany przegląd dostępnych badań.

3. Przegląd piśmiennictwa

3.1 Optyczna Koherentna Tomografia

W badaniu (Ascaso i in. 2010) porównywano 10 pacjentów cierpiących z powodu schizofrenii do 10 osób z grupy kontrolnej. Zaobserwowano statystycznie istotne zmniejszenie grubości RFNL ($95 \pm 13 \mu\text{m}$ wobec $103 \pm 9 \mu\text{m}$, $p=0.047$) oraz w kwadrancie nosowym ($84 \pm 10 \mu\text{m}$ wobec $75 \pm 17 \mu\text{m}$, $p=0,048$) u grupy badanej. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic dla pozostałych badanych parametrów.

W badaniu (Lee i in. 2013) zrekrutowano 30 osób w grupie badanej oraz w grupie kontrolnej. Grupę badaną podzielono ze względu na długość czasu trwania choroby. Wykazano statystycznie istotne redukcję grubości RNFL ($94.70 \pm 9.88 \mu\text{m}$; $103.53 \pm 6.53 \mu\text{m}$; $P < 0.001$), grubości plamki ($269.26 \pm 12.59 \mu\text{m}$; $284.83 \pm 9.76 \mu\text{m}$; $P < 0.001$), objętości plamki ($9.61 \pm 0,45 \text{ mm}^3$; $10,17 \pm 0.35$

mm³) w grupie badanej względem grupy kontrolnej. Ponadto wykazano, że badane parametry malały wraz z długością trwania objawów ($p < 0.05$).

Ascaso i in. (Ascaso i in. 2015) przeprowadzili badanie klasyfikując osoby cierpiące z powodu schizofrenii do dwóch grup RIE (świeży epizod choroby) oraz NRIE (przewlekły epizod choroby) oraz porównując ich wyniki do grupy kontrolnej. 30 pacjentów zostało zakwalifikowanych do badania i do grupy RIE ($n=10$) oraz NRIE ($n=20$) oraz 30 osób grupy kontrolnej. Pacjenci mieli istotnie statystycznie zmniejszoną grubość RNFL w pomiarze uśrednionym ($p=0.007$), kwadrancie nosowym, górnym oraz dolnym ($p=0.046$; $p=0.016$; $p=0.026$). Wykazano zmniejszenie grubości oraz objętości plamki u grupy badanej ($p=0.005$; $p=0.045$). Porównując grupy NRIE i RIE tylko w grupie NRIE wykazano statystycznie istotne różnice z grupą kontrolną. Nie wykazano znaczących korelacji między długością czasu trwania choroby a parametrami siatkówki, uwzględniając wiek pacjenta i związane z tym fizjologiczne zmiany parametrów.

W badaniu (Celik i in. 2015) dobrano do grupy badanej 40 pacjentów cierpiących z powodu schizofrenii opornych na leczenie, 41 pacjentów wykazujących odpowiedź na leczenie schizofrenii oraz 41 osób do grupy kontrolnej. Dokonano pomiaru grubości RNFL oraz objętości GCL (warstwy komórek zwojowych) i IPL (warstwy spłotowatej wewnętrznej). Zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie badanych parametrów względem grupy kontrolnej ($p=0.004$). Porównując obydwie podgrupy badane stwierdzono istotnie większe zmniejszenie objętości GCL i IPL w grupie pacjentów opornych na leczenie względem pacjentów wykazujących odpowiedź na leczenie ($p=0.004$; $p=0.001$). Uwzględniając parametry jak wyniki skali PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale), CGI (Clinical Global Impression), czas trwania choroby, ilość hospitalizacji stwierdzono silniejszą korelację między nasileniem objawów a objętością GCL oraz IPL niż porównując do wartości RNFL.

Badanie (Yilmaz i in. 2016) na 64 osobach (34 = grupa badana, 30 grupa kontrolna) wykazało istotne statystycznie zmniejszenie grubości uśrednionego RFNL oraz kwadrantów nosowych ($p=0.03$ oraz $p=0.04$) w OCT. Dodatkowo stwierdzono zmniejszenie grubości plamki w kwadrantach nosowym zewnętrznym oraz dolnym zewnętrznym w grupie badanej ($p=0.009$, $p=0.027$).

W badaniu (Silverstein i in. 2017) przeprowadzonym na grupie 32 pacjentów cierpiących z powodu schizofrenii i 32 osób grupy kontrolnej wykonano pomiar w OCT parametrów RNFL, GCL-IPL, a także pomiarów tarczy nerwu wzrokowego. W wynikach nie uwidoczniło żadnej istotnej różnicy pomiędzy grupami. Badacze zasugerowali, że wcześniejsze doniesienia są wynikiem nie samej schizofrenii, lecz chorób często towarzyszących takich jak cukrzyca i nadciśnienie. Jednakże wskazują także na istotne powiększenie stosunku średnicy zagłębienia do średnicy tarczy (cup-to-disc ratio) w grupie badanej.

Zbadano przy pomocy OCT 35 pacjentów z rozpoznaną schizofrenią oraz 50 osób z grupy kontrolnej (Samani i in. 2018) wykonując przy tym ręczne pomiary warstw siatkówki. Wykazano istotne statystycznie zmniejszenie całkowitej grubości siatkówki oraz grubości warstwy fotoreceptorów w grupie badanej ($p < 0.0001$). Ręczny podział warstw siatkówki uwidocznił istotne ścieńczenie warstwy jądrazastej zewnętrznej oraz warstwy wewnętrznych segmentów fotoreceptorów ($p < 0.05$). Nasilenie objawów negatywnych wykazało ujemną korelację z grubością kompleksu fotoreceptorów dołka środkowego ($p=0.001$) oraz warstwy jądrazastej zewnętrznej ($p=0.005$).

Joe i in. (Joe i in. 2018) zbadali przy pomocy OCT 18 psychotycznych pacjentów z rozpoznaniem schizofrenii lub zaburzenia afektywnego biegunowego i porównali do wyników 18 osobowej grupy kontrolnej. Stwierdzono zmniejszenie grubości naczyńki względem grupy kontrolnej, lecz bez istotnej statystycznie różnicy ($p=0.562$). Wykazano istotne statystycznie ścieńczenie grubości plamki ($p=0.009$ do $p=0.049$) dla poszczególnych warstw. Nie stwierdzono korelacji pomiarów z czasem trwania choroby. Zwrócono uwagę na znacznie większy odsetek cukrzycy u pacjentów grupy badanej (50% do 5,6% $p=0.03$).

W badaniu (Topcu-Yilmaz i in. 2019) włączono do grupy badanej 59 pacjentów cierpiących na schizofrenię oraz 36 osób do grupy kontrolnej. Wykonano pomiary RNFL, grubości plamki oraz grubości naczyńki pod dołkiem środkowym. Zaobserwowano istotne statystycznie ścieńczenie plamki w wynikach grupy badanej ($p=0.01$), jednak grubość naczyńki oraz RNFL nie

wykazywały istotnych różnic między grupami. Nie stwierdzono korelacji między wynikami skal PANSS, CGI, czasu trwania choroby a wynikiem pomiaru RNFL i grubości płamki, jedynie słabą ujemną korelację między czasem trwania choroby a grubością naczyńki.

Jednakże badanie (Schönfeldt-Lecuona, C i in. 2019) na 26 pacjentach z rozpoznaniem schizofrenii lub zaburzenia schizoafektywnego a 23 osobami grupy kontrolnej przy pomocy OCT wykazało licznie różnice. W grupie badanej zaobserwowano zmniejszoną grubość oraz objętość dla prawie wszystkich warstw siatkówki, osiągając różnice istotną statystycznie dla objętości płamki, grubości płamki, RNFL oraz warstwy jądrzastej wewnętrznej względem grupy kontrolnej ($p=0.03$; $p=0.03$; $p=0.09$; $p=0.04$). Ponadto opisano istotną korelację pomiędzy czasem trwania choroby i całkowitej objętości RNFL ($p<0.01$).

3.2 Elektroretinografia

W jednym z pierwszych badań przy pomocy ERG grupę badaną stanowiło 9 pacjentów cierpiących z powodu schizofrenii oraz 13 osób z grupy kontrolnej (Gerbaldo i in. 1992). Nie było istotnych różnic między wynikami w obu grupach. Zaobserwowano, że w podgrupie pacjentów, którzy mieli tendencje do nadmiernego wpatrywania się w Słońce, wyniki ERG były nieprawidłowe. W tej grupie stwierdzono istotnie zmniejszenie amplitudy fali b zarówno dla prawego ($p<0.05$) jak i lewego oka ($p<0.001$).

W badaniu (Warner i in. 1999) wykonano ERG u 9 pacjentów z rozpoznaną schizofrenią oraz u 9 osób grupy kontrolnej. W wynikach grupy badanej zaobserwowano statystycznie istotnie mniejsze amplitudy fali a, które było niezależne od stosowanej dawki leku przeciwpsychotycznego.

Badanie (Balogh i in. 2008) miało na celu porównanie zapisów ERG pacjentów z rozpoznaniem schizofrenii lub zaburzenia afektywnego dwubiegunowego z grupą kontrolną. Zrekrutowano 26 pacjentów cierpiących z powodu schizofrenii w fazie objawowej choroby, 17 pacjentów cierpiących z powodu zaburzenia afektywnego dwubiegunowego oraz 20 osób do grupy kontrolnej. W grupie pacjentów ze schizofrenią wykazano istotne statystycznie obniżenie amplitudy fali a w porównaniu do wyników grupy kontrolnej. Wyniki pacjentów z zaburzeniem afektywnym dwubiegunowym nie wykazywały różnic z grupą kontrolną. Zaobserwowano istotną ujemną korelację między amplitudą fali a, a objawami pozytywnymi. Po 8 tygodniach leczenia, po ustąpieniu objawów, u pacjentów wykonano drugie badanie ERG, w którym stwierdzono brak istotnych różnic między grupami.

Hebert i in. 2015 wykonali badanie, w którym zebrali grupę 105 pacjentów z rozpoznaniem schizofrenii, którzy byli podatni na leczenie oraz grupę kontrolę o liczebności 150 osób. Opisano w nim istotne statystycznie zmniejszenie amplitudy fali a oraz fali b fototopowo ($p<0.0001$; $p=0.0005$) oraz fali b skotopowo ($p<0.0001$) w grupie badanej względem grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano zależności między wynikami pomiaru a długością czasu trwania choroby, stosowanymi lekami czy nikotynizmem. Potwierdzono dane z poprzedniego badania autora, w którym wykonywał badanie ERG u populacji zdrowych dzieci z grupy ryzyka. Redukcja amplitudy fali a oraz fali b w tej populacji była wciąż obecna u tych samych osób zaliczonych już w grupie pacjentów z rozpoznaną schizofrenią. Autorzy sugerują, że zmiany w ERG mogą wyprzedzać na wiele lat pierwszy epizod schizofrenii.

4. Podsumowanie

Jak wynika z wyżej wymienionych badań u pacjentów z rozpoznaną schizofrenią obserwujemy zmiany w budowie siatkówki w postaci zmniejszenia parametrów grubości RNFL (Ascaso 2010; Lee 2013; Ascaso 2015; Celik 2015; Yilmaz 2016; Schönfeldt-Lecuona 2019), grubości płamki (Ascaso 2010; Lee 2013; Ascaso 2015; Topcu-Yilmaz 2019; Schönfeldt-Lecuona 2019), objętości płamki (Ascaso 2010; Lee 2013; Ascaso 2015; Schönfeldt-Lecuona 2019). Badanie (Silverstein 2017) sugeruje, że te różnice są spowodowane raczej współchorobowością pacjentów z rozpoznaniem schizofrenii na choroby typu cukrzyca i nadciśnienie, a nie z samą chorobą podstawową. Podobnie wobec obserwacji, że zmniejszenie parametru RNFL pogłębia się wraz czasem trwania choroby (Ascaso 2010; Lee 2013; Schönfeldt-Lecuona 2019) stoi w opozycji badanie (Joe i in. 2018), w którym nie dostrzeżono takiej zależności oraz drugie, w którym po uwzględnieniu wieku pacjentów i w związku z tym fizjologicznych zmian parametrów nie uwidoczniło istotnych

różnic (Ascaso 2015). W badaniach, które uwzględniały pomiary warstw siatkówki opisywano ścieńczenie warstw jądrazstej zewnętrznej oraz warstwy wewnętrznych segmentów receptorów (Samani 2018). Porównując grupy pacjentów opornych na leczenie do grupy wykazującej odpowiedź na leczenie opisano istotnie statystyczne obniżenie wartości GCL (warstwy komórek zwojowych) oraz IPL (warstwy spłotowatej wewnętrznej) w grupie odpornej na leczenie (Celik 2015).

Opisywane są również zmiany funkcjonalne siatkówki w postaci nieprawidłowości w zapisie ERG. W badaniach w grupie pacjentów z rozpoznaną schizofrenią opisywane jest istotne obniżenie amplitudy fali a (Warner 1999; Balogh 2008; Herbert 2015) oraz fali b (Gerbaldo 1992; Hebert 2015). Wykazano, że istotne obniżenie amplitudy fali a nie występowało u osób z zaburzeniem afektywnym dwubiegunowym (Balogh 2008). Nie obserwowano wpływu leków przeciwpsychotycznych na zapis ERG (Warner 1999; Hebert 2015). Nie obserwowano korelacji między wynikami a długością czasu trwania choroby (Hebert 2015). W badaniu populacji osób z grupy wysokiego ryzyka zaobserwowano zmiany w ERG, które utrzymywały się po zachorowaniu na schizofrenię (Hebert 2015).

Znany jest fakt występowania istotnych zmian opisywanych w rezonansie magnetycznym pacjentów cierpiących na schizofrenię (Shenton 2001). Nerw wzrokowy, a więc też siatkówka są bezpośrednimi częściami mózgowia i dzięki braku mielinizacji są łatwo dostępnym do badania in vivo stopnia procesu neurodegeneracji. OCT oraz ERG są procedurami łatwymi, szybkimi, tanimi i mało obciążającymi dla badanych. Jak na razie jest niewiele badań poświęconych temu zagadnieniu w tej grupie chorych. Jednak są prace opisujące podobne zaburzenia w przypadku pacjentów cierpiących z powodu SM, AD oraz choroby Parkinsona (Petzold 2010; Kirbas 2013). Wyniki dostępnych badań zachęcają do wykonania badań na większych populacjach, gdyż istnieje możliwość zastosowania wyników OCT oraz ERG jako biomarkerów schizofrenii i innych chorób neurodegeneracyjnych, neurorozwojowych. Badania (Hebert 2015) sugerują, że zmiany w ERG wyprzedzają o kilka lat początek objawów schizofrenii. Wykonanie kolejnych badań powinno dać odpowiedź czy badania OCT i ERG mogą stanowić przydatny panel badań w rozpoznawaniu, profilaktyce, leczeniu i prognozowaniu przebiegu schizofrenii.

5. Literatura

- Ascaso FJ, Cabezón L, Quintanilla MA i in. (2010) Retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography in patients with schizophrenia: A short report. *European Journal of Psychiatry* 24(4): 227–235.
- Ascaso FJ, Rodríguez-Jiménez R, Cabezón L i in. (2015) Retinal nerve fiber layer and macular thickness in patients with schizophrenia: Influence of recent illness episodes. *Psychiatry Research* 229(1-2): 230–236.
- Balogh Z, Benedek G, Keri S (2008) Retinal dysfunctions in schizophrenia. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32: 297-300.
- Celik M, Kalenderoglu A, Karadag AS i in. (2016) Decreases in ganglion cell layer and inner plexiform layer volumes correlate better with disease severity in schizophrenia patients than retinal nerve fiber layer thickness: findings from spectral optic coherence tomography. *European Psychiatry* 32: 9–15.
- Gerbaldo H, Thaker G, Tittel G. i in. (1992) Abnormal Electroretinography in Schizophrenic Patients with a History of Sun Gazing. *Neuropsychobiology* 25(2): 99-101.
- Hébert M, Mérette Ch, Paccalet T i in. (2015) Light evoked potentials measured by electroretinogram may tap into the neurodevelopmental roots of schizophrenia. *Schizophrenia Research* 162(1-3): 294-295
- Kirbas S, Turkyilmaz K, Anlar O i in. (2013) Retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer disease. *Journal of Neuro-Ophthalmology* 33(1): 58–61.
- Kirbas S, Turkyilmaz K, Tufekci A i in. (2013) Retinal nerve fiber layer thickness in Parkinson disease. *Journal of Neuro-Ophthalmology* 33(1): 62–65
- London, A, Benhar I, Schwartz M. (2013) The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. *Nature Reviews Neurology* 9(1): 44-53

- Samani NN, Proudlock FA, Siram V i in. (2018) Retinal Layer Abnormalities as Biomarkers of Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 44(4): 876–885,
- Petzold A, de Boer JF, Schippling S i in. (2010) Optical coherence tomography in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurology* 9(9): 921–932.
- Joe P, Meleha A, Riley G i in. (2018) A pilot study assessing retinal pathology in psychosis using optical coherence tomography: Choroidal and macular thickness. *Psychiatry Research* 263: 158–161
- Topcu-Yilmaz P, Aydin M, Ilhan BC (2019) Evaluation of retinal nerve fiber layer, macular, and choroidal thickness in schizophrenia: spectral optic coherence tomography findings, *Psychiatry and Clinical Psychopharmacology* 29(1): 28-33
- Schönfeldt-Lecuona C, Kregel T, Schmidt A i in. (2016) From imaging the brain to imaging the retina: optical coherence tomography (OCT) in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 42(1): 9–14.
- Schönfeldt-Lecuona C, Kregel T, Schmidt A i in. (2019) Retinal single-layer analysis with optical coherence tomography (OCT) in schizophrenia spectrum disorder. *Schizophrenia Research*
- Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, i in. (2001) A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 49(1-2): 1–52.
- Silverstein SM, Paterno D, Cherneski L i in. (2017) Optical coherence tomography indices of structural retinal pathology in schizophrenia. *Psychological Medicine* 48(12): 1–11.
- Warner R, Laugharne J, Peet M i in. (1999) Retinal function as a marker for cell membrane omega-3 fatty acid depletion in schizophrenia: A pilot study. *Biological Psychiatry* 45(9): 1138-42.
- World Health Organization (2004) ICD-10: international statistical classification of diseases and related health problems: tenth revision, 2nd ed. World Health Organization.
- Yilmaz U, Kucuk E, Ulgen A i in. (2016) Retinal nerve fiber layer and macular thickness measurement in patients with schizophrenia. *European Journal of Ophthalmology* 26(4): 375–378.

8. Wczesna separacja macierzyńska jako zwierzęcy model depresji

Early maternal separation as an animal model of depression

Joanna Filarowska⁽¹⁾, Małgorzata Łupina⁽¹⁾, Gabriela Bielecka-Papierz⁽²⁾, Małgorzata

Łopatyńska-Mazurek⁽¹⁾, Paweł Grochecki⁽¹⁾, Jolanta Kotlińska⁽¹⁾

⁽¹⁾ Katedra i Zakład Farmakologii z Farmakodynamiką, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾ Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: Jolanta Kotlińska

Joanna Filarowska: joanna.filarowska@gmail.com

Słowa kluczowe: szczury, izolacja, behawior

Streszczenie

Wszystkie ssaki w okresie pourodzeniowym pozostają w bliskim kontakcie z matką. Niekorzystne doświadczenia przebyte w tym okresie, takie jak separacja czy zakłócenia w kontakcie z matką, wywołują silne reakcje protestu oraz rozpacz u noworodka, co prowadzi do nadmiernego obciążenia allostatycznego. Stan ten, utrzymujący się przez dłuższy czas skutkuje zaburzeniami funkcji fizjologicznych i neurohormonalnych, przejawiającymi się np. w tendencji do popadania w uzależnienia lub depresję.

Wczesna separacja macierzyńska przeprowadzana na szczurach polega na przeniesieniu całego miotu potomstwa z klatki w której przebywają z matką od osobnej klatki. Procedura jest powtarzana raz lub dwa razy dziennie, przez 21 kolejnych dni, począwszy od pierwszego dnia po narodzinach.

Obserwuje się, że zwierzęta poddane procedurze separacji macierzyńskiej wykazują utrzymującą się całe życie nadreaktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, objawiające się zwiększonym wydzielaniem kortykosteronu. Skutkuje to m. in. zwiększonymi zachowaniami lękowymi, silniejszą reakcją na pojawiające się nagle bodźce stresowe, a także anhedonią (brakiem lub utratą zdolności do odczuwania przyjemności). Zmiany obserwowane w toku badań na zwierzętach wykazują homologię ze zmianami pojawiającymi się u ludzi: pozbawienie dzieci opieki matek sprawia, że w dorosłym życiu stają się one bardziej podatne na rozwój zachowań depresyjnych. Z tego względu procedura wczesnej separacji macierzyńskiej została uznana za zwierzęcy model stresu mającego wpływ na rozwój zachowań depresyjnych w dorosłości.

1. Wstęp

Człowiek przychodzi na świat całkowicie niezdolny do samodzielnego życia. W okresie poporodowym niemowlę jest zależne od matki lub głównego opiekuna nie tylko w zakresie pielęgnacji i ochrony, ale także w zakresie prawidłowego rozwoju fizjologii i zachowania (Lundberg i in 2017). Ludzkie niemowlę przychodzi na świat doskonale przygotowane do nawiązania więzi. Zmysły dziecka zaczynają funkcjonować w trzecim trymestrze ciąży. Od tego momentu rejestruje ono matkę – słyszy ją, fizycznie odczuwa jej ruchy, uczy się jej rytmu dobowego oraz biochemicznie pozostaje wrażliwe na jej stany emocjonalne. Jakość wczesnych więzi uczuciowych dziecka i ich wpływ na dalsze funkcjonowanie społeczne i emocjonalne są ważne dla rozumienia różnorodnych nieprawidłowości występujących w zachowaniu dzieci i adolescentów. Zainteresowanie wpływem relacji z matką lub innym ważnym opiekunem na rozwój psychiczny dziecka, pojawiło się w latach 40. dwudziestego wieku. Badania i obserwacje dzieci wychowywanych w warunkach pozbawienia prawidłowej i ciągłej opieki ze strony jednej osoby wykazały, że brak lub zerwanie bliskiego związku emocjonalnego dziecka z dorosłym powoduje negatywne, często nieodwracalne dla rozwoju skutki (Słaboń-Duda 2011). Jedną z pierwszych osób które zajęły się badaniami nad wpływem relacji

z matką na dziecko była Anna Freud, córka Zygmunta Freuda. W 1940 r. uruchomiła Hampstead War Nurseries, czyli ośrodki dla dzieci, które ze względu na wojnę zostały przymusowo odseparowane od rodziców. Razem z przyjaciółką – Dorothy Burlingham, prowadziły obserwacje, które później podsumowały w pracy „Dzieci bez Rodzin” (ang. *Infants without families*). Opisały w niej małe dzieci, które obsesyjnie ssąły kciuki, kołysały się mechanicznie, uderzały głową o podłogę i łóżeczka oraz pokazywały wszelkiego rodzaju dziwne i niepokojące zachowania, aby zwrócić na siebie uwagę. Opisy patologii spowodowanej pozbawieniem opieki macierzyńskiej, pozwoliły na głębsze przyjrzenie się jak ważna jest ta wczesna relacja matka-niemowlę i jednoznacznie dowiodły, jak ważna z perspektywy rozwoju emocjonalnego dziecka jest obecność matki — lepiej jest być z matką, nawet w bardzo trudnych warunkach, niż zyskać fizyczne bezpieczeństwo, płacąc za to rozstaniem z nią. (Burlingham and Freud 1944).

2. Opis zagadnienia

Także u zwierząt bliski kontakt z matką jest niezwykle ważny w pierwszym okresie życia. Wczesny okres poporodowy jest niewrażliwym czasem rozwoju mózgu. U niemowląt obecność lub nieobecność matki wywiera silny wpływ na reakcje związane ze stresem. Badania prowadzone na wielu gatunkach ssaków wykazały, że separacja macierzyńska prowadzi do aktywacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA), układu współczulnego oraz innych obwodów związanych ze stresem (Pickering i in. 2006). W aktywacji układu HPA w stresie uczestniczą impulsy docierające z układu limbicznego i innych części mózgu do podwzgórza, gdzie stymulują komórki jądra przykomorowego do uwalniania neurohormonu – kortykoliberyny (hormon stymulujący uwalnianie kortykotropiny; corticotropin-releasing hormone – CRH). CRH uwalniany przez aksony podwzgórza trafia do podwzgórzowo-przysadkowego układu krążenia wrotnego, które przenosi go do przedniego płata przysadki mózgowej, gdzie stymuluje komórki tropowe do uwalniania hormonu adrenokortykotropowego (ACTH). ACTH z kolei pobudza komórki kory nadnerczy do syntezy i wydzielania do krwi hormonów steroidowych kory nadnerczy – glikokortykoidów, uczestniczących w kontroli metabolizmu substratów energetycznych. U człowieka najważniejszym glikokortykoidem jest kortyzol, a u gryzoni – kortykosteron. Glikokortykoidy poprzez odpowiednie receptory działają na komórki docelowe organizmu wpływając na ich metabolizm, a także nasilają działanie amin katecholowych. W pętli ujemnego sprzężenia zwrotnego glikokortykoidy oddziałują na struktury układu limbicznego, podwzgórze i przysadkę mózgową, zmniejszając uwalnianie hormonów przez te struktury, a z pewnym opóźnieniem – obniżając stężenie produktu końcowego jakim jest hormon. Nerwowa stymulacja komórek wydzielniczych układu limbicznego i podwzgórza przeważa nad ich hamowaniem przez zwiększone stężenie kortyzolu we krwi. W ten sposób zostaje przełamane ujemne sprzężenie zwrotne i stężenie glikokortykoidów we krwi może znacznie wzrastać w stresie (Zimecki i Artym 2004). Reaktywność osi HPA znacznie różni się także w zależności od indywidualnych cech genetycznych i wpływu środowiska (Pickering i in. 2006). Zaburzona odpowiedź osi HPA i nieprawidłowa reakcja organizmu na stres zwiększa ryzyko rozwoju zaburzeń psychiatrycznych takich jak schizofrenia czy depresja. Stąd, jeśli rozwój mózgu jest kluczowym czynnikiem podatności na choroby, zdolność do wywołania zmian spowodowanych stresem doświadczanym we wczesnym etapie życia w modelach zwierzęcych może posłużyć do zrozumienia patofizjologii oraz wskazać kierunek ich leczenia. Dane literaturowe wskazują na interakcję matka-niemowlę jako kluczowy czynnik dojrzewania mózgu i podatności na choroby, dlatego separacja macierzyńska jest użyteczną procedurą pozwalającą na ocenę zaburzeń funkcji mózgu, które mogą wystąpić w odpowiedzi na niekorzystne doświadczenia pojawiające się na wczesnym etapie rozwoju (Roceri i in. 2002).

Większość badań dotyczących wpływu separacji od matek na rozwój potomstwa przeprowadzono na szczurach laboratoryjnych. U tych zwierząt poród występuje najczęściej w 21-23 dniu ciąży. Nowonarodzone szczury są całkowicie zależne od matek, ponieważ, podobnie jak w przypadku większości innych gryzoni, młode rodzą się ślepe, nagie, a także z zamkniętymi kanałami słuchowymi. Dodatkowo młode nie są w stanie prawidłowo oddawać moczu i wypróżniać się, a także nie są w stanie utrzymać stałej temperatury ciała (Krinke i in. 2000), zaś ich mózgi w chwili urodzenia są mniej więcej na tym samym etapie rozwoju co ludzkie mózgi w wieku ciążowym 23–24 tygodni. Opieka matki nad potomstwem pozwala na regulację funkcji fizjologicznych, takich

jak tętno, cykl snu/czuwania, termoregulacja, aktywność przewodu pokarmowego czy produkcja hormonu wzrostu (Hofer i in. 1994). Ponadto lizanie i pielęgnacja młodych w trakcie pierwszych 10 dni życia stymuluje rozwój hipokampa oraz zależnej od niego pamięci przestrzennej i uczenia asocjacyjnego, a także zmniejsza odpowiedź na stres zależną od osi HPA. Na początku drugiego tygodnia życia szczurów pojawia się futro dzięki czemu są one w stanie utrzymać stałą temperaturę ciała. W wieku dwóch tygodni młode otwierają oczy i uszy, zaś funkcje lokomocyjne stają się bardziej wydajne, a młode zaczynają być coraz bardziej samodzielne i zainteresowane otoczeniem. Już w 21-25 dniu życia są one w stanie żyć niezależnie (Roman 2004).

3. Przegląd literatury

Separacja macierzyńska jest terminem używanym do określenia eksperymentów polegających na izolacji młodych szczurów od matek oraz obserwacji skutków takiej izolacji. W modelach zwierzęcych często stosuje się powtarzalną separację młodych od matki w pierwszych dwóch - trzech tygodniach życia, w celu zbadania wpływu negatywnych doświadczeń na rozwój. Czas pomiędzy 4 a 14 dniem życia został zidentyfikowany jako okres zmniejszonej wrażliwości na stres, kiedy to rozwijający się szczur nie reaguje na łagodne stresory z powodu niskiego poziomu stężenia glikokortykoidów we krwi. (Marmendal 2005). W związku z tym istotny jest okres życia zwierzęcia, w którym przeprowadzana jest procedura separacji macierzyńskiej. Młode szczury poddane 24-godzinnej separacji od matek w okresie zmniejszonej wrażliwości na stres wykazują natychmiastową odpowiedź. Efekty separacji macierzyńskiej prowadzonej pomiędzy 3 a 20 dniem życia, mierzone natychmiast po jej zakończeniu wskazują na podwyższony bazowy poziom ACTH oraz zwiększony poziom kortykosteronu w odpowiedzi na łagodne stresory takie jak nowość czy iniekcja soli fizjologicznej. Efekty separacji od matek przebiegającej w 3, 7 lub 11 dniu życia, mierzone w okresie odstawiania młodych od piersi (20 dzień po urodzeniu) nie wykazały zmian w podstawowym poziomie kortykosteronu czy ACTH. Obserwacja odpowiedzi na łagodny stresor (iniekcja soli fizjologicznej) u zwierząt poddanych separacji w 3 dniu życia wykazała wzrost aktywności osi HPA w porównaniu do grupy kontrolnej (nieseparowanej), zaś młode izolowane w 7 i 11 dniu życia charakteryzowały się spadkiem aktywności osi HPA oraz zmniejszonym wydzielaniem ACTH w odniesieniu do kontroli (Lehmann i in. 1999).

Długość i sposób przeprowadzenia procedury separacji skutkuje wywołaniem różnego stopnia stresu u matki i młodych. Matka może zostać usunięta z klatki, pozostawiając młode bez opieki, jednakże młode pozostają w znajomym środowisku i w obecności rodzeństwa. Inny sposób polega na przeniesieniu całego miotu młodych do nowej klatki, przez co zwierzęta są pozbawione nie tylko matki, ale także znajomego środowiska, co naraża je na stresujące bodźce w postaci nowych zapachów. Trzecia możliwość polega na odseparowaniu młodych szczurów zarówno od matki jak i od rodzeństwa, poprzez umieszczenie każdego z nich pojedynczo w klatce. (Vetulani 2013). Różny jest też czas trwania pojedynczej separacji. Literatura opisuje pojedyncze procedury trwające 24 h oraz powtarzalne, trwające 15 minut (MS15) lub 180 minut (MS180). Procedura pojedynczej, 24 h separacji nie jest obecnie powszechnie stosowana. Jest ona niewątpliwie stresująca dla młodych szczurów, zmienia architekturę snu i skraca czas trwania fazy REM. Odległe efekty tak prowadzonej separacji są zmienne i zazwyczaj nietrwale, obserwuje się też zależność efektów od momentu przeprowadzenia izolacji, tj. czy przebiegała ona przed, w środku, czy na końcu okresu zmniejszonej wrażliwości na stres. Najczęściej konsekwencje izolacji są obserwowane w czasie odsadzania młodych od matek i polegają na zmniejszonej lub zwiększonej odpowiedzi osi HPA na bodźce stresowe, jednakże efekty te nie są obserwowane w dorosłości (Sapolsky 1986, Vetulani 2013).

Zwierzęta poddane MS 15 wykazują zmniejszoną reakcję behawioralną i hormonalną na bodźce stresowe w dorosłości. W badaniach procedura ta, powtarzana od 2 dnia życia wykazała, że zwierzęta w okresie dorosłości wykazują zmniejszone stężenie kortykosteronu w stresujących sytuacjach, co jest spowodowane selektywnym zwiększeniem aktywności receptora glikokortykoidowego w hipokampie i korze czołowej (Levine 1962). Oseski separowane od matek przez 15 minut pomiędzy 2 a 10 dniem życia łatwiej przetrwały niedostatek pokarmu i wody, zarówno w przypadku myszy jak i szczurów. Zaobserwowano też, że separacja prowadzona pomiędzy 2 a 20 dniem życia była korzystna dla szczurów (zwierzęta charakteryzowały się zmniejszonym wyrzutem

ACTH oraz kortykosteronu w odpowiedzi na stres), jednakże efektem ten nie został zaobserwowany u myszy. Co więcej, szczury poddane MS15 nie wykazywały zachowań depresyjnych w dorosłości. Zwierzęta nie wykazywały preferencji glukozy a także różnic w teście wymuszonego pływania w porównaniu z grupą kontrolną (nieizolowaną). (Maniam i Morris 2017, Plotsky i Meaney 1993, Vetulani 2013).

Procedura MS180 jest najczęściej wykorzystywaną w badaniach nad skutkami zaburzenia relacji matka-potomstwo. Ma ona niekorzystny wpływ na rozwój młodych zwierząt, które w dorosłości wykazują większą reaktywność w odpowiedzi na bodźce stresowe, wzrost zachowań lękowych, anhedonię oraz przejawiają skłonność do zwiększonego spożycia etanolu (Vetulani 2013). MS180 wydaje się także wpływać na neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF z ang. *brain-derived neurotrophic factor*). Należy on do polipeptydów wydzielniczych – neurotrofin. Wspólnie z innymi białkami, takimi jak czynnik wzrostu i różnicowania neuronów NGF (ang. *nerve growth factor*), neurotrofiny (białka wspierające tworzenie się synaps) bierze udział w funkcjonowaniu neuronów i wpływa na pracę ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Jego synergistyczne oddziaływanie na ośrodkowy i obwodowy układ nerwowy jest bardzo ważne, ponieważ wpływa on na procesy regeneracyjne komórek nerwowych w następstwie takich stanów jak: udar niedokrwienny, stan pourazowy czy zatrucie toksyczne. BDNF powoduje zmiany w synapsach w różnych obszarach mózgu, wpływa na funkcjonowanie neuronów, ich różnicowanie i plastyczność synaptyczną. Różnice w zakresie aktywności tego czynnika powodują zaburzenia w obwodach korowych i synaptycznych mózgu, są przyczyną nieprawidłowości w syntezie łańcuchów polipeptydowych białek i powodują dysfunkcję neuronalną. Poza układem nerwowym BDNF jest też zlokalizowany w sercu, mięśniach szkieletowych, komórkach mięśni gładkich, płucach, płytkach krwi i fibroblastach, gdzie przyczynia się do rozwoju komórek macierzystych, ich różnicowania, formowania się synaps, regulacji obwodów neuronalnych, a także tworzenia się szlaków pamięciowych. (Markiewicz i in. 2017). Procedura separacji macierzyńskiej MS180 powoduje zmniejszenie stężenia BDNF w hipokampie i prążkowiu, zaś zwiększenie w polu brzuszonym nakrywki. W korze mózgowej, jądrze półleżącym i ciele migdałowatym poziom BDNF pozostaje niezmienny (Lippman i in. 2007).

4. Podsmowanie

Wczesna separacja macierzyńska może służyć jako ważny model depresji i przyczynić się do zrozumienia mechanizmów prowadzących do zmian patologicznych oraz do przedklinicznego testowania leków przeciwdepresyjnych. Procedura polegająca na powtarzalnym izolowaniu młodych od matek na 180 minut wywołuje u dorosłych szczurów zmiany depresyjne związane z nadpobudliwością osi HPA, podobne do tych, które występują u ludzi. U takich zwierząt obserwuje się deficyty behawioralne, nieprawidłową reakcję osi HPA w odpowiedzi na ostry stresor, a także długoterminowe zmiany w białku BDNF. Zmniejszona aktywność lokomotoryczna, zwiększone zachowania stereotypowe, zwiększone reakcje na bodźce akustyczne oraz ostre stresory, a także nieprawidłowy poziomy dojrzałego i niedojrzałego BDNF w niektórych regionach mózgu wynika z długoterminowych zmian w ośrodkowym układzie nerwowym przypominających zmiany obserwowane w depresji. Ponadto, takie zmiany obserwowane u szczurów wykazują homologię ze skutkami wczesnej separacji od matki u ludzi, ponieważ pozbawienie dzieci opieki macierzyńskiej powoduje, że są one podatne na pojawienie się stanów depresyjnych w dorosłości. (Chocyk i in. 2013, Vetulani 2013). Dodatkowo fakt, że podanie leków przeciwdepresyjnych jest w stanie odwrócić skutki separacji macierzyńskiej potwierdza, że jest ona prawidłowym modelem depresji.

5. Literatura

- Burlingham D, Freud A (1944) Infants without families.
Chocyk A, Bobula B, Dudys D i in. (2013) Early-life stress affects the structural and functional plasticity of the medial prefrontal cortex in adolescent rats. *European Journal of Neuroscience* 38(1): 2089-2107.

- Hofer MA, Brunelli SA, Shair HN (1994) Potentiation of isolation-induced vocalization by brief exposure of rat pups to maternal cues. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 27(8): 503-517.
- Krinke GJ, Kaufmann W, Mahrous AT i in. (2000) Morphologic characterization of spontaneous nervous system tumors in mice and rats. *Toxicologic pathology* 28(1): 178-192.
- Lehmann J, Pryce CR, Bettschen D i in. (1999) The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 64.4: 705-715.
- Levine S (1962) Plasma-free corticosteroid response to electric shocks in rats stimulated in infancy. *Science* 135: 795-796.
- Lippmann M, Bress A, Nemeroff CB i in. (2007) Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *European Journal of Neuroscience* 25: 3091-3098
- Lundberg S, Abelson KSP, Nylander I i in. (2017) Few long-term consequences after prolonged maternal separation in female Wistar rats. *PLoS ONE* 12(12): e0190042.
- Maniam J, Morris MJ (2017) Palatable cafeteria diet ameliorates anxiety and depression-like symptoms following an adverse early environment. *Psychoneuroendocrinology* 35: 717-728.
- Markiewicz R, Kozioł M, Olajossy M i in. (2017) Czy czynnik neurotropowy BDNF może być wskaźnikiem skutecznych oddziaływań rehabilitacyjnych w schizofrenii. *Psychiatria Polska* 80: 1-16.
- Marmendal M (2005) Maternal separation in the rat: long-term effects of early life events on emotionality, drug response and neurobiology.
- Pickering C, Gustafsson L, Cebere A i in. (2006) Repeated maternal separation of male Wistar rats alters glutamate receptor expression in the hippocampus but not the prefrontal cortex. *Brain research* 1099: 101-108.
- Plotsky PM, Meaney MJ (1993) Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Molecular Brain Research* 18: 195-200.
- Roceri M, Hendriks WJAJ, Racagni G i in. (2002). Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Molecular psychiatry* 7(6): 609.
- Roman E (2004) Maternal Separation in Rats: An Experimental Model for Long-Term Effects of Early Life Experiences on Neurochemistry, Voluntary Ethanol Intake and Exploration and Risk Assessment Behavior. *Rozprawa doktorska, Acta Universitatis Upsaliensis*.
- Sapolsky RM, Meaney MJ (1986) Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. *Brain Research* 396: 64-76.
- Słaboń-Duda A (2011). Wczesna relacja matka-dziecko i jej wpływ na dalszy rozwój emocjonalny dziecka. *Psychoterapia* 2(157): 11-18.
- Vetulani J (2013) Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. *Pharmacological reports* 65.6: 1451-1461.
- Zimecki M, Artym J (2004) Wpływ stresu psychicznego na odpowiedź immunologiczną The effect of psychic stress on the immune response. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 58: 166-175.

9. Potencjał uzależniający marihuany i amfetaminy oraz motywy którymi kierują się młodzi ludzie zażywając te narkotyki

Addictive potential of marijuana and amphetamines and the motives that young people use when using these drugs

Michał Gałaszewski

Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Historyczno-Socjologiczny

Opiekun naukowy: Jan Poleszczuk

Jan Poleszczuk : jan.poleszczuk@gmail.com

Słowa kluczowe: marihuana, amfetamina, uzależnienie, motywy

Streszczenie

Autor niniejszego artykułu przedstawia motywy osób zażywających marihuanę i amfetaminę przede wszystkim dlatego, ponieważ w publikacjach próżno szukać rozgraniczenia motywów sięgania po narkotyki. A przecież, czy to ze względu na działanie, dostępność czy skutki uboczne przyczyny konsumpcji poszczególnych używek są często różne. Starano się również zbadać potencjał uzależniający obu substancji. Główną część artykułu stanowi analiza wywiadów z osobami, które zażywają marihuanę i amfetaminę oraz relacje terapeutek z Poradni Profilaktyki i Terapii Uzależnień „MONAR” w Olsztynie.

1. Wstęp

Marihuana i amfetamina to najczęściej zażywane niedozwolone substancje w Polsce (Jędrzejko 2011). Na taką kolej rzeczy wpływ ma kilka czynników. Jeden z nich to cena, która dla konsumenta jest niska w porównaniu z innymi, mocniejszymi narkotykami. Cena za gram na „czarnym rynku” czy to za marihuanę, czy amfetaminę jest podobna i waha się od 30 do 50 złotych. Główną część artykułu stanowi analiza wywiadów z osobami, które zażywają marihuanę i amfetaminę, oraz relacje terapeutek z Poradni Profilaktyki i Terapii Uzależnień „MONAR” w Olsztynie. To dzięki metodzie jakościowej jaką jest wywiad niestrukturyzowany starałem się odpowiedzieć na pytanie odnośnie motywów dla których ludzie sięgają po marihuanę i amfetaminę, jednocześnie rozgraniczając oba narkotyki. Czy są one takie same, czy też inne dla marihuany i amfetaminy oraz czy różnią się, kiedy konsument spożywa poszczególną substancję okazjnie i nałogowo? Kolejne pytanie badawcze na które odpowiedzi szukałem pośród słów konsumentów tych używek było o potencjał uzależniający. Mianowicie chodziło o to, czy obie używki uzależniają psychicznie i fizycznie?

Jedną z cech narkotyków, podobnie jak innych używek jest to, że charakteryzują się możliwością wywoływania stanu przyzwyczajenia. Niekiedy mogą nawet powodować w człowieku przymus ich dalszego stosowania. Szeroka paleta substancji psychoaktywnych, które wykazują taki rodzaj działania, że konsumentowi sprawia ono przyjemność, związana jest z ryzykiem powstawania zależności psychicznej. Polega ona na chęci przyjęcia kolejnej dawki narkotyku. Kiedy osoba jest uzależniona psychicznie, i zaprzestanie dostarczania substancji zawartych w narkotyku do organizmu ma złe samopoczucie, jest nerwowa bądź apatyczna. Uzależnienie psychiczne może się wyrażać cykliczną, regularną chęcią współzależności umysłu z narkotykiem. Taka ewentualność niesie się z regularnym zażywaniem właściwie wszystkich używek, nie tylko narkotyków, choć w przypadku tych drugich jest ono niewątpliwie silniejsze. Jednak to, czy więź owa się wytworzy, zależy przede wszystkim od rodzaju narkotyku, efektu jego zażywania (tzw. fazy), cech osobowościowych oraz od tego, w jakiej sytuacji życiowej jest osoba zażywająca narkotyk. Powstanie takiej zależności charakteryzuje się silną potrzebą i pragnieniem ponownego zażycia danej substancji. Istotnym aspektem jest także wiek konsumenta, który sięga po narkotyki, ponieważ z reguły jest tak, że uzależnieni psychicznie dorośli eksperymentowali z narkotykami w młodości, w czasie gdy dopiero dojrzewali emocjonalnie (Zajączkowski 2003).

Istnieje również zależność fizyczna, zwana przez niektórych badaczy fizjologiczną. Dotyczy ona mniejszej ilości rodzajów narkotyków. Do najsilniejszego uzależnienia fizycznego prowadzą narkotyki z grupy opiatów (heroina, morfina). Dużą zależność fizyczną mogą spowodować barbiturany, które stosowane są jako leki nasenne. Nagłe ich odstawienie doprowadza do sytuacji, w której neurony wykazują nadaktywność (działanie barbituranów powoduje osłabienie aktywności neuronów), a to doprowadza do szeregu zaburzeń fizjologicznych np. bezsenności, a niekiedy do urojeń i halucynacji. Ogólnie uzależnieniu fizycznemu towarzyszą bóle głowy, mięśni, stawów. W przypadku ostrego uzależnienia tego typu bóle oraz dyskomfort stają się nie do zniesienia (Zajązkowski 2003).

Rozważania na temat motywów zażywania marihuany i amfetaminy należy zacząć od stwierdzenia faktu, że uzależnieni – czy to psychicznie, czy fizycznie – nie stanowią 100% konsumentów tych narkotyków. Drugą sprawą na którą trzeba zwrócić uwagę jest różne działanie obu narkotyków. Wiąże się to z tym, że konsumentów należy podzielić na dwie grupy: osoby zażywające marihuanę oraz osoby zażywające amfetaminę. Tak o to podzieliśmy kluczowy problem badawczy na nieco mniejsze jednostki, podziały. W badaniach postarano się o wyszukanie takich konsumentów, którzy sięgają po dany narkotyk z różną częstotliwością tzn. szukano osób zażywających np. marihuanę nałogowo i okazyjnie. Podobnie uczyniono z amfetaminą. Aby lepiej zrozumieć motyw zażywających, warto byłoby poznać, czym charakteryzują się oba narkotyki.

2. Materiał i metody

Obie używki mogą być stosowane okazyjnie. Do tej grupy trzeba zaliczyć osoby, które biorą narkotyki, aby się zrelaksować np. na imprezach, prywatkach, czy tzw. posiadówkach. Nie wykazuje się u nich (choć oczywiście nie u wszystkich) uzależnienia psychicznego i fizycznego. Często w grupie nie wykazują się asertywnością. Marihuanę i amfetaminę zażywa się jednak nie tylko w kontekście rozrywki. Jak pokazują badania, część osób zażywa marihuanę np. w celach medycznych, natomiast amfetaminę w czasie np. napiętego harmonogramu na studiach.

Pośród badanych wyłoniono cztery osoby i przeprowadzono z nimi wywiady niestrukturyzowane. Podzielono ich na dwie grupy: grupę, w której narkotykiem dominującym jest marihuana, oraz grupę w której najczęściej aplikowanym narkotykiem jest amfetamina. Podczas doboru grup docelowych badania starano się znaleźć takich konsumentów, u których używka przyjmowana jest okazyjnie i często (osoby uzależnione). Ze względu na troskę o prywatność respondentów, imiona zamieszczone w artykule zostały zmienione.

3. Marihuana

Rozpoczęcie zażywania marihuany jest przekroczeniem pewnej granicy. Jest to przeskok z konsumowania używek legalnych, zdelegalizowanych narkotyków: alkoholu i papierosów (*Światowy Raport o Narkotykach 2018*). Osoba, która zaczyna zażywać marihuanę wkracza na sektor substancji i środków nielegalnych.

Konopie siewne (*Cannabis sativa*) były używane do wyrobu włókien i jako środek spożywczy oraz leczniczy przynajmniej od 4200 p.n.e.. Roślina ta była – już wtedy – ceniona również z powodu psychoaktywnego działania. Szeroko rozpowszechnione na całym świecie konopie są bardzo wysoko cenione kulturowo. W obecnych czasach jest to najczęściej stosowany (w większości krajów nielegalny) środek o działaniu odurzającym. Szacuje się, że na całym świecie *Cannabis* spożywa między 119 a 224 milionów ludzi (*Światowy Raport o Narkotykach 2018*). Europa jest największym odbiorcą haszyszu (żywicy konopi indyjskich), który jest dostarczany głównie z Maroko. Jego stosunkowe znaczenie jednak maleje. Większość krajów członkowskich Unii Europejskiej donosi o tym, że coraz częściej przypadkiem jest uprawa marihuany w gospodarstwach domowych, w zamkniętych pomieszczeniach. Można wysnuć tezę, że to zjawisko odzwierciedla rosnące preferowanie marihuany nad haszyszem.

Marihuanę najczęściej się pali (podobnie haszysz) przy pomocy lufki, bongi, fajki wodnej, a także „skręcając” tzw. blanta, (jointa) w bletki, najczęściej z domieszką tytoniu. Palacze marihuany

często wykazują się kreatywnością, potrafiąc wykonać własne „narzędzia” do palenia np. z butelek. Mniej popularne jest jedzenie ciast bądź ciastek z marihuaną i haszyszem.

Działanie marihuany:

- A. lekka euforia
- B. wesołość
- C. odprężenie fizyczne
- D. poprawa wyobraźni
- E. zwiększona zdolność „wczuwania się” w muzykę oraz w teksty pisane
- F. zmniejszenie potencjału agresywności

Osoba paląca marihuane ma przyśpieszone tętno. Często białka oczu zaczynają robić się czerwone (głównie zależne od dawki). Odczuwa się suchość w ustach. Zdecydowanie nasila się odruch kasłania. W trakcie spożywania marihuany, po pewnym czasie następuje gwałtowny wzrost łaknienia(www.psychologia.edu.pl 2016) Odnośnie jeszcze działania marihuany na „głowę” człowieka należy zauważyć, że istnieją przypadki, gdzie zażywanie tej używki może przynieść negatywne skutki tj. urojenia, zadrażnianie się.

Niektóre osoby zaangażowane społecznie i politycznie na całym świecie biorą udział w kampaniach na rzecz legalizacji marihuany (używka w większości państw jest nielegalna) lub przynajmniej złagodzenia kar, które są przewidziane za posiadanie i sprzedaż narkotyku. W wielu przypadkach są to ludzie, którzy używali marihuany w przeszłości. Sądzą oni, że „trawa” nie wyrządziła im żadnej krzywdy. To właśnie ten pogląd – że marihuana nie wyrządza szkód – jest ich głównym argumentem. Legalizacja oznaczałaby rezygnację z wszelkiej kontroli nad sprzedażą, czy też posiadaniem używki. Marihuana byłaby wtedy traktowana na równi z wyrobami tytoniowymi oraz alkoholem (www.psychologia.edu.pl 2019)

W 2000 roku brytyjski *Independent on Sunday* zamieść szeroką paletę artykułów optujących za legalizacją marihuany. Temat ten podjęto także w Stanach Zjednoczonych, gdzie istnieje sporo organizacji, które starają się o zmianę prawa odnośnie tego narkotyku. Jedną z głównych grup jest *NORML*, czyli *National Organization for the Reform of Marijuana Laws* (www.psychologia.edu.pl 2019).

4. Amfetamina

Tak jak przejście z papierosów i alkoholu do kanabinolów jest przekroczeniem pierwszej granicy (przejście z używek legalnych do nielegalnych), tak przejście szczybla używek tj. haszyszu i marihuana dalej jest kolejnym krokiem w spinaczce w hierarchii bardziej uzależniających substancji. Środki te ze względu na skład, dawkowanie, spektrum działania oraz zagrożenia są trudniej dostępne oraz trudniejsze do wyleczenia w przypadku uzależnienia.

Amfetaminę stworzono 1887 roku w Stanach Zjednoczonych. Od 1930 stosowano ją w medycynie oraz w wojsku (Kuntz 2009). Była obecna w środkach na nadwagę. Korzystano z niej podczas leczenia ciężkich depresji, czy też narkolepsji. Z powodu jej potencjału uzależniającego stosowanie w medycynie zostało zakazane, bądź oddane w jurysdykcję ustaw o środkach odurzających. W wojsku zaś podawano amfetaminę żołnierzom, aby zachowywali czujność na froncie i przewyżczali poczucie senności. Używano jej również do podniesienia morale. Amfetamina jak również o wiele silniejsza metamfetamina była bardzo popularna podczas II wojny światowej.

Amfetamina przybiera postać najczęściej białego lub barwionego proszku. Ma zapach podobny do proszku do prania. Narkotyk produkowany jest także w pigułkach, tabletkach i kapsułkach. Najpopularniejszym sposobem zażywania amfetaminy jest tzw. *snifowanie*, czyli „wciąganie” używki drogą nosową (Jędrzejko 2009).

Część konsumentów wciera sobie proszek w dżiśla lub błony śluzowe ust. Jest to jednak rzadszy sposób zażywania, podobnie jak połykanie np. tabletek czy też aplikowanie sobie narkotyku drogą dożylną. Amfetamina dobrze rozpuszcza się w wodzie czy innych płynach, dlatego dosypuje się ją do drinków.

Działanie amfetaminy:

- A. wzrost zdolności koncentracji i wydolności organizmu

- B. zwiększenie poczucia własnej wartości i pewności siebie
- C. euforia, podniecenie
- D. patrzenie na wszystko pozytywnie, uwolnienie od zmartwień
- E. brak łaknienia i potrzeby snu
- F. rozgadanie, słowotok
- G. uczucie lekkości i swobody
- H. „gonitwa myśli”

Amfetamina przede wszystkim „oszukuje” organizm. Działa pobudzająco na układ nerwowy, przez co znika potrzeba snu. U osoby, która jest pod wpływem amfetaminy można zaobserwować bardzo rozszerzone źrenice. Jednym z problemów w zażywaniu amfetaminy jest to, że w przypadku gdy narkotyk przestaje działać, konsument „opada” z sił i aby ponownie się pobudzić musi przyjąć kolejną dawkę. Nie da się jednak bez końca szpiłkować ją organizm. U badanych najdłuższy ciąg amfetaminowy to 14 dni. Jest to skrajnie niebezpieczny okres dla zdrowia i życia konsumenta. Już jedna, dwie nieprzespane noce mogą doprowadzić do szeregu działań niepożądanych Oprócz fizycznego wyniszczenia organizmu występują omamy i psychozy. Czas, kiedy narkotyk traci „moc” nazywany jest zrzutem lub zjazdem. Następuje wtedy złe samopoczucie, rozdrażnienie, przygnębienie.

Trudno uwierzyć, że narkotyk tak silny i wyniszczający organizm cieszył się w przeszłości poparciem wielu ludzi, wliczając w to przywódców państw. Wódz III Rzeszy, Adolf Hitler przyjmował regularnie zastrzyki z amfetaminy od 1942 roku, co potwierdza jego lekarz (Connolly 2003).

Nie był to jednorazowy przypadek. Podobnie w połowie lat '50, podczas dużego konfliktu o kontrolę nad Kanałem Sueskim, ówczesny premier Wielkiej Brytanii Anthony Eden przyznał, że zażywał odmianę amfetaminy o nazwie Benzedrin (www.amphetamines.org 2019).

5. Wnioski

Pierwszą badaną osobą jest Kamil (25 lat), student drugiego roku Dziennikarstwa i komunikacji społecznej na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie. Badany zażywa marihuanę okazjonalnie: „(...) Raz, dwa razy na tydzień, a czasem na dwa tygodnie, zależy ile mam i czy palę ze znajomymi, czy w samotności (...)”. Respondent nie wykazuje uzależnienia (fizycznego i psychicznego), co można stwierdzić nawet po częstotliwości sięgania po narkotyk. Nie odczuwa głodu narkotycznego podczas dni abstynencyjnych. Odczuwa jedynie brak działania marihuany, po którejś aplikacji z kolei tego samego dnia. Główną metodą zażywania narkotyku jest palenie go w postaci tzw. skręta, bądź przy pomocy lufki, którą można dostać w większości sklepów monopolowych czy kioskach, a która służy pierwotnie do palenia papierosów bez filtra. Działanie narkotyku określa jako „pozytywne”. Respondent odczuwa odprężenie i „wyluzowanie”. Ma dobry humor i myśli o swoich sprawach z reguły sposób optymistyczny, jednak podczas natłoku trosk i zmartwień miewa stan przygnębienia oraz lekkiego zatroskania. Osoba badana zaznaczyła również zwiększony popęd seksualny po aplikacji używki. Motywy sięgania po narkotyk różnią się tym, czy badany zażywa marihuanę w towarzystwie (najczęściej „domówki”, czy bardziej kameralne spotkania), czy też w pojedynkę. Podczas spotkań towarzyskich jako podstawowy powód wymienia fakt, że nie chce uczestniczyć w „zabawie” trzeźwy, kiedy „wszyscy palą”. Wypunktowuje również inne motywy tj. chęć odreagowania od zajęć szkolnych, a także spróbowania od czasu do czasu bycia w „innym stanie świadomości”. Głównym motywem dla którego respondent pali marihuanę sam jest dużo wolnego czasu, a ściślej nuda temu towarzysząca. Badany podkreśla śladowe ilości zażywania narkotyku w samotności, jednak kiedy do tego dojdzie najczęstszą czynnością jest oglądanie filmów. Osoba badana podkreśla również przydatność „palenia”, gdy ma problem z zaśnięciem, a na drugi dzień musi wcześniej wstać. Jest to jednak sporadyczne, dlatego nie można tej dolegliwości zakwalifikować do bezsenności, jaka wiąże się z uzależnieniem fizycznym. Palenie marihuany respondent określa prostymi słowami jako „fajne” i „nieszkodliwe”.

Inaczej sprawa z zażywaniem marihuany miała miejsce z Mariuszem (26), pracownikiem jednej z elbląskich warsztatów samochodowych. Badany na wstępie podkreślił, że pali marihuanę niemal codziennie od piętnastego roku życia: „(...) Na początku to była zabawa. Jakieś ogniska czy

inne imprezy (...). Później już ciężko było wytrzymać bez zapalenia (...)"'. Jak można wywnioskować z powyższego cytatu, badany jest osobą uzależnioną od tego narkotyku. Respondent sygnalizuje u siebie złe samopoczucie, rozdrażnienie w przypadku niesystematycznego sięgania po używkę, co można zakwalifikować do uzależnienia psychicznego. Nie odczuwa jednak dolegliwości fizycznych tj. bóle głowy czy stawów, co równa się brakiem uzależnienia fizycznego. Podkreśla, że w swoim harmonogramie dnia (kiedy nie ma przy sobie narkotyku) część czasu „musi” przeznaczyć na zdobycie marihuany. Osoba badana zauważyła u siebie silną tolerancję na narkotyk oraz krótsze jego działanie wraz z dłuższym stażem jego przyjmowania. Formy zażywania używki są u niej zróżnicowane. Respondent swój dzień zaczyna od aplikacji narkotyku. Ma to miejsce niemal codziennie przed pracą: „(...) Działa na mnie jak kawa. Łatwiej mi wtedy iść do pracy (...)”'. Później, w trakcie pracy, gdy działanie marihuany „opada”, badany zażywa narkotyk ponownie. Oprócz tego, że używka działa na badanego jak „kawa”, działanie opisuje jako relaksacyjne. Jest to jednak pośrednia przyczyna zażywania, ponieważ główną jest uzależnienie psychiczne. Respondent traktuje marihuanę jako priorytet, rzecz niezbędną do codziennego funkcjonowania. Badany zdaje sobie sprawę z tego, że jest uzależniony, i że nie jest to dla niego najlepsze. Podkreśla, że planuje rzucić marihuanę, albo chociaż ją ograniczyć, ale nie w najbliższej przyszłości.

Porównując obu konsumentów, pierwszym wnioskiem jaki się nasuwa jest silne uzależnienie psychiczne w przypadku zażywania marihuany często i regularnie. Osoba, która aplikowała narkotyk od czasu do czasu, nie wykazywała negatywnych odczuć, kiedy nie była pod jego działaniem. W drugim przypadku mieliśmy do czynienia z dolegliwościami, kiedy badany nie był „na haju”. Ciekawą zależnością między respondentem nieuzależnionym, a uzależnionym jest fakt, że w pierwszym przypadku osoba pod działaniem narkotyku nie podejmowała działań „codziennych”, czy też pożytecznych, obowiązkowych. Po zażyciu marihuany badany nie uczył się, nie chodził do pracy, nie pisał pracy magisterskiej itp. Natomiast osoba uzależniona pod wpływem narkotyku wykonywała swoje codzienne obowiązki np. chodziła do pracy, załatwiała sprawy w urzędach itp. Innym wnioskiem jest – w przypadku osoby uzależnionej – chęć szybkiej aplikacji narkotyku, kiedy spada jego działanie, mimo dużej tolerancji na narkotyk. Osoba zażywająca marihuanę okazyjnie również odczuwała tolerancję, nikłe działanie używki w tym przypadku, ale nie odczuwała „przymusu” ponownej aplikacji.

W przypadku konsumentów amfetaminy autor również postarał się znaleźć respondentów, którzy zażywają ten narkotyk od czasu do czasu, oraz często i regularnie. Pierwszym przypadkiem jest student drugiego roku Prawa na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie, który łączy studia z pracą w sklepie, Łukasz (21). Badany zażywa amfetaminę okazyjnie, podczas niektórych imprez studenckich oraz w okresie zaliczeń przed sesją i w trakcie trwania egzaminów: „(...) W momencie, kiedy jest natłok zaliczeń i dochodzi do tego praca, ciężko jest wszystko pogodzić (...)”'. Osoba badana podkreśla brak czasu na naukę, kiedy w tygodniu sporą jego część pochłania praca. Stara się wszystko pogodzić i dlatego sięga po amfetaminę. Narkotyk pomaga zwalczać mu potrzebę snu, kiedy po pracy czy po zajęciach na uczelni musi się przygotować na egzamin, bądź zaliczenie przedmiotu.

Respondent nie wykazuje uzależnienia, choć podkreśla złe samopoczucie zaraz po serii kilku dni zażywania narkotyku oraz „drobne klucie w okolicach serca” w końcowej jej fazie. Najdłuższy „ciąg amfetaminowy” do którego się przyznał trwał trzy dni. Miało to miejsce wówczas, gdy trzy dni z kolei miał „ważne egzaminy”. Podczas działania narkotyku podkreśla (oprócz pokonania bariery snu) stan pozytywnego myślenia, pewność siebie oraz rozgadanie. Zaznacza, że spędził sporo czasu na zapoznanie się z działaniem narkotyku teoretycznie, czytając o nim w Internecie. Ma na uwadze wyniszczające organizm działanie amfetaminy. Dlatego stara się wtedy dużo spożywać płynów oraz jeść, choć ma zdecydowanie mniejszy apetyt niż normalnie. Respondent, gdy planuje być kilka dni pod działaniem używki stara się tak zaplanować zajęcia, aby potem odespać „stracone” godziny. Jako główne motywy zażywania narkotyku wymienia – w przypadku imprez – chęć poczucia stanu euforii oraz zaznacza, że wpływ na sięganie po niego w tym czasie ma również towarzystwo, w którym się obraca. Z kolei jako powód zażywania amfetaminy podaje przede wszystkim wykonania wszystkich obowiązków na uczelni w perspektywie braku czasu na naukę (praca). Metodą aplikowania narkotyku

u badanego to *snifowanie*, czyli wciąganie proszku przez nos, oraz rozpuszczanie go w 100% sokach owocowych.

Kolejną osobą badaną jest Marcel (29), student trzeciego roku Bioinżynierii produkcji żywności na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie. Studiuje swój kierunek od 10 lat, kilka razy powtarzając cały tok studiów od początku. Respondent pochodzi z miejscowości nieopodal Olsztyna i łączy naukę z pracą dorywczą w firmie swojego ojca. Jest uzależniony od amfetaminy. Zażywanie tego narkotyku rozpoczął zaraz po przyjeździe na studia. Używał go zarówno podczas studenckiego, imprezowego życia, nauki a także godząc ją z pracą. U badanego wyróżnia się uzależnienie psychiczne i fizyczne. Pierwsze z nich objawia się silnym „pociąganiem” do narkotyku, notorycznym wpadaniem w „ciągi” i problemem z ich wyjściem. Respondent oznajmił, że najdłuższy „ciąg amfetaminowy” trwał u niego około dwóch tygodni. Jest przykładem na to, że zażywanie amfetaminy może doprowadzić również do uzależnienia fizycznego (zdania badaczy w tej kwestii są podzielone). Świadczą o tym bóle głowy w trakcie „przerwy” sięgania po narkotyk, często przechodzące w trudne do zniesienia migreny. Badany wykazuje obecnie brak inicjatywy do rzucenia nałogu: „(...) Kiedy skończę studia, przestanę ćpać (...)”. Respondent łączy z amfetaminą również inne odżywki. Często w parze z tym narkotykiem, podczas rozrywkowego spędzania czasu, idzie np. alkohol. U tak uzależnionego konsumenta amfetaminy występuje „ekstremalne rozregulowanie” organizmu. Osoba badana ma notoryczne problemy ze snem i odżywianiem, dlatego wspomaga się również marihuaną, która wpływa na wzrost apetytu i senność. Oprócz fizycznych dolegliwości badany uskarża się na omamy i lęki (najczęściej lęki przed policją). U tak uzależnionej osoby (psychicznie i fizycznie) motywy wydają się być jasne. Silne uzależnienie powoduje, że podczas dni abstynencyjnych konsument czuje dolegliwości na obu płaszczyznach. Narkotyk pomaga mu się z nimi „uporać”.

Analogią w obu przypadkach są dolegliwości psychiczne i fizyczne, zarówno u osoby uzależnionej, jak i nieuzależnionej. Pierwszy respondent skarżył się podczas „zrzutu amfetaminowego” złym samopoczuciem, oraz bólami serca podczas ostatnich dni serii aplikowania narkotyku. Zdecydowanie poważniejsze niedogodności odczuwał drugi z badanych (omamy, urojenia na płaszczyźnie psychicznej, oraz bóle głowy na płaszczyźnie fizycznej). Obie osoby badane zażywały narkotyk „oszukując” własny organizm, wstrzymując się od snu, jednak drugi z badanych dopuścił się najgorszej rzeczy, jaką może zrobić konsument amfetaminy: łączył zażywanie narkotyku z rozrywką i obowiązkami, bez przerwy i notorycznie. Dodatkowo aplikował amfetaminę wraz z innymi używkami. W połączeniu z moczopędnym alkoholem zwiększał tylko ilość wydalania wartości odżywczych, natomiast łącząc narkotyk z kanabinolami, chcąc „zmusić” organizm do wykonania podstawowych czynności fizjologicznych, wpędzał się w „błędne koło”.

Przy częstym i regularnym przyjmowaniu obu narkotyków może dojść do uzależnienia. Zdecydowanie groźniejsze w skutkach jest uzależnienie od amfetaminy, ponieważ doprowadza ono do problemów konsumenta zarówno na płaszczyźnie psychicznej, jak i fizycznej. U badanych, którzy zażywali marihuanę nie stwierdzono uzależnienia fizycznego (tylko psychiczne u drugiego badanego).

Badanie potwierdziło tezę, że nie należy wymieniać motywów sięgania po narkotyki, nie rozgraniczając ich oraz nie zaznaczając, czy osoba jest uzależniona, czy też nie. Inne powody wymieniali konsumenci marihuany, a inne amfetaminy. Różne motywacje sięgnięcia po narkotyk wykazywali badani, którzy odurzali się daną używką sporadycznie, a inne którzy robili to notorycznie.

6. Literatura

- Connolly S (2003) Warto wiedzieć... Amfetamina: 6.
Connolly S (2003) Warto wiedzieć... Marihuana: 7.
Jędrzejko M (2009) Narkomania. Spojrzenie wielowymiarowe: 21.
Jędrzejko M, Jabłoński P (2011) Narkotyki i poranarkotyki. Perspektywa polska: 27
Kuntz H (2009) Narkotyki i uzależnienia: 31.
Światowy Raport o Narkotykach 2018, W: [dostęp 30 marca 2019], Dostępny w World Wide Web: <http://www.unic.un.org.pl/aktualnosci/18,2303,,2018,/>

Pitucha A, Rodzaje narkotyków i ich działanie, W: [dostęp 30 marca 2019], Dostępny w World Wide Web: <http://www.psychologia.edu.pl/czytelnia/126-uzalenie/1408-rodzaje-narkotykow-i-ich-dzialanie-agata-pitucha.html>,
Zajączkowski K (2013) Uzależnienia od substancji psychoaktywnych: 17.

10. Najczęstsze powody wzywania służb ratunkowych i zgłaszania się pacjentów do jednostek pomocy doraźnej

The most common reasons for calling emergency services and reporting patients to emergency care units

Gałuszka Dominik⁽¹⁾, Angelika Poznańska⁽²⁾

⁽¹⁾Klinika Neurochirurgii Dziecięcej Katedry Neurochirurgii Wydział Lekarski Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾Uniwersytet Rzeszowski

Gałuszka Dominik: dmfgaluszka@gmail.com

Słowa kluczowe: szpital, oddział ratunkowy, ratownictwo, stan nagły, pomoc doraźna

Streszczenie

Pacjenci zgłaszający się do jednostek pomocy doraźnej poszukują pomocy w podstawowych problemach zdrowotnych. Błędem w postępowaniu często zdezorientowanych pacjentów jest zgłaszanie się do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego w celu podjęcia leczenia stanów i jednostek chorobowych które nie zagrażają życiu. Ideą powstania Szpitalnych Oddziałów Ratunkowych w Polskim systemie organizacji opieki zdrowotnej w ramach systemu Państwowe Ratownictwo Medyczne było stworzenie miejsc które będą służyć tylko pacjentom w nagłych stanach zagrożenia życia i zdrowia. Tymczasem zgłaszanie się do Szpitalnych Oddziałów Ratunkowych tych pacjentów, którzy ze względu błahe dolegliwości zdrowotne określani są jako ambulatoryjni zaburza działalność miejsc które powinny ratować ludzkie zdrowie i życie. Wiedza pacjentów na temat zakresu świadczeń Nocnej i Świątecznej Opieki Zdrowotnej nadal jest niewystarczająca. W ramach Sieci Szpitali skorelowano miejsca świadczenia działalności ratunkowej z lokalizacją jednostek ambulatoryjnych w celu odsyłania pacjentów w odpowiednie miejsca i szerszy dostęp do diagnostyki laboratoryjnej i obrazowej.

1. Wstęp

Wyjazdy do pacjentów w stanie nagłego zagrożenia życia i zdrowia stanowią istotną część pracy Zespołów Ratownictwa Medycznego (ZRM). Często pacjenci wzywający pomocy nie potrafią samodzielnie określić stanu swojego zdrowia, a także opisać najważniejszych aspektów bólu i jego dokładnej lokalizacji. W niniejszej pracy postaramy się opisać najważniejsze aspekty opieki nad pacjentem z punktu widzenia ratownictwa medycznego i stanów nagłych. Postaramy się przytoczyć najważniejsze jednostki chorobowe towarzyszące pacjentom spotykanym na pokładzie ambulansu oraz sposoby radzenia sobie z nimi.

2. Przyjęcie zgłoszenia i dysponowanie zespołu ratownictwa medycznego

Pierwszym ogniwem wzywania pomocy do pacjenta jest wybranie numeru alarmowego. W zależności od kraju numery te mogą się różnić. Dla ujednoczenia możliwości wzywania pomocy w Unii Europejskiej wprowadzono jednolity numer 112. Idea powstania tego numeru miała dotyczyć ustandaryzowania wzywania pomocy na całym obszarze Unii Europejskiej niezależnie od kraju, w którym znajduje się osoba wzywająca pomocy. Pomysłem, który towarzyszył powstaniu tego numeru było stworzenie Centrów Powiadamiania Ratunkowego, w którym przy słuchawkach telefonu mieli zasiąść specjaliści poszczególnych służb, a więc: Policji, Państwowej Straży Pożarnej i Państwowego Ratownictwa Medycznego. Miało to zapewnić sprawne przekazywanie nadchodzącego połączenia do odpowiedniej osoby, która będzie dysponować podlegające sobie służby. Rzeczywistość jednak okazała się inna. W Centrach Powiadamiania Ratunkowego zatrudniono operatorów numeru 112, którzy nie mają obowiązku posiadania wykształcenia specjalistycznego w zakresie którejkolwiek w wymienionych wyżej służb. Ich zadanie polega na

odebraniu przychodzącego połączenia, zebraniu wstępnych danych i rodzaju zdarzenia to znaczy, iż notowane są dane osobowe wzywającego (imię i nazwisko, adres zdarzenia, rodzaj służby która powinna być powiadomiona). Po zebraniu tych wstępnych danych operator numeru 112 przekazuje połączenie do odpowiedniej służby. Tam wzywający jeszcze raz musi dokładnie opowiedzieć o zdarzeniu, podać swoje dane i adres gdzie ma miejsce zdarzenie i dopiero wtedy następuje przyjęcie zgłoszenia. Nie jest przesadą określenie, iż w niektórych przypadkach korzystanie z numeru 112 wydłuży czas przyjęcia zgłoszenia, a w efekcie czas przybycia do miejsca zdarzenia odpowiednich służb ratunkowych. Dlatego jeżeli wzywający wie, która służba jest potrzebna w miejscu wezwania powinien dzwonić na konkretny numer alarmowy. Obecnie wszystkie numery służb zostały zachowane i prawdopodobnie będzie tak jeszcze przez długie lata, ponieważ w mentalności wielu osób tradycyjne numery alarmowe będą wybierane jako pierwsze.

Wzywając pomoc medyczną w postaci zespołu ratownictwa medycznego należy pamiętać o kilku podstawowych zasadach. Po pierwsze, kiedy wiemy, iż zagrożone jest zdrowie i życie należy wybrać bezpośredni numer do dyspozytora ratownictwa medycznego, czyli 999. Jego wybranie jest możliwe z każdego telefonu i dodatkowo bezpłatnie. Kiedy połączenie zostanie odebrane przez dyspozytora medycznego należy pamiętać o podaniu w pierwszej kolejności lokalizacji zdarzenia. Będzie to jasne określenie miejsca zdarzenia, a więc ulicy i numeru domu lub mieszkania. Wzywanie pomocy łatwiejsze jest w obszarze miasta, ponieważ przy pomocy nawigacji można dość konkretnie określić takie miejsce. Sytuacja komplikuje się w obszarze wiejskim. Często zdarza się, iż numery domów nie są rozmieszczone w logicznym ułożeniu, tylko gospodarstwa były numerowane według czasu ich powstawania. Wtedy konieczne jest, by w treści wezwania zawrzeć charakterystyczne miejsca, które mogą umożliwić dotarcie do pacjenta. Ważne jest, by miejsce zdarzenia podawać zawsze jako pierwsze. Jest tak, ponieważ dzisiejsze zdobycze techniki mogą zawsze zawieść, łącznie z rozładowaniem telefonu komórkowego, z którego wzywana jest pomoc. Lokalizacja jest więc w takim przypadku bardzo istotna. Kolejne dane są uzupełnieniem, jednakże bardzo istotnym. Chodzi tutaj w drugiej kolejności o powód wzywania pomocy. Jednym z zadań dyspozytora medycznego jest nadanie kodu w jakim zespół ratownictwa medycznego uda się do poszkodowanego. Obecnie istnieją dwie możliwości. Pierwsza z nich to wyjazd w kodzie 1 zwanym alarmowym. Wtedy do bezpośredniego stanu zagrożenia życia określonego na podstawie danych zebranych we wstępnym wywiadzie medycznym zespół ratownictwa medycznego udaje się z użyciem sygnałów świetlnych i dźwiękowych. Czas wyjazdu został również jasno określony jako minuta od czasu zadysponowania zespołu ratownictwa medycznego. Druga możliwość to kod drugi określony jako pilny, jednakże bez użycia sygnałów świetlnych i dźwiękowych w czasie dotarcia do pacjenta. Taki wyjazd rozpoczyna się do dwóch minut od momentu przekazania zlecenia do zespołu ratownictwa medycznego. Jeżeli dyspozytor określi stan pacjenta jako bezpośrednio zagrażający życiu, wyśle zespół w kodzie pierwszym, po około 30 sekundach prowadzenia wywiadu. Oczywiście ten czas jest zbyt krótki, by zebrać wszystkie dane, ale wystarczający do określenia lokalizacji i stanu pacjenta. Wówczas wtedy po zadysponowaniu zespołu ratownictwa medycznego dane można uzupełnić o imię i nazwisko wzywającego, dane osobowe pacjenta oraz jego wiek. Należy mieć świadomość, iż w sytuacji ratowania ludzkiego życia liczą się sekundy. Marzeniem wszystkich tworzących system ochrony zdrowia jest, by służba, która ma ratować ludzkie życie i zdrowie wyjeżdżała tylko do takich zdarzeń. Jednak w dzisiejszych czasach roszczeniowość pacjentów powoduje, iż w chwili wzywania zespołu ratownictwa medycznego poinformowani, iż nie jest to stan nagły próbują wymusić przyjazd pogotowia. Agresja słowna wobec personelu systemu Państwowego Ratownictwa Medycznego to niestety smutna rzeczywistość obecna często na każdym etapie udzielania pomocy. Od momentu jej wzywania, poprzez interwencję zespołu w miejscu wezwania i przekazanie do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego (SOR). Miejsce to jest wydzielone w szpitalu jako specjalny obszar, który ma służyć jak najszybszemu wykonywaniu Medycznych Czynności Ratunkowych. Jednakże kolejnym po zespołach ratownictwa medycznego miejscem, w którym pacjenci szukają pomocy jest SOR. Zgłaszają się do niego w ciągu doby setki osób, często z dolegliwościami, które powinny być zaopatrzone przez lekarzy Podstawowej Opieki Zdrowotnej (POZ). Jednakże pacjenci ci nie mają świadomości, iż poza oznaczeniem krytycznych parametrów, które określają możliwość wystąpienia stanu zagrożenia życia, nie otrzymają bardziej kompleksowej pomocy. Różnica pomiędzy zespołami

ratownictwa medycznego a SOR jest taka, iż dyspozytor przyjmujący zgłoszenie może bazować tylko i wyłącznie na wywiadzie wzywającego. Natomiast w SOR osoba oceniająca pacjenta ma realistyczny obraz jego dolegliwości. W przeciągu ostatniego roku zmianie uległa także organizacja Nocnej i Świątecznej Pomocy Lekarskiej (NiSPL). Została ona umieszczona w ramach tak zwanej listy „Sieci Szpitali” przy Zakładach Opieki Zdrowotnej (ZOZ), które posiadają SOR i oddziały tożsame, które wymagane są przy okazji zorganizowania w szpitalu SOR. Chodzi tutaj o obecność w strukturze ZOZ oddziału chorób wewnętrznych, chirurgii ogólnej, ortopedii lub chirurgii urazowej oraz oddziału pediatrycznego (Kalinowski i Kapkowska 2007).

3. Ból w klatce piersiowej jako powód wzywania Zespołu Ratownictwa Medycznego lub zgłaszania się pacjenta do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego

Ból w klatce piersiowej może być spowodowany szeregiem groźnych dla życia powodów. Może również być objawem pojawiających się w wielu schorzeniach, które nie stanowią stanu nagłego. Pośród jego powodów wymienić możemy: chorobę niedokrwienną serca, włączając w to niestabilną dławicę wieńcową i ostry zespół wieńcowy z uniesieniem, bądź bez uniesienia odcinka ST, ostre rozwarstwienie aorty, ostry zator tętnic płucnych. Wymienione powyżej przykłady w każdym przypadku będą wymagały szybkiego zaopatrzenia, ponieważ zaliczają się do schorzeń mogących bezpośrednio korelować z możliwością nagłego zatrzymania krążenia w czasie do 3 godzin od momentu pierwszych objawów. Różnicowanie u chorych z bólami w klatce piersiowej jest trudne ze względu na liczne, często występujące inne ich przyczyny, do których należą między innymi: zespół żebrowo-mostkowy, refluks żołądkowo-przełykowy lub przepuklina rozworu przełykowego przepony, choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy, wypadanie płątka zastawki dwudzielnej, ból psychogeny. Występują również rzadziej spotykane przyczyny bólu w klatce piersiowej, które również sprawiają problemy diagnostyczne. Są to między innymi: kamica żółciowa, ostre zapalenie osierdzia lub opłucnej, odma opłucnowa, skurcz przełyku, dyskopatia szyjna lub piersiowa, hiperwentylacja czy półpasiec. Jak podaje w swojej pracy Zadura M. istotnym w badaniu pacjenta z bólem w klatce piersiowej jest przede wszystkim dobrze zebrany wywiad medyczny. Lekarz lub ratownik medyczny badający pacjenta z bólem w klatce piersiowej jako pierwsze i najpilniejsze powinien rozważyć możliwość występowania pierwszych trzech wymienionych powyżej przyczyn bólu w klatce piersiowej oraz starać się możliwie jak najszybciej je wykluczyć. Jak wykazano powyżej ból w klatce piersiowej może mieć podłoże różnych jednostek chorobowych. Ważne jest to by nie pominąć w postępowaniu ratunkowym stanów bezpośredniego zagrożenia życia (Szymańska i in. 2012).

4. Duszność jako powód wzywania Zespołu Ratownictwa Medycznego lub zgłaszania się pacjenta do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego

Duszność, czyli subiektywne odczucie pacjenta zgłaszane w związku z problemami w prawidłowej wentylacji jest jednym z najczęstszych powodów interwencji Zespołów Ratownictwa Medycznego. Duszność może korelować z wieloma jednostkami chorobowymi z zakresu układu oddechowego, sercowo-naczyniowego, nerwowego, pokarmowego, a najczęściej miewa podłoże psychogenne. Wiele interwencji ZRM jest spowodowane stresem pacjenta, co powoduje przyspieszenie oddychania do częstości znacznie przekraczającej fizjologiczną normę, która wynosi 2-3 oddechy na 10 sekund, iż zaburza to prawidłową wymianę gazową. Przyjmuje się, iż chorzy oddychający szybciej niż 30 oddechów na minutę mogą być niewydolni oddechowo. Wynika to z tego, iż ich zbyt szybki oddech nie pozwala na prawidłową wymianę gazową w płucach. Diagnostyka powodów duszności w ramach działalności ZRM jest ograniczona. W związku z tym może to sprawiać olbrzymie trudności właściwego rozpoznania powodu duszności.

Według przytoczonej powyżej skali mMRC możemy zauważyć, iż duszność może towarzyszyć zarówno osobom zdrowym jak i krytycznie chorym. Skala mMRC dzieli ją na 5 stopni, które mają pomóc w jej prawidłowym odróżnieniu i definiuje ona niejako jakość życia takiego pacjenta. Zdrowy człowiek, regularnie stosujący wysiłek fizyczny nie powinien doświadczać duszności za wyjątkiem sytuacji, w których znacznie obciąża swój organizm. Mowa tutaj

o wymagających odcinkach biegowych, szybkim tempie biegu czy pokonywaniu znacznej wysokości. Jednakże po krótkiej chwili odpoczynku po całkowitym zaprzestaniu aktualnej aktywności, bądź po prostu zwolnienia tempa tego wysiłku uczucie duszności powinno szybko mijać. Takie postępowanie podczas ćwiczeń które nie wyklucza w jednej chwili wysiłku na rzecz odpoczynku jest istotne dla rozwoju formy i sprawności ćwiczącego. Wielu z ćwiczących sporty biegowe czy siłowe ćwiczy tak zwanymi interwałami. Taka sposób ćwiczenia polega na chwilowym zwiększeniu wysiłku bądź obciążenia, po czym ćwiczący znowu wraca do łżejszego, a tym samym wyjściowego obciążenia fizycznego. W ten sposób organizm jest przyzwyczajany do chwilowej walki z nadmiernym obciążeniem i stabilnie znosi jego uwydatnienie, odpoczywając już podczas chwilowego zwolnienia ćwiczenia, po czym trenujący znowu wraca do wzmożonego wysiłku fizycznego. To wspaniały sposób potwierdzony w wielu badaniach klinicznych, dzięki któremu wielu pacjentów na nowo odzyskiwało sprawność, bądź wzmacniało wydolność swojego organizmu przyzwyczajając go chwilowym wzmożeniem intensywności wykonywanych ćwiczeń. W stopniu będącym drugim w kolejności skali mMRC oznaczonym jako 1 również możemy spotkać pacjentów zdrowych, jednakże nie przystosowanych do wzmożonego wysiłku fizycznego. Kwalifikacja do tej grupy może być spowodowana brakiem intensywnych treningów u pacjenta dotychczas ćwiczącego w sposób zintensyfikowany, bądź może oznaczać pogorszenie stanu zdrowia i tolerancji wysiłku u pacjenta, u którego dotychczas nie stwierdzano kłopotów oddechowych podczas znacznego wysiłku fizycznego. Stopień oznaczony jako 1 w skali mMRC będzie powodem duszności w czasie szybkiego marszu po płaskim terenie lub wchodzenia na niewielkie wzniesienie. Będzie on najczęściej stwierdzany u osób zdrowych, ale nie podejmujących regularnego wysiłku fizycznego. Kolejne stopnie skali mMRC oznaczone jako 2, 3 i 4 korelują bezpośrednio ze stanem choroby i różnego stopnia niewydolności krążeniowo-oddechowej w trakcie podejmowania wysiłku. Najczęstszymi powodami występowania duszności są zaostrzenia przewlekłych chorób układu oddechowego, a więc przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, astmy i innych chorób zaporowych płuc. Pacjenci tacy najczęściej przewlekłe przyjmują leki z grupy sterydów. Mają one za zadanie niwelować obturację dróg oddechowych. Jednak przyjmowane latami są w coraz większym stopniu tolerowane przez organizm nie wywołując tym samym pełnego efektu terapeutycznego lub jest on znacznie słabszy (Karnani i in. 2005). Choroby układu oddechowego korelują z podłożem alergicznym. Większość interwencji w okresie letnim ma korelację z podłożem alergicznym. Pyłki roślin uwalniane do powietrza powodują u tych pacjentów reakcję zaostrzenia astmy lub przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Ważnym jest, aby na etapie czynności ratunkowych dostrzec tę możliwość i stosować leczenie adekwatne i obejmujące także podłoże alergiczne. Choroby obturacyjne będą znacznie gorzej poddawać się leczeniu bez włączenia terapii alergii. Ważnym aspektem w opiece lekarza podstawowej opieki zdrowotnej (POZ) nad pacjentem jest kierowanie w przypadku podejrzenia nietolerancji pewnych substancji i zdarzających się reakcji alergicznych do specjalistycznej poradni alergologicznej. Tam pacjent najczęściej po wstępnej diagnostyce może mieć wykonane testy skórne i płatkowe, co w dużej mierze pozwoli ustalić ewentualne czynniki powodujące alergię. Pacjent może wtedy również zostać zaopatrzony w leki do indywidualnego stosowania w przypadku wystąpienia nagłych objawów anafilaksji. Chodzi tutaj między innymi o strzykawko-ampułki do samodzielnego stosowania z adrenaliną. Zawierają one 0,3 mg adrenaliny. Pacjent, który ma stwierdzoną anafilaksję np. na jad pszczoły, osy czy szerszenia może samodzielnie podać sobie dawkę leku. W wielu przypadkach posiadanie takiego leku jest ratunkiem życia przed dotarciem do miejsca zdarzenia ZRM. W przypadkach ostrej nietolerancji reakcja anafilaktyczna może być błyskawiczna i prowadzić do wstrząsu anafilaktycznego. Wstrząs to ostre niedotlenienie tkanek spowodowane dysproporcją pomiędzy pojemnością łożyska naczyniowego a objętością krwi krążącej. W przypadku hipowolemii możemy mieć do czynienia z dwoma mechanizmami jego wystąpienia. Najprościej można podzielić go na wstrząs hipowolemiczny względny i bezwzględny. W jednym i drugim rodzaju dochodzi do utraty płynów. Jednakże istotą wstrząsu hipowolemicznego bezwzględnego jest utrata krwi krążącej w wyniku krwawienia zewnętrznego bądź trudniejszego do rozpoznania krwawienia wewnętrznego. Z kolei wstrząs hipowolemiczny względny spowodowany jest rozszerzeniem naczyń krwionośnych i poprzez ten fakt zaburza się stosunek i procent wypełnienia łożyska naczyniowego (Shiber i Santana 2006).

Tab. 1 Skala nasilenia duszności.

Skala nasilenia duszności mMRC (modified Medical Research Council)

0 duszność występuje jedynie podczas dużego wysiłku fizycznego

1 duszność występuje podczas szybkiego marszu po płaskim terenie lub wchodzenia na niewielkie wzniesienie

2 z powodu duszności chory chodzi wolniej niż rówieśnicy lub idąc we własnym tempie po płaskim terenie, musi się zatrzymywać dla nabrania tchu

3 po przejściu ~100 m lub po kilku minutach marszu po płaskim terenie chory musi się zatrzymać dla nabrania tchu

4 duszność uniemożliwia choremu opuszczanie domu lub występuje przy ubieraniu się lub rozbieraniu

5. Analiza rodzajów zgłoszeń do szpitalnego oddziału ratunkowego na podstawie badań

W swojej pracy Szwamel K. i Kurpas D. zbadały powody zgłaszania się pacjentów do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego (SOR). Przeprowadzono badanie, w którym stworzony autorski kwestionariusz ankiety. Badanie przeprowadzono w okresie 12 stycznia do 20 lutego 2015 roku w Kędzierzynie-Koźlu. Zebrano 155 ankiet od pacjentów, którzy zgłaszali się do SOR z niewielkimi urazami. Powodem podjęcia badania było zaobserwowanie braku skutecznych rozwiązań w sferze podstawowej opieki zdrowotnej. Pacjenci długo oczekują na konsultacje specjalisty w POZ i z tego powodu poszukują przyspieszenia możliwości konsultacji w SOR, podczas gdy niewielkie urazy mogłyby być zaopatrzone przez lekarza POZ i kolejno kierowane do konsultacji w trybie przyspieszonym w ramach ambulatoryjnej opieki specjalistycznej (AOS). Jednakże często praktyką lekarzy POZ jest kierowanie pacjenta z dolegliwościami które mogłyby być skutecznie zaopatrzone w ramach ich działalności. Podstawową nieścisłością tej sytuacji jest to, iż pacjent nie potrzebuje skierowania do SOR. Może się tam zgłosić osobiście jeżeli uważa jest to konieczne i zostanie przyjęty. Nie istnieją na tę chwilę żadne ograniczenia systemowe, na podstawie których pacjent mógłby w pełni zgodnie z prawem zostać odesłany z SOR do POZ bez wstępnej konsultacji w jego strukturach. Nadzieją na rozwiązanie tego problemu była reforma związana z Siecią Szpitali i lokowaniem punktów NiŚPL w strukturach szpitali posiadających SOR. Obecnie praktykuje się takie rozwiązanie, iż pacjent z dolegliwościami, które w ocenie osoby prowadzącej segregację w SOR może być odesłany do punktu NiŚPL. Jednak w przeważającej ilości przypadków w niedługim czasie po odesłaniu i konsultacji w tym punkcie pacjent wraca ze skierowaniem do SOR. Wtedy również kończy się możliwość odesłania pacjenta bez pobytu i konsultacji w SOR. W ten sposób do obszaru, który ma służyć ratowaniu życia i zdrowia pacjentów trafiają osoby z często wielodniowymi dolegliwościami, nie zaopatrzeni należycie w NiŚPL. Poprzez takie postępowanie naraża się pośrednio pacjentów przekazywanych do SOR przez ZRM na opóźnienie wdrożenia zabiegów ratujących życie i zdrowie, ponieważ uwaga i postępowanie personelu SOR jest rozpraszane przez pacjentów ambulatoryjnych. Zdecydowanie potrzebne jasne rozwiązanie systemowe, które rozwiąże tego typu problemy będące codziennością funkcjonowania SOR. Podstawową różnicą w funkcjonowaniu SOR i POZ jest opisany już powyżej zakres obowiązków i stanów, które powinny być tam zaopatrywane, ale również znacząco różni się finansowanie obu tych struktur ze środków przeznaczanych na ochronę zdrowia. Mianowicie SOR jest finansowany ze środków budżetowych

przekazywanych w ramach stawki ryczałtowej. Oznacza to, iż każdy SOR w zależności od kontraktu zawartego z oddziałem Narodowego Funduszu Zdrowia (NFZ) otrzymuje za każdą dobę pracy daną sumę pieniędzy, niezależnie od tego jaką ilość pacjentów przyjmie. Poza tym w tym budżecie należy zawrzeć wszystkie badania wykonywane w SOR. Począwszy od nisko kosztowych badań krwi po specjalistyczne obrazowe badania wysokokosztowe jak np. tomografia komputerowa. Z tego powodu zdarza się, iż dobowy bilans SOR może być ujemny. Na podobnej zasadzie finansowane są ZRM, niezależnie od ilości podejmowanych interwencji. Z kolei punkty POZ i NiSPL, który jest jego przedłużeniem w godzinach 18-8 w każdy dzień tygodnia i całodobowo w dni wolne i świąteczne są rozliczane stawką za każdego pacjenta. Mianowicie ze składki zdrowotnej każdego pacjenta, która co miesiąc przekazywana jest z jego wynagrodzenia, lekarz POZ, do którego pacjent jest zapisany otrzymuje sumę pieniędzy zakontraktowaną z NFZ. Lekarz POZ otrzymuje ją stale niezależnie od tego jak często odwiedza go pacjent. Stąd finansowanie POZ jest znacznie stabilniejsze niż SOR, ponieważ każda doba intensywnej działalności SOR może zrujnować ogólny budżet ZOZ. Oczywiście POZ jest finansowany mniejszymi sumami uwzględniając cały miesiąc, ale są to wpływy regularne. Natomiast SOR jest finansowany większą sumą, ale to z racji przyjmowania pacjentów w nagłym stanie zagrożenia życia i zdrowia gdzie często potrzebne jest podjęcie procedur wysokokosztowych i to powinno być jego głównym zadaniem (Szwamel i Kurpas 2016).

6. Literatura

- Szwamel K, Kurpas D (2016) Analiza zgłaszalności pacjentów z niewielkimi urazami do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego. *Family Medicine & Primary Care Review* 2: 155-162.
- Kalinowski P, Kapkowska B (2007) Analiza interwencji zespołów ratownictwa medycznego w powiecie częstochowskim w 2004 roku. *Probl Hig Epidemiol* 88: 112-117.
- Karnani NG, Reisfield GM, Wilson GR (2005) Evaluation of chronic dyspnea. *Am Fam Physician*: 1529–1537.
- Shiber JR, Santana J (2006) Dyspnea. *Med Clin North Am*: 453–479.
- Szymańska AL, Małkowska B, Ładny RJ (2012) Myocardial infarction, unstable angina, thoracic aortic aneurysm and pulmonary embolism as the most frequent causes of hospitalisation of patients with chest pains. *Przegląd Kardiologiczny* 7(2): 78-84.

11. Perspektywy zawodowe przyszłych absolwentów kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy

Professional perspectives of future graduates directions safety and hygiene of work

Kamila Janicka, Wiktoria Janicka, Daria Jaskólska, Paulina Szostak

Instytut Hodowli Zwierząt i Ochrony Bioróżnorodności, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Janicka Kamila: janicka.kamila95@gmail.com

Słowa kluczowe: praca, studia, BHP

Streszczenie

Celem pracy było przedstawienie perspektyw zawodowych, które posiadają przyszli absolwenci kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie. W tym celu przeprowadzono analizę biznesplanów przygotowanych przez studentów tego kierunku, studiów stacjonarnych i niestacjonarnych, a także oceniono program kształcenia pod względem przydatności na wybranej ścieżce kariery. Rozważaniom zostało poddanych 65 biznesplanów stworzonych w latach 2015-2017 w ramach przedmiotu Podstawy prawa. Z przeprowadzonych badań wynika, iż większość studentów ucząca się na kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy nie wiąże z nim swej kariery zawodowej. Większość skłania się ku ścieżkom zawodowym, które w większym stopniu związane są z ich zainteresowaniami niż przyszłym wykształceniem. Badane biznesplany wskazywały, iż największa grupa (31 osób) wykazała chęć związania swej przyszłości z branżą usługową. Część młodych ludzi nie ma pomysłu, w jaki sposób mogłaby rozwinąć zdobyte w trakcie studiów umiejętności, a co za tym idzie zyskać wartość w oczach pracodawców. Studia powinny być zatem czasem, w którym studenci poznają możliwości rozwoju i połączenia swoich pasji z uzyskanymi kwalifikacjami, bez względu na to czy będą chcieli podjąć pracę na etacie, czy założyć własną działalność gospodarczą.

1. Wstęp

Moment ukończenia studiów, jest jednym z najważniejszych wydarzeń w życiu każdego studenta. Właśnie wtedy, rozpoczyna się samodzielne i odpowiedzialne życie. Na tym etapie podejmowane są istotne, dla przyszłej kariery, decyzje (Jaskólska i in. 2018). Pojawiają się kluczowe pytania, mające wpływ na obranie swojej ścieżki zawodowej. Absolwenci uczelni wyższych dokonują wyboru najczęściej pomiędzy dwiema opcjami. Pierwsza, zapewniająca stabilizację finansową - etat, oraz druga, czyli prowadzenie własnej działalności gospodarczej. Ostateczna decyzja uzależniona jest od wielu czynników. Jednym z podstawowych jest fakt, czy stanowisko, o które się ubiegamy jest zgodne z naszymi kwalifikacjami (Kosała i Pichur 2008). Znalezienie etatu pokrewnego z wyuczonym zawodem, a także możliwość zdobywania, niezbędnego doświadczenia pod okiem starszych pracowników, byłaby rozwiązaniem idealnym. Niestety, w wielu przypadkach nie można na to liczyć. Niejednokrotnie, pracodawcy oczekują od swoich przyszłych podwładnych wysokich kwalifikacji i praktycznych umiejętności zaraz po zakończeniu nauki, co przeważnie jest nierealne do spełnienia. W związku z tym część osób decyduje się na pracę w innym zawodzie, która zapewnia stałe źródło dochodu. Jednak nie wszyscy absolwenci godzą się na zmianę branży. Aby zaspokoić swoje ambicje i oczekiwania decydują się na prowadzenie własnej działalności gospodarczej. Wiąże się to z dużym ryzykiem, związanym z szeregiem zobowiązań, w tym z aspektem finansowym. Osiągnięcie sukcesu będzie możliwe tylko w sytuacji, gdy prowadzenie firmy jest procesem przemyślanym oraz popartym wiedzą merytoryczną. Nie bez znaczenia pozostaje również motywacja i zaangażowanie przyszłego przedsiębiorcy (Matusiak i Mażewska 2005). Na uczelniach wyższych cięży obowiązek i odpowiedzialność w wyposażenie młodych ludzi w niezbędne do tego celu narzędzia. Stąd też muszą one na bieżąco przekształcać i dostosowywać

programy studiów do aktualnych wymagań rynku pracy, tak by w kompleksowy sposób przygotowywały studentów do rozpoczęcia kariery zawodowej (Fallows i Steven 2000). Aby określić w jakim stopniu młodzi ludzie wykazują chęć do podjęcia własnej działalności gospodarczej w wyuczonym zawodzie, dokonano analizy biznesplanów opracowanych w ramach przedmiotu „Podstawy prawa” na kierunku Bezpieczeństwo i Higiena Pracy, a także oceniono program ich studiów pod kątem treści zawartych w wybranych przedmiotach.

Zmiany zachodzące na rynku pracy spowodowane są wieloma czynnikami, jednym z nich jest struktura wiekowa pracowników, która jest bardzo zróżnicowana. Pokolenie Y (urodzeni w latach 1980 – 2000) to aktualnie najmłodsze spośród aktywnych zawodowo osób. Dzięki zmianom w szkolnictwie, jego przedstawiciele to osoby dobrze wykształcone oraz odczuwające potrzebę ciągłego rozwoju. Dorastanie w erze wszechobecnej technologii zmieniło ich postrzeganie świata oraz oczekiwania wobec życia, względem ich rodziców. Nie wykazują oni silnego przywiązania do firmy, w której pracują, ponieważ ważna jest dla nich zmienność i różnorodność w życiu. Charakteryzują się również odwagą w kwestii zmiany zawodu, zwłaszcza jeżeli nowy daje im możliwość realizowania swoich pasji i marzeń (Stachowska 2012). Takie podejście sprawia, że pokolenie Y odbierane jest przez pracodawców jako trudna grupa pracowników. Wynika to także z faktu, iż wielu z nich ma nierealistyczne wyobrażenia odnośnie swojej pierwszej pracy. Uważają, że wysokie wykształcenie zasługuje na wysokie zarobki. Jak sami przyznają, nie lubią pracy, która wymaga ścisłego podporządkowania i wykonywania poleceń. Pragną, aby opierała się ona na współpracy i komunikacji z szefem. Kierują się ideą work – life balance, polegającą na zachowaniu równowagi pomiędzy sferą zawodową, a czasem wolnym. Nie traktują zatem pracy jako swojego najważniejszego zajęcia, tylko jako narzędzie, które umożliwi im rozwijanie pasji (Smolbik – Jęczmień 2013). Doświadczenia nabyte podczas pierwszej pracy po ukończeniu studiów bardzo szybko weryfikują oczekiwania i wyobrażenia absolwentów uniwersytetów na temat wyboru ścieżki zawodowej. Niejednokrotnie wywołuje ona negatywne skojarzenia i nie zapewnia poczucia bezpieczeństwa jeżeli chodzi o aspekt finansowy (Kozera 2012). Stąd też, aby uniknąć rozczarowań i frustracji, wielu młodych jest gotowych podjąć ryzyko oraz odpowiedzialność za stworzenie i prowadzenie własnej firmy (Matusiak i Mażewska 2005). Pozytywną stroną zarządzania biznesem jest poczucie niezależności, szansa na realizację zainteresowań oraz teoretycznie lepsze zarobki. Ankieta przeprowadzona w roku akademickim 2006/2007 na Uniwersytecie Ekonomicznym w Krakowie potwierdza wysoką popularność pomysłu założenia biznesu. Wykazała, że aż 66% spośród 216 biorących udział w badaniu rozważa możliwość założenia własnej firmy po zakończeniu nauki na uczelni wyższej (Kosała i Pichur 2008). Trzeba pamiętać, iż rozpoczęcie działalności pociąga za sobą szereg zobowiązań i niebezpieczeństw, dlatego przedsięwzięcie to musi być dobrze zaplanowane, aby zwiększyć szanse na osiągnięcie sukcesu (Matusiak i Mażewska 200). Istotnym czynnikiem, mającym wpływ na powodzenie i realizację własnego przedsiębiorstwa jest nastawienie osoby podejmującej to wyzwanie, jak również wiedza, niezbędna przy zarządzaniu firmą. Kluczową kompetencją jest także przedsiębiorczość, która powinna być rozwijana od najmłodszych lat i kontynuowana na wszystkich szczeblach edukacji. Znajomość jej podstaw i uregulowań prawnych zmniejszają ryzyko wpływu niekorzystnych czynników na zmniejszenie chęci młodych ludzi do prowadzenia własnego biznesu (Rachwał i Wach 2016).

Na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat możemy obserwować zjawisko masowego kształcenia się młodych ludzi na uczelniach wyższych. Wynika to z upowszechnienia szkolnictwa, a poniekąd spowodowane jest presją społeczną. Wartość uzyskanego dyplomu, postrzegana jest jako dobra inwestycja oraz gwarancja lepszej pracy. Duża popularność studiów oraz wysoki odsetek absolwentów sprawił, że na rynku pracy zaczęło brakować dla nich miejsca i w rezultacie obserwujemy nasyconie niektórymi zawodami (Borowicz 2011). W takiej sytuacji konieczne było wprowadzenie innowacji w programach studiów. Efektem wychodzenia naprzeciw oczekiwaniom, a także przewidywaniom rozszerzania ofert na rynku pracy jest ciągły wzrost liczby nowych kierunków studiów i specjalności na uczelniach wyższych, co ma na celu zwiększenie szans studentów na zatrudnienie. Miarą sukcesu takiego działania jest liczba absolwentów wchodzących na rynek pracy (Borowicz 2011, Jaskólska i in. 2018). Różnorodność przedmiotów znajdujących się w programie studiów ma za zadanie zwiększać kompetencje absolwentów, tym samym podnosząc ich

konkurencyjność, co powinno ułatwić im odnalezienie się na rynku pracy. Moduły takie jak podstawy przedsiębiorczości, podstawy prawne, czy marketing i zarządzanie pozwalają absolwentom zdobyć wiedzę z zakresu prowadzenia własnego biznesu (Jaskólska i in. 2018). Nowopowstające kierunki dostosowywane są do rozwijającej się rzeczywistości. Coraz większa liczba studentów kształci się w dziedzinach związanych z informatyką oraz sprzętem elektronicznym, czy szeroko pojętą inżynierią. Jednakże kierunki związane z kontrolą bezpieczeństwa (np. w pracy, żywności) stają się coraz bardziej doceniane, gdyż kształcą przyszłych specjalistów dbających o nasze zdrowie. Jednym z takich kierunków jest bezpieczeństwo i higiena pracy (BHP), czyli specjalność która od przeszło dekady dostępna jest na wielu uczelniach w Polsce. Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie otworzył dla studentów ten kierunek w październiku 2011 roku, oferując zdobywanie wiedzy ogólnej, z zakresu nauk technicznych oraz specjalistyczną. Z założeń programu wynika, iż absolwent powinien posiadać kompetencje do korzystania ze zdobytych umiejętności w pracy zawodowej i porozumiewania się z otoczeniem. Zdobyta wiedza ma ułatwiać interpretowanie roli i miejsca człowieka w procesie pracy wraz ze wszystkimi tego konsekwencjami. W momencie rozpoczęcia pracy, powinien być przygotowany do zastosowania zdobytych umiejętności i wiedzy w obszarach takich jak: organizacja, zarządzanie i marketing w działaniu czy psychologia (www.up.lublin.pl).

2. Materiał i metody

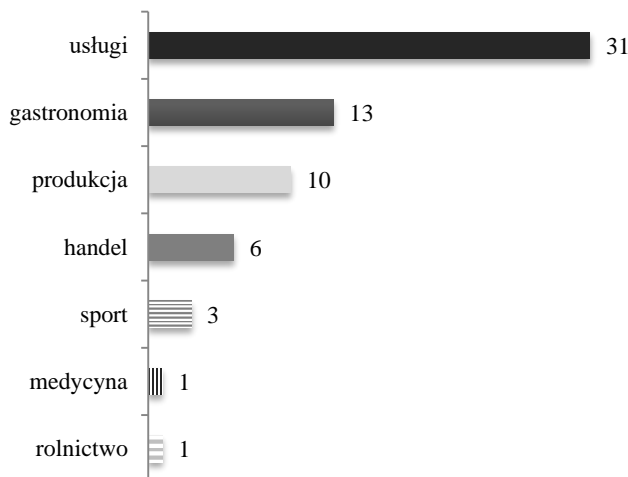
Badania zostały przeprowadzone na podstawie 65 biznesplanów, opracowanych przez studentów kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie, uwzględniając studia stacjonarne i niestacjonarne. Analiza odbyła się pod kątem oceny przydatności przedmiotów i zawartych w nich treści, oraz ocena ich przydatności w aspekcie wkroczenia na rynek pracy z uzyskanym wykształceniem.

3. Wyniki i dyskusja

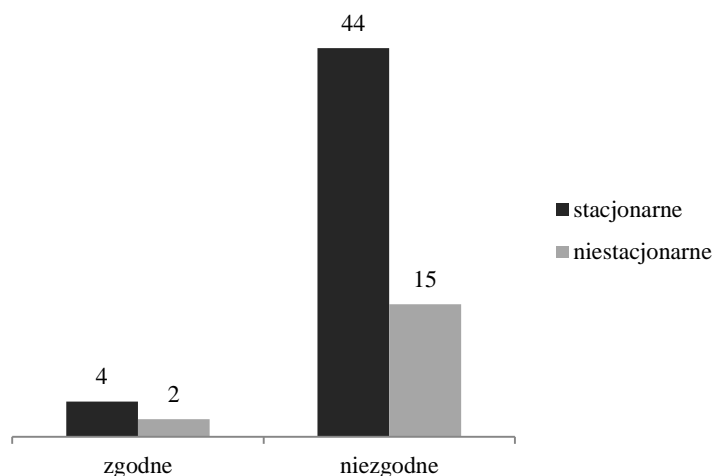
Absolwent kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy, rozpoczynając pracę związaną z zawodem, powinien z łatwością odnajdywać się w przedsiębiorstwach związanych z ochroną życia oraz zdrowia człowieka w pracy. Kolejnymi miejscami, w których zdobyte kwalifikacje umożliwią dyplomantowi zatrudnienie, są firmy oferujące usługi z zakresu bhp, a także organy nadzoru nad warunkami w środowisku pracy. Jednostki badawcze prowadzące projektowanie i wdrażanie rozwiązań technicznych i organizacyjnych, także powinny być przez nich osiągalne. Dodatkowo, po ukończeniu specjalności nauczycielskiej mogą znaleźć zatrudnienie także w szkolnictwie (według standardów kształcenia dla nauczycieli) (Dz.U.09.180.1407 2009). Jednak jak już wcześniej wspomniano, obecnie jedną z najczęściej wybieranych opcji jest prowadzenie własnej firmy, co także może uczynić specjalistą BHP. W celu poznania planów na przyszłą pracę, przeprowadzono ocenę biznesplanów studentów kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie. Zostały one poddane analizie pod kątem zgodności profilu biznesu względem kwalifikacji uzyskanych podczas całego toku nauczania. Oceniono także program studiów w kierunku treści zawartych w przedmiotach kierunkowych związanych z utworzeniem firmy. Grupę badawczą stanowiło 65 studentów zarówno studiów stacjonarnych (48 osób), jak i niestacjonarnych (17 osób). Zebrane biznesplany zostały opracowane w latach 2015 – 2017 przez studentów BHP w ramach przedmiotu „Podstawy prawa”. Na podstawie analizy informacji uzyskanych od studentów obu badanych grup okazało się, że dziedziną, z którą przyszłość wiąże największą liczbą studentów (31) to usługi. Drugim najczęściej wskazywanym obszarem była gastronomia – 13, choć zainteresowanie nią jest o ponad połowę mniejsze niż przy branży usługowej. Według zestawienia biznesplanów najmniej studentów planuje karierę związaną z medycyną (1) i rolnictwem (1) (Rys.1.).

Branże w jakich studenci deklarowali swoje plany kariery zawodowej nie są w pełni kompatybilne z uzyskanymi po studiach bezpieczeństwa i higieny pracy kwalifikacjami (Rys.2.). Tylko 6 projektów jest zgodnych z wykształceniem studentów. Pozostałe pomysły studentów są związane z dziedzinami rozbieżnymi w stosunku do możliwości jakie daje im ukończenie kierunku BHP. Poddając dane dokładnej analizie, okazuje się, że przy podziale na studia stacjonarne i niestacjonarne to studenci dzienni wykazali mniejsze przywiązanie do zawodu, w którym się

kształcą, bo tylko 4 z ich biznesplanów pokrywało się kwalifikacjami, które powinni zdobyć podczas toku studiów. Pozostałe 44 koncepcje odbiegają od pracy w wyuczonym zawodzie. W pracach osób ze studiów niestacjonarnych sytuacja wygląda trochę lepiej, aczkolwiek nie jest to diametralna różnica. Tylko 2 biznesplany są zgodne z umiejętnościami absolwenta bhp, pozostałe 15 wiąże się z innymi dziedzinami pracy



Rys. 1. Dziedziny przyszłej pracy określone przez studentów w biznesplanach.



Rys. 2. Biznesplany zgodne/niezgodne z kierunkiem studiów dla studiów stacjonarnych i niestacjonarnych.

Obranie kierunku, w którym zmierzać ma kariera zawodowa absolwentów, powinny ułatwiać także treści, które przez całe studia były przekazywane studentom. Analizując program kształcenia wybranych przedmiotów, na kierunku bezpieczeństwo i higiena pracy, oceniono (w skali od 1 do 6) ich przydatność w dalszym etapie kariery (Tab.1.). Na '6' zostały ocenione przedmioty, których treści zawarte w module kształcenia są istotne przy wkraczaniu na rynek pracy. '1-2' otrzymały przedmioty, przydatne, ale w nieznaczny sposób wpływające na atrakcyjność absolwenta na rynku pracy. Najbardziej wartościowe przedmioty dla przyszłych przedsiębiorców to zarządzanie

oraz prawo. Zostały tak ocenione (6 punktów), ponieważ treści, zdobywane podczas tych zajęć pozwalają na zapoznanie się z zasadami dotyczącymi zakładania działalności gospodarczej (umiejętność stworzenia prawidłowego biznesplanu), a także jej kierowania. Nowoczesne techniki kształcenia, chociaż z nazwy mogą wydawać się mało istotne, to przy założeniu, że jedną z możliwości pracy dla BHP-owca jest prowadzenie szkoleń, są kluczowe dlatego uzyskały 5 punktów. Z racji cyfryzacji dzisiejszego świata, zdolność biegłego posługiwania się programami komputerowymi, jest konieczną umiejętnością. Można stwierdzić, iż jest umiejętnością niezbędną przy prowadzeniu własnego biznesu. Jako potencjalni pracodawcy, studenci powinni orientować się również w aktualnych wymaganiach dotyczących bezpieczeństwa w miejscu pracy, dlatego programy przedmiotów związanych z bezpieczeństwem i higieną pracy, ochroną przeciwpożarową oraz ochroną pracy zostały ocenione między 4-5 punktów, z racji tego iż są bardzo przydatne jednak nie najważniejsze przy prowadzeniu działalności.

Tab. 1. Ocena treści programowych wybranych modułów dla potencjalnych przedsiębiorców.

PRZEDSIĘBIORCA	PRZEDMIOT
5	prawna ochrona pracy
6	zarządzanie
5	informatyka
6	prawo
4	podstawy bhp
4	ergonomia
5	organizacja zadania i metody pracy służby bhp
4	ochrona przeciwpożarowa i ratownictwo
5	nowoczesne techniki kształcenia

4. Wnioski

Zebrane badania i ich wyniki pozwalają przypuszczać, iż przyszli absolwenci kierunku bezpieczeństwa i higieny pracy na Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie nie skierują ścieżki swojej kariery zgodnie z kwalifikacjami zdobytymi na studiach, mimo iż istnieje wiele dziedzin, w których specjaliści bezpieczeństwa i higieny pracy mogą odnaleźć zatrudnienie, wykorzystując w późniejszej praktyce zdobyte umiejętności. Większość badanych w swoich biznesplanach ukazywało swoje zainteresowania, co pozwala wnioskować, iż młodym ludziom należy pokazać, że można ich pasje połączyć z pracą BHP-owca. Ze względu na pokolenie z jakiego się wywodzą wiadomo, że ważnym dla nich jest, by przyszła praca była nie tylko obowiązkiem, ale także przyjemnością, ponieważ potrzebują zachowania równowagi. Okres studiów powinien być zatem czasem, w którym młody człowiek ma możliwość rozpoznania w jakim, konkretnym kierunku ma zmierzać jego kariera, jaki fragment danego zawodu wzbudza jego największe zainteresowanie. To również świetny okres, aby zacząć zdobywać doświadczenie zawodowe, tak by kończąc studia być atrakcyjnym kandydatem dla pracodawców lub mieć już praktyk, jeżeli zamierza się próbować własnych sił jako samodzielny przedsiębiorca. Jeśli studenci będą aktywnie przeżywali okres studiów, nie ograniczając go tylko do uczęszczania na zajęcia i zdawania egzaminów, to istnieje spora

szansa, iż wzrosnie poziom absolwentów pracujących w dziedzinie związanej ze zdobytymi kwalifikacjami. Takie rezultaty będą powodowały wzrost rangi uczelni w oczach zarówno pracodawców, jak i przyszłych studentów, którzy przy wyborze studiów będą kierowali się możliwościami dostępnymi po uzyskaniu dyplomu.

5. Literatura

- Borowicz R (2011) Masowe kształcenie na poziomie wyższym w kontekście rynku pracy. *Teraźn. Człow. Eduk.*, 4(56): 137 – 148.
- Dz.U.09.180.1407 Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego 1 z dnia 16 października 2009 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie standardów kształcenia dla poszczególnych kierunków oraz poziomów kształcenia, a także trybu tworzenia i warunków, jakie musi spełniać uczelnia, by prowadzić studia międzykierunkowe oraz makrokierunki
- Fallows S, Steven Ch(2000) Building employability skills into the higher education curriculum: a university – wide initiative. *Edu. Train.*, 42 (2): 75-83.
- Jaskólska D, Janicka K, Garbarz W i in. (2018) Planowanie kariery zawodowej przez studentów. *WUP w Lublinie*, 112 – 119.
- Jeruszka U (2011) Efektywność kształcenia w szkołach wyższych. *Polit. Społ.*, 1: 1 – 7.
- Kosała M, Pichur, A (2008) Analiza działań przedsiębiorczych i postrzeganie prowadzenia działalności gospodarczej wśród młodego pokolenia – wybrane aspekty. *Przeds. Eduk.* 4: 347–354.
- Kozera M (2012) Pierwsza praca – wyobrażenia i rzeczywistość w opinii studentów. *ZLL*, 2: 101 – 109.
- Matusiak KB, Mażewska M (2005) Pierwsza praca – pierwszy biznes. *Vademecum przedsiębiorczości*, Ministerstwo Gospodarki i Pracy, Warszawa, 7 – 17, 47.
- Rachwał T, Wach K (2016) Badanie intencji przedsiębiorczych młodego pokolenia: wyniki ankietyzacji wśród studentów kierunków nieekonomicznych. *Przeds. Eduk.*, 12: 405 – 415.
- Smolbik – Jęczmień A (2013) Podejście do pracy i kariery zawodowej wśród przedstawicieli generacji X i Y – podobieństwa i różnice. *NOZ*, 1(14): 89 – 97.
- Stachowska S (2012) Oczekiwania przedstawicieli pokolenia Y wobec pracy i pracodawcy. *ZZL*, 2: 33 – 56.
- www.up.lublin.pl
- Zaleszczyk AK (2015) Nadzieja na sukces a trudności w podejmowaniu decyzji zawodowych. *Rocz. Psych.*, 18(4) : 599 – 609.

12. Zdrowie - różne ujęcia

Health - various perspectives

Kaczmarska-Tabor Anna

Zakład Psychologii Stosowanej, Katedra Podstaw Pedagogiki, Wydział Pedagogiczny, Uniwersytet Pedagogiczny im. KEN w Krakowie

Opiekun naukowy: Helena Wrona-Polańska

Kaczmarska-Tabor Anna: anna.kaczmarska@interia.eu

Słowa kluczowe: model biopsychospołeczny, model funkcjonalny, psychosomatyka

Streszczenie

Artykuł obejmuje problematykę zdrowia. Koncepcje zdrowia zmieniały się poprzez rozumienie go w kategoriach modelu biomedycznego po aktualne holistyczne jego ujęcie. W artykule dokonano przeglądu różnych sposobów rozumienia zdrowia, szczegółowo omówiono Funkcjonalny Model Zdrowia Wrony-Polańskiej.

1. Wstęp

Nagły wzrost zachorowań na choroby cywilizacyjne (nowotwory i zawały) spowodował potrzebę uwzględniania w rozumieniu zdrowia także aspektów: psychicznych, społecznych, jak również duchowych (Wrona-Polańska 2009). Ludzi nie można jedynie pojmować w kategoriach zbioru narządów, ponieważ całość to coś więcej niż prosta suma jej elementów (Aleksandrowicz i Duda 1988).

2. Opis zagadnienia

Współcześnie podkreśla się rolę czynników psychicznych, fizycznych, społecznych oraz środowiskowych w kontekście zdrowia człowieka. Holistyczne rozumienie zdrowia wyznacza kierunek działań podejmowanych na rzecz utrzymania oraz wzmocnienia zdrowia. Funkcjonalne podejście podkreśla znaczenie poziomu zasobów dla zdrowia człowieka.

3. Przegląd literatury

3.1 Model biomedyczny i biopsychospołeczny

Model biomedyczny opiera się na dualistycznej koncepcji psyche i soma. Leczenie koncentruje się na stronie fizycznej pacjenta, pomijając psychikę, która zgodnie z założeniami tego podejścia jest odrębna od ciała. Model biomedyczny opiera się na paradygmacie ukierunkowanym patogenetycznie, bada przyczyny choroby. Wyrósł on z dualizmu kartezjańskiego, w którym ciało i umysł traktowane są rozdzielnie (Sheridan i Radmacher 1998).

Medycyna wschodu, praktyki lecznicze Indian opierają się natomiast na uwzględnieniu wzajemnych relacji pomiędzy zdrowiem fizycznym i umysłem. W kulturze Indian Navajo termin hozho odnosi się do harmonii w zakresie funkcjonowania umysłu, rodziny, sztuki, rzemiosła, ciała i ducha. Choroba oznacza zaburzenie harmonii i wymaga jej przywrócenia na różnych poziomach (Zimbardo i Gerrig 2012).

Model biopsychospołeczny uwzględnia ciało, stan umysłu oraz otoczenie osoby. Zdrowie w tym podejściu jest rozumiane jako zmienne i wielopłaszczyznowe. Dobrostan jednostki rozpatrywany jest w kontekście fizycznym, psychicznym, duchowym, społecznym i środowiskowym (Zimbardo i Gerrig 2012; Wrona-Polańska 2011). W tym obszarze wiele wniosły doniesienia medycyny psychosomatycznej. W ramach, której odkryto, że nie każdy patogen prowadzi do wystąpienia choroby. Stwierdzono, że wiele chorób ma podłoże psychosomatyczne (Ader 1980).

Przez długi okres zdrowie było rozpatrywane głównie z perspektywy modelu biomedycznego, czyli w kontekście choroby i jedynie jego fizycznego wymiaru. W modelu

biomedycznym zdrowie oznacza brak choroby, a choroba brak zdrowia, w tym rozumieniu zdrowie i choroba to kategorie odrębne (Cierpiakowska i Sęk 2016a). Aktualnie zdrowie opisywane jest zwykle w kategoriach podejścia holistycznego, czyli rozumiane jest systemowo. Zdrowie określa się jako dynamiczny proces zorientowany na przywracanie ciągle zaburzanej homeostazy organizmu (Dolińska-Zygmunt 2001). Proces ten zależny jest od poziomu posiadanych przez osobę zasobów, jak również otoczenia, z którym jest ona systemowo związana (Kowalski i Gawel 2007; Wrona-Polańska 2011).

Traktowanie zdrowia jako braku choroby, charakterystyczne dla modelu biomedycznego, skutkuje koncentracją na chorobie i jej objawach. Zdrowie wówczas oznacza wyeliminowanie symptomów choroby (Puchalski 1997). Zdrowie rozumiane w ten sposób określa się jako negatywne. Aktualnie podkreśla się, że takie redukcjonistyczne spojrzenie na problematykę zdrowia jest niewystarczające.

Współcześni badacze sugerują, aby w obszarze ochrony zdrowia nastawić się na modele obejmujące zdrowie jako podstawowy kierunek badań. Podkreślają, że koncentracja na perspektywie salutogenetycznej może zaowocować poszerzeniem wsparcia terapeutycznego (Zboralski i in. 2008).

Światowa Organizacja Zdrowia w 1948 roku zaproponowała, żeby zdrowie ujmować jako dobrostan biopsychospołeczny, a nie tylko utożsamiać je z brakiem problemów natury fizycznej. Definicja ta mieści się w obszarze pozytywnej koncepcji zdrowia (Heszen i Sęk 2012). Ujęcie to spotkało się ze znaczną krytyką, głównie jako wadę wskazano traktowanie zdrowia jako stanu, podczas gdy stale ulga ono zmianie i ma charakter dynamiczny (Wrona-Polańska 2003).

Słońska i Misiunia (1993, s. 68) zdrowie definiują jako: "poddająca się zmianom zdolność człowieka zarówno do osiągania pełni własnych fizycznych, psychicznych i społecznych możliwości, jak i reagowania na wyzwania środowiska". Takie ujęcie problemu to przykład traktowania zdrowia jako dyspozycji (zasobu, czy potencjału zdrowotnego). Rozumienie to wynika z hipokratejskiej tradycji zgodnie, z którą zdrowie rozpatrywane jest z punktu widzenia równowagi i zdolności prowadzenia mądrego życia. Zdrowie, w tym rozumieniu, to zasób pozwalający jednostce na wielostronny rozwój oraz sprostanie wymaganiom środowiska. To też zdolność do realizacji potrzeb oraz zadań stawianych przez życie (otoczenie czy samego siebie). Tak pojmowane zdrowie to jeden z zasadniczych zasobów umożliwiających osiągnięcie wysokiej jakości życia poprzez optymalne funkcjonowanie, aktywne przystosowanie do otoczenia czy umiejętność życia w harmonii (Wrona-Polańska 2003, 2011). Wrona-Polańska (2003, s.97) wychodząc z biopsychospołecznego paradygmatu uważa, że "zdrowie ma wielorakie uwarunkowania i należy je rozpatrywać całościowo, systemowo, z uwzględnieniem jego podmiotowości jest ono zawsze zdrowiem czyimś i opiera się na świadomej aktywności podmiotu jako kreatora własnego zdrowia, który dąży do utrzymania dynamicznej równowagi w systemie człowiek-otoczenie". W powyższym rozumieniu zdrowia zostaje ujęta złożoność relacji pomiędzy jednostką a jej środowiskiem, co pozwala na rozpatrywanie zdrowia z perspektywy psychologicznej teorii stresu (w podejściu zarówno relacyjnym, jak i systemowym) (Wrona-Polańska 2003).

Zdrowie można rozumieć z perspektywy subiektywnej i obiektywnej. Zdrowie subiektywne inaczej określane jest jako poczucie zdrowia, samopoczucie czy percepcja zdrowia. Ocena zdrowia obiektywnego opiera się na takich wskaźnikach jak objawy somatyczne i psychiczne składające się na daną jednostkę chorobową - ocena medyczna stanu zdrowia. Z perspektywy psychologicznej percepcja swojego zdrowia, czyli wiedza na jego temat, znacząco wpływa i modyfikuje aktywności i zachowania podejmowane wobec swojego zdrowia - ma większą siłę regulacyjną w stosunku do zdrowia obiektywnego (Wrona-Polańska 2003). Obserwowane są sytuacje, kiedy osoba mimo różnych dolegliwości chorobowych wydaje się ich nie zauważać i ocenia swoje zdrowie jako dobre mimo złych wyników medycznych - zjawisko to nazywane jest "paradoksem zdrowia", zdarza się również, że osoba posiada zadowalające wyniki medyczne dotyczące własnego zdrowia, a uważa się za chorą - tzw. "paradoks choroby". To ocena subiektywna własnego zdrowia wyznacza kierunek zachowań celowych na jego rzecz (Heszen i Sęk 2012).

Zdrowie utożsamiane jest z wartością pozytywną, w kierunku, której człowieka zmierza, choroba natomiast to wartość negatywna, której człowiek wystrzega się. Zdrowie jako wartość umiejscawia się jakby na zewnątrz podmiotu, jako kategorię obiektywną (Tomaszewski 1976; Heszen

i Sęk 2012). Jednak aby zdrowie jak wartość wyznaczało prozdrowotne zachowania, musi być wartością o charakterze autotelicznym - wartością uwewnętrzną, zinternalizowaną, a nie wartością obiektywną, na zewnątrz podmiotu (Wrona-Polańska 2011).

3.2 Podejście psychosomatyczne i somatopsychiczne a zdrowie

XX wiek obfitował w wiele przemian w zakresie pojmowania zdrowia człowieka. Widoczne jest to szczególnie w obszarze rozumienia związku pomiędzy psychicznym i somatycznym stanem człowieka. Zmiana podejścia do powyższej relacji spowodowała rozwój dwóch kierunków badań naukowych tj. psychosomatycznego i somatopsychicznego.

Koncepcja psychosomatyczna skupia się na badaniu właściwości psychicznych mogących stanowić etiologię chorób i warunkować ich przebieg. Najczęściej w literaturze wśród psychicznych właściwości wymienia się cechy osobowości, sposoby reagowania, czy doświadczone urazy. Takie rozumienie wydaje się niewystarczające.

Medycyna psychosomatyczna wywodzi się z koncepcji psychoanalitycznych, a jej twórcami byli psychiatrzy. Aktualnie istotę medycyny psychosomatycznej stanowi założenie o jedności biopsychospołecznej człowieka. Uznaje się, że przyczyny choroby są złożone, wśród nich wymienia się czynniki psychospołeczne (Heszen i Sęk 2012).

Już w starożytności wskazywano, że emocje mogą być przyczyną powstawania chorób. M.in. Hipokrates i Galen podkreślali nierozłączność psychiki i ciała, podobne koncepcje wysuwali Platon i Arystoteles (Ścigała 2001). Hipokrates podkreślał: " By leczyć ciało ludzkie, konieczna jest wiedza o całości zjawisk" (za: Markocka-Mączka , Grabowski, Tańbala, 2017 s. 171).

Aktualnie pojęcie psychosomatyki nie ma jednoznacznej definicji. Tylka (2010) zaburzenia psychosomatyczne definiuje jako takie, których przyczyny, przebieg i leczenie zdeterminowane są czynnikami psychicznymi i socjokulturnymi. Choroba psychosomatyczna to dolegliwość dotycząca somatyki jednostki, a przyczyną jej pojawienia się lub zaostrzenia są czynniki psychiczne (Jarosz 1983).

Orientacja somatopsychiczna podkreśla wpływ jednostki chorobowej na funkcjonowanie psychiczne osoby. Choroba zgodnie z tym kierunkiem może wpłynąć na strukturę osobowości, nastrój, samoocenę, odporność człowieka chorego (Jennison 1992).

Współczesna psychosomatyka uwzględnia pręźnie rozwijającą się dyscyplinę jaką jest psychoneuroimmunologia. Podejście to przede wszystkim bada związku pomiędzy układami: neurofizjologicznym, hormonalnym oraz limfatycznym. Według wiedzy neuroimmunologicznej optymalne działanie tych układów decyduje o odporności organizmu. Psychoneuroimmunologia w zakresie układu immunologicznego głównie skupia się na odporności fizjologicznej - jego podstawowej funkcji. Tę funkcję uważa się za kluczową przy objaśnieniu przyczyn i mechanizmów chorób psychosomatycznych. Odporność dzieli się na wrodzoną i nabytą. Tym co wpływa na zmiany w zakresie odporności jest pamięć immunologiczna, ale również niespecyficzne i specyficzne czynniki psychologiczne. Wśród niespecyficznych czynników wymienia się stres, a specyficznych negatywne emocje (lęk, wrogość, agresja) oraz przewlekłe stany uczuciowe takie jak depresja (Ścigała 2001). Koncentracja na negatywnych emocjach może prowadzić do utraty odporności i w konsekwencji do wystąpienia choroby lub jej zaostrzenia u już chorych (Wrona-Polańska 2008).

3.3 Funkcjonalne ujęcie zdrowia

Zgodnie z koncepcją Heleny Wrony-Polańskiej (2003, 2011) zdrowie jest funkcją twórczego radzenia sobie ze stresem. W przeciwieństwie do podejścia patogenetycznego autorka przyjmuje orientację salutogenetyczną ukierunkowaną na zdrowie. Zdrowie jest rozpatrywane w ujęciu holistyczno-funkcjonalnym, co wiąże się z rozumieniem go w sposób systemowy uwzględniający jego złożoność i różne uwarunkowania. Wrona-Polańska na podstawie badań osób zdrowych i chorych opracowała Funkcjonalny Model Zdrowia opisujący predyktory zdrowia oraz sposoby w jaki wpływają one na jego kształtowanie. Autorka modelu wskazuje na istotną rolę poziomu zasobów w kontekście zdrowia. Podkreśla rolę zasobów biologicznych, podmiotowych poznawczych i behawioralnych oraz sytuacyjnych (materialno-społecznych). Autorka założyła występowanie związku pomiędzy stresem a zdrowiem oraz kierunek salutogenetyczny, czyli

skoncentrowany na poszukiwaniu psychologicznych mechanizmów i czynników prozdrowotnych (Wrona-Polańska 2011).

Zasadniczym źródłem zdrowia w modelu jest osobowość prozdrowotna, czyli złożona zmienna reprezentująca zasoby podmiotowe: poczucie koherencji, poczucie spostrzeganej kontroli - związane z pozytywną oceną zdarzeń i sytuacji, a także kontrolę wtórną - typu doznawania oraz pozytywną samoocenę. Osobowość prozdrowotna wpływa trzema ścieżkami na zdrowie:

- ścieżka kompetencyjna wpływa poprzez skuteczne strategie i obrony, pozwala ocenić trudność jako zadanie do rozwiązania, dodatkowo jest wspomagana przez zdrowy styl życia, czyli zasoby podmiotowe behawioralne;

- ścieżka napięciowa – poziom zdrowia zależy w dużej mierze od przeżywanego stresu, skuteczne rozwiązywanie problemów redukuje napięcie stresowe;

- ścieżka emocjonalna – ścieżka pozytywnych emocji, wspomagana przez osobowość prozdrowotną, a zasilana przez zasoby materialne i sytuacyjne (Wrona-Polańska 2003, 2011).

Badania osób po przeszczepie szpiku kostnego ujawniły czwartą ścieżkę dotyczącą negatywnych emocji. Ścieżka ta stanowi zagrożenie dla zdrowia (przez koncentrację na negatywnych emocjach, dodatkowo zasilaną poprzez styl skoncentrowany na emocjach i osobowość lękową) (Wrona-Polańska 2011).

Funkcjonalny Model Zdrowia (FMZ) wskazuje, że podstawową rolę w kreowaniu zdrowia mają zasoby podmiotowe oraz skuteczne sposoby radzenia sobie ze stresem. Wśród kluczowych zasobów wyróżnia się poczucie koherencji, samoocenę, poczucie tożsamości oraz poczucie kontroli. Znaczenie dla zdrowia mają również zachowania prozdrowotne, a wśród nich głównie pozytywne nastawienie psychiczne oraz świadoma aktywność w tym obszarze. Dla zdrowia przede wszystkim istotne są pozytywne emocje, takie jak poczucie zadowolenia z pracy, czy poczucie osiągnięć. Ścieżce pozytywnych emocji towarzyszy przeświadczenie, że życie ma wartość oraz ważne są działania podejmowane na rzecz zdrowia.

Radzenie sobie ze stresem w FMZ jest funkcją zasobów. Tym, co determinuje radzenie sobie ze stresem jest ich poziom. Wyższy poziom zasobów wiąże się ze stosowaniem zadaniowych strategii, koncentracją na rozwiązywaniu problemów, pozytywnym przewartościowaniem oraz niższym poziomem stresu, jak również wyższą satysfakcją z wykonywanego zadania. Stres rozumiany jest jako przeciwieństwo zdrowia. Stres obrazuje dysproporcje między wymaganiami a możliwościami czyli zasobami jednostki. Brak równowagi pomiędzy wymaganiami a zasobami, czyli wysoki poziom wymagań i niski zasobów, prowadzi do wyższego poczucia stresu. Poziom stresu będzie wskaźnikiem zdrowia lub choroby, co skutkuje niższym poziomem zdrowia człowieka. Zgodnie z FMZ procesy radzenia sobie nie są bezpośrednią konsekwencją doświadczonego stresu, co oznacza, że problem musi być oceniony przez podmiot w odniesieniu do dostępnych zasobów podmiotowych i tylko taka jego ocena aktywuje proces radzenia sobie ze stresem (Wrona-Polańska 2003, 2011).

Zdrowie zgodnie z FMZ (Wrona-Polańska 2003, 2011) jest procesem dynamicznym. W modelu zdrowie jest funkcją twórczego radzenia sobie (dopasowanego do oceny sytuacji i możliwości, którymi dysponuje osoba) poprzez uruchomienie zasobów. Funkcja oznacza występowanie zależności pomiędzy zmiennymi. Zaznaczyć należy, że zmiana jednej zmiennej powoduje zmianę w obrębie innych. Twórcze radzenie "oznacza dobór i stosowanie skutecznych strategii i obron w celu rozwiązania problemu i regulacji emocji" (Wrona-Polańska 2003 s. 96). Wyższy poziom zasobów sprzyja bardziej skutecznym sposobom radzenia sobie ze stresem. Zasoby są czynnikiem buforującym prowadzącym do zdrowia i wyzwalającym nadzieję. Z kolei deficyty w zasobach prowadzą do nieskutecznego radzenia sobie ze stresem i nasilenia negatywnych emocji takich jak lęk. Choroba w tym ujęciu jest funkcją nieskutecznego radzenia sobie ze stresem wynikającego z deficytu w zakresie zasobów. Nieskuteczne radzenie sobie ze stresem oraz niski poziom zasobów lub ich deficyty albo niemożność ich uruchomienia, skutkować będzie chorobą. Sytuacja ta związana jest z doświadczaniem negatywnych emocji i wysokiego poziomu stresu. Z FMZ wynika, że skuteczne radzenie sobie ze stresem oznacza rozwiązywanie problemów oraz regulację emocji, na co wskazują strategie: rozwiązywania problemów, poszukiwania wsparcia i pozytywnego przewartościowania. Dla zdrowia wydaje się być szczególnie ważna strategia

pozytywnego przewartościowania. Koncentracja na pozytywnych aspektach wydarzenia pozwala poradzić sobie z negatywnymi emocjami oraz uwalnia pozytywne emocje. Istotna jest zatem aktywność oraz strategia zadaniowego radzenia, jak również regulowanie emocji przez zaprzeczanie lub odwracanie uwagi, poszukiwanie kontaktów towarzyskich, relaks, wypoczynek, kontakt z naturą i kulturą. Formy te wzbudzają pozytywne emocje, co skutkuje budowaniem przekonania, że życie ma sens i warto podejmować wysiłek w celu rozwiązywania problemów życiowych, aby utrzymać zdrowie (Wrona-Polańska 2011). Kształtowanie zdrowia to przede wszystkim rozwój zasobów, które stanowią jego podstawę. Dlatego też, tak istotne jest promowanie zdrowia już od najmłodszych lat. Kształtowanie zasobów odbywa się w domu, jak również placówkach oświatowych, w przedszkolu i szkole. Zasadnicze znaczenie wśród zasobów mają zasoby podmiotowe, w tym przede wszystkim poczucie koherencji. Jego rozwojowi sprzyja atmosfera spójności, równowaga pomiędzy obciążeniami i ich brakiem oraz uczestnictwo w podejmowaniu decyzji. Tego typu wychowanie pozwala także na kreowanie w dziecku innych zasobów takich jak poczucie kontroli i samooceny. Dla zdrowia bardzo ważne są także zasoby behawioralne (zachowania prozdrowotne) oraz środowiskowe (sprzyjająca rodzina i szkoła). Budowaniu i zachowaniu zdrowia sprzyja stałe pomnażanie zasobów, w taki sposób aby można było odpowiedzieć pozytywnie na stawiane przez społeczeństwo wymagania (Wrona-Polańska 2009).

4. Podsumowanie

Podsumowując, definiowanie zdrowia zmieniało się od postrzegania go w kategorii braku choroby, po jego holistyczne rozumienie. Zdrowie w modelu biopsychospołecznym ujmowane jest systemowo i utożsamiane z dynamicznym procesem skierowanym na utrzymanie homeostazy (Dolińska-Zygmunt 2001; Wrona-Polańska 2003, 2011). Dla zdrowia rozumianego z perspektywy salutogenetycznej istotne znaczenie mają procesy regulacyjne, które pojawiają się w momencie oddziaływania na osobę stresorów, to od ich działania zależy poziom zdrowia człowieka (Cierpiałkowska i Sęk 2016). Psychoneuroimmunologia podkreśla zależność odporności fizycznej od czynników psychologicznych. Tym co zagraża zdrowiu jest stres oraz negatywne emocje. Tym co warunkuje holistyczno-funkcjonalne zdrowie jest poziom zasobów jednostki oraz skuteczne radzenie sobie ze stresem. Zdrowie w tym znaczeniu jest funkcją skutecznego radzenia sobie ze stresem poprzez mobilizację zasobów jednostki.

5. Literatura

- Ader R (1980) Psychosomatic and psychoimmunologic research. *Psychosomatic Medicine* 42: 307-321.
- Aleksandrowicz J, Duda H (1988) *U progu medycyny jutra*. Warszawa: PZWL.
- Cierpiałkowska L, Sęk H (2016) *Pojęcia normy, normalności i zdrowia*. W: L Cierpiałkowska, H Sęk (red) *Psychologia kliniczna (50-60)*. Warszawa: PWN.
- Dolińska- Zygmunt G (2001). *Teoretyczne podstawy refleksji o zdrowiu*. W: G Dolińska-Zygmunt (red) *Podstawy psychologii zdrowia (33-68)*. Wrocław: Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego.
- Heszen I, Sęk H (2012) *Psychologia zdrowia. Wznowienie wydania 1*. Warszawa: PWN.
- Jarosz M (1983) *Psychologia lekarska*. Warszawa: PZWL.
- Jennison KM (1992) The impact of stressful life events and social support on drinking among older adults: A general population survey. *International Journal of Aging and Human Development* 35(2): 99–123.
- Kowalski M, Gawęł A (2007) *Zdrowie, wartość, edukacja*. Kraków: Impuls.
- Markocka-Mączka K, Grabowski K, Taboła R (2017) *Holistyczne podejście do pacjenta*. W: E Dybińska, M Szpringer, R Asienkiewicz (red) *Profilaktyka i edukacja zdrowotna (171-180)*. Lublin: NeuroCentrum.
- Puchalski K (1997) *Zdrowie w świadomości społecznej*. Łódź: Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera.

- Sheridan CL, Radmacher SA (1998) Psychologia zdrowia. Wyzwanie dla biomedycznego modelu zdrowia. Warszawa: Instytut Psychologii Zdrowia. Polskie Towarzystwo Psychologiczne.
- Słońska Z, Misiunia M (1993) Promocja zdrowia. Słownik podstawowych terminów. Warszawa: Agencja Promo-Lider.
- Ściagała E (2001) Psychoneuroimmunologia jako dziedzina współczesnej psychosomatyki W: L Cierpiałkowska, H Sęk (red) Psychologia kliniczna i psychologia zdrowia. Wybrane zagadnienia (33-60). Poznań: Wydawnictwo Fundacji Humaniora.
- Tylka J (2010) Podejście psychosomatyczne w wyjaśnianiu przyczyn i ustalenia sposobów terapii zaburzeń zdrowia. Family Medicine & Primary Care Review 12(1): 97-103.
- Wrona-Polańska H (2003) Zdrowie jako funkcja twórczego radzenia sobie ze stresem. Kraków: Wydawnictwo Naukowe Akademii Pedagogicznej.
- Wrona-Polańska H (2008) Zdrowie i jego psychobiologiczne mechanizmy W: H Wrona-Polańska (red) Zdrowie-Stres-Choroba w wymiarze psychologicznym (17-36). Kraków: Oficyna Wydawnicza "Impuls".
- Wrona-Polańska H (2009) Kreowanie zasobów osobowych wyzwaniem dla promocji zdrowia. Perspektywa psychologiczna. W: H Wrona-Polańska, J Mastalaski (red) Promocja zdrowia w teorii i praktyce psychologicznej (11-26). Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- Wrona-Polańska H (2011) Twórcze zmaganie się ze stresem szansą na zdrowie. Funkcjonalny Model Zdrowia osób po transplantacji szpiku kostnego. Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- Zboralski K, Florkowski A, Talarowska-Bogusz M i in. (2008) Salutogenesis – the extension of physician`s capabilities. Pol Merk Lek 25(1): 47-8.
- Zimbardo PG, Gerrig RJ (2012) Psychologia i życie. Warszawa: PWN.

13. Częstość kolonizacji górnych dróg oddechowych przez *Candida* spp. wśród mieszkańców domu pomocy społecznej

Prevalence of *Candida* spp. in the upper respiratory tract of nursing home residents

Martyna Kasela⁽¹⁾, Agnieszka Grzegorzczak⁽¹⁾, Edyta Chwiejczak⁽¹⁾, Mateusz Ossowski⁽²⁾, Anna Malm⁽¹⁾

⁽¹⁾ Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾ Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Opiekun naukowy: Anna Malm

Martyna Kasela: kasela.martyna@gmail.com

Słowa kluczowe: osoby starsze, gardło, drożdżaki

Streszczenie

Osoby starsze, ze względu na osłabiony układ odpornościowy są szczególnie podatne na zakażenia górnych dróg oddechowych o etiologii grzybiczej, zwłaszcza kandydozy. W ostatnich latach obserwuje się wzrost częstości izolacji innych niż *Candida albicans* gatunków drożdżaków, co jest oznaką zmieniającej się epidemiologii kandydoz.

Celem badań była ocena częstości kolonizacji górnych dróg oddechowych mieszkańców domu pomocy społecznej przez drożdżaki z rodzaju *Candida* wraz z ich identyfikacją gatunkową.

Wymazy z gardła i przedsionków nosa pobierano od 60 osób w wieku 56-97 lat. Identyfikacji gatunkowej drożdżaków dokonywano przy użyciu podłoża chromogennych. Kolonizację górnych dróg oddechowych przez drożdżaki stwierdzono u 33,3% osób; błony śluzowe gardła były niszą ekologiczną znacznie częściej kolonizowaną (95%) niż jama nosowa (5%). Najczęściej izolowanymi gatunkami drożdżaków były *C. glabrata* (43,8%) oraz *C. albicans* (40,6%). U 36,9% osób skolonizowanych stwierdzono współwystępowanie w gardle kilku gatunków drożdżaków jednocześnie, przy czym obfity wzrost występował w 68,4% przypadkach.

Wyniki badań podkreślają rosnącą rolę *C. glabrata* w epidemiologii kandydoz u osób starszych.

1. Wstęp

Większość gatunków drożdżaków z rodzaju *Candida* jest składnikiem mikrobioty błon śluzowych górnych dróg oddechowych, przewodu pokarmowego i dróg rodnych zdrowych osób. Podobnie jak inne patogeny oportunistyczne, ten komensalny mikroorganizm, w przypadku zaburzeń układu odpornościowego gospodarza, może stać się czynnikiem etiologicznym infekcji zwanej kandydozą (Yang i in. 2011). Od osób zdrowych najczęściej izolowany jest gatunek *C. albicans*, lecz obserwuje się także obecność innych gatunków, tj. *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* (Yang i in. 2011; Yapar 2014). Ostatnio podkreślane jest rosnące znaczenie innych niż *C. albicans* drożdżaków w przebiegu kandydoz (Yapar 2014). Częstość kolonizacji górnych dróg oddechowych przez drożdżaki jest zróżnicowana w zależności od badanej populacji. U osób zdrowych odsetek ten jest bardzo zróżnicowany i wynosi od 15 do 60% (Pankhurst 2008; Yang i in. 2011). Wśród najczęściej wymienianych czynników ryzyka zwiększających kolonizację górnych dróg oddechowych przez drożdżaki z rodzaju *Candida* znajdują się: podeszły wiek, przyjmowanie antybiotyków, niedożywienie czy obecność niektórych chorób towarzyszących, np. cukrzycy (Mojazi Amiri i in. 2012; Schulte i in. 2015).

Liczba osób powyżej 65 roku życia na terenie Polski stale rośnie. Już za 30 lat osoby starsze mogą stanowić nawet 30% polskiego społeczeństwa (He i in. 2016). Mimo znacznego wydłużenia

życia w wyniku postępu medycyny, prawie połowa Polaków powyżej 60 r.ż. uznawanych jest za niesprawnych biologicznie, co oznacza, że liczne schorzenia uniemożliwiają tej grupie społecznej sprawne funkcjonowanie w życiu codziennym (Gleiznys i in. 2015; GUS 2015).

Celem badań była ocena częstości kolonizacji górnych dróg oddechowych – gardła oraz przedsionków nosa – mieszkańców domu pomocy społecznej w Lublinie oraz identyfikacja gatunkowa wyizolowanych drożdżaków.

2. Materiał i Metody

W kierunku kolonizacji górnych dróg oddechowych przez drożdżaki z rodzaju *Candida* przebadano 60 mieszkańców domu pomocy społecznej w Lublinie w wieku od 56-97 lat (średni wiek 80,1±9,6). Wszystkie osoby wyraziły świadomą zgodę na udział w badaniu, które uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie (KE 0254/59/2016). Wymazy pobierano za pomocą jałowych wymazówek zwilżonych solą fizjologiczną (0,9% chlorek sodu) z przedsionków nosa oraz gardła. Wymaz z przedsionków nosa pobierano jedną wymazówką, obracając ją około 5 sekund zarówno w lewym, jak i prawym nozdrzu. Wymaz z gardła pobierano przy pomocy sterylnej, drewnianej szpatułki laryngologicznej, tak, aby wymazówka nie miała styczności z błoną śluzową jamy ustnej ani językiem badanej osoby; dokładnie pobierano wymaz ze ściany gardła oraz powierzchni obu migdałków. Wymazówki transportowano do Katedry i Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie w ciągu 2 godzin, a następnie posiewano na podłoże Sabourauda i inkubowano 24-48h w temperaturze 35°C.

Intensywność wzrostu drożdżaków podzielono na dwie kategorie:

- A. wzrost skąpy – gdy liczba kolonii drożdżaków na podłożu Sabourauda wynosiła mniej niż 10,
- B. wzrost obfity – gdy liczba kolonii drożdżaków na podłożu Sabourauda wynosiła co najmniej 10.

Identyfikacji gatunkowej dokonywano przy użyciu podłoży chromogennych ChromAgar *Candida* (BioMaxima), odczytując wynik po 36-48 h inkubacji w temperaturze 35°C, według wytycznych podanych przez producenta:

- A. *Candida albicans* – kolonie zielone,
- B. *Candida glabrata* – kolonie fioletowe,
- C. *Candida krusei* – kolonie różowe i puszyste,
- D. *Candida kefyr* – kolonie wrzosowo-brązowe,
- E. *Candida parapsilosis* – kolonie kremowe,
- F. *Candida tropicalis* – kolonie niebiesko-szare.

3. Wyniki i dyskusja

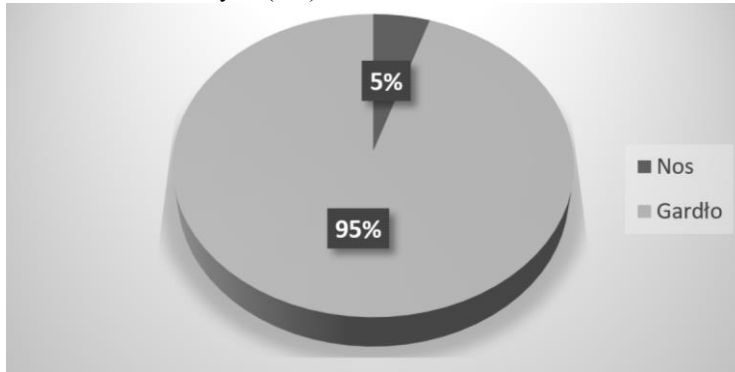
3.1 Częstość kolonizacji gardła i przedsionków nosa przez *Candida* spp. u osób starszych

Kolonizację górnych dróg oddechowych przez drożdżaki z rodzaju *Candida* stwierdzono u co trzeciej badanej osoby (20/60; 33,3%); ogółem wyizolowano 32 szczepy drożdżaków. Należy zaznaczyć, że zgodnie z danymi literaturowymi (Boussarie i in. 1996) w 80% przypadków kandydoz ucha, jamy nosowej lub gardła u osób starszych przebywających w szpitalu, zakażenia te miały charakter endogenny i były wywołane przez drożdżaki kolonizujące jamę ustną.

W badaniach własnych zauważono, że mężczyźni byli skolonizowani ponad dwukrotnie rzadziej (3/17; 17,7%) niż kobiety (17/47; 39,5%). Co więcej, kobiety stanowiły 71,7% (43/60) uczestników badania i były średnio niemal 10 lat starsze (średni wiek 82,7±8,3) niż mężczyźni (średni wiek 73,5±9,6) przebywający na terenie domu pomocy społecznej. Kobiety stanowią większość mieszkańców wielu ośrodków oferujących długoterminową opiekę medyczną dla osób starszych, co obserwują też inni autorzy (Grimoud i in. 2003).

Poza jednym przypadkiem kolonizacji jamy nosowej przez *C. albicans*, drożdżaki izolowano tylko z błon śluzowych gardła uczestników badania (Rys. 1). Jama ustna oraz gardło są niszą

ekologiczną częściej zasiedlaną przez drożdżaki i stwarzającą korzystniejsze warunki do ich kolonizacji i namnażania się niż jama nosowa, co potwierdzają inne badania (Biernasiuk i Malm 2007), w których odsetek osób, u których *Candida* spp. wyizolowano z przedśionków nosa był równie niski (5,9%), co w badaniach własnych (5%).



Rys. 1. Częstość kolonizacji nosa i gardła przez *Candida* spp. u osób starszych.

3.2 Gatunki *Candida* spp. kolonizujące gardło u osób starszych

Obecność więcej niż jednego gatunku z rodzaju *Candida* stwierdzono w gardle 36,9% (7/20) skolonizowanych osób, natomiast liczny wzrost drożdżaków charakteryzował dwie trzecie zarówno kobiet, jak i mężczyzn (Tab. 1). Równoczesna kolonizacja (współwystępowanie) przez różne gatunki z rodzaju *Candida* jest powszechnie obserwowana w środowisku szpitalnym (Klotz i in. 2007), a w połączeniu z licznym wzrostem drożdżaków może sugerować znaczne obniżenie sprawności układu immunologicznego oraz zachwianie homeostazy w obrębie mikrobioty górnych dróg oddechowych.

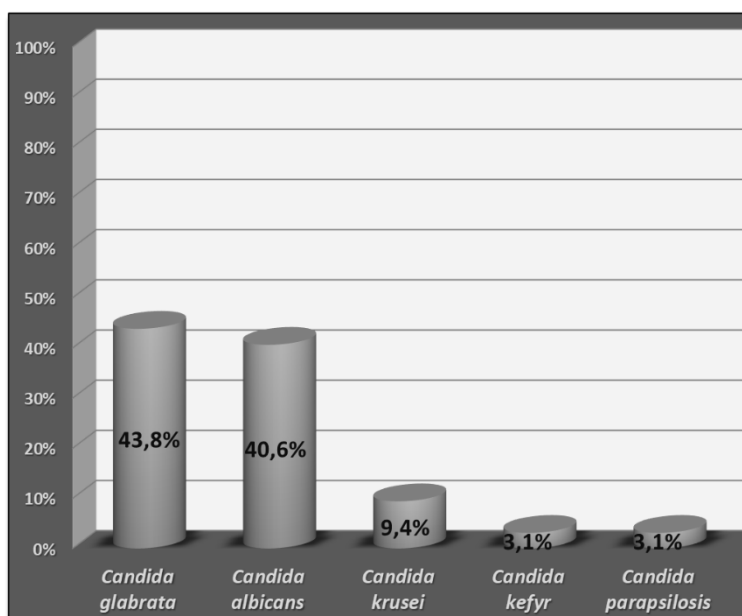
Tab. 1. Kolonizacja gardła przez *Candida* spp. u osób starszych.

	Razem (n=60)	Kobiety (n=43)	Mężczyźni (n=17)
Częstość występowania	19 (31,7%)	16 (37,2%)	3 (17,7%)
Liczba gatunków			
1	12 (63,1%)	9 (56,2%)	3 (100%)
2	6 (31,6%)	6 (37,5%)	0
3	1 (5,3%)	1 (6,3%)	0
Intensywność wzrostu			
wzrost skąpy (<10)	6 (31,6%)	5 (31,2%)	1 (33,3%)
wzrost obfity (≥10)	13 (68,4%)	11 (68,8%)	2 (66,7%)

Gatunkami drożdżaków najczęściej izolowanymi z gardła mieszkańców domu pomocy społecznej były *Candida glabrata* (43,8%) i *Candida albicans* (40,6%). Obecność *Candida krusei* stwierdzono u trzech badanych osób, natomiast *Candida kefyr* i *Candida parapsilosis* izolowano najrzadziej (Rys. 2).

Wyniki prezentowanych badań wskazują, że częstość kolonizacji gardła przez *C. glabrata* wśród osób starszych rośnie, co świadczy o tym, że zwiększa się ich udział jako czynników

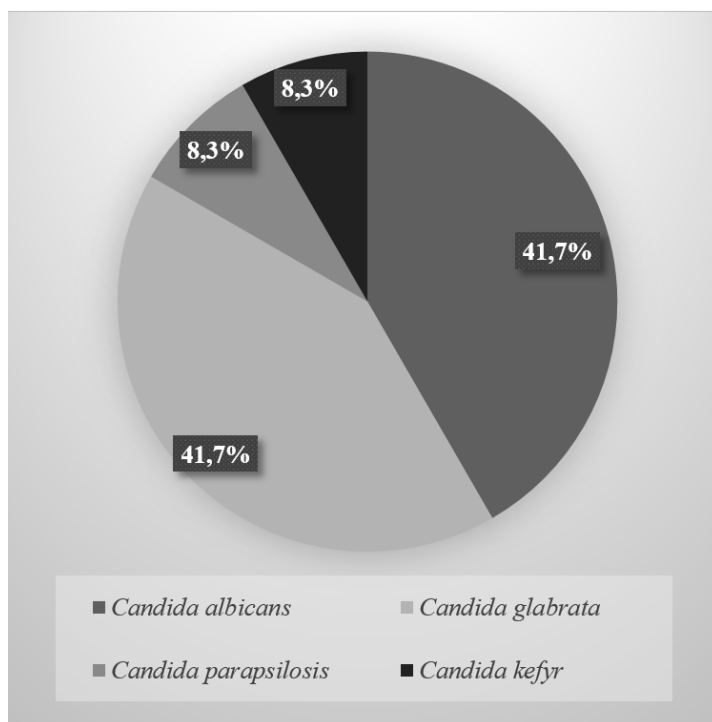
etiologicznych kandydoz. W porównaniu do *C. albicans*, mechanizmy warunkujące patogenność i umożliwiające kolonizację błon śluzowych gospodarza u *C. glabrata* są nadal słabo poznane. Badania Wells i in. (2007) prowadzone na myszach, u których jelita zaszczipiano *C. glabrata* wykazały, że dalsza kolonizacja innych części ciała tym drożdżakiem zachodzi rzadziej i pod wpływem innych czynników niż w przypadku gatunku *C. albicans*. Może to sugerować istotne znaczenie stałej kolonizacji górnych dróg oddechowych przez *C. glabrata* predysponujące do rozwoju kandydozy górnych dróg oddechowych w większym stopniu, niż do tej pory przypuszczano. Drożdżaki z gatunku *C. glabrata* są także znane z obniżonej wrażliwości lub narastającej oporności nabytej na leki przeciwgrzybicze z grupy azoli tj. flukonazol, co jest istotnym czynnikiem utrudniającym eradykację tego oportunistycznego patogenu (Bennett i in. 2004). Długoterminowe badania prowadzone w szpitalach potwierdzają stały wzrost udziału *C. glabrata* jako czynnika etiologicznego kandydoz wśród osób w różnym wieku (Malami i in. 2000; Voss i in. 1996).



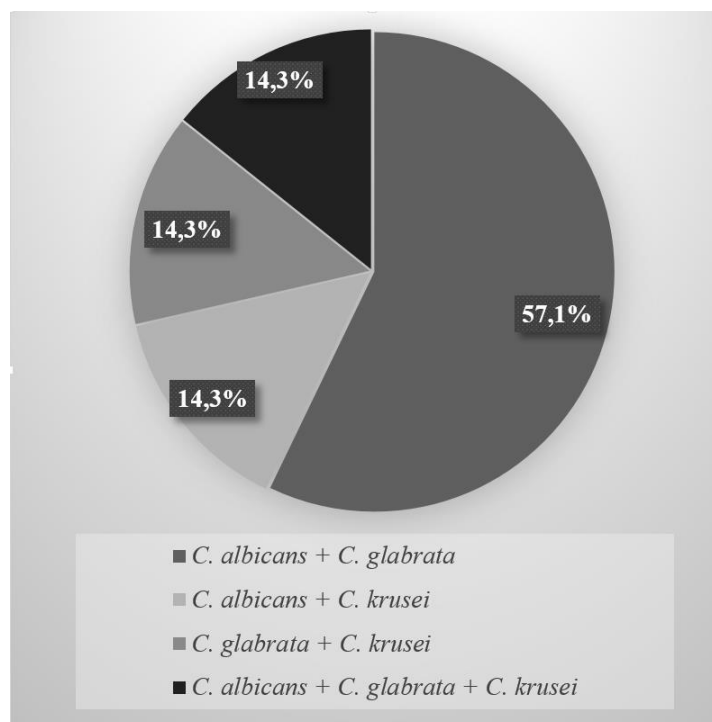
Rys. 2. Udział poszczególnych gatunków *Candida* spp. wyizolowanych z gardła u osób starszych.

Jak wskazuje Tabela 1, 12 (63,1%) osób było skolonizowanych tylko przez jeden gatunek drożdżaków. Stwierdzano najczęściej obecność *C. albicans* i *C. glabrata*, natomiast *C. parapsilosis*, jak i *C. kefyr* wyizolowano w tej grupie osób tylko w jednym przypadku (Rys. 3).

Współwystępowanie różnych gatunków *Candida* spp. stwierdzono u 7 (36,9%) osób (Tab. 1). Najczęściej izolowano *C. albicans* wraz z *C. glabrata*. Rzadziej izolowano *C. albicans* lub *C. glabrata* wraz z *C. krusei*. W jednym przypadku stwierdzono równoczesną kolonizację przez trzy gatunki drożdżaków: *C. albicans*, *C. glabrata* i *C. krusei* (Rys. 4). Grimoud i in. (2003) zauważyli, że w jamie ustnej 55,4% osób starszych obecny był tylko jeden szczep drożdżaka, natomiast u 11% pacjentów dwa różne szczepy *C. albicans* lub *C. albicans* wraz z *C. glabrata*. Gatunki inne niż *C. albicans* i *C. glabrata* niemal zawsze występowały w towarzystwie tych pierwszych, co sugeruje, że ich adhezja i namnożenie się następuje w przypadku znacznego zachwiania się składu jakościowego i ilościowego mikrobioty błon śluzowych gardła.



Rys. 3. Częstość występowania poszczególnych gatunków *Candida* spp. w gardle u osób starszych w przypadku kolonizacji tylko przez jeden gatunek drożdżaków.



Rys. 4. Częstość współwystępowania gatunków *Candida* spp. kolonizujących gardło u osób starszych.

W badaniach własnych *C. glabrata* był najczęściej izolowanym gatunkiem drożdżaków kolonizujących gardło osób starszych, co jest rzadko spotykane w badaniach innych autorów. Grimoud i in. (2003) dowiedli, że *C. albicans* był znacznie częściej izolowanym gatunkiem drożdżaków (73%) niż *C. glabrata* (24%); nie stwierdzono jednakże obecności *C. krusei*. W badaniach Biernasiuk i Malm (2007) kolonizację błon śluzowych gardła przez *Candida* spp. u osób w wieku podeszłym zamieszkujących w domu pomocy społecznej stwierdzono u 62,8% osób. Najczęściej identyfikowano *C. albicans* (67,6%) oraz *C. glabrata* (38,9%). Gatunki *C. albicans* i *C. glabrata* należą więc do najczęściej izolowanych drożdżaków zarówno od osób skolonizowanych, jak i cierpiących na kandydozy górnych dróg oddechowych.

4. Wnioski

- A. W badanej grupie osób starszych niszą ekologiczną sprzyjającą kolonizacji przez drożdżaki z rodzaju *Candida* było gardło.
- B. *C. glabrata* kolonizowała błony śluzowe gardła u osób starszych częściej niż *C. albicans*.
- C. U ponad 35% osób starszych, u których stwierdzono występowanie *Candida* spp. w gardle, wyizolowano co najmniej dwa gatunki drożdżaków jednocześnie.
- D. W przypadku współwystępowania *Candida* spp. jednym z gatunków drożdżaków był zawsze *C. albicans* lub *C. glabrata*.
- E. U 65% osób starszych skolonizowanych przez *Candida* spp. wzrost drożdżaków zaklasyfikowano jako obfity.

W związku z licznymi czynnikami predysponującymi, mogącymi prowadzić do ułatwionej kolonizacji drożdżakami z rodzaju *Candida* u osób starszych zwiększa się ryzyko występowania kandydoz w tej grupie wiekowej. Badania kolonizacji górnych dróg oddechowych przez *Candida* spp. mają ważne znaczenie w kontekście zmieniającego się spektrum gatunków drożdżaków. Występowanie innych niż *C. albicans* gatunków drożdżaków, zwłaszcza *C. glabrata* znajduje odzwierciedlenie w ich udziale jako czynników etiologicznych w przebiegu kandydoz.

5. Literatura

- Bennett JE, Izumikawa K, Marr KA (2004) Mechanism of increased fluconazole resistance in *Candida glabrata* during prophylaxis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48: 1773-1777.
- Biernasiuk A, Malm A (2007) Częstość występowania oraz zróżnicowanie gatunkowe grzybów z rodzaju *Candida* w górnych drogach oddechowych u osób w podeszłym wieku. *Gerontologia Polska* 15: 137-143.
- Boussarie M, Fanello S, Foucault JP i in. (1996) Enquête d'incidence des infections nosocomiales et communautaires chez des sujets âgés de plus de 75 ans. *Santé Publique* 2: 105-116.
- Gleiznys A, Zdanavičienė E, Žilinskas J (2015) *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal* 17: 54-66.
- Główny Urząd Statystyczny (2015) Departament Badań Demograficznych i Rynku Pracy. Notatka informacyjna – Ludność w wieku 60 lat i więcej. Struktura demograficzna i zdrowie.
- Grimoud AM, Marty N, Bocquet H i in. (2003) Colonization of the oral cavity by *Candida* species: risk factors in long-term geriatric care. *Journal of Oral Science* 45: 51-55.
- He W, Goodkind D, Kowal P. (2016) *An Aging World: 2015 International Population Reports: P95/09-1*.
- Klotz SA, Chasin BS, Powell B i in. (2007) Polymicrobial bloodstream infections involving *Candida* species: analysis of patients and review of the literature. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 59: 401-406.
- Malani PN, Bradley SF, Little RS i in. (2000) Trends in species causing fungaemia in a tertiary care medical centre over 12 years. *Mycoses* 44: 446-449.

- Mojazi Amiri H, Frandah W, Colmer-Hamood J. i in. (2012) Risk factors of *Candida* colonization in the oropharynx of patients admitted to an intensive care unit. *Journal de Mycologie Médicale* 22: 301-307.
- Pankhurst CL (2008) Candidiasis. *BMJ Clinical Evidence* 3: 1304.
- Schulte DM, Sethi A, Gangnon R i in. (2015) Risk factors for *Candida* colonization and co-colonization with multi-drug resistant organisms at admission. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 4: 46-55.
- Voss A, Kluytmans JA, Koeleman JW (1996) Occurrence of yeast bloodstream infections between 1987 and 1995 in five Dutch University hospitals. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 15: 909-912.
- Wells CL, Johnson MA, Henry-Stanley MJ i in. (2007) *Candida glabrata* colonizes but does not often disseminate from the mouse caecum. *Journal of Medical Microbiology* 56: 688-693.
- Yang YL, Leaw SN, Wang AH i in. (2011) Characterization of yeasts colonizing in healthy individuals. *Medical Mycology* 49: 103-106.
- Yapar N (2014) Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 10: 95-105.

14. Mikrobiota dróg oddechowych człowieka

Microbiota of the human respiratory tract

Martyna Kasela⁽¹⁾, Edyta Chwiejczak⁽¹⁾, Mateusz Ossowski⁽²⁾, Urszula Kosikowska⁽¹⁾, Anna Malm⁽¹⁾

⁽¹⁾Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Opiekun naukowy: Anna Malm

Martyna Kasela: kasela.martyna@gmail.com

Słowa kluczowe: drobnoustroje, gardło, płuca

Streszczenie

Postęp w opracowaniu nowych, szybkich technik diagnostyki mikrobiologicznej o wysokiej przepustowości umożliwił lepsze poznanie mikrobioty człowieka. Drogi oddechowe są wysoce specyficzną niszą ekologiczną, w której złożone zależności zarówno między układem immunologicznym gospodarza, a mikroorganizmami, jak i relacje między samymi drobnoustrojami determinują bogatą różnorodność mikrobioty ludzkiego organizmu. Techniki sekwencjonowania ujawniły, że niektóre rejonu ludzkiego ciała traktowane dotąd jako jałowe, np. dolne drogi oddechowe, są zasiedlone przez mikroorganizmy. Większość drobnoustrojów kolonizujących drogi oddechowe człowieka zaliczanych jest do organizmów komensalnych. Chronią one błony śluzowe gospodarza przed drobnoustrojami patogennymi, w tym wirusami, oraz alergenami stale dostosowując się do zmieniających się warunków panujących w danym środowisku niszy ekologicznej.

Praca podsumowuje dotychczasowe informacje na temat mikrobioty dróg oddechowych człowieka, z uwzględnieniem zależności między drobnoustrojami oraz roli protekcyjnej przeciwko drobnoustrojom patogennym będącymi czynnikami etiologicznymi infekcji dróg oddechowych.

1. Wstęp

Homeostaza między drobnoustrojami komensalnymi kolonizującymi błony śluzowe dróg oddechowych a układem immunologicznym gospodarza odgrywa znaczącą rolę w ochronie przed chorobami infekcyjnymi. Równowaga ta może zostać zachwiana w wyniku działania wielu czynników, w tym: przejściowego spadku odporności gospodarza, uszkodzenia błon śluzowych czy pojawienia się bakterii patogennych i wirusów (Gao i in. 2014). Chociaż mikrobiota formuje się i zmienia wielokrotnie w ciągu ludzkiego życia, na co wpływ mają m.in. stan środowiska zewnętrznego czy kondycja organizmu gospodarza, kluczowym dla tego procesu są pierwsze miesiące życia. Noworodki urodzone siłami natury mają inną mikrobiotę niż urodzone metodą cesarskiego cięcia, u których kolonizacja przez drobnoustroje odbywa się w późniejszym okresie. Efektem tego może być kolonizacja organizmu dziecka tzw. „florą szpitalną” oraz niższa bioróżnorodność drobnoustrojów. Także sposób karmienia noworodków wpływa na kształtowanie się mikrobioty, ponieważ naturalny pokarm matki zawiera immunoglobulinę A (IgA) czy laktoferyny, czyli związki, których działanie hamujące wobec drobnoustrojów patogennych zostało udowodnione (Grzegorzczak-Maślanka i Kurzawa 2016).

Zastosowanie metod biologii molekularnej w analizie różnorodności mikrobioty pozwoliło na uzyskanie wielu nowych informacji na temat drobnoustrojów kolonizujących poszczególne regiony górnych i dolnych dróg oddechowych. W porównaniu do klasycznych metod diagnostyki mikrobiologicznej, wymagających hodowli drobnoustrojów na podłożach mikrobiologicznych, techniki opierające się na analizie materiału genetycznego umożliwiły szybszą i dokładniejszą analizę dużej ilości próbek materiału biologicznego w krótkim czasie. Wśród metod najchętniej stosowanych wymienia się sekwencjonowanie drugiej generacji połączone z analizą metagenomiczną

umożliwiająca także określenie bioróżnorodności drobnoustrojów badanej niszy ekologicznej oraz różne warianty techniki PCR, pozwalające na równoczesną identyfikację wielu gatunków bakterii (Dickson i in. 2016). Szacuje się, że co najmniej 70% mikroorganizmów należących do ludzkiej mikrobioty pozostaje niewykrywalne po zastosowaniu konwencjonalnych metody hodowli drobnoustrojów (Lee i in. 2016).

2. Przegląd literatury

2.1 Górne drogi oddechowe

W obrębie górnych dróg oddechowych wyróżnia się jamę nosową wraz z zatokami, jamę ustną, gardło oraz krtani. Przyjmuje się, że do górnych dróg oddechowych należą wszystkie struktury leżące poza klatką piersiową. Pełnią one ważną funkcję oczyszczania, nawilżania oraz ocieplania wdychanego powietrza (Tu i in. 2012). Badania Bassis i in. (2015) pokazały, że mikrobiota dróg oddechowych, szczególnie okolic gardła, istotnie wpływa na to, jakie gatunki drobnoustrojów są izolowane z dolnych dróg oddechowych oraz z przewodu pokarmowego tych samych osób. Wskazuje to, że nisze ekologiczne, w których bytują drobnoustroje, są ze sobą ściśle powiązane, a różnice w składzie gatunkowym mikrobioty zależą w głównej mierze od czynników związanych z homeostazą między układem opornościowym gospodarza, a zamieszkującymi go drobnoustrojami oraz od wzajemnych relacji między poszczególnymi komponentami mikrobioty dróg oddechowych (Bassis i in. 2015).

Nos i jama nosowa

Pod względem strukturalnym nos dzieli się na część zewnętrzną oraz jamę nosową. Powietrze wpływa przez dwa nozdrza do przedsionków nosa i jamy nosowej, następnie przez nozdrza wewnętrzne do gardła i krtani. Strukturami leżącymi w obrębie jamy nosowej są także cztery pary symetrycznie położonych zatok: czołowych, sitowych, klinowych i szczękowych (Tu i in. 2012).

W porównaniu do innych regionów górnych dróg oddechowych, mikrobiota nosa i jamy nosowej jest stosunkowo uboga pod względem występujących w niej rodzajów mikroorganizmów. Wśród zdrowych osób dorosłych, miejsca te są najczęściej zamieszkiwane przez rodzaje: *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Dolosigranulum*, *Moraxella* oraz rzadziej przez *Fusobacteria* i *Bacteroidetes* (Biswas i in. 2015). U zdrowych dzieci wśród bakterii najczęściej kolonizujących nabłonek jamy nowej wymienia się *Corynebacterium* spp., *Dolosigranulum* spp. oraz *Moraxella* spp. (Wang i in. 2018). Obserwuje się także istotne różnice zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym w składzie mikrobioty błon śluzowych jamy nosowej między poszczególnymi osobami.

Skład jakościowy mikrobioty nosa jest bezpośrednio powiązany z dominacją niektórych drobnoustrojów. Sytuację taką można obserwować w przypadku bakterii *Propionibacterium* spp., które są zdolne do hydrolizy substancji tłuszczowych – sebum, wydzielanych przez gruczoły zlokalizowane w nabłonku nosa. W konsekwencji ich aktywności, pH w rejonie ich bytowania jest obniżone, co sprzyja kolonizacji nabłonka przez inne mikroorganizmy, w tym *Corynebacterium* spp. oraz koagulazoujemne gronkowce. Co więcej, zauważono, że współwystępowanie bakterii z rodzajów *Corynebacterium* i *Staphylococcus* jest silnie zależne od reprezentujących je gatunków (de Steenhuijsen i in. 2015).

Zatoki, podobnie jak płuca, były niegdyś uważane za pozbawione obecności wszelkich drobnoustrojów. Techniki biologii molekularnej ujawniły jednak, że również te obszary górnych dróg oddechowych są kolonizowane przez wiele gatunków mikroorganizmów. Nabłonek zatok często jest kolonizowany nie tylko przez gatunki drobnoustrojów obecne w innych regionach górnych dróg oddechowych, w tym *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* oraz gatunki uznawane za czynnik etiologiczny przewlekłego zapalenia zatok przynosowych: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterobacter* spp. i bakterie beztlenowe. Zauważono także, że u osób z istniejącym stanem zapalnym zatok mikrobiota błon śluzowych jest zdecydowanie uboższa i mniej zróżnicowana w porównaniu do osób zdrowych, co podkreśla protekcyjną rolę mikroorganizmów komensalnych bytujących w stanie fizjologicznym w górnych drogach oddechowych (Lee i in. 2016).

Gardło

Gardło łączy nozdrza wewnętrzne oraz jamę ustną z krtanią i przełykiem. Wyróżnia się trzy regiony strukturalne gardła: część nosową (nosogardło), część ustną (gardło środkowe) oraz część krtaniową (gardło dolne). Migdałki podniebienne znajdują się w gardle środkowym (Tu i in. 2012).

Najczęściej izolowanymi rodzajami bakterii z nosogardła zarówno zdrowych dzieci, jak i osób dorosłych są *Moraxella* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. oraz *Streptococcus* spp., natomiast w przypadku gardła środkowego i dolnego *Streptococcus* spp., *Prevotella* spp. oraz *Neisseria* spp. (Wang i in. 2018). Nosogardło oraz gardło dolne może być także kolonizowane przez wiele gatunków innych bakterii oportunistycznych, które w sprzyjających okolicznościach, tj. nadmierne namnażanie czy zaburzenie pracy układu odpornościowego gospodarza, mogą się uzjadliwiać prowadząc do rozwoju infekcji górnych dróg oddechowych. Wśród najczęściej występujących patogenów oportunistycznych mogących stanowić stałą bądź przejściową mikrobiotę u ludzi wyróżnia się *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *H. influenzae* oraz paciorkowce beta-hemolizujące, głównie *Streptococcus pyogenes* (de Steenhuijsen i in. 2015). Nosicielstwo bezobjawowe patogenów może zwiększać ryzyko endogennej infekcji dróg oddechowych, a także przyczynia się do transmisji tych mikroorganizmów między osobami przebywającymi w tym samym środowisku. Może również dojść do translokacji takiego drobnoustroju z miejsca jego pierwotnej kolonizacji, czego konsekwencją może być rozwój zakażenia skóry czy ran pooperacyjnych (Robinson 2004).

2.2 Dolne drogi oddechowe

Dolne drogi oddechowe tworzone są przez takie struktury anatomiczne jak tchawica, oskrzela oraz płuca (Cibas i Ducatman 2013). Do niedawna panowało przekonanie, iż dolne drogi są jałowe i nie posiadają swojej mikrobioty. Dostępne obecnie dane naukowe wskazują, że oparta głównie na metodach hodowlanych wiedza była błędna, a dolne drogi oddechowe w stanie fizjologii są zasiedlone przez wybrane grupy drobnoustrojów tworzących ich mikrobiotę. Hilty i in. (2010) oszacowali, że w płucach zdrowego człowieka znajduje się około $2,2 \times 10^3$ genomów bakteryjnych w 1 cm^2 tkanki. Wykorzystując modele zwierzęce badaczom udało się ustalić, że ilość mikroorganizmów występujących w dolnych drogach oddechowych to około $10^3 - 10^5$ jtk (jednostek tworzących kolonię)/g tkanki płuca (Remot i in. 2017). Przekonanie o jałowości dolnych dróg oddechowych wynikało m.in. z niedoskonałości stosowanych metod diagnostycznych. Identyfikacja mikroorganizmów zasiedlających dolne drogi oddechowe wymaga wykorzystania bardziej zaawansowanych metod, np. metod biologii molekularnej. Wykazano, że mikrobiota dolnych dróg oddechowych może być tworzona przez inne mikroorganizmy niż te, które bytują w górnych drogach oddechowych. Uzyskanie do badań materiału diagnostycznego pochodzącego z dolnych dróg oddechowych jest znacznie trudniejsze, wymaga zastosowania inwazyjnych metod takich jak płukanie oskrzelowo-płucne czy bronchofiberoskopia. Innym materiałem, który może być pobierany w celu określenia składników mikrobioty czy czynnika etiologicznego zakażenia dolnych dróg oddechowych jest plwocina. Kluczowe jest różnicowanie plwociny od śliny, która nie jest materiałem diagnostycznym. Klasyfikację materiału do badania można z łatwością przeprowadzić w oparciu o preparat mikroskopowy wykonany z materiału badanego (w plwocinie przeważają leukocyty natomiast w ślinie dominują nabłonki płaskie, a leukocyty są pojedyncze bądź nieobecne), (Górecka i in. 2014).

Według naukowców (Dickson i in. 2015), formowanie mikrobioty dolnych dróg oddechowych zależy od wielu czynników. Pierwszym jest transmisja drobnoustrojów tworzących mikrobiotę górnych dróg oddechowych do dolnego odcinka układu oddechowego. Kolejnym czynnikiem jest usuwanie mikroorganizmów z dróg oddechowych poprzez kaszel, wydzielanie śluzu, a także w wyniku aktywności układu odpornościowego gospodarza. Przemieszczanie się mikroorganizmów w drogach oddechowych pomiędzy ich poszczególnymi odcinkami jest wywoływane przepływem powietrza w trakcie wdechu i wydechu oraz ruchem nabłonka rzęskowego błon śluzowych. Czynnikiem, który może wpływać na kolonizację dolnych dróg oddechowych różnymi drobnoustrojami może być również występowanie refluksu z przewodu pokarmowego. W trakcie zarzucania treści pokarmowej może dojść do przeniesienia drobnoustrojów budujących

mikrobiotę układu pokarmowego do dróg oddechowych. Trzecim elementem warunkującym formowanie się mikrobioty dolnych dróg oddechowych są czynniki mające wpływ na wzrost mikroorganizmów, takie jak np. ciśnienie parcjalne tlenu, pH środowiska, dostępne składniki odżywcze a przede wszystkim aktywność układu odpornościowego gospodarza. Każde zaburzenie w organizmie może wywołać odpowiedź ze strony układu immunologicznego gospodarza (np. reakcję zapalną), która stymuluje migrację komórek żernych oraz produkcję substancji, które negatywnie oddziałują na drobnoustroje tworzące mikrobiotę.

W oparciu o nadal nieliczne badania prowadzone na niewielkich grupach pacjentów udało się ustalić przybliżony skład mikrobioty dolnych dróg oddechowych (w szczególności płuc) osób zdrowych. Określono, że należą do niej drobnoustroje klasyfikowane do typu *Bacteroides*, *Firmicutes* i *Proteobacteria* (Korkontzelou i in. 2017). Dominują drobnoustroje z rodzaju *Prevotella*, *Streptococcus*, *Veilonella*, *Neisseria*, *Haemophilus* oraz *Fusobacterium* (Hilty i in. 2010). Zakażenia dolnych dróg oddechowych, w tym zapalenie płuc, wywołuje wiele mikroorganizmów, których hodowla i identyfikacja z użyciem rutynowo stosowanych metod bywa bardzo kłopotliwa lub niemożliwa. Zalicza się do nich drobnoustroje takie jak *S. pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* spp, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* oraz *H. influenzae* (Murdoch 2008).

Wykazano, że mikrobiota dolnych dróg oddechowych osób zdrowych i chorych znacznie się różni. Określenie dokładnych różnic oraz przyczyn ich powstawania może znacznie przybliżyć naukowców do opracowania nowych metod leczenia, jak również zapobiegania rozwojowi chorób dróg oddechowych poprzez kontrolowanie ich mikrobioty (Yatera i in. 2018).

2.3 Metody identyfikacji drobnoustrojów

Na co dzień w laboratoriach mikrobiologicznych identyfikacja drobnoustrojów bytujących w drogach oddechowych opiera się na posiewie materiału biologicznego (wymazu, płwociny, bronchoaspiratu czy popłuczyn pęcherzykowo-oskrzelowych) na szereg podłoży mikrobiologicznych. Wyhodowane drobnoustroje można łatwo zidentyfikować oraz określić ich lekowrażliwość komercyjnie dostępnymi metodami, m.in. metodami automatycznymi (Rys.1). Tego typu standardowa diagnostyka jest jednak procesem czasochłonnym, a wynik można uzyskać dopiero po kilku dniach. Obecnie jednak coraz częściej stosuje się zaawansowane metody biologii molekularnej, które znacznie skracają czas oczekiwania, są dokładniejsze, a dodatkowo pozwalają na wykrycie drobnoustrojów atypowych, których wyhodowanie na standardowych podłożach mikrobiologicznych jest niemożliwe bądź zbyt czasochłonne. Przełomem w mikrobiologii okazało się wykorzystanie unikalnej rybosomalnej sekwencji 16S RNA, po oznaczeniu której stała się możliwa identyfikacja drobnoustrojów co do rodzaju, a nawet gatunku. Obecnie dostępne są także inne testy diagnostyczne oparte na metodach serologicznych tj. testy immunoenzymatyczne ELISA. Jednak metody molekularne charakteryzują się wyższą czułością i specyficznością, choć nadal wymagają standaryzacji. Istotnym jest również, że wszystkie dostępne testy umożliwiające identyfikację drobnoustrojów (zarówno metody standardowe, serologiczne oraz biologii molekularnej) mogą wykryć nosicielstwo danego drobnoustroju, który w danym momencie nie jest czynnikiem etiologicznym zakażenia. Dlatego też niektórzy badacze oceniali jednocześnie materiały pochodzące zarówno z górnych jak i dolnych dróg oddechowych, aby wykluczyć kolonizację danym drobnoustrojem (Murdoch 2008).

Dotychczas nie określono złotego standardu w diagnostyce mikrobiologicznej wykorzystującej metody biologii molekularnej. Mimo to zastosowanie testów opartych na analizie materiału genetycznego znacznie usprawnia diagnostykę potencjalnych czynników etiologicznych zakażeń dróg oddechowych (głównie dolnych). W przypadku niektórych drobnoustrojów użycie tych metod jest niemal konieczne. Szybki rozwój technik biologii molekularnej daje nadzieję na opracowanie testu, który pozwoli na wykonanie badania w kierunku detekcji wielu potencjalnych patogenów jednocześnie, co znacznie usprawni diagnostykę i skróci czas jej trwania.



Rys.1. Metody stosowane w diagnostyce mikrobiologicznej (Kondak 2009; Jaroszewska i Misiewicz 2012).

3. Podsumowanie

Od momentu powstania projektu Human Microbiome i zrealizowania wielu kolejnych, których zadaniem było zbadanie różnorodności mikrobioty organizmu człowieka za pomocą technik sekwencjonowania, ujawniono wiele nieznanych dotąd zależności między komponentami mikrobioty mającymi wpływ na utrzymanie homeostazy i stanu zdrowia dróg oddechowych. Jak podkreśla wielu autorów, przyszłe badania muszą skupić się na kompleksowym określeniu roli protekcyjnej drobnoustrojów komensalnych oraz mechanizmów konkurencyjnych oddziaływań z potencjalnymi patogenami dróg oddechowych.

4. Literatura

- Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP i in. (2015) Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *MBio* 6(2): e00037-15.
- Biswas K, Hoggard M, Jain R i in. (2015) The nasal microbiota in health and disease: variation within and between subjects. *Frontiers in Microbiology* 6: 134.
- Cibas ES, Ducatman BS (2013) *Cytology E-Book: diagnostic principles and clinical correlates*. Elsevier Health Sciences.
- de Steenhuisen Piters WA, Sanders EA, Bogaert D (2015) The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 370: 20140294.
- Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ i in. (2016) The microbiome and the respiratory tract. *Annual Review of Physiology* 78: 481-504.

- Dicson RP i in. (2015) Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography. *Annals of the American Thoracic Society* 12: 821-30.
- Gao Z, Kang Y, Yu J i in. (2014) Human pharyngeal microbiome may play a protective role in respiratory tract infections. *Genomics, Proteomics, Bioinformatics* 12(3): 144-150.
- Górecka D, Nowiński A, Augustynowicz-Kopec E (2014) Mikrobiom układu oddechowego. *Pneumonologia i alergologia polska* 82: 481–85.
- Grzegorzczak-Maślanka K i Kurzawa R (2016) Mikrobiota organizmu ludzkiego i jej wpływ na homeostazę immunologiczną–część I. *Alergia Astma Immunologia* 21(3): 146-150.
- Hilty M i in. (2010) Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One* 5: e8578
- Jaroszewska E i Misiewicz A (2012) Wybrane molekularne metody identyfikacji mikroorganizmów w kolekcjach kultur drobnoustrojów. *Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego* 67(4): 67-74.
- Kondak K (2009) Molekularne metody diagnostyki mikrobiologicznej. *Diagnostyka laboratoryjna* 45: 325-331.
- Korkontzelou A, Constantoulakis P, Nikolopoulos I (2017) Lower respiratory tract microbiome. *Pneumon* 3(30): 165-74.
- Lee JT, Frank DN, Ramakrishnan V (2016) Microbiome of the paranasal sinuses: update and literature review. *American Journal of Rhinology and Allergy* 30(1): 3-16.
- Murdoch DR (2008) Molecular genetic methods in the diagnosis of lower respiratory tract infections. *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology* 12: 713-27.
- Remot A, Despamps D, Noordine ML i in. (2017) Bacteria isolated from lung modulate asthma susceptibility in mice. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology* 11: 1061–1074
- Robinson J (2004) Colonization and infection of the respiratory tract: What do we know? *Paediatrics & Child Health* 9(1): 21-24.
- Tu J, Kiao I, Goodarz A (2012) Computational fluid and particle dynamics in the human respiratory system. Springer Science & Business Media.
- Wang H, Dai W, Feng X i in. (2018) Microbiota composition in upper respiratory tracts of healthy children in Shenzhen, China, differed with respiratory sites and ages. *BioMed research international*: 6515670.
- Yatera K, Noguchi S, Mukae H (2018) The microbiome in the lower respiratory tract. *Respiratory Investigation* 56: 432-39.

15. Szczepić czy nie szczepić, wyzwanie XXI wieku

To be vaccinated or not to be, the challenge of the 21st century

Karolina Kielbik⁽¹⁾, Izabela Korona-Głowniak⁽¹⁾, Grażyna Niedzielska⁽²⁾, Anna Malm⁽¹⁾

⁽¹⁾Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Oddziałem Analityki Medycznej z Pracownią Diagnostyki Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Klinika Otolaryngologii Dziecięcej, Foniatrii i Audiologii Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Lublinie

Opiekun naukowy: Izabela Korona-Głowniak

Karolina Kielbik kielbikkarolina.k@gmail.com

Słowa kluczowe: szczepionki, ruchy antyszczepionkowe, MMR

Streszczenie

Powszechne szczepienia ochronne chyba jeszcze nigdy nie wzbudzały tak głośnego sprzeciwu w stosunku do słuszności i bezpieczeństwa ich stosowania. W ciągu ostatnich 20 lat ruchy antyszczepionkowe nasiliły swoją aktywność, w efekcie czego obserwuje się narastające zagrożenie rozprzestrzenieniem się chorób, które dotychczas traktowano jako opanowane w społeczeństwie. Grupy te w aktywny i agresywny sposób prezentują nieprawdziwe informacje dotyczące szczepień, podając sfałszowane dane, które mają wywołać strach u pacjentów.

1. Wstęp

Choroby zakaźne od zawsze budziły lęk i stanowiły ogromne zagrożenie dla zdrowia i życia. Nie widziano wtedy jednak co jest przyczyną chorób i masowych zgonów wśród społeczeństwa, a to, co dzisiaj nazywamy epidemiami chorób zakaźnych, wówczas było wiązane z klątwami i czarną magią. To właśnie wielokrotne epidemie były przyczyną poszukiwania rozwiązań jak uchronić ludzi od potencjalnego zagrożenia. Uważa się, że opracowanie szczepionek jest jednym z największych osiągnięć ludzkości w dziedzinie zdrowia, a sam system szczepień ochronnych jako fundament do osiągnięcia bezpiecznego poziomu odporności zbiorowej. Niestety pomimo ogromnego sukcesu i zapewnienia bezpieczeństwa wielu milionom ludzi, szczepionki nadal budzą kontrowersje, a tocząca się publiczna dyskusja o ich słuszności zdaje się nie mieć końca (Callender 2016).

2. Opis zagadnienia

Pierwsze próby określenia możliwości aktywnej ochrony, przed tzw. zarazami, budziły niechęć już na samym początku. Ludzie obawiali się nie tylko chorób, ale też tego, co nowe. Prekursorem dzisiejszych szczepionek był Edward Jenner, który w kontrolowany i świadomy sposób zakażał ludzi wirusem ospy krowianki, powodując tym samym odporność danego człowieka na ospę prawdziwą. Ta metoda angielskiego lekarza spotkała się nie tylko z akceptacją i poparciem, ale przede wszystkim z szeroką falą sprzeciwu. Ówczesnych agitatorów niechętnych wobec takiej metody walki z ospą prawdziwą można nazwać pierwszymi przedstawicielami ruchów antyszczepionkowych. Już wtedy podejmowano próby przedstawienia szczepionki Jennera szczepionki jako zło, któremu nie należy się poddawać. Głoszono, że osoby, które specjalnie zostaną zakażone ospą krowianką, będą hybrydami czyli pół człowiekiem a pół krową. Dodatkowo w celu wzbudzenia niepokoju, przedstawiano grafiki ze zdeformowanymi ciałami ludzkimi z elementami anatomicznymi krowy (Marchewka 2015).

Wraz z rozwojem nauki zaczęto udoskonalać i opracowywać szczepionki na szerszą skalę. W Polsce pierwsze powszechne szczepienia obowiązkowe zostały wprowadzone w latach 60. XX wieku (Magdzik 2007). Fundusz Narodów Zjednoczonych na rzecz Dzieci (United Nations Children's Fund, UNICEF) podaje, że dzięki szczepieniom ochronnym zapobiega się 2-3 mln zgonom dzieci w ciągu roku (szczepienia.pzh.gov.pl). Ogólnoświatowa walka z ospą prawdziwą zapoczątkowana

w 1796 roku, a rozpowszechniona w XIX wieku doprowadziła do tego, że w 1980 roku World Health Organisation (WHO) ogłosiła pełną eradykację choroby na świecie. Jest to niewątpliwie ogromny sukces, biorąc pod uwagę historyczne znaczenie tej choroby. Od 1988 roku, WHO prowadzi światowy program wyeliminowania wirusa Polio. Od tamtego czasu zaszczepiono ponad 2,5 mld dzieci, dla porównania w 1988 roku udokumentowano 350 tys. zachorowań, a w 2017 jedynie 22. W Polsce ostatnie zachorowanie na poliomyelitis odnotowano ponad 40 lat temu (szczepienia.pzh.gov.pl).

W Polsce regulacje prawne dotyczące obowiązku szczepień ochronnych są w zamieszczone w Ustawie z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. 2008 Nr 234 poz. 1570), według której osoby znajdujące się na terenie Rzeczypospolitej Polski są zobligowane do poddania się szczepieniom przeciwko chorobom zakaźnym zgodnie z obowiązującym kalendarzem szczepień. Kontrowersje wywołuje ustawowe zobowiązanie, ponieważ przeciwnicy tego obowiązku dla porównania podają inne kraje europejskie tj. Norwegia, Dania, Holandia, w których szczepienia są jedynie rekomendowane i dobrowolne (szczepienia.pzh.gov.pl).

Obowiązkowe szczepienia są bezpłatne dla osób ubezpieczonych, a dane szczepionki są zakupywane przez właściwego ministra do spraw zdrowia, a dystrybuowane i przechowywane przez stacje sanitarno – epidemiologiczne zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Dystrybucji w rozumieniu prawa farmaceutycznego. Organizacja szczepień obowiązkowych jest zatem sprawowana przez określone instytucje, a zadaniem obywatela jest jedynie stawienie się w wyznaczonym miejscu aby podać się szczepieniu.

Aktualnie w Polsce do obowiązkowych szczepień zalicza się te przeciwko:

- gruźlicy (żywa szczepionka, Bacillus Calmette-Guérin – BCG),
- wirusowemu zapaleniu wątroby typu B (szczepionka inaktywowana),
- błonicy, krztuścowi, tężcowi (inaktywowana szczepionka, Diphtheria, Pertussis, Tetanus – DPT),
- poliomyelitis (inaktywowana szczepionka Inactivated Poliovirus Vaccine – IPV),
- odrze, śwince, różyczce (żywa szczepionka, Measles, Mumps, Rubella – MMR),
- inwazyjnemu zakażeniu *Haemophilus influenzae* typu b (szczepionka *Haemophilus influenzae* – Hib),
- pneumokokom (skoniugowana szczepionka, Pneumococcal Conjugate Vaccine – PCV).

W Polsce ta forma ochrony zdrowia jest zatem dostępna dla każdego i nie jest w żaden sposób reglamentowana. Niestety inna sytuacja panuje w niektórych częściach świata takich jak Afryka (m.in. Nigeria, Etiopia, Demokratyczna Republika Konga), Azja (Pakistan, Indie, Indonezja), gdzie szczepienia podstawowe są nadal przywilejem dla znikomej części społeczeństwa. (szczepienia.pzh.gov.pl; Braczkowska i in. 2017).

W latach 90 XX wieku pojawiły się wyraźniejsze głosy sprzeciwu wobec stosowania szczepionek. To narastające zjawisko jest aktualnie problemem globalnym, a sama definicja uchylenia się od szczepień odnosi się do opóźnienia lub całkowitego odmówienia zgody na szczepienie pomimo dostępu do niego. Zjawisko negatywnego podejścia do szczepionek jest ściśle związane z kontekstem społecznym i zależy od położenia geograficznego, sytuacji politycznej, samozadowolenia i zaufania do pracowników ochrony zdrowia (Rosselli i in. 2016).

Zakres argumentów prezentowanych przez grupy antyszczepionkowe jest bardzo szeroki i odnosi się nie tylko do bezpieczeństwa stosowania szczepionek, ale także do kwestii wolności człowieka. Wśród opinii prezentowanych przez przeciwników szczepień ochronnych najpoważniejszymi są zarzuty:

- szczepionka MMR uszkadza błonę jelit, powodując przejście białek encefalopatycznych do krwioobiegu i dalej przedostanie się do mózgu wywołując tym samym autyzm,
- środek konserwujący tiomersal, do niedawna obecny w niektórych szczepionkach, ma działanie toksyczne na ośrodkowy układ nerwowy,
- podawanie szczepionek skojarzonych powoduje nadmierne obciążenie układu immunologicznego, powodując tym samym osłabienie odporności (Marchewka i in. 2015; Gerber i Offit 2009).

Według badań Najwyższej Izby Kontroli w 2011 roku liczba odmów szczepień w Polsce wynosiła 4,7 tys. natomiast w 2014 roku już 12 tysięcy (nik.gov.pl). W 2018 roku odnotowano ponad 40 tysięcy uchyleń od szczepień, tym samym o 10 tysięcy więcej razy niż w roku 2017 i około połowę więcej niż dwa lata wcześniej (wwwold.pzh.gov.pl). Uchylanie się od szczepień powszechnych nie jest w Polsce karane, jednak toczy się debata publiczna na temat egzekwowania wywiązywania się z obowiązku szczepienia. Przedstawiane są różne rozwiązania, m.in. kary finansowe dla rodziców, którzy nie dopuszczają do zaszczepienia własnych dzieci. Jednak według badań CBOS (Centrum Badania Opinii Społecznej) z 2017 roku, Polacy bardziej niż za obciążeniami finansowymi, przychylają się do możliwości ograniczenia kontaktu dzieci nieszczepionych z wyboru z tymi, które były zaszczepione zgodnie z kalendarzem szczepień. Według raportów, stan zaszczepienia dzieci i młodzieży w Polsce, pomimo coraz silniejszego głosu przeciwników szczepień, jest jeszcze na bezpiecznym, wysokim poziomie (szczepienia.pzh.gov.pl).

Dyskusja zniesienia prawnego obowiązku szczepienia została podjęta przez Sejm z powodu obywatelskiego projektu nowelizacji ustawy zgłoszonego przez Ogólnopolskie Stowarzyszenie Wiedzy o Szczepieniach "STOP NOP". Projekt został odrzucony przez Sejm w listopadzie 2018 roku.

3. Przegląd literatury

3.1 Czynniki wpływające na szczepienia

Wyróżnia i definiuje się pięć czynników determinujących stan zaszczepienia na świecie. Są to: dostępność, przystępność, świadomość, akceptacja i aktywacja (Rosselli i in. 2016). Na dostępność i przystępność szczepionek ma wpływ nie tylko położenie geograficzne, ale też miejsce wykonywania szczepienia. Według badań dostęp do szczepień w miejscu pracy, szkołach czy uniwersytetach, korzystnie wpływa na zwiększenie się odsetku zaszczepionej populacji. Osoby, które często mają związek z placówkami ochrony zdrowia, częściej poddają się szczepieniom, w przeciwieństwie do tych, którzy mają ograniczony kontakt z systemem służby zdrowia. Bezpлатność szczepień także powoduje większy stan zaszczepienia w społeczeństwie w porównaniu do szczepionek, które są obciążone nakładami finansowymi. Jednak najczęstszą przyczyną odmowy szczepień jest brak świadomości ich znaczenia. Badania wskazują, że znajomość kalendarza szczepień, rzetelna wiedza o szczepionkach to podstawa do efektywnego, globalnego działania systemu szczepień (Rosselli i in. 2016). Dlatego tak ważna jest edukacja społeczeństwa przez pracowników służby zdrowia oraz przez wiarygodne źródła opiniotwórcze. Pojęcie akceptacja odnosi się zarówno do akceptacji związanej ze szczepionką, z chorobą, której mają zapobiegać, z indywidualnymi cechami a także z kontekstem społecznym. Obawy dotyczące bezpieczeństwa konkretnych szczepionek, wiara w teorie spiskowe firm farmaceutycznych w rezultacie powodowały często brak zgody rodziców na szczepienie swoich dzieci. Podobnie jak indywidualne podejście, kontekst społeczny odnosi się do odpowiedzialności obywatelskiej, poczucia obowiązku i zaufaniu służbom zdrowia. Aktywacja odnosi się także do funkcji przypominających ponieważ często niestawienie się na szczepienie jest spowodowane brakiem pamięci o wizycie. Dlatego uważa się, że wiadomości przypominające o terminie obowiązkowego szczepienia w postaci SMS, byłyby optymalnym rozwiązaniem na miarę XXI wieku (Rosselli i in. 2016).

3.2 Szczepionka MMR a autyzm

Jednym z najbardziej rozpowszechnionych mitów na temat szkodliwości szczepionek jest to, że mogą one wywoływać autyzm u dzieci. Do takiego niesłusznego przekonania doprowadziła publikacja w *The Lancet* z 1998 r. autorstwa Andrew Wakefielda (Marchewka i in. 2015). Od momentu tej publikacji wielu badaczy podjęło się próby powtórzenia badań i sprawdzenia wyników brytyjskiego lekarza w celu potwierdzenia bądź wykluczenia wysuniętej teorii. Liczne publikacje punktowały brak wiarygodności Andrew Wakefielda. Biorąc pod uwagę, że tamtym czasie w ciągu miesiąca około 50 000 brytyjskich dzieci przyjmowało szczepionkę MMR, liczba 12 dzieci ujętych w badaniu była zupełnie niewiarygodną grupą badawczą. Co więcej, domniemany naukowiec nie ujął w badaniach grupy kontrolnej. W toku niezależnych badań w Wielkiej Brytanii, Danii, Finlandii, Stanach Zjednoczonych i Kanadzie, przeanalizowano rzetelne, medyczne bazy danych, w celu ewentualnego potwierdzenia częstości diagnozowanego autyzmu u dzieci od momentu wprowadzenia

obowiązkowych szczepień MMR. W żadnym z tych państw nie stwierdzono korelacji pomiędzy szczepionką a autyzmem, a wśród dzieci autystycznych nie zauważono grupowego związku pomiędzy datą szczepienia a diagnozą choroby. Nie zdefiniowano też powiązania objawów żołądkowo-jelitowych z regresją rozwojową (Gerber i Offit 2009).

Pomimo, że w głośnym artykule Wakefielda we wszystkich dwunastu przypadkach opisywanych dzieci stwierdzono autyzm dopiero w określonym, kilkumiesięcznym czasie od podania szczepionki MMR, śledztwo dziennikarskie Briana Deera ujawniło, że pięcioro z nich wykazywało zaburzenia rozwojowe już wcześniej przed szczepieniem (Deer 2011). Ponadto, niektóre dzieci miały objawy behawioralne kilka dni po poddaniu się szczepieniu. Wśród trzech przedstawionych postaci autyzmu regresywnego, w rzeczywistości tylko u jednego dziecka faktycznie zdiagnozowano wyraźną postać choroby (Deer 2011).

W wyniku licznych, podważających badań a także wnikliwemu śledztwu dziennikarskiemu, w 2010 r. publikacja doktora Wakefield'a została wycofana z *The Lancet*, a samemu Brytyjczykowi zostały postawione zarzuty fałszowania wyników jak i nieetycznego postępowania oraz zostało mu odebrane prawo wykonywania zawodu w Wielkiej Brytanii. (Marchewka i in. 2015; Meikle i Boseley 2010).

W 2017 roku przeanalizowano aktualną popularność artykułu Wakefielda, wpisując w najpopularniejszą przeglądarkę Google słowa: szczepionki i autyzm, w językach angielskim (Wielka Brytania i Australia), francuskim, włoskim, portugalskim, chińskim i arabskim. W znaczącej większości, niezależnie od języka i regionu, dyskusje na temat szczepionek, najczęściej dotyczyły tych przeciwko odrze, śwince i różyczce inne szczepienia takie jak np. przeciwko grypie, zapaleniu wątroby, polio, błonicy, tężcowi i krztuścowi, budziły mniejsze kontrowersje. Negatywne artykuły o szczepionkach były częściej publikowane w języku chińskim, portugalskim i brytyjskim, niż w pozostałych ujętych w badaniach. Co więcej, mimo usunięcia publikacji Wakefielda z *The Lancet* i ostatecznie w 2010 roku udowodnienia kłamstwa, jego praca nadal jest cytowana w artykułach dostępnych dla szerokiego grona odbiorców (Arif i in. 2018).

3.3 Następstwa kłamstwa Wakefielda

Na skutki fałszywych informacji o szkodliwości szczepionek MMR nie trzeba było długo czekać. Ten temat ten został bardzo szybko podchwycony i rozpowszechniony przez coraz agresywniejsze grupy antyszczepionkowe, a wiele rodziców w obawie przed konsekwencjami zdrowotnymi, świadomie odmówiło szczepienia dzieci. Ta sytuacja doprowadziła do tego, że w Europie ponownie występuje niepokojącą sytuacją narastającej liczby przypadków odry. W 2011 roku połowa zachorowań na odrę na Starym Kontynencie dotyczyła Francji, gdzie w latach 2008-2012 opisano 34 000 przypadków wystąpienia choroby, z czego 15 przypadków ze skutkiem śmiertelnym. Wśród chorych były osoby nieszczepione świadomie bądź te, które przyjęły tylko pierwszą dawkę. Niestety większość stanowiły niezaszczepione jeszcze niemowlęta (Philippe 2018). Dane te wskazują, jak niezbędny jest wysoki poziom odporności zbiorowej. W ciągu dwunastu miesięcy (od lutego 2017 roku) w Europie zgłoszono dokładnie 14 732 przypadków odry, najwięcej w Rumunii, Włoszech, Grecji i Niemczech. Europejskie Centrum Zapobiegania i Kontroli Chorób (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) co miesiąc publikuje dane dotyczące występowania odry w Europie, potwierdzając tym samym powagę sytuacji. Według tych danych na przestrzeni marca 2018 roku i lutego 2019 roku w Europie stwierdzono 8 476 zachorowań, a w Polsce w tym samym okresie było 351 tych przypadków. Analiza prowadzona przez WHO-UNICEF pokazuje, że przyczyną rozprzestrzeniania się odry w tej części świata jest nieoptymalny zasięg szczepionek i że, aby to zmienić, należy podnieść do bezpiecznej wartości poziom szczepialności społeczeństwa na obydwie dawki szczepionki MMR (ecdc.europa.eu).

3.4 Działalność grup antyszczepionkowych w mediach

Do rosnącego zjawiska, jakim jest odmawianie zgody na szczepienia dzieci, w ogromnej mierze przyczyniła się aktywność grup antyszczepionkowych w internecie i mediach społecznościowych (Rosselli i in. 2016). Wiele rodziców szuka informacji o szczepieniach właśnie w środkach masowego przekazu, gdzie spotyka się z różnymi, często sprzecznymi danymi. Według raportu Narodowego Instytutu Statystycznego z 2015 roku, we Włoszech aż 80% rodziców

traktowało internet jako źródło informacji o szczepionkach (Rosselli i in. 2016). Dla przeciętnego rodzica może sprawiać trudność odróżnienie prawdziwego, rzetelnego artykułu od pseudonaukowych stron. Takie witryny bazują na sfałszowanych danych bądź interpretują prawdziwe informacje w niekorzystnym świetle, wzbudzając tym samym lęk u poszukujących prawdziwych danych. Ruchy antyszczepionkowe opierają się głównie na populizmie i wzbudzaniu strachu, publikują artykuły i wywiady opatrzone chwytliwymi, kontrowersyjnymi tytułami i zdjęciami. Tak jak globalnym symbolem przeciwników szczepień jest doktor Andrew Wakefield, tak w Polsce jest to prof. dr hab. Maria Czajkowska-Majewska, która w swoich wypowiedziach obarczy tiomersal, będący konserwantem w niektórych szczepionkach, a obecnie wycofany, o powodowanie autyzmu i ADHD u dzieci (Marchewka i in. 2015). W 2017 roku pani profesor w trakcie letniej konferencji antyszczepionkowej ogłosiła, że nanocząstki metali ze szczepionek wbudowują się do błon komórek i wnikają do ich wnętrza, kreując tym samym cyborgi i niewolników przez możliwość zdalnego sterowania. Teoria ta, w wyniku głosowania czytelników popularnonaukowego bloga, została wybrana Biologiczną Bzdurą Roku 2017 (totylkoteoria.pl).

4. Wnioski

Aktywność grup antyszczepionkowych w znaczący sposób wpływa na negatywne podejście społeczeństwa do szczepionek, przez co z roku na rok obserwuje się rosnącą ilość niezaszczepionych dzieci z powodu odmów ze strony rodziców. Takie podejście przedstawiają mieszkańcy krajów wysoko rozwiniętych gdzie dostęp do podstawowych szczepionek nie jest w żaden sposób ograniczany czy dodatkowo płatny. Tym bardziej jest to niezrozumiałe jeżeli porówna się to z sytuacją w regionach biedniejszych. Niepokojąca popularność rezygnowania ze szczepień jest niewątpliwie dużym wyzwaniem dla WHO i innych organizacji prozdrowotnych. Paradoksalnie, to właśnie dotychczasowa komfortowa sytuacja epidemiologiczna przyczyniła się w dużej mierze do obecnego podejścia do szczepień jako niepotrzebnych, skoro nie odnotowuje się zachorowań na, do niedawna częste, choroby zakaźne. Dlatego bardzo ważna jest edukacja społeczeństwa, przedstawienie realnych zagrożeń spowodowanych rezygnowaniem ze szczepień, prezentowanie rzetelnych danych dotyczących bezpieczeństwa szczepionek, a także popularyzowanie tej formy nabywania odporności przez osoby mające wpływ na opinię publiczną. Jednocześnie należy dokładnie kontrolować, jakie badania są publikowane w znaczących czasopismach, aby w nie dopuścić do efektu artykułu Andrew Wakefielda.

5. Bibliografia

- Arif, N, Al-Jefri M, Bizzi IH i in. (2018) Fake News or Weak Science? Visibility and Characterization of Antivaccine Webpages Returned by Google in Different Languages and Countries. *Frontiers in immunology*, 9, 1215.
- Biologiczna Bzdura Roku 2017, <http://www.totylkoteoria.pl>.
- Biuletyny roczne „Szczepienia ochronne w Polsce” 2018, http://wwwold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html
- Braczkowska B, Kowalska M, Braczkowski R i in. (2017) Determinants of vaccine hesitancy. *Przegląd epidemiologiczny* 71(2): 227-236.
- Callender D (2016) Vaccine hesitancy: More than a movement. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 12(9), 2464–2468.
- Deer B (2011) How the case against the MMR vaccine was fixed. *British Medical Journal*, 342:c5347.
- Dziennik Ustaw 2008 Nr 234 poz. 1570.
- European Centre for Disease Prevention and Control (2019) Monthly measles and rubella monitoring report April 2019. <https://ecdc.europa.eu>.
- Gerber JS, Offit PA (2009) Vaccines and autism: a tale of shifting hypotheses. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 48(4), 456–461.
- Magdzik W, Naruszewicz-Lesiuk D, Zieliński A (2007) Historia uodpornienia sztucznego, w: *Wakcynologia*, wyd. 2, Bielsko-Biała: Alfa Medica Press, 20-25.

- Marchewka AK, Majewska A, Młynarczyk G (2015) Działalność ruchu antyszczepionkowego, rola środków masowego komunikowania oraz wpływ poglądów religijnych na postawę wobec szczepień ochronnych. *Postępy Mikrobiologii*, 54, 2, 95–102.
- Meikle J, Boseley S (2010) MMR row doctor Andrew Wakefield struck off register, <http://www.theguardian.com>.
- Najwyższa Izba Kontroli (2015) System szczepień ochronnych dzieci. Informacja o wynikach kontroli. LKR.410.015.00.2015 Nr ewid. 209/2015/P15/080/LKR, <http://www.nik.gov.pl>.
- Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, <http://www.szczepienia.pzh.gov.pl>.
- Rosselli R, Martini M, Bragazzi NL (2016) The old and the new: vaccine hesitancy in the era of the Web 2.0. Challenges and opportunities. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 57(1), E47–E50.
- Sansonetti PJ (2018). Measles 2018: a tale of two anniversaries. *EMBO molecular medicine*, 10(5), e9176.

16. Powikłania urologiczne w operacjach ginekologicznych wykonywanych drogą laparoskopową

Urological complications following laparoscopic gynecological surgeries

Kołodzyńska A.⁽¹⁾, Bogusiewicz M.⁽¹⁾, Monist M.⁽¹⁾, Ziemiński R.⁽²⁾, Kuliniec I.⁽³⁾, Rechberger T.⁽¹⁾

⁽¹⁾ II Katedra i Klinika Ginekologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾ Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾ Staż Podyplomowy w II Katedrze i Klinice Ginekologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: Michał Bogusiewicz

Kołodzyńska Aleksandra: kolodyska.aleksandra@gmail.com

Słowa klucze: uszkodzenie pęcherza, uszkodzenie moczowodu, techniki małoinwazyjne

Streszczenie

Coraz szersze zastosowanie technik małoinwazyjnych w zabiegach ginekologicznych niesie ze sobą wiele udowodnionych korzyści. Jednym z potencjalnych powikłań użycia metod laparoskopowych jest możliwość uszkodzenia układu moczowego.

Analiza częstości występowania, diagnostyki i leczenia powikłań urologicznych w operacjach ginekologicznych wykonywanych drogą laparoskopową, identyfikacja czynników ryzyka oraz możliwości zapobiegania ich wystąpieniu.

Przegląd oryginalnych prac badawczych dotyczących problematyki powikłań urologicznych w operacjach ginekologicznych ze szczególnym uwzględnieniem użycia technik małoinwazyjnych.

Powikłania urologiczne zabiegów ginekologicznych drogą laparoskopową najczęściej dotyczą pęcherza moczowego. W przypadku śródoperacyjnego rozpoznania przerwania ciągłości ściany pęcherza moczowego najczęściej możliwe jest natychmiastowe jego zaopatrzenie w trakcie operacji pierwotnej. Naprawa uszkodzenia moczowodu może wymagać konwersji do operacji otwartej.

Charakterystyczne objawy pooperacyjnych powikłań urologicznych najczęściej mają postać bólu brzucha lub okolicy lędźwiowej, gorączki lub wycieku moczu z dróg rodnych. Mogą one ujawnić się od kilku dni do kilku miesięcy od zabiegu i najczęściej wymagają wykonania operacji naprawczej.

Dotychczas nie udało się ustalić uniwersalnej metody zapobiegania powikłaniom urologicznym podczas zabiegów ginekologicznych metodą laparoskopową. Szczególną wagę nadaje się starannej identyfikacji czynników ryzyka wystąpienia tego typu powikłań oraz edukacji chirurgów pod okiem doświadczonych specjalistów.

1. Wstęp

Popularyzacja i powszechność zastosowania technik małoinwazyjnych w zabiegach ginekologicznych niesie ze sobą szereg udowodnionych korzyści, m.in. krótszy czas hospitalizacji, krótszy czas powrotu do normalnej aktywności, czy efekt estetyczny. Zastosowanie techniki laparoskopowej nie jest jednak pozbawione ryzyka powikłań. Anatomiczna bliskość operowanych narządów oraz układu moczowego predysponuje do ich jatrogennych uszkodzeń.

2. Opis zagadnienia

Powikłania urologiczne w operacjach wykonywanych drogą laparoskopową podzielić można na powikłania śródoperacyjne oraz pooperacyjne wczesne i późne.

Powikłania śródoperacyjne obejmują uszkodzenie układu moczowego stwierdzone w trakcie trwania zabiegu. Najczęściej dotyczą one uszkodzenia ciągłości ściany pęcherza moczowego, które może być natychmiast zaopatrzone. W przypadku śródoperacyjnego uszkodzenia moczowodu możliwe jest ponowne zespolenie koniec do końca lub wytworzenie nowego połączenia moczowodowo-pęcherzowego, z lub bez uprzedniego zacementowania naruszonego moczowodu.

Szybka diagnoza i niezwłoczna naprawa uszkodzenia dróg moczowych w trakcie operacji z wdrożeniem odpowiedniego postępowania pooperacyjnego wiąże się z wysokim odsetkiem powodzenia.

Powikłania pooperacyjne, czyli zdiagnozowane w odstępie czasowym od pierwotnego zabiegu to grupa obejmująca przypadki uszkodzenia anatomicznej ciągłości dróg moczowych (m.in. uszkodzenie ściany moczowodu lub pęcherza, zamknięcie światła moczowodu) mogące objawiać się szerokim spektrum dolegliwości.

Uszkodzenie dróg moczowych może manifestować się we wczesnym okresie pooperacyjnym m.in. objawami zapalenia otrzewnej, zastoju w układzie kielichowo-miedniczkowym, krwiomoczem.

Późne powikłania pooperacyjne w postaci przetok moczowo-płciowych mogą dawać objawy nawet kilka miesięcy po zabiegu, przede wszystkim jako wyciek moczu przez pochwę oraz obecność płynu w jamie brzusznej.

3. Przegląd literatury

Mamik i in. w wielośrodkowym badaniu obejmującym 405 pacjentek podsumowali czynniki ryzyka uszkodzenia dolnych dróg moczowych podczas histerektomii ze wskazań łagodnych.

Analizie poddano dane demograficzne, wiek wystąpienia menopauzy, nikotyzm, choroby współwystępujące oraz przebyte operacje pacjentek, jak również wskazania do operacji, drogę jej wykonania, procedury dodatkowe, czas trwania operacji, wagę macicy, utratę krwi oraz ewentualne dodatkowe działa śródoperacyjne.

Zidentyfikowano 135 przypadków uszkodzenia dolnych dróg moczowych: 110 dotyczących pęcherza moczowego, 17 – moczowodów oraz 8 – jednoczesnego uszkodzenia pęcherza moczowego i moczowodów.

Udowodniono, iż czynnikami ryzyka uszkodzenia pęcherza moczowego w trakcie histerektomii są: stan po cięciu cesarskim, wcześniejszych operacjach ginekologicznych lub położniczych oraz operacja drogą laparotomii.

Ryzyko uszkodzenia moczowodów było istotnie wyższe wśród kobiet poddających się histerektomii przezpochwowej w asyście laparoskopowej lub usunięciu macicy drogą brzuszną w porównaniu z innymi metodami.

Nie wykazano związku między zwiększeniem ryzyka uszkodzenia dolnych dróg moczowych w trakcie histerektomii, a m.in. wiekiem pacjentki, pochodzeniem etnicznym, BMI, występowaniem endometriozy, zapalenia narządów miednicy mniejszej lub choroby nowotworowej narządów miednicy mniejszej w wywiadzie. (Mamik i in. 2014)

W badaniu Lee i in. przeanalizowano 47 318 pacjentek, które poddały się operacjom ginekologicznym i położniczym. Ogólny odsetek wystąpienia powikłań urologicznych wyniósł 0,22%, dla poszczególnych rodzajów zabiegów wynosił kolejno: operacje drogą laparotomii – 0,44%, drogą laparoskopii – 0,42%, cięcia cesarskie – 0,08%.

Spośród operacji wykonywanych drogą laparoskopową największą częstość powikłań urologicznych odnotowano podczas przezpochwowej radykalnej histerektomii w asyście laparoskopowej (3,06%). Operacja o tym samym zakresie wykonywana drogą laparotomii (radykalna histerektomia drogą brzuszną) wiązała się z porównywalnym odsetkiem uszkodzenia dróg moczowych (2,78%).

Przezpochwowa histerektomia w asyście laparoskopowej charakteryzowała się odsetkiem 0,47%, nie stwierdzono natomiast powyższych powikłań wśród pacjentek poddanych histerektomii drogą laparoskopową.

Podczas ginekologicznych zabiegów laparoskopowych wystąpiły jedynie powikłania wczesne. W równym odsetku narządem najczęściej ulegającym uszkodzeniu w trakcie zabiegów laparoskopowych był pęcherz moczowy (9/19) oraz moczowody (9/19). Odnotowano 1 przypadek uszkodzenia nerki w trakcie przezpochwowej radykalnej histerektomii w asyście laparoskopowej.

Wszystkie przypadki uszkodzenia pęcherza oraz przypadek uszkodzenia nerki zostały zdiagnozowane i z sukcesem zaopatrzone już w trakcie operacji.

Spośród 23 przypadków uszkodzenia moczowodu, 14 udało się rozpoznać już w trakcie operacji i z sukcesem zaopatrzyć: 7 - za pomocą stentu, 5 - zszyto koniec do końca, 2 - utworzono połączenie moczowodowo-pęcherzowe. Pozostałe 9 przypadków zostało zdiagnozowane z opóźnieniem, a odsetek powodzenia w wykonanych w 4 przypadkach zespoleniach koniec do końca wyniósł 50%. (Lee i in. 2012)

Pal, Wats i Ghosh przeanalizowali powikłania urologiczne operacji ginekologicznych i położniczych, które leczone były na Oddziale Urologii Szpitala w Kalkucie w Indiach.

Uszkodzenia najczęściej dotyczyły pęcherza moczowego (54,04%), spośród czego jedyny przypadek ostrego uszkodzenia pęcherza moczowego w trakcie histerektomii drogą laparoskopową został z sukcesem rozpoznany i zaopatrzony śródoperacyjnie. Spośród wszystkich przypadków śródoperacyjnego uszkodzenia moczowodu żaden z nich nie dotyczył operacji przeprowadzanej drogą laparoskopową.

W analizowanej grupie znalazło się 19 przypadków przetoki pęcherzowo-pochwowej, w 11 przypadkach (57,9%) jako powikłanie porodu drogami natury lub cięcia cesarskiego, w 5 (26,3%) – histerektomii drogą brzuszną oraz 3 (15,8%) – histerektomii drogą laparoskopową. Tak wysoki odsetek powikłań okołoporodowych jest wciąż znaczącym problemem opieki zdrowotnej w krajach rozwijających się.

Zaopatrzenie przetok pęcherzowo-pochwowych odbywało się metodą laparoskopową (przebrzuszną przezpęcherzową operacją naprawczą drogą laparoskopową) (11/19), otwartą operację O-Connora (7/19) oraz drogą przezpochwową z użyciem płata Martiusa (1/19), z ok.95-procentowym odsetkiem powodzeń.

Opisano 9 przypadków późnych powikłań, które dotyczyły uszkodzeń moczowodów – 5 u pacjentów po histerektomii drogą laparoskopową, 3 - drogą brzuszną oraz 1 – drogą pochwową.

Zaopatrzenie późnych uszkodzeń moczowodowych zawsze poprzedzone było pielografią wstępującą. Postępowaniem z wyboru była próba stentowania cewnikiem DJ. W przypadku niepowodzenia wykonywano operację naprawczą drogą laparoskopową lub otwartą. Wszystkie przypadki leczenia przetok moczowodowo-pochwowych zakończyły się powodzeniem. (Pal i in. 2016)

Oh i in. opisali objawy, mechanizm oraz leczenie uszkodzeń moczowodowych występujących po operacjach ginekologicznych drogą laparoskopową.

Analizie poddano 12 przypadków pacjentek, u których rozpoznano pooperacyjne uszkodzenie moczowodu. Czas od operacji do wystąpienia objawów wynosił od 3 do 33 dni. U pacjentek zdiagnozowanych w 3-4 dobie po operacji charakterystyczne były gorączka, jednostronny ból brzucha lub krwiomocz. Objawy występujące po 7. dniu dodatkowo obejmowały objawy otrzewnowe. U 4 pacjentek stwierdzono zapalenie otrzewnej wywołane wyciekaniem moczu przez przetokę moczowo-otrzewnową.

Przyczyną uszkodzenia moczowodu okazały się uszkodzenia termiczne (7/12; 6 – elektrokoagulacja, 1 – laser CO2) oraz zamknięcie światła za pomocą staplera (5/12).

Wstępną metodą obrazowania stosowaną przy podejrzeniu uszkodzenia moczowodu była urografia wydzielnicza. W przypadku niepowodzenia, u pacjentek w stabilnym stanie klinicznym stosowano kolejno pielografię wstępującą lub zstępującą, gdy stan kliniczny nie pozwalał na opóźnienie leczenia – natychmiast wykonywano operację rekonstrukcyjną moczowodu.

Lokalizacja uszkodzenia moczowodu w 8 przypadkach dotyczyła okolicy stawu krzyżowo-biodrowego – głównie u pacjentek operowanych z powodu mięśniaków macicy, torbieli jajników lub zamknięcia światła jajowodów. U pozostałych 4 pacjentek uszkodzenie zlokalizowane było w pobliżu połączenia moczowodowo-pęcherzowego i wskazania do operacji obejmowały endometriozę oraz zapalenie narządów miednicy mniejszej.

Postępowanie u pacjentek, u których zdiagnozowano uszkodzenie moczowodu obejmowało próbę stentowania moczowodu lub, u pacjentek w niestabilnym stanie klinicznym – natychmiastową operację rekonstrukcyjną. U 6 pacjentek po nieudanej próbie stentowania również zdecydowano o operacji naprawczej. Trzy pacjentki u których założono stent ostatecznie również wymagały operacji (2 z powodu postępującego wycieku moczu do jamy otrzewnej, 1 z powodu późniejszego zwężenia moczowodu). (Oh i in. 2014)

Jansen, Brolman i Huirne przeanalizowali 31 przypadków uszkodzeń moczowodów powstałych podczas usunięcia macicy drogą laparoskopową: 22 podczas całkowitego usunięcia macicy drogą laparoskopową (TLH – total laparoscopic hysterectomy), 6 – usunięcia macicy drogą pochwową w asyście laparoskopowej (LAVH – laparoscopic-assisted vaginal hysterectomy) oraz 3 – nadszyjowych amputacji trzonu macicy drogą laparoskopową (LSH – laparoscopic supracervical hysterectomy). Podjęto próbę identyfikacji czynników ryzyka wystąpienia powyższych powikłań zależnych od pacjenta, jak też operatora.

Badanie oparto na analizie dostępnej dokumentacji medycznej oraz kwestionariuszu dla operatorów, w którym subiektywnie ocenili czynniki ryzyka przyczyniające się do wystąpienia powikłań w konkretnych przypadkach.

W badanej grupie, najczęstszym wskazaniem do wykonania zabiegu były nieprawidłowe krwawienia z dróg rodnych (61,3%). Średnie BMI pacjentek poddanych operacji wynosiło 27,1 kg/m², uprzednio operacjom w obrębie jamy brzusznej (wyłączając cięcie cesarskie) w wywiadzie posiadało 35,5% pacjentek. W 20 przypadkach (64,5%) obecne były mięśniaki macicy, w tym w 1 przypadku dużych rozmiarów mięśniak międzywiązadłowy, u 7 (22,6%) pacjentek rozpoznano lite zrosty wewnątrzbrzuszne, u 4 – głęboko naciekającą endometriozę (12,9%).

Uszkodzenia moczowodów zdiagnozowane zostały między 0 a 260 dniem po operacji (średnio w 29 dobie). Jedno uszkodzenie zostało rozpoznane już w trakcie operacji, 4 – w ciągu pierwszego tygodnia po zabiegu. Najczęstsze objawy, jakie prezentowały pacjentki to: ból brzucha lub okolicy lędźwiowej (58,1%), gorączka (16,1%) oraz wyciek moczu (12,9%).

Dalsze postępowanie w większości przypadków (26/35) polegało na cewnikowaniu moczowodu, jednak tylko u 9 pacjentek była to interwencja wystarczająca do naprawy uszkodzenia. Finalnie, 20 pacjentek wymagało operacyjnego zespolenia moczowodowo-pęcherzowego, 1 – zszycia moczowodu „koniec do końca”; wszystkie operacje naprawcze odbyły się drogą laparotomii. Ostateczna skuteczność leczenia wyniosła 100% w zakresie zachowania pełnej wydolności nerek oraz trzymania moczu.

W ocenie operatorów, do trudności, które napotkali w trakcie powikłanych histerektomii laparoskopowych należały przede wszystkim obfite krwawienie (9 przypadków) oraz zmienione stosunki anatomiczne narządów miednicy mniejszej (lite zrosty w 7 przypadkach, głęboko naciekająca endometrioza w 4 przypadkach oraz obecność mięśniaka międzywiązadłowego w 1 przypadku). Jako potencjalne przyczyny uszkodzenia moczowodów operatorzy wskazali rozległą koagulację spowodowaną krwawieniem (5), koagulację zbyt bocznie w stosunku do macicy (14), brak wystarczającego doświadczenia w wykonywaniu zabiegu (1), odstępstwa od normy anatomicznej (4). Zmiany w rutynowym postępowaniu podczas histerektomii drogą laparoskopową po wystąpieniu powyższych powikłań zadeklarowało 9 chirurgów i były to m.in. asysta bardziej doświadczonego ginekologa w trakcie zabiegu, lateralizacja moczowodów, użycie manipulatora do macicy, rutynowe uwidocznienie i ocena perystaltyki moczowody pod koniec zabiegu oraz ultrasonografia pęcherza moczowego i oszacowanie przepływu w moczowodach w opcji Doppler w pierwszej dobie po operacji.

Autorzy artykułu jako najistotniejsze czynniki ryzyka wystąpienia powikłań urologicznych podczas analizowanych histerektomii drogą laparoskopową podzielili na czynniki zależne od pacjenta – w 18 przypadkach, od chirurga – w 16 przypadkach oraz kombinacje powyższych – w 8 przypadkach.

W pierwszej grupie znalazły się: duża masa macicy, obecność litych zrostów oraz głęboko naciekająca endometrioza. Czynniki ryzyka zależne od operatora to przede wszystkim niewystarczające doświadczenie - punkt osiągnięcia kompetencji w krzywej uczenia oszacowany został na 20 procedur w warunkach prawidłowej anatomii, 30 – w przypadku macicy dużych rozmiarów oraz 30-50 – w warunkach anatomii zmodyfikowanej naciekaniem endometriozy lub mięśniakami międzywiązadłowymi. Niezbędne jest również użycie manipulatora macicznego w każdym przypadku histerektomii drogą laparoskopową, aby koagulacja pęczka naczyniowych była możliwa w kierunku prostopadłym. Zalecane jest też uwidocznienie moczowodów w przypadku zmienionych stosunków anatomicznych. (Jansen, Brolman i Huirne 2013)

4. Podsumowanie

Ryzyko wystąpienia powikłań urologicznych w trakcie zabiegów ginekologicznych drogą laparoskopową jest porównywalne do zabiegów o podobnym zakresie drogą brzuszną i pochwową. Najwyższy odsetek uszkodzeń dróg moczowych odnotowuje się podczas przezpochwowej radykalnej histerektomii w asyście laparoskopowej.

Narzędem, którego najczęściej dotyczą obrażenia jest pęcherz moczowy. W takiej sytuacji postępowaniem z wyboru, z niemal stuprocentowym odsetkiem powodzenia jest natychmiastowe przywrócenie ciągłości ściany narządu.

Śródoperacyjne rozpoznanie uszkodzenia moczowodów zdarza się rzadko, w jedynym opisanym przypadku początkowo rozpoznanie postawiono na podstawie dożylniej urografii wydzielniczej wykonanej w trakcie zabiegu pierwotnego. Po nieskutecznej próbie założenia cewnika do moczowodu podjęto decyzję o konwersji do laparotomii i operacji naprawczej moczowodu.

Leczenie powikłań pooperacyjnych, w tym późnych powikłań w postaci przetok moczowopłciowych w większości obejmuje próbę założenia cewnika do moczowodu oraz operacje naprawcze.

Jako bezpośrednią możliwą przyczynę uszkodzenia dróg moczowych podawane są nadmierna lub nieprawidłowo ukierunkowana koagulacja elektryczna lub laserowa oraz mechaniczne zamknięcie światła moczowodu za pomocą staplera.

Uszkodzenia moczowodu najczęściej zlokalizowane są na granicy wchodu miednicy, w pobliżu skrzyżowania naczyń jajnikowych i jajowodów oraz w okolicy stawu krzyżowobiodrowego, na poziomie więzadeł krzyżowo-maciczyńnych.

Większość urologicznych powikłań pooperacyjnych ujawnia się w ciągu miesiąca od zabiegu, jednak w opisywanych przypadkach okres ten może wydłużyć się nawet do niemal 300 dni.

Objawy, które mogą sugerować uszkodzenie dróg moczowych to przede wszystkim ból brzucha lub jednostronny ból okolicy lędźwiowej, gorączka, krwiomocz oraz wyciek moczu przez pochwę lub kanał szyjki macicy.

Zapobieganie wystąpieniu powikłań urologicznych podczas zabiegów ginekologicznych drogą laparoskopową jest problemem wciąż złożonym i niewyczerpanym, dlatego wiele uwagi poświęca się poznaniu potencjalnych czynników ryzyka oraz metod postępowania w przypadku ich zaistnienia.

Jako czynniki zwiększające ryzyko powyższych powikłań zidentyfikowano stan po cięciu cesarskim lub wcześniejszych operacjach ginekologicznych lub położniczych, duża masa macicy, obecność litych zrostów oraz głęboko naciekająca endometrioza. Szczególną ostrożność zaleca się również w przypadku śródoperacyjnego stwierdzenia obfitego krwawienia, zmienionych stosunków anatomicznych narządów miednicy mniejszej (obecność zrostów i głębokiego naciekania narządów miednicy mniejszej przez ogniska endometriozy), mięśniaków międzywiązadłowych.

Najważniejsze propozycje postępowania, które mają zmniejszyć ryzyko uszkodzenia dróg moczowych podczas zabiegów ginekologicznych drogą laparoskopową to realizacja krzywej uczenia pod nadzorem wysoko wykwalifikowanych i doświadczonych operatorów, stosowanie właściwego, kompletnego instrumentarium dostosowanego do konkretnego rodzaju zabiegu (np. manipulatora macicznego w przypadku histerektomii drogą laparoskopową), koagulacja naczyń macicznych w stosunku prostopadłym do ich przebiegu (minimalizacja ryzyka krwawienia i co za tym idzie – minimalizacja użycia koagulacji w powyższej okolicy) a w przypadku zmienionych stosunków anatomicznych – wizualizacja moczowodów w okolicy operowanej.

Wykonanie śródoperacyjnej cystoskopii zaleca się w przypadku obfitego krwawienia oraz nieprawidłowej anatomii narządów miednicy mniejszej. W powyższych przypadkach przydatną metodą pozwalającą na wczesnym etapie diagnostykę ewentualnych uszkodzeń jest wykonanie ultrasonografii pęcherza moczowego z oceną przepływu w moczowodach w funkcji Doppler w pierwszej dobie po operacji.

Wczesne wykrycie powikłań urologicznych umożliwia natychmiastowe zaopatrzenie uszkodzeń i zapobiega wystąpieniu trwałych skutków dla zdrowia pacjentek.

5. Literatura

- Janssen PF, Brölmann HAM, Huirne JAF (2013) Causes and prevention of laparoscopic ureter injuries: an analysis of 31 cases during laparoscopic hysterectomy in the Netherlands. *Surg Endosc.* 27(3): 946–956.
- Lee JS, Choe JH, Lee HS, Seo JT (2012) Urologic complications following obstetric and gynecologic surgery. *Korean J Urol.* 53(11):795–799.
- Mamik MM, Antosh D, White DE et al. (2014) Risk factors for lower urinary tract injury at the time of hysterectomy for benign reasons. *Int Urogynecol J.* 25(8): 1031–1036.
- Oh BR, Kwon DD, Park KS et al. (2000) Late presentation of ureteral injury after laparoscopic surgery. *Obstet Gynecol.* 95(3): 337–339.
- Pal DK, Wats V, Ghosh B (2016) Urologic complications following obstetrics and gynecological surgery: Our experience in a tertiary care hospital. *Urol Ann.* 8(1):26–30.

17. Zakażenia układu moczowego u pacjentek leczonych z powodu schorzeń uroginekologicznych

Urinary tract infections in patients treated for urogynecological conditions

Kołodzyńska A.⁽¹⁾, Bogusiewicz M.⁽¹⁾, Kulinić I.⁽²⁾, Ziemiński R.⁽³⁾, Gierszon P.⁽⁴⁾, Rechberger T.⁽¹⁾

⁽¹⁾ II Katedra i Klinika Ginekologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾ Staż Podyplomowy w II Katedrze i Klinice Ginekologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾ Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽⁴⁾ Zakład Psychologii Stosowanej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: Michał Bogusiewicz

Kołodzyńska Aleksandra: kolodyska.aleksandra@gmail.com

Słowa klucze: bakteriuria, zakażenia dolnych dróg moczowych, nietrzymanie moczu, zakażenia odcewnikowe

Streszczenie

Zakażenia układu moczowego są jednymi z najczęstszych schorzeń infekcyjnych wśród kobiet. Najważniejszym mechanizmem ochronnym przed ich wystąpieniem jest swobodny przepływ moczu przez drogi moczowe. Zarówno retencja moczu spowodowana zaburzeniami statyki narządów miednicy mniejszej jak i instrumentacja dróg moczowych stosowana okołooperacyjnie lub w terapii wysiłkowego nietrzymania moczu jest znaczącym czynnikiem ryzyka kontaminacji dróg moczowych.

Analiza częstości występowania, czynników ryzyka, diagnostyki i leczenia zakażeń układu moczowego ze szczególnym uwzględnieniem pacjentek ze współwystępującymi zaburzeniami statyki narządów miednicy mniejszej oraz wysiłkowym nietrzymaniem moczu.

Przegląd oryginalnych prac badawczych oraz wytycznych postępowania opracowanych przez ekspertów, dotyczących problematyki zakażeń układu moczowego u pacjentek leczonych z powodu schorzeń uroginekologicznych.

Zaburzenia statyki narządów miednicy mniejszej, wysiłkowe nietrzymania moczu oraz zakażenia układu moczowego są częstymi przyczynami obniżenia jakości życia i pogorszenia stanu zdrowia kobiet. Istotne jest poszukiwanie zależności między występowaniem powyższych schorzeń zarówno w kontekście czynników ryzyka, prowadzenia diagnostyki ale również doskonalenia opcji terapeutycznych.

1. Wstęp

Zakażenia układu moczowego (ZUM) zdecydowanie częściej występują u kobiet – najwyższa częstość występuje w między 16 a 35. rokiem życia (nawet 50 razy częściej niż u mężczyzn), w wieku podeszłym ZUM dotyczy 20% kobiet (2 razy częściej niż u mężczyzn).

Do najważniejszych naturalnych mechanizmów ochronnych wystąpienia ZUM zalicza się: długość cewki moczowej (najważniejsza przyczyna dysproporcji w częstości występowania ZUM u kobiet i mężczyzn), perystaltyka moczowodów (osłabiona w okresie ciąży), kwaśne pH moczu, fizjologiczna flora przedsionka pochwy i końcowego odcinka cewki moczowej (ulega zmianie z powodu zmian hormonalnych w okresie po menopauzie) oraz wszelkie mechanizmy, które utrudnią mają przyleganie patogenów do nabłonka dróg moczowych, m.in. sprawne mechaniczne wypłukiwanie bakterii przez naturalny przepływ moczu (może zostać zaburzone na skutek obniżenia narządu rodnego). Wystąpieniu ZUM sprzyja również kamica moczowa, cukrzyca oraz instrumentacja dróg moczowych. Nawet krótkotrwałe, jednorazowe zacewnikowanie pęcherza moczowego zwiększa ryzyko wystąpienia ZUM o 1-20% i zwiększa o się o 3-10% na każdy dzień pozostawienia cewnika w pęcherzu moczowym. (Holecki i in. 2015; Hooton i in. 2019)

2. Opis zagadnienia

Zaburzenia statyki narządów miednicy mniejszej (POP – pelvic organ prolapse) obejmuje schorzenia przebiegające z obniżeniem położenia ścian pochwy, szyjki macicy, macicy lub szczytu pochwy u pacjentek poddanych histerektomii. Etiologia powyższych zaburzeń jest wieloczynnikowa. Za najważniejsze czynniki ryzyka uważa się wiek, ciążę, porody drogami natury, stan po usunięciu macicy. Do powstania POP przyczyniają się również sytuacje, które permanentnie lub powtarzalnie zwiększają ciśnienie wewnątrzbrzusne, np. otyłość, choroby przebiegające z przewlekłym kaszlem.

Początkowo POP przebiega bezobjawowo. Wraz z postępem choroby, poza uczuciem dyskomfortu z powodu obniżenia narządu rodowego POP może manifestować się m.in. zaburzeniami oddawania moczu i stolca. Leczenie może obejmować postępowanie wyczekujące, pessaroterapię lub leczenie operacyjne. (Iglesia i Smithling 2017)

Wysiłkowe nietrzymanie moczu (SUI – stress urinary incontinence) definiuje się jako mimowolne oddawanie moczu występujące w sytuacji wzrostu ciśnienia wewnątrzbrzusznego, np. kichanie, śmiech, kaszel, wykonywanie ćwiczeń fizycznych. SUI dotyka ok. 15% dorosłych kobiet, częstość występowania zwiększa się nawet do 40% w wieku pomenopausalnym. SUI jest ważnym czynnikiem obniżającym jakość życia pacjentek. Istnieje szeroki wachlarz metod terapeutycznych, zarówno behawioralnych, jak też farmakologicznych i operacyjnych. Długotrwałe cewnikowanie pęcherza moczowego jest postępowaniem niezalecanym u pacjentek z wysiłkowym nietrzymaniem moczu. Jedynym akceptowalnym wskazaniem w takim przypadku jest zapewnienie komfortu osobom w stanie terminalnym, przy niepowodzeniu innych dostępnych metod. Mimo to, nietrzymanie moczu jest najczęstszą przyczyną nieuzasadnionego cewnikowania dróg moczowych na oddziałach szpitalnych. (Lugo i Riggs 2019)

3. Przegląd literatury

Hamid i Losco podsumowali zagadnienia dotyczące związku zaburzeń statyki narządów miednicy mniejszej oraz zakażeń układu moczowego. Największe znaczenie w rozwoju powyższych infekcji ma nierodność oraz zwiększona objętość moczu zalegającego po mikcji (PVR – post-void residua). Ochronne działanie diety związane jest z mniejszą ilością partnerów seksualnych w ciągu życia jak również naprzemiennym rozciąganiem i rozluźnianiem kanału rodowego w trakcie ciąży i porodu.

Objętość moczu zalegającego po mikcji zwiększająca ryzyko zakażeń dróg moczowych wynosi >30mL. Zalecanym postępowaniem jest zatem ultrasonograficzna ocena PVR u pacjentek z nawracającymi infekcjami układu moczowego.

Zaburzenia opróżniania pęcherza moczowego są charakterystyczne dla zaburzeń statyki przedniego kompartmentu. Nie udowodniono jednak istotnie zwiększonego ryzyka zakażeń układu moczowego u pacjentek z obniżeniem narządu rodowego. Prawdopodobnie jest to związane z wielodietnością, która jest udowodnionym czynnikiem ryzyka zaburzeń statyki narządu rodowego i jednocześnie – czynnikiem ochronnym dla rozwoju infekcji dróg moczowych.

Zakażenia układu moczowego zostały również rozważone w kontekście powikłań pooperacyjnych po zabiegach wykonanych z powodu POPQ oraz nietrzymania moczu. W ciągu 24 miesięcy od operacji wykonanej z powodu nietrzymania moczu, w zależności od metody zakażenie układu moczowego wystąpiło u 32% (op. spos. Burcha) - 48% (sling autologiczny) pacjentek. W ciągu 3 miesięcy po obliteracyjnych zabiegach z powodu POPQ ZUM wystąpiło u 45% pacjentek. Tak wysoki odsetek związany jest z niezbędną podczas powyższych zabiegów instrumentacją dróg moczowych, dlatego decydujące wydaje się być zidentyfikowanie modyfikowalnych czynników ryzyka.

W okresie pooperacyjnym zaburzony jest najważniejszy naturalny czynnik ochronny – zdolność opróżniania. Przyczyniają się do tego m.in. znieczulenie, opuchlizna i obrzęk tkanek, czasowe odnerwienie i dewaskularyzacja oraz stosowanie opioidów. Akceptowalny poziom PVR w okresie pooperacyjnym wynosi między 75 a 150 ml. Norma ta jest jednak niedostosowana do pacjentek z przedoperacyjnym PVR >200 ml, znacznym obniżeniem narządu rodowego bądź u pacjentek wypisywanych do domu w dniu zabiegu. W tej ostatniej grupie, chęć zminimalizowania

hospitalizacji pacjentki może w takiej sytuacji przyspieszyć decyzję o cewnikowaniu pęcherza moczowego. Sytuacja ta wymaga szczególnego, indywidualnego rozważenia potencjalnego ryzyka oraz korzyści. (Hamid i Losco 2014)

Sutkin i in. przeanalizowali występowanie objawowego zakażenia układu moczowego wśród 389 pacjentek po operacjach z powodu zaburzeń statyki narządów miednicy mniejszej oraz wysiłkowego nietrzymania moczu (SUI – stress urinary incontinence). Jako kryterium wystąpienia ZUM określono występowanie typowych objawów klinicznych oraz jednocześnie potwierdzenie obecności znamiennej bakteriomoczu w ciągu 6 tygodni od zabiegu.

Badana grupa obejmowała 149 (38,3%) pacjentek zoperowanych z powodu POPQ, 92 (23,7%) - z powodu SUI oraz 148 (38,0%) – jednocześnie z obydwu powyższych wskazań. U 103 pacjentek (26,5%) jednocześnie przeprowadzono histerektomię. Operacje wykonywano z dostępu pochwowego (255; 65,6%), przez laparotomię (131; 33,7%) oraz laparoskopowo (3; 0,8%). U wszystkich chorych zastosowano antybiotykoterapię okołoperacyjną. U wszystkich pacjentek przed wypisem skontrolowano PVR. W grupie, u której wystąpiły zaburzenia opróżniania pęcherza (147; 42,9%), 107 pacjentek opanowało samocewnikowanie (CISC – Clean Intermittent Self-Catheterization), u 44 – wprowadzono cewnikowanie ciągłe. W powyższej grupie 94,6% pacjentek otrzymało zalecenie przyjmowania antybiotykoterapii na czas używania cewnika do opróżniania pęcherza moczowego.

Powikłanie w postaci objawowego zakażenia układu moczowego stwierdzono u 9% analizowanych pacjentek. Najczęściej identyfikowanym patogenami było *E.coli* (14/35) oraz *Proteus mirabilis* (4/35).

Wśród analizowanych potencjalnych czynników istotne znaczenie okazały się mieć: wiek, dopochwowe stosowanie preparatów estrogenowych, występowanie nawracających ZUM w historii, droga pochwowa operacji oraz odległość cewkowo-odbytnicza (UAD – urethral anal distance).

U pacjentek z pooperacyjnymi zaburzeniami opróżniania pęcherza moczowego częstość ZUM była prawie 3 razy wyższa w stosunku do pacjentek z prawidłową mikcją w dniu wypisu (16,8% vs. 6%). Nie wykazano różnic w częstości występowania ZUM a metodą cewnikowania.

Jako niezależne czynniki ryzyka ZUM u pacjentek zidentyfikowano >10-dniowe cewnikowanie pęcherza moczowego, nawracające ZUM w wywiadzie oraz zwiększoną UAD.

Odległość cewkowo-odbytnicza zawierająca się między środkowym odcinkiem cewki moczowej oraz odbytem (długość środka ścięgnistego krocza oraz rozworu płciowego). Intuicyjna hipoteza, sugerująca iż mniejszy dystans między zakończeniem dróg moczowych oraz przewodu pokarmowego miałby ułatwić przemieszczanie się patogenów oraz zwiększać ryzyko wystąpienia ZUM okazała się błędna. Autorzy uzasadniają odwrotną relację teorią, iż UAD jest wykładnikiem ogólnego defektu nerwowo-mięśniowego prowadzącego do zaburzenia statyki narządów miednicy mniejszej, i mimo skrócenia UAD w wyniku operacji, pierwotna przyczyna nieprawidłowości dna miednicy nie zostaje skorygowana i w konsekwencji pacjentki wciąż narażone są na zwiększone ryzyko zastoju moczu i rozwinięcie ZUM. (Sutkin i in. 2010)

Moore i in. w prospektywnym badaniu obejmującym 913 kobiet po menopauzie badali związek między nietrzymaniem moczu a występowaniem objawowych zakażeń dróg moczowych. Analizowano dzienniki oraz roczne kwestionariusze, w których pacjentki odnotowywały epizody nietrzymania moczu oraz inne dolegliwości związane z układem moczowym (np. ból i pieczenie w trakcie mikcji, zwiększona częstość oddawania moczu, parcia naglące). Uczestniczki badania zostały poinstruowane, aby w przypadku pojawienia się powyższych objawów natychmiast pobrać próbkę moczu i wysłać do ośrodka badawczego, gdzie wykonywano analizę mikrobiologiczną. Pod uwagę brane były jedynie objawowe ZUM, potwierdzone posiewem moczu.

Dwie trzecie badanych kobiet relacjonowało incydent nietrzymania moczu przynajmniej raz w ciągu roku. W powyższej grupie, u 2/3 pacjentek nietrzymanie moczu występowało przynajmniej raz w tygodniu lub ilość moczu prowadziła do przemoczenia bielizny. Średnia ilość epizodów wynosiła 4,7 w miesiącu. Przynajmniej jednokrotne wystąpienie parcia naglącego zgłosiło 30% pacjentek (1,4x/miesięcznie), u 17% (0,5x/miesięcznie) odnotowano bolesność lub pieczenie podczas mikcji.

W całej grupie średnia ilość epizodów nietrzymania moczu wyniosła 2,83 miesięcznie. Po wykluczeniu 14 dni przed oraz 14 dni po objawowym ZUM ilość ta spadła do 2,81 miesięcznie.

Podstawowy wskaźnik inkontynencji u kobiet, u których nie wystąpiło ZUM był niższy (2,64/miesięcznie, 8,8% dni badania vs. 4,6/miesięcznie, 15,3% dni badania). Na wyniki te nie miały wpływu: wiek, BMI, występowanie cukrzycy, stosowanie hormonalnej terapii zastępczej.

W ciągu pierwszych trzech dni od pojawienia się objawów ZUM częstość nietrzymania moczu wzrosła do 21-24% dni. (Moore i in. 2008)

Tambyah i Maki prospektywnym badaniem objęli 1497 zacewnikowanych pacjentów. Każdego dnia analizowano posiew, ilość leukocytów w moczu oraz występowanie objawów ZUM. Celem badania było poznanie objawów klinicznych zakażeń układu moczowego związanych z cewnikowaniem pęcherza moczowego (CAUTI – Catheter-Associated Urinary Tract Infection).

Infekcję dróg moczowych stwierdzono u 224 pacjentów (14,9%), z czego u 85% zidentyfikowano znamiennej bakterię (10³CFU/mL w ≥1 posiewie). U większości chorych aktywna infekcja (obecność patogenów w moczu w posiewach w kolejnych dniach) trwała ponad 3 dni. Występowanie CAUTI było znacznie wyższe u kobiet (23,2% vs. 8,9%). Trzydzieści dziewięć procent zakażeń było wywołane przez pałeczki Gram-ujemne, 34% - przez enterokoki i gronkowce, 27% - przez grzyby z rodzaju *Candida*. Jedynie połowa (53%) przypadków CAUTI była zdiagnozowana przez lekarza prowadzącego, leczenie zastosowano u mniej niż 50% chorych.

Śród pacjentów ze zdiagnozowanym CAUTI 7,7% pacjentów zgłaszało dolegliwości związane z układem moczowym. Odsetek zgłaszanych objawów nie różnił się u pacjentów, którzy pooperacyjnie otrzymywali leki przeciwbólowe w porównaniu z grupą, która nie była poddana procedurom zabiegowym.

W badanej grupie rozwinęło się 79 zakażeń ogólnoustrojowych, z czego u 4 pacjentów wyniki posiewu krwi i moczu wykazały ten sam patogen. Tylko w 1 przypadku jednoznacznie można było określić, iż pierwotnym źródłem infekcji było CAUTI (*Enterobacter cloacae*). U pacjenta nie stwierdzono jednak wcześniej objawów zakażenia układu moczowego. (Tambyah i Maki 2000)

Andy i in. porównali skuteczność jedno- i wielodawkowej profilaktyki antybiotykowej stosowanej w operacjach naprawczych zaburzeń statyki narządów miednicy mniejszej z użyciem siatek oraz tkanek autologicznych.

Badaniem objęto 460 pacjentek poddanych różnego rodzaju operacjom z powodu obniżenia narządu rodnego, u których stosowano okołooperacyjną profilaktykę antybiotykową i obserwowano w kierunku powikłań infekcyjnych przez okres 6 tygodni. Analizowane dane dotyczące pacjentek obejmowały m.in. wiek, BMI, rasę, choroby towarzyszące, przedoperacyjne PVR; dotyczące operacji – dostęp, rodzaj procedury, czas trwania, droga podania i rodzaj antybiotyku. Operacje wykonywane były drogą brzuszna lub pochwową (w przypadku operacji łączonych klasyfikowano zabieg jako pochwoy). Dane dotyczące okresu pooperacyjnego zawierały informacje nt. czas zacewnikowania, ilości prób opróżnienia pęcherza, antybiotykoterapii w trakcie utrzymywania cewnika w pęcherzu moczowym, powikłań pooperacyjnych.

Wybór schematu antybiotykoterapii zależał od preferencji operatora. W schemacie jednodawkowym (154; 33%) pacjentka otrzymywała jedną dawkę leku w ciągu 60 minut od nacięcia powłok. W schemacie wielodawkowym (306; 67%) dodatkowo podawano kolejne dawki (łącznie od 2 do 4) antybiotyku przy braku objawów infekcji.

Wszystkim pacjentkom, które wymagały cewnikowania pęcherza moczowego po wypisaniu z oddziału zalecono dodatkową, profilaktyczną antybiotykoterapię.

W 79 (17%) przypadkach zdiagnozowano infekcyjne powikłanie przeprowadzonych operacji. Nie stwierdzono istotnych różnic w częstości ich występowania a czynnikami dotyczącymi pacjentek, drogi przeprowadzania zabiegu, czasu zacewnikowania ani schematu antybiotykoterapii.

Najczęściej (41/49; 51,9%) zakażenie dotyczyło dróg moczowych. Nie wykazano związku między czasem pozostawienia cewnika w pęcherzu moczowym. Schemat okołooperacyjnej profilaktyki antybiotykowej okazał się istotnym czynnikiem wpływającym na wystąpienie pooperacyjnego ZUM u badanych pacjentek. Korzystniejszym okazał się schemat wielodawkowy. Po zweryfikowaniu zależności między wpływem drogi operacji a zastosowanym schematem (schemat jednodawkowy był częściej stosowany w operacjach drogą pochwową, która jest czynnikiem ryzyka

wystąpienia ZUM) zaprzeczono wystąpieniu różnic w częstości ZUM w zależności od schematu antybiotykoterapii.

Nie odnotowano żadnego przypadku zakażenia wszczepianego materiału syntetycznego ani wystąpienia ropni w obrębie miednicy mniejszej. (Andy i in. 2014)

4. Podsumowanie

Zarówno zaburzenia statyki narządów miednicy mniejszej jak i zakażenia układu moczowego są powszechnym czynnikiem wpływającym negatywnie na zdrowie kobiet. U znacznej ilości pacjentów występuje koincydencja powyższych schorzeń, a za najważniejszy czynnik ryzyka łączący ich wspólne występowanie uważa się zwiększone zaleganie moczu po mikcji (PVR). Z tego powodu u każdej pacjentki z obniżeniem narządu rodnego oraz ZUM konieczna jest ultrasonograficzna ocena tego parametru.

Czynnikami wpływającymi na zwiększoną częstość ZUM w okresie po operacji naprawczej z powodu zaburzeń statyki narządu rodnego są: długość czasu zacewnikowania dróg moczowych, nawracające ZUM w historii pacjentki oraz zwiększona odległość cewkowo-odbytnicza (UAD).

Ryzyko wystąpienia objawowego ZUM w okresie 6 tygodni po operacji wykonanej z powodu zaburzenia statyki narządów miednicy mniejszej oraz wysiłkowego nietrzymania moczu wynosi 9,0%. Najważniejszymi czynnikami ryzyka okazują się zaburzenia w opróżnianiu pęcherza oraz cewnikowanie dróg moczowych. Stosowanie profilaktycznej antybiotykoterapii okazało się nie mieć działania ochronnego. Przejściowa retencja moczu w okresie pooperacyjnym jest powszechna i zaburza naturalny mechanizm ochronny dróg moczowych przed infekcjami – opróżnianie pęcherza moczowego. Jako potencjalne czynniki sprzyjające temu stanowi zidentyfikowano m.in. odnerwienie, obrzęk, leki anestetyczne. Przy przedłużającym się występowaniu podwyższonego PVR niezbędna bywa instrumentacja dróg moczowych. Udowodnionym czynnikiem wystąpienia ZUM w pacjentek w okresie okołoperacyjnym jest pozostawienie cewnika Foleya w pęcherzu moczowym przez >10-dni, nawracające ZUM w wywiadzie oraz zwiększona odległość cewkowo-odbytnicza.

W grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym, u których występują objawowe ZUM epizody nietrzymania moczu były częstsze niż w grupie kobiet, które nie przechodziły ZUM. Jednym z objawów ZUM może być inkontynencja. Udowodniono, że najczęściej występuje ona w ciągu 3 pierwszych dni infekcji. Występowanie zakażeń układu moczowego zwiększa zatem częstość występowania epizodów nietrzymania moczu, zarówno podczas trwania ZUM, jak również w czasie bez objawów infekcji dróg moczowych.

Związane z obecnością cewnika w drogach moczowych zakażenia układu moczowego (CAUTI) są najczęściej rozpoznawaną formą zakażeń wewnątrzszpitalnych. Są one również znaczącym źródłem patogenów antybiotykoopornych. Ponad 90% osób z CAUTI nie odczuwa jednak objawów choroby. Wartość diagnostyczną poza wystąpieniem objawów ZUM mają: wystąpienie gorączki, lekuocytaza, jednak wciąż nie są one wystarczające.

Dużą rolę w zapobieganiu pooperacyjnych ZUM u pacjentek leczonych z powodu zaburzeń statyki narządów miednicy mniejszej odgrywa stosowanie odpowiedniej profilaktyki antybiotykowej. Okazuje się, że podawanie antybiotyków w schemacie wielodawkowym vs. w schemacie jednodawkowym nie przyniosło korzyści dla pacjentek w postaci zmniejszenia infekcyjnych powikłań pooperacyjnych. W analizie wieloczynnikowej, uwzględniające m.in. zwiększone ryzyko spowodowane pochwową drogą wykonania zabiegu, odsetek powikłań w postaci ZUM również nie różnił się w obydwu schematach. Pojedyncza dawka antybiotyku w okresie okołoperacyjnym jest zatem wystarczająca, aby skutecznie zapobiegać infekcyjnym powikłaniom w okresie pooperacyjnym u pacjentek poddanych operacjom z powodu obniżenia narządu rodnego, zarówno z użyciem materiału autologicznego jak też materiałów syntetycznych.

5. Literatura

- Andy UU, Harvie HS, Ackenbom MF et al. (2014) Single versus multi-dose antibiotic prophylaxis for pelvic organ prolapse surgery with graft/mesh. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 181: 37–40.
- Hamid R, Losco G (2014) Pelvic Organ Prolapse-Associated Cystitis. *Curr Bladder Dysfunct Rep* 9:175–180.
- Holecki M, Duława J, Hryniewicz W i in. (2015) Rekomendacje diagnostyki, terapii i profilaktyki zakażeń układu moczowego u dorosłych. *Ministerstwo Zdrowia.* 1: 7-18.
- Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD et al. (2019) Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 1;50(5):625-63.
- Iglesia CB, Smithling KR (2017) Pelvic Organ Prolapse. *Am Fam Physician.* 1;96(3):179-185.
- Lugo T, Riggs J (2019) Stress Incontinence. *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.*
- Moore EE, Jackson SL, Boyko EJ et al. (2008) Urinary Incontinence and Urinary Tract Infection. Temporal Relationships in Postmenopausal Women. *Obstet Gynecol.* 111(2 Pt 1):317-23.
- Sutkin G, Alperin M, Meyn L et al. (2010) Symptomatic urinary tract infections after surgery for prolapse and/or incontinence. *Int Urogynecol J* 21:955–961.
- Tambyah PA, Maki DG (2014) Catheter-Associated Urinary Tract Infection Is Rarely Symptomatic. A Prospective study of 1497 Catheterized Patients *Curr Bladder Dysfunct Rep* 9:175–180.

18. Struktura i funkcja jąder uzdeczki

The structure and function of the habenular nuclei

Joanna Mackiewicz, Dominika Kawka, Roksana Jagodzińska, Patrycja Uniatowska, Kinga Ostrowska, Grażyna Jerzemowska, Karolina Plucińska

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

Opiekun naukowy: Grażyna Jerzemowska

Joanna Mackiewicz: jmackiewicz9@gmail.com

Słowa kluczowe: uzdeczka, awersja i nagroda, zaburzenia psychiczne

Streszczenie

Uzdeczka (*habenula*, Hb) to maleńki region mózgu - u ludzi wielkości grochu. Uzdeczka jako parzysta struktura konserwatywna u kręgowców otrzymuje informacje o stanie czuciowym i wewnętrznym organizmu, wysyła duże projekcje do układów dopaminergicznych i serotonergicznych o których wiadomo, że bezpośrednio wpływają na behavior zwierząt. Wiadomo również, że obszar ten stanowi ośrodek integracji, w którym bieżące informacje czuciowe i dotyczące stanu wewnętrznego organizmu (aktualny stan napędowo-emocjonalny, rytm biologiczny) regulują funkcje wykonawcze układu ruchu. W związku z tym uważa się, że uzdeczka jest niezbędna, aby umożliwić zwierzętom dostosowanie reakcji do zmieniających się warunków środowiskowych.

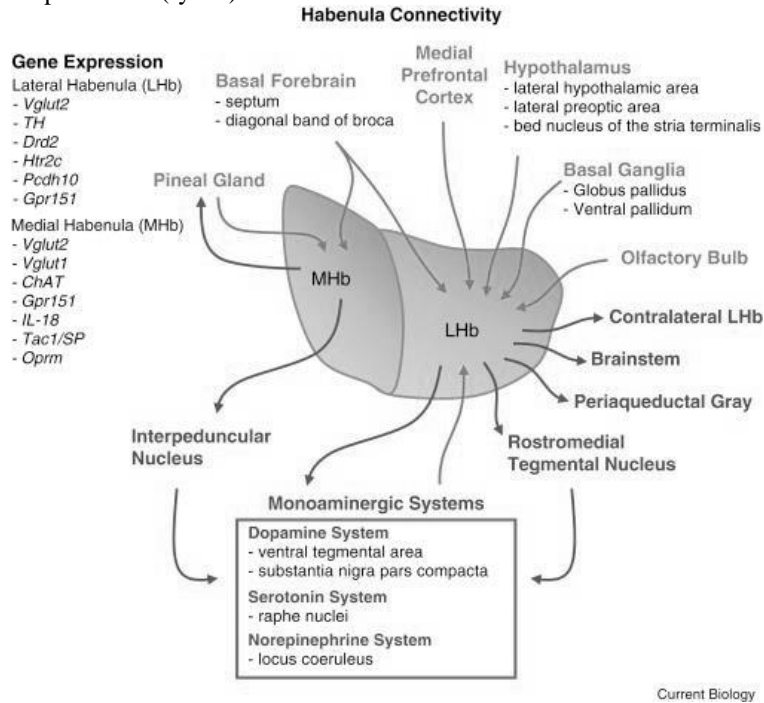
1. Wstęp

Uzdeczka to struktura wysoce konserwatywna u kręgowców. Nazwa *habenula* (Hb) pochodzi od łacińskiego słowa *habena*, co oznacza "mały wodospad", ze względu na wydłużony kształt wzdłuż osi przednio-tylnej będący cechą charakterystyczną tej struktury. Początkowo przypisywano jej funkcję związaną z regulacją szyszynki. Kolejne badania wykazały aktywację Hb w oczekiwaniu na zdarzenia awersyjne lub na brak oczekiwanej nagrody, konsekwencją czego była inhibicja aktywności motorycznej (Matsumoto i Hikosaka 2007). To właśnie te badania skupiły uwagę badaczy różnych dyscyplin neuronauki jak i klinicystów na tej maleńkiej strukturze, która do nie dawna wydawała się być konsekwentnie pomijana w opracowaniach naukowych. Najnowsze doniesienia pokazują, że Hb ma szersze znaczenie niż początkowo mogło się wydawać – przede wszystkim działa jako krytyczny węzeł neuroanatomiczny, który łączy i reguluje obszary mózgu ważne dla rozbieżnych stanów motywacyjnych i poznawczych. Dane przedkliniczne dowodzą, że Hb koduje zarówno nagradzające, jak i awersyjne aspekty bodźców zewnętrznych. Zatem okazuje się, że może stanowić kluczowy region mózgu dla motywacji i podejmowania decyzji. Anatomicznie jądra Hb osadzone są w pętlach neuronalnych zaangażowanych w zachowania napędowo-emocjonalne, których dysfunkcja powiązana jest z chorobami psychicznymi. Zakłócenia w czynności Hb towarzyszą dużej depresji jak również schizofrenii, a także powstawaniu, przebiegu i utrzymywaniu się uzależnienia. Dodatkowo wskazuje się również na szczególną rolę poszczególnych jąder Hb w bólu i analgezji.

2. Opis zagadnienia

Uzdeczka (Hb) jest strukturą parzystą, wchodzącą wraz z szyszynką w skład nadwzgorza (łac. *Epithalamus*), czyli **grzbietowej części międzymózgowia**. Jądra Hb leżą w części tylnej nadwzgorza, powyżej wzgórza, blisko linii pośrodkowej i graniczą z komorą trzecią mózgu. U ludzi mają średnicę 5-9 mm przy całkowitej objętości 30-36 mm³ (dla porównania: u myszy jądra Hb mają średnicę ok. 0,8 mm). U ssaków uzdeczki tworzą trójkąt uzdeczki, który zawiera dwa skupiska istoty szarej, tworzące subregiony: jądra uzdeczki przyśrodkowe (MHb, *nuclei habenulae medialis*) i boczne (LHb, *nuclei habenulae lateralis*). MHb zbudowane jest z niewielkich, ciasno upakowanych

komórek nerwowych. Z kolei LHb zawiera luźniej ułożone komórki o rozmiarach niemal dwukrotnie większych. Obydwa otoczone są warstwą istoty białej. Oba podregiony pełnią różne funkcje, mają odmienny profil ekspresji genów oraz odmienny schemat połączeń z innymi strukturami (Namboodiri i in. 2016). Aksony jąder uzdeczki tworzą tzw. pęczek tyłozgięty (*fasciculus retroflexus*) - szlak wyjściowy kończący się w obrębie pnia mózgu – w śródmózgowiu (w jądrze międzykonarowym, wzgórkach górnych pokrywy) oraz tworze siatkowatym. Główną drogą doprowadzającą tych jąder jest pęczek rdzenny wzgórza (*stria medullaris thalami*). Przenosi on informacje z różnych obszarów kory mózgu, jąder podstawy oraz układu limbicznego. Większość wiedzy na temat cech strukturalnych i neurochemicznych oraz unerwienia Hb, wynika z badań na zwierzętach. Badania elektrofizjologiczne na naczelnych innych niż ludzie oraz śledzenie neuronów przy zastosowaniu znaczników neuronalnych u gryzoni dostarczyły szczegółowy opis połączeń aferentnych i eferentnych kompleksu Hb (rys. 1).



Rys. 1. Schemat ilustrujący anatomiczną organizację jąder uzdeczki (wg Namboodiri i in. 2016). Strzałki w kolorze szarym przedstawiają projekcje aferentne, natomiast w kolorze czarnym projekcje eferentne. Po lewej stronie ekspresja genów (*Gene Expression*, objaśnienia skrótów poszczególnych genów znajdują się w tekście) w LHb i MHb. Tłumaczenie na język polski zamieszczonych na rysunku poszczególnych nazw struktur: *Basal Forebrain* – część podstawna kresomózgowia, *septum* – przegroda, *diagonal band of Broca* - pęczek przekątny Broca; *Medial Prefrontal Cortex* – przyśrodkowa kora przedczołowa; *Hypothalamus* – podwzgórze, *lateral hypothalamic area* – pole boczne podwzgórza, *lateral preoptic area* – pole przedwzrokowe boczne, *bed nucleus of the stria terminalis* – jądro łożyskowe prążka krańcowego; *Basal Ganglia* – jądra podstawne, *Globus pallidus* – gałka błada, *Ventral pallidum* – brzuszne prążkowie; *Olfactory Bulb* – opuszka węchowa; *Contralateral LHb* – kontralateralna uzdeczka boczna; *Brainstem* – pień mózgu; *Periaqueductal Gray* – istota szara okołowodociągowa; *Rostromedial Tegmental Nucleus* – część ogonowa brzusznego pola nakrywy śródmózgowia; *Monoaminergic Systems* – układy monoaminergiczne: *Dopamine system* – układ dopaminergiczny, *ventral tegmental area* – brzuszne pole nakrywy śródmózgowia, *substantia nigra pars compacta* – istota czarna część zbita; *Serotonin system* – układ serotonergiczny, *raphe nuclei* – jądra szwu; *Norepinephrine System* – układ noradrenergiczny, *locus coeruleus* – miejsce sinawe; *interpeduncular nucleus* – jądro międzykonarowe; *Pineal Gland* – szyszynka.

U kręgowców niższych wyróżnia się uzdeczki grzbietowe i brzuszne stanowiące struktury homologiczne do uzdeczek przyśrodkowych i bocznych ssaków. Dodatkowo, u kręgowców niższych uzdeczki są strukturą asymetryczną, jądra wyraźnie różnią się wielkością. Przykładowo, prawa uzdeczka u minoga jest znacznie większa niż lewa. Uzdeczki są również wyraźnie asymetryczne u ryb, płazów i gadów, w mniejszym stopniu u ptaków i ssaków. U ludzi i u gryzoni różnice anatomiczne nie są aż tak widoczne, jednakże dane literaturowe wskazują na asymetrię funkcjonalną obu tych jąder, jak np. odmienna ich aktywność. Znaczenie zróżnicowania anatomicznego i funkcjonalnego wciąż jest badane. Ciekawą hipotezą jest to, że strukturalna asymetria (różnica w wielkości) może ułatwiać szybką i dokładną kontrolę zachowań przeciwstawnych, takich jak bezruch (zamrożenie) i ucieczka. Funkcjonalna lateralizacja może natomiast pozwolić na większą płynność w przetwarzaniu informacji podczas kontrolowania bardziej złożonych zachowań lub interakcji społecznych (Mizumori i Baker 2017).

Rola uzdeczki w całej gromadzie kręgowców jest podobna, jednak różnice międzygatunkowe w wewnętrznej organizacji, biochemii i wzorach projekcji poszczególnych jej podjąder sugerują, że struktura ta nadal ewoluuje. W następstwie czego powstał model bardziej złożonego przetwarzania przez struktury sensoryczne, asocjacyjne i motoryczne, np. takie jak te w korze mózgowej. Niższe kręgowce wykazują podział jądra na segmenty, do których przypisane są konkretne ścieżki neuronalne. Zmiany ewolucyjne w tych jądrach związane są z układami wejściowymi i wyjściowymi i dotyczą np. rozmiaru dróg aferentnych i eferentnych. Przykładowo, grzbietowa część ludzkiego LHb jest znacznie większa od LHb szczurzego - ten wzrost wielkości prawdopodobnie wskazuje na zwiększony wpływ aferentów limbicznych i z prądkowia do LHb u ludzi w porównaniu z gryzoniami (Diaz i in. 2011). U minoga uzdeczki są strukturami o budowie homologicznej do uzdeczki ssaków tzn. można wyróżnić część przyśrodkową i boczną. Jeśli chodzi o ryby, u których również uzdeczki mają swoją część przyśrodkową i boczną to uznaje się, że tylko część przyśrodkowa wykazuje homologię do uzdeczek gadzich i ssaczyc. Obie składowe uzdeczek wykazują odmienne profile ekspresji genów oraz odmienne wzory połączeń aferentnych i eferentnych.

Prawie wszystkie neurony LHb są neuronami glutaminergicznymi, wykazują ekspresje pęcherzykowego transportera glutaminianu vGlut2. MHb również są strukturami glutaminergicznymi. Część brzuszna MHb obok vGlut2 wykazuje koekspresję genu kodującego acetylotransferazę cholinową ChAT – enzymu, który katalizuje powstanie acetylocholino. Natomiast część grzbietowa MHb obok vGlut2 wykazuje koekspresję genu kodującego substancję P - Tac1 (Tac1/SP). Ponadto w MHb wykazano ekspresję genów dla pęcherzykowego transportera glutaminianu vGlut1, genu Gpr151 dla receptora sprzężonego z białkiem G, genu IL-18 dla interleukiny 18, genu Oprm dla receptorów opioidowych. W LHb wykazano ekspresję genów receptorów dopaminergicznych klasy drugiej Drd2, genu hydroksylazy tyrozynowej TH - enzymu katalizującego reakcje chemiczne w których powstaje dopamina, genu Htr2c kodującego białko transbłonowe pełniące funkcję receptora dla serotoniny, genu Pcdh10 kodującego czynnik odgrywający ważną rolę w generowaniu sygnału wapniowego w neuronach oraz genu Gpr151 dla receptora sprzężonego z białkiem G (Namboodiri i in. 2016).

Biorąc pod uwagę ekspresję szeregu białek oraz charakter unerwienia w poszczególnych regionach uzdeczki można by wyróżnić w tym obszarze aż 10 subregionów. Jednak ze względu na już stosunkowo niewielki rozmiar samego kompleksu, często traktuje się niektóre z nich bardziej jednorodnie, biorąc pod uwagę praktyczne wyzwania związane z izolacją tak małych struktur.

Uzdeczka boczna (LHb) odgrywa kluczową rolę w integracji różnorodnych obwodów neuronalnych związanych z nagradzaniem i zachowaniami awersyjnymi. Uzdeczka odbiera hamujące projekcje ze struktur układu limbicznego (kory przedczołowej, bocznego podwzgórza, opuszki węchowej, jąder przegrody) zwojów podstawy (gałki bladej, brzuszego prądkowia), wysyła natomiast bogate projekcje do neuronów dopaminergicznych (DA) i serotoninerznych (5-HT) śródmózgowia (Hikosaka i in. 2008). Jest strukturą głównie glutaminergiczną, choć znaleziono również w tym rejonie interneurony GABA-ergiczne. Ostatnie doniesienia udowodniły obustronne połączenia między LHb a brzuszyną nakrywki śródmózgowia (ventral tegmental area, VTA) i grzbietowymi jądrami szwu pnia mózgu (dorsal raphe nucleus, DRN) (Bernard i Veh, 2012). VTA

stanowi początkową strukturę dla układu mezolimbicznego uznawanego za „mózgowy układ nagrody”. DRN natomiast jest jednym z głównych źródeł projekcji serotonergicznym w przodomózgowiu, odgrywa istotną rolę w odpowiedzi stresowej organizmu oraz w regulacji stanów emocjonalnych, a zaburzenia w funkcjonowaniu układu serotonergicznego powiązane są z patofizjologią chorób afektywnych.

MHb jak również struktury homologiczne do niej otrzymuje aferenty z jąder przegrody, pęczka przekątnego Broca, jądra półleżącego, ze struktur sensorycznych: szyszynki (wzrok), opuszki węchowej (węch), linii bocznej (zespół ciałek zmysłowych (neuromastów) wrażliwych na ruchy wody, pełni niektóre funkcje narządu słuchu i dotyku). Informacje o stanie wewnętrznym organizmu i ze zmysłów stanowią większość sygnału wejściowego do tego jądra. Włókna wychodzące z MHb biegną drogą uzdeczkowo-międzykonarową, ewolucyjnie konserwatywnym szlakiem prowadzącym do jądra międzykonarowego (śródmózgowie). MHb wysyła również projekcje do sąsiedniego LHb, jednak wydaje się, że nie jest to połączenie obustronne (Boulos i in. 2017).

W przeciwieństwie do MHb, LHb nie jest aż tak wysoce konserwatywną strukturą zarówno pod względem typów wejść, które otrzymuje, jak i odśrodkowych struktur docelowych. Analiza morfologiczna i immunohistochemiczna wykazała, że ogólna organizacja wewnątrz-jądrowa MHb u ludzi jest podobna do tej obserwowanej u gryzoni, podczas gdy kształt, względna wielkość i organizacja wewnątrz-jądrowa LHb wykazują znaczną różnicę międzygatunkową (Diaz i in. 2011).

3. Przegląd literatury

Podstawowe badania na zwierzętach laboratoryjnych dowiodły, że Hb stanowi centrum integracji, które wpływa na wiele aspektów zachowania. Jednym z aktualnych celów badań nad gryzoniami jest zastosowanie inżynierii genetycznej do zbadania roli poszczególnych populacji neuronów Hb w mechanizmach leżących u podstawy wielu zachowań kontrolowanych przez to jądro. Ostatnie badania pokazują implikacje jąder Hb w aspekty emocjonalne i poznawcze behawioru. Przykładowo, optogenetyczna aktywacja neuronów LHb biegnących do części ogonowej brzuszego pola nakrywki śródmózgowia - *rostromedial tegmental nucleus* (RMTg) indukuje wzmożony behawior unikania w warunkach stresu spowodowanego lękiem (Stamatakis i Stuber, 2012). Okazało się, że stymulacja LHb hamuje wyładowania neuronów DA i 5-HT w śródmózgowiu. Kontrola inhibicji neuronów DA odbywa się właśnie za pośrednictwem RMTg. LHb wysyła pobudzające projekcje glutaminergiczne do GABA-ergicznych neuronów budujących RMTg, których hamujące projekcje docierają do VTA i istoty czarnej śródmózgowia (*substantia nigra*, SN). Zakłada się, że aktywacja LHb wiąże się z błędnym oszacowaniem oczekiwanej wartości nagrody (*reward prediction errors*). Zjawisko „*reward prediction errors*” zostało wykazane przez Shultz i in. (1997), okazało się, że jeżeli ludzie lub zwierzęta doświadczają nagród lub wydarzeń gorszych niż te przez nich oczekiwane, następuje przerwa w wyładowaniach neuronów śródmózgowia, czas przerwy jest skorelowany ze stopniem, w jakim zdarzenie jest gorsze od tego oczekiwanego. W przeciwieństwie do neuronów dopaminergicznym śródmózgowia, neurony LHb wyładowują się w odpowiedzi na nieprzyjemne zdarzenia, takie jak pominięcie nagrody czy bodźce awersyjne. Tak więc, obwód neuronalny LHb – RMTg – VTA wydaje się być kluczowy dla zjawiska „*reward prediction errors*” (Brown i in. 2017). Aktywacja LHb prowadzi do spadku nastroju i zahamowania psychoruchowego co wskazuje na zaangażowanie tej struktury w procesy patologiczne prowadzące do depresji. Natomiast fazowe zmiany aktywności neuronalnej LHb towarzyszą uczeniu się i powstawaniu długoterminowej pamięci unikania powtarzających się bodźców awersyjnych (Brown i in. 2018).

Nadaktywność LHb może wiązać się z rozwojem anhedonii w depresji. Anhedonia definiowana jako brak lub utrata zdolności odczuwania przyjemności, może być wynikiem zakłóconej transmisji dopaminergicznej w układzie meзокortykolimbicznym. Pod koniec lat 80-tych po raz pierwszy wykazano podwyższony metabolizm deoksyglukozy (analog glukozy) w LHb w trzech behawioralnych modelach depresji u szczura. Uszkodzenie LHb prowadzi do zmniejszenia zachowań depresyjnych i zwiększenia się poziomu dopaminy i serotoniny w śródmózgowiu szczurów poddawanych przewlekłemu stresowi. Podobne konsekwencje uszkodzenia LHb odnotowano u szczurów hemiparkinsonoidalnych w szczurzym modelu jednostronnej choroby Parkinsona (uzyskanych przy użyciu neurotoksyny 6-hydroksydopaminy (6-OHDA)). Przeciwny efekt dała

aktywacja LHb przy użyciu agonisty receptora serotonergicznego 5-HT_{2C} – obniżyła poziom monoamin oraz nasiliła zachowania depresyjne u szczurów hemiparkinsonoidalnych (Han i in. 2015). LHb, które wykazują obfitą ekspresję receptorów serotonergicznym otrzymują aferenty z DRN, jednak rola projekcji DRN-LHb nadal nie jest zbadana. Wiadomo, że zakłócenia w neurotransmisji serotonergicznym z DRN do LHb mogą przyczyniać się do powstania behawioru depresyjnego w modelach zwierzęcych. Farmakologiczna inhibicja LHb przez agonistę receptorów GABA-ergicznym – muscimolu – wykazała działanie przeciwdepresyjne w szczurzym modelu genetycznej bezradności wrodzonej (modyfikacja genetyczna prowadząca do zaburzenia metabolizmu w korze w wyniku czego u szczura występują objawy depresji) (Winter i in. 2011). Głęboka stymulacja mózgu (*deep brain stimulation*, DBS) w okolicy LHb u szczurów z wyuczoną bezradnością blokuje projekcje biegnące do VTA i nasila reakcje ucieczki w zadaniu aktywnego unikania. Hb DBS, podobnie jak uszkodzenie tego jądra zmniejsza zachowania depresyjne i zwiększa poziom dopaminy i serotoniny w śródmózgowiu szczurów poddawanych przewlekłemu łagodnemu stresowi. Szczury wykazywały również obniżony poziom lęku i zwiększoną motywację do jedzenia. Wykazano, że LHb DBS w szczurzym modelu depresji zmienia szlaki sygnałowe obejmujące kinazy zależne od kompleksu wapń-kalmodulina, kinazy syntazy glikogenu-3 (GSK3) i kinazy białkowe aktywowane monofosforanem adenozyliny (AMPK). Stan fosforylacji tych cząsteczek jest związany z działaniem przeciwdepresyjnym DBS (Kim i in. 2016).

U ludzi natomiast na skutek głębokiej stymulacji mózgu (*deep brain stimulation*, DBS) w okolicy LHb obserwowano remisję dużej depresji, podczas gdy zaprzestanie DBS wiązało się z nawrotem choroby. Związek między funkcjonowaniem LHb a objawami depresji u ludzi pozostaje w dużej mierze niejasny. Jednak uzyskane do tej pory wyniki stanowią podstawę dla pracy nad nowymi strategiami terapeutycznymi (Boulos i in. 2017).

Zasadnicze znaczenie dla zachowań adaptacyjnych w reakcji na złożone sytuacje środowiskowe mają interakcje pomiędzy przyśrodkową częścią kory przedczołowej (*medial prefrontal cortex*, mPFC), hipokampem i LHb. Zauważono, że podczas podejmowania decyzji zachodzi synchronizacja hipokapalnego rytmu theta z korą mPFC i LHb. Nie stwierdzono połączeń neuronalnych między obszarami LHb a hipokampem. Co ciekawe inaktywacja LHb zakłóca pamięć przestrzenną. Być może LHb podlega kontroli hipokapalnego rytmu theta, co wskazuje na pośrednie powiązania między tymi dwoma strukturami (Mizumori i Baker 2017).

Znacznie mniej jest doniesień na temat MHb. Ablacja projekcji neuronalnych z przegrody do MHb przyczyniała się do zmniejszenia zachowań związanych z lękiem, podobnie, ablacja aferentów ze spoidła przedniego zmniejszała lęk i uczenie się warunkowania strachu (Yamaguchi i in. 2013). Ponadto specyficzna delecja genu CB1 w neuronach MHb zmniejszyła odpowiedzi awersyjne, takie jak zamrożenie w eksperymentach warunkujących strach. Przeciwnie, optogenetyczna aktywacja glutaminergicznym neuronów LHb biegnących do bocznej nakrywki indukowała reakcje lękowe (Yang i in. 2016). Badania funkcji wykonawczych w warunkach ablacji neuronów MHb wykazały zwiększoną impulsywność i osłabienie odpowiedzi zależnej od funkcji poznawczych, w tym niechęć do wysiłku, deficyty pamięci długotrwałej i zmniejszoną elastyczność zachowania (Kobayashi i in. 2013).

4. Podsumowanie i wnioski

Badania nad Hb u ludzi, choć rozwijają się w szybkim tempie, wciąż są w powijakach. To badania na zwierzętach ujawniły szerokie spektrum funkcji jąder Hb w emocjonalnych i poznawczych procesach mózgu, otwierając drogę do wielu możliwości w zakresie potencjalnych implikacji w klinice. Pierwsza znacząca praca o aktywacji obszaru Hb, w oczekiwaniu na zdarzenia awersyjne lub na brak oczekiwanej nagrody, dała podwaliny pod główny nurt badań, który przypisuje wyjątkową rolę integracyjną w przetwarzaniu nagród i awersji tej niepozornej strukturze. Przyszłe badania dadzą odpowiedź na pytanie, czy strategię ukierunkowane na Hb i jej jądra rzeczywiście okażą się skuteczne w leczeniu chociażby depresji – plagi współczesnego świata. Być może będzie można wykorzystać je do szerszych zastosowań w obszarze zaburzeń psychicznym.

Projekt, którego niniejsza publikacja stanowi wsparcie merytoryczne, został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-

2013/09/D/NZ4/02499 i DEC-2013/09/N/NZ4/02195 oraz z dotacji Katedry Fizjologii Zwierząt i Człowieka Uniwersytetu Gdańskiego DS – UPB 2018.

5. Literatura

- Bernard R, Veh RW (2012) Individual neurons in the rat lateral habenular complex project mostly to the dopaminergic ventral tegmental area or to the serotonergic raphe nuclei. *J Comp Neurol.* 520: 2545–2558.
- Boulos LJ, Darq E, Kieffer BL (2017) Translating the Habenula-From Rodents to Humans. *Biol Psychiatry.* 81(4): 296–305.
- Brown PL, Palacorolla H, Brady D et al. (2017) Habenula-Induced Inhibition of Midbrain Dopamine Neurons Is Diminished by Lesions of the Rostromedial Tegmental Nucleus. *J Neurosci.* 37(1): 217–225.
- Browne CA, Hammack R, Lucki I (2018) Dysregulation of the Lateral Habenula in Major Depressive Disorder. *Front Synaptic Neurosci.* 10: 46.
- Diaz E, Bravo D, Rojas X et al. (2011) Morphologic and immunohistochemical organization of the human habenular complex. *J Comp Neurol.* 519: 3727–3747.
- Han LN, Zhang L, Li LB et al. (2015) Activation of serotonin(2C) receptors in the lateral habenular nucleus increases the expression of depression-related behaviors in the hemiparkinsonian rat. *Neuropharmacology* 93: 68–79.
- Hikosaka O, Sesack SR, Lecourtier L et al. (2008) Habenula: Crossroad between the basal ganglia and the limbic system. *J Neurosci.* 28: 11825–11829.
- Kim Y, Morath B, Hu C et al. (2016) Antidepressant actions of lateral habenula deep brain stimulation differentially correlate with CaMKII/GSK3/AMPK signaling locally and in the infralimbic cortex. *Behav. Brain Res.* 306: 170–177.
- Kobayashi Y, Sano Y, Vannoni E et al. (2013) Genetic dissection of medial habenula-interpeduncular nucleus pathway function in mice. *Front Behav Neurosci.* 7: 17.
- Matsumoto M, Hikosaka O (2007) Lateral habenula as a source of negative reward signals in dopamine neurons. *Nature* 447: 1111–1115.
- Mizumori SJY, Baker PM (2017) The Lateral Habenula and Adaptive Behaviors. *Trends Neurosci.* 40(8): 481–493.
- Namboodiri VM, Rodriguez-Romaguera J, Stuber GD (2016) The habenula. *Curr Biol.* 26(19): R873–R877.
- Schultz W, Dayan P, Montague PR. (1997) A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275: 1593–1599.
- Stamatakis AM, Stuber GD (2012) Activation of lateral habenula inputs to the ventral midbrain promotes behavioral avoidance. *Nat Neurosci.* 15: 1105–1107.
- Winter C, Vollmayr B, Djodari-Irani A et al. (2011) Pharmacological inhibition of the lateral habenula improves depressive-like behavior in an animal model of treatment resistant depression. *Behav. Brain Res.* 216: 463–465.
- Yamaguchi T, Danjo T, Pastan I et al. (2013) Distinct roles of segregated transmission of the septo-habenular pathway in anxiety and fear. *Neuron* 78: 537–544.
- Yang H, Yang J, Xi W et al. (2016) Laterodorsal tegmentum interneuron subtypes oppositely regulate olfactory cue-induced innate fear. *Nat Neurosci.* 19: 283–289.

19. Nowotworowe komórki macierzyste

Cancer stem cells

Aleksandra Nurzyńska, Marta Murawska, Kamila Talarek

Studenckie Koło Naukowe „Mikron”, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Opiekun naukowy: Małgorzata Marczak

Nurzyńska Aleksandra: aleksandranurzynska@gmail.com

Słowa kluczowe: onkologia, metastaza, terapia

Streszczenie

Wyniki licznych badań *in vitro* i *in vivo* pozwoliły sformułować nowe teorie dotyczące genezy chorób nowotworowych. Biorąc pod uwagę złożoność całego procesu kancerogenezy oraz heterogenność w obrębie różnych nowotworów zaproponowano istnienie nowotworowych komórek macierzystych. To właśnie populacja samoodnawiających się, niezróżnicowanych komórek w guzach nowotworowych prawdopodobnie odpowiedzialna jest za metastazę i odtwarzanie choroby po terapii. Są to komórki o typowych cechach prawidłowych komórek macierzystych i podobnie jak one funkcjonują w otoczeniu innych komórek, w specyficznej niszy, skąd czerpią sygnały do proliferacji oraz różnicowania. Trwające badania właściwości nowotworowych komórek macierzystych pozwalają zrozumieć, dlaczego powszechnie stosowane metody leczenia chorób nowotworowych w tak wielu przypadkach bywają nieskuteczne. Przypuszcza się, że podobnie jak prawidłowe komórki macierzyste, mogą one przez dłuższy czas przebywać w fazie G₀, czyli w tzw. stanie „uśpionym”. To czyni je niewrażliwymi na leczenie działające jedynie na komórki będące w fazie podziałów. Z tego powodu, głównym celem w terapii onkologicznej powinny być nowotworowe komórki macierzyste, które po zakończonej radio- czy chemioterapii mogą inicjować nawrót choroby.

1. Wstęp

Komórki macierzyste (SC, ang. *stem cells*) cechuje unikalna zdolność do samoodnowy oraz różnicowania w wiele odmiennych typów komórek (Szablowska-Gadomska i in. 2017). Dzięki tym cechom odgrywają one fundamentalną rolę w rozwoju organizmu, a także w utrzymaniu homeostazy. Komórki macierzyste w warunkach prawidłowych dzielą się rzadko. Zaledwie 10% SC w szpiku kostnym znajduje się jednocześnie w fazach S/G₂/M. Pomimo nieograniczonego potencjału proliferacyjnego rzadko ulegają podziałom. Prawdopodobnie jest to mechanizm zabezpieczający komórki przed mutacjami, które pojawiają się podczas replikacji. Komórki macierzyste są przedmiotem licznych badań, a ich właściwości skłaniają badaczy do podejmowania prób ich zastosowania między innymi w leczeniu nowotworów (Szaryńska i Kmiec 2011).

2. Opis zagadnienia i przegląd literatury

Ze względu na potencjał różnicowania wyróżnia się kilka typów komórek macierzystych. W wyniku pierwszych podziałów zygoty powstają blastomery, będące komórkami totipotencjalnymi. Komórki o takim potencjale mogą dać początek wyspecjalizowanym komórkom całego organizmu. Wraz z kolejnymi podziałami blastuli, komórki tracą zdolności totipotencjalne. Sprawia to, że w dalszych etapach ontogenezy uczestniczą komórki macierzyste o zmniejszonym potencjale różnicowania. Komórki pluripotencjalne mają zdolność różnicowania się do wielu, jednakże nie do wszystkich typów komórek organizmu, powstających ze wszystkich trzech listków zarodkowych. Taki potencjał przypisuje się komórkom węzła zarodkowego, czyli komórkom macierzystym embrionalnym. Komórki multipotencjalne mają zdolność różnicowania się w linie komórek specyficznych dla danej niszy, czyli środowiska narządowego lub tkankowego. Multipotencjalność jest cechą komórek macierzystych, które zasiedlają większość tkanek oraz narządów w organizmie.

Przykładem mogą być nerwowe komórki macierzyste, które mają zdolność do różnicowania się w neurony, astrocyty oraz oligodendrocyty. Najmniejszym potencjałem różnicowania charakteryzują się komórki unipotencjalne. Komórki macierzyste występujące w większości tkanek ciała człowieka to tak zwane somatyczne komórki macierzyste. Stanowią one zaledwie 1-2% wszystkich komórek, lecz są niezbędne w czasie całego życia pozapłodowego. Komórki macierzyste osób dorosłych (ang. *adult stem cells*), poprzez asymetryczne podziały tworzą odpowiednią ilość zróżnicowanych komórek i uzupełniają pulę komórek wyspecjalizowanych. Druga z komórek potomnych powstających w skutek podziału asymetrycznego pozostaje niezróżnicowaną komórką macierzystą o właściwościach identycznych jak ta, z której powstała. Asymetryczny podział komórek macierzystych służy zatem zarówno do odnowienia ich puli, jak również do zapoczątkowania drogi różnicowania. (Szaryńska i Kmieć 2011).

Komórki macierzyste dzięki zdolnościom do samopowieliania i różnicowania zapewniają utrzymanie homeostazy tkankowej. Mogą być wykorzystywane do regeneracji uszkodzeń powstałych w wyniku urazu lub choroby. W prawidłowych warunkach fizjologicznych w przypadku bardzo rozległych uszkodzeń, ilość komórek macierzystych obecnych w tkankach jest niewystarczająca, aby zagwarantować całkowitą regenerację. W związku z tym opracowywanie skutecznych, efektywnych a przede wszystkim bezpiecznych metod pozyskiwania oraz terapeutycznego zastosowania komórek macierzystych rodzi nadzieje na poprawę leczenia pacjentów.

Podobieństwo pewnych typów komórek nowotworowych do komórek macierzystych sugerowano już w XIX wieku. Zaobserwowano, że nie wszystkie wyizolowane z guzów litych komórki posiadały zdolność do proliferacji. Jedynie 1 na 1000 komórek zdolna była do tworzenia kolonii. W przypadku wielu typów nowotworów wykazano, że rozwijają się one z komórek przypominających prawidłowe komórki macierzyste. W literaturze komórki takie określa się mianem nowotworowych komórek macierzystych (CSC, ang. *cancer stem cells*) (Tab. 1) (Pergoł i in. 2013).

Tab. 1. Wspólne oraz różnicujące cechy prawidłowych i nowotworowych komórek macierzystych.

Wspólne cechy prawidłowych i nowotworowych komórek macierzystych	Różnicujące cechy prawidłowych i nowotworowych komórek macierzystych
Zdolność do samoodnowy	Odporność na sygnały indukujące apoptozę
Obecność swoistych markerów na powierzchni	Brak kontroli układu odpornościowego
Długa żywotność	Zdolność do przerzutowania
Zdolność do migracji	Zdolność do nieograniczonej proliferacji mimo braku sygnału pobudzającego

Nowotworowe komórki macierzyste charakteryzują się dużą heterogennością pod względem morfologii, fenotypu, a także zdolności proliferacyjnych oraz potencjału różnicowania. Mogą mieć różny fenotyp w zależności od podtypu nowotworu lub zmieniać się z czasem w obrębie tego samego nowotworu (Visvader i Lindeman 2008). Za populację nowotworowych komórek macierzystych uznaje się nieliczne w obrębie nowotworu i niezróżnicowane komórki, wykazujące zwiększoną zdolność do onkogenezy. Macierzysta komórka nowotworowa z mutacjami onkogennymi zyskuje zdolność zasiedlania nowego środowiska. Prowadzi to do naciekania sąsiednich tkanek i przerzutowania. Badania potwierdzają ich kluczową rolę w procesie kancerogenezy, a także w radio- i chemiooporności nowotworów, przez co obecnie stosowane terapie przeciwnowotworowe nie zawsze przynoszą oczekiwany efekt. W konsekwencji, może nastąpić nawrót choroby, a pozostałe komórki nowotworowe wykazują zwiększoną inwazyjność (Pergoł i in. 2013).

Na powierzchni macierzystych komórek nowotworowych zidentyfikowano szereg białek markerowych, jednak żaden z nich nie okazał się uniwersalnym dla wszystkich CSC (Tab. 2).

Większość markerów ulega ekspresji na komórkach określonego nowotworu, więc definiowanie CSC jedynie na podstawie obecności markerów jest niewystarczające. Pośród wszystkich, najpowszechniej występującymi są CD44, CD133 i ALDH. Najbardziej przydatna do identyfikacji macierzystych komórek nowotworowych okazała się glikoproteina CD133, scharakteryzowana jako marker glejaka, raka prostaty, raka piersi oraz raka żołądka. Występuje również na powierzchni komórek będących progenitorami prawidłowych neuronów, gruczołu mlekowego i ślinianek. Nie wyklucza się, że CD133 odpowiada także za zwiększenie oporności

nowotworów na chemioterapię, natomiast komórki o fenotypie CD133+ mogą inicjować powstanie guza (Singh i in. 2003). CD44 to glikoproteina uczestnicząca w podziałach komórkowych, angiogenezie, a także prezentacji czynników wzrostu. Czyni ją to ważnym uczestnikiem kluczowych procesów komórkowych. CD44 zidentyfikowano na powierzchni CSC w raku piersi, pęcherza moczowego, trzustki i prostaty. Glikoproteina CD105, znana jako endogлина, jest składnikiem receptora TGF- β i obecna jest na komórkach śródbłonna naczyniowego. Wykazano, że spełnia kluczową rolę w stadium embrionalnym u myszy, a jej brak powodował śmierć zarodka. CD105 zidentyfikowano na powierzchni CSC w raku nerki. Antygen CD24, znany jako specyficzny antygen nabłonkowy lub HSA, ulega ekspresji na limfocytach T i B, a także na neuroblastach, keratynocytach oraz włóknach mięśniowych. Ulega ekspresji na powierzchni CSC raka trzustki, raka piersi, przełyku i wątroby (Duff i in. 2003).

Powstawanie macierzystych komórek nowotworowych nie jest procesem jednoetapowym. Związane jest z nagromadzeniem takiej ilości mutacji, która umożliwia komórce uwolnienie się spod mechanizmów kontroli i niekontrolowaną proliferację. Nie ma jednak jednoznacznej odpowiedzi, jakie komórki mogą być prekursorami CSC. Przypuszcza się, że źródłem mogą być komórki progenitorowe, czyli komórki w fazie pośredniej między komórkami macierzystymi, a komórkami zróżnicowanymi. Badania wskazują też na istnienie małych komórek macierzystych pochodzenia embrionalnego (VSEL, ang. *very small embryonic-like stem cells*), które również rozpatrywane są jako prekursorzy macierzystych komórek nowotworowych (Pergol i in. 2013). W doświadczeniach na modelu raka skóry wykazano, że nowotworowe komórki macierzyste pochodziły od tkankowych komórek macierzystych (ang. *adult stem cells*), natomiast badając nowotwór żołądka u myszy zauważono, że macierzyste komórki nowotworowe miały źródło w komórkach progenitorowych szpiku kostnego, a więc w odległym miejscu. Zaproponowano również, że komórki zaangażowane w odpowiedź odpornościową podczas infekcji *Helicobacter pylori* mogą przechodzić transformację i inicjują powstanie nowotworu (Szaryńska i Kmieć 2011). Najbardziej obecnie akceptowanym modelem jest jednak pochodzenie CSC od komórek zróżnicowanych w wyniku odróżnicowania (Steinbichler i in. 2018).

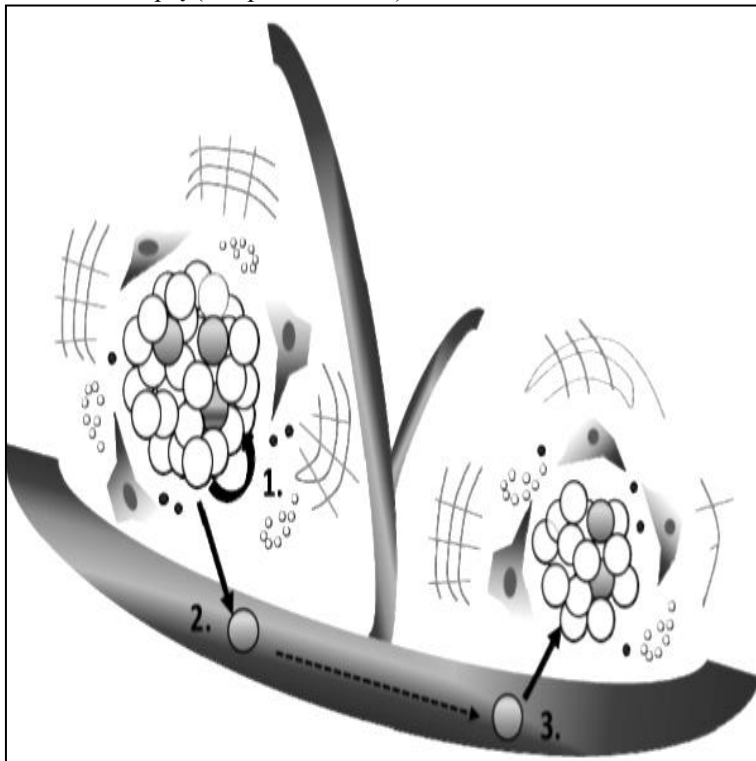
Tab. 2. Występowanie najważniejszych markerów na powierzchni CSC w zależności od lokalizacji narządowej nowotworu.

Marker	Lokalizacja nowotworu				
	Gruczoł piersiowy	Płuca	Trzustka	Prostata	Pęcherz moczowy
CD133	+			+	
CD44	+		+	+	+
CD24	+		+		
ALDH1	+	+	+	+	+
ABCG2	+	+		+	
Bmi-1	+			+	
Sca-1	+			+	

Macierzyste komórki nowotworowe są w wysokim stopniu metabolicznie przystosowane do trudnych warunków wewnątrz guza, a zwiększone pobieranie składników odżywczych wspomaga ich proliferację i migrację (Prager i in. 2019). Uznaje się, że komórki macierzyste rezydują w specyficznych niszach o określonych cechach funkcjonalnych i anatomicznych, które sprzyjają utrzymaniu stanu nie zróżnicowania oraz ich samoodnowie, proliferacji oraz przerzutowaniu (Rys. 1) (Shan-Yong i in. 2013). Niszę dla nowotworowych komórek macierzystych tworzy sieć unaczynienia,

komórki mezenchymalne, komórki stromy, macierz zewnątrzkomórkowa oraz komórki układu odpornościowego (Zaleska i Bajon 2013). Wykazano, że nowotworowe komórki macierzyste umiejscowione są blisko naczyń krwionośnych, a ich potencjał do regeneracji jest zależny od komórek endotelialnych, które tworzą niszę unaczynienia. Komórki endotelialne odpowiedzialne są za dostarczanie tlenu i substancji odżywczych oraz uwalniają czynniki wzrostu i przyczyniają się do radiooporności nowotworu (Calabrese i in. 2007). Zauważono związek między ilością komórek macierzystych, a procesem angiogenezy. Im wyższa populacja CSC, tym wyższy poziom angiogenezy. Badania nad mechanizmami unaczynienia i rolą nowotworowych komórek macierzystych w tym procesie trwają (Nassar i Blaupan 2016).

Złożoność procesu nowotworzenia jest oczywista, ale do niedawna uważano, że jest to proces uwarunkowany jedynie mutacjami i zaburzeniami mechanizmów epigenetycznych. Obecnie uważa się, że jest on w dużej mierze zależny od mikrośrodowiska nowotworu, zatem rozpoznanie warunków w specyficznych niszach CSC mogłoby być kluczowe dla opracowania nowych terapii przeciwnowotworowych. Tym bardziej, że zależność między CSC a niszą jest dwukierunkowa: nisza wpływa na komórki CSC poprzez sygnalowanie autokrynne i stymulację ze strony fibroblastów stromy, komórki immunologiczne i macierz zewnątrzkomórkową oraz czynniki fizykochemiczne, tj. dostępność tlenu, składników odżywczych oraz pH, ale i one same mogą modyfikować niszę w odpowiedzi na chemioterapię (Roopali i in. 2009).



Rys. 1. Nowotworowe komórki macierzyste funkcjonują w specyficznych mikrośrodowiskach. Wykazano, że pewne cechy tej niszy mają duże znaczenie w przetrzywaniu. 1 – komórki nowotworowe o charakterze macierzystym, 2 – przemiana komórek mezenchymalnych w komórki o charakterze nabłonkowym, 3 – przemiana komórek nabłonka w mezenchymalne (Wieczorek i Niewiarowska 2012).

Głównym problemem w walce z macierzystymi komórkami nowotworowymi jest ich podobieństwo do prawidłowych komórek macierzystych i zdolność do przetrwania konwencjonalnych terapii przeciwnowotworowych. Ze względu na to, że komórki macierzyste umożliwiają utrzymywanie odpowiedniej puli komórek, są one chronione w organizmie przed

apoptozą i starzeniem na wiele sposobów, które wykorzystują również nowotworowe komórki macierzyste. Oprócz tego czynnikiem ochronnym jest przechodzenie w fazę uśpienia, co pozwala uniknąć działania leku. CSC mogą przetrwać terapię i dzięki swoim właściwościom powodować wznowę i przerzutowanie (Ayob i Ramasamy 2018).

Jednym z kluczowych mechanizmów ochronnych okazało się tzw. przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT, ang. *epithelial-to-mesenchymal transition*) (Rys. 1), dzięki czemu komórki o charakterze nabłonkowym zmieniają swój fenotyp na mezenchymalny. Jest to proces, który normalnie odpowiada za zdarzenia morfogenetyczne w rozwoju embrionalnym. W przypadku nowotworu indukcja EMT będzie skutkować migracją nieprawidłowych komórek i zainicjowaniem kaskady zdarzeń prowadzącej do przerzutowania (Nieto 2013). Potwierdzeniem tego jest odwrotny mechanizm, tj. przejście mezenchymalno-epitelialne (MET, ang. *mesenchymal-to-epithelial transition*), które umożliwia kolonizację nowych miejsc i tworzenie odległych ognisk przerzutowych (Morel i in. 2008).

Niektóre leki z sukcesem przedostają się do komórek nowotworowych i są potencjalnie w stanie uszkodzić ich DNA. Jednakże, badania wskazują, że CSC charakteryzuje mobilizacja systemów naprawy DNA po zadziałaniu lekiem. Wśród aktywowanych systemów naprawy są: naprawa dwuniciowych złamań (DSB), naprawa przed wycinanie zasad (BER), naprawa przez wycinanie nukleotydów powiązana z transkrypcją (NER) oraz usuwanie niesparowanych nukleotydów (MMR) (Skvortsov i in. 2015).

Innym istotnym mechanizmem oporności na chemioterapię jest nadekspresja genów kodujących ABC-transportery (ang. *ATP-binding cassette*). Te błonowe białka zaangażowane są w transport małych związków z cytoplazmy do przestrzeni zewnątrzkomórkowej dzięki hydrolizie ATP. I tak na przykład białko ABCB1 jest zaangażowane w transport takich związków jak: irynotekan, topotekan i doksorubicyna. Nadekspresja białek pewnych ABC-transporterów w komórkach CSC może być użyteczna w ich identyfikacji jako specyficzne markery.

Kluczowym czynnikiem w oporności na terapię jest również dostępność tlenu. Nowotworowe komórki macierzyste zlokalizowane są głównie wewnątrz guzów, w strefach niedotlenionych. Może to indukować przechodzenie komórek przez EMT co powoduje zwiększenie oporności oraz zmniejszać wytwarzanie ROS (reaktywnych form tlenu) co powoduje zwiększenie oporności na radioterapię. Niekorzystnym skutkiem niedotlenienia jest też aktywacja szlaku sygnałowania, który sprzyja powstawaniu przerzutów dzięki zwiększonej migracji komórek (Prieto-Vila i in. 2017).

3. Podsumowanie

Powszechnie stosowane terapie przeciwnowotworowe nie zawsze przynoszą zamierzony skutek. Głównym powodem jest ich mechanizm działania, który opiera się na eliminacji komórek szybko dzielących się. Zmniejsza to objętość guza, natomiast nie powoduje całkowitego usunięcia ogniska nowotworowego. Nowotworowe komórki macierzyste, podobnie jak prawidłowe dzielą się rzadko. Poprzez przebywanie w fazie G0 stają się niewrażliwe na stosowane leczenie. Nadzieją na skuteczną terapię przeciwnowotworową w niektórych przypadkach może być zatem indukowanie powrotu CSC do cyklu komórkowego lub stosowanie czynników promujących ich różnicowanie. Nowotworowe komórki macierzyste wykazują jednak ogromną plastyczność, która objawia się przechodzeniem od fenotypu komórki macierzystej do fenotypu pozbawionego tych cech i na odwrót. Oznacza to, że nawet skuteczne usunięcie populacji nowotworowych komórek macierzystych nie gwarantuje, że nie ulegnie ona odtworzeniu z puli komórek nie wykazujących cech komórek macierzystych. Z tego powodu największe nadzieje wiąże się obecnie w terapii łączonej, która jednocześnie ma na celu usunąć komórki macierzyste nowotworu, jak również wyeliminować te czynniki w specyficznej niszy CSC, które promują ich niepożądaną plastyczność.

4. Literatura

Ayob AZ, Ramasamy TS (2018) Cancer stem cells as key drivers of tumor progression, J Biomed Sci 25: 20.

- Battle E, Clevers H (2017) Cancer stem cells revisited. *Nature Medicine* 23: 1124-1134.
- Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, Oh EY, Gaber MW, Finklestein D, Allen M,
- Frank A, Bayazitov IT, Zakharenko SS, Gajjar A, Davidoff A, Gilbertson RJ (2007) A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell* 11: 69–82.
- Duff SE., Li C., Garlnad JM., Kumar S (2003) CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. *FASEB Journal* 17: 984-992
- Folkins C, Shaked Y, Man S, Tang T, Lee CR, Zhu Z, Hoffman RM, Kerbel RS (2009) Glioma tumor stem-like cells promote tumor angiogenesis and vasculogenesis via vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor 1. *Cancer Research* 69: 7243–7251.
- Morel AP, Lievre M, Thomas C, Hinkal G, Ansieau S, Puisieux A (2008) Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One*, 3:e2888.
- Nassar D, Blanpain C (2016) Cancer stem cells: basic concepts and therapeutic implications. *The Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 11: 47-76.
- Nieto MA (2013) Epithelial plasticity: a common theme in embryonic and cancer cells. *Science*, 342: 1234850.
- Pergoł P, Nowak-Stepniowska A, Drela K, Padzik-Graczyk A (2013) Znaczenie komórek macierzystych w inicjacji i rozwoju nowotworów. *Postępy Biochemii* 59: 45-52.
- Prager BC, Xie Q, Bao S, Rich JN (2019) Cancer Stem Cells: The Architects of the Tumor Ecosystem. *Cell Stem Cell* 24: 41-53.
- Prieto-Vila M, Takahashi R, Usuba W, Kohama I, Ochiy T (2017) Drug Resistance Driven by Cancer Stem Cells and Their Niche. *International Journal of Molecular Sciences*, 18: 2574-2581
- Roopali R, Yang J, Moses MA (2009) Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. *Journal of Clinical Oncology* 27: 5287–5297.
- Shan-Yong Y, Hao YB, Nan KJ, Fan TL (2013) Cancer stem cells niche: A target for novel cancer therapeutics. *Cancer Treatment Reviews* 39: 290–296.
- Singh SK., Clarke LD., Terasaki M., Bonn VE., Hawkins C., Squire J., Dirks PB (2003) Identification of human brain tumour initiating cells. *Cancer Research*, 63: 5821-5828.
- Skvortsov S, Debbage P, Lukas P, Skvortsova I (2015) Crosstalk between DNA repair and cancer stem cel (CSC) associated intracellular pathways. *Seminars in Cancer Biology*, 31: 36-42.
- Steinbichler T, Dudas J, Skvortsov S, Ganswindt U, Riechelmann H, Skvortsova I, Therapy resistance mediated by cancer stem cells, 2018, 53, 156-167
- Szablowska-Gadomska I, Bużańska L, Malecki M, Właściwości komórek macierzystych, regulacje prawne oraz zastosowanie w medycynie, *Postępy Hig Med Dosw*, 2017, 71, 1216-1230
- Szaryńska M, Kmieć Z (2011) Rola nowotworowych komórek macierzystych w patogenezie i terapii chorób nowotworowych, *Forum Medycyny Rodzinnej* 5: 47-56.
- Visvader JE, Lindeman GJ (2008) Cancer stem cells in solid tumors: accumulating evidence and unresolved questiones, *Nature Rev Cancer* 8: 755-768.
- Wieczorek K, Niewiarowska J (2012) Nowotworowe komórki macierzyste. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 66: 629-636.
- Zaleska K, Bajon S (2013) Nowotworowe komórki macierzyste – im więcej wiemy, tym więcej pytań. *Letters in Oncology Science* 10: 93–98.

20. Antyoksydanty – rola w organizmie człowieka

Antioxidants - the role of human organism

Anna Ploch-Jankowska, Danuta Pentak, Lidia Szymczak-Mazur, Anita Karp, Małgorzata Maciążek-Jurczyk

Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

Opiekun naukowy: Danuta Pentak

Anna Ploch-Jankowska: aniaploch@op.pl

Słowa Kluczowe: przeciwutleniacze, wolne rodniki, stres oksydacyjny

Streszczenie

Przewlekły stres oksydacyjny, będący wynikiem przewagi wolnych rodników nad zdolnością antyoksydacyjną organizmu, może być przyczyną wielu chorób, m.in. cukrzycy, chorób nowotworowych, chorób neurodegeneracyjnych oraz zaburzeń układu sercowo-naczyniowego. Z tego powodu istotne jest utrzymanie równowagi pomiędzy substancjami utleniającymi i przeciwutleniaczami. Do najważniejszych antyoksydantów w organizmie człowieka zalicza się enzymy (katalazę, dysmutazę ponadtlenkową, peroksydazę glutationową), witaminę E, kwas askorbinowy, karotenoidy oraz polifenole. Chronią one komórki przed negatywnym wpływem wolnych rodników. Stanowią więc ważny element profilaktyki wielu chorób cywilizacyjnych.

1. Wstęp

Współcześnie wraz ze wzrostem świadomości społeczeństwa w zakresie prewencji chorób, popularnością zaczął się cieszyć temat antyoksydantów i ich korzystnego wpływu na zdrowie człowieka. Do najczęstszych przyczyn wystąpienia wielu chorób cywilizacyjnych zaliczamy m.in. zanieczyszczenie środowiska, zwiększony poziom promieniowania jonizującego, nieprawidłowy sposób odżywiania, spożywanie żywności wysoce przetworzonej, a także stres związany z szybkim tempem życia społeczeństwa. Wymienione czynniki prowadzą do zwiększenia poziomu wytwarzania wolnych rodników, czyli związków bardzo reaktywnych powodujących uszkodzenia komórek żywego organizmu. Badania przeprowadzone przez różne ośrodki naukowe pokazują, iż spożywanie dużych ilości owoców i warzyw, które obfitują w antyoksydanty, czyli związki neutralizujące wolne rodniki, zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób związanych z reaktywnymi formami tlenu (Brieger et al. 2012).

2. Wolne rodniki a stres oksydacyjny.

Wolne rodniki są wysoce reaktywnymi cząsteczkami posiadającymi niesparowany elektron na powłoce walencyjnej. Do najbardziej szkodliwych rodników zalicza się reaktywne formy tlenu (RFT) oraz reaktywne formy azotu (RFA). Przykładami reaktywnych form tlenu i azotu są: rodnik hydroksylowy ($\cdot\text{OH}$), anionrodnik ponadtlenkowy, ($\text{O}_2\cdot^-$), tlen singletowy ($^1\text{O}_2$), nadtlenek wodoru (H_2O_2), rodnik peroksydowy ($\text{RO}_2\cdot$), rodnik alkoksylowy ($\text{RO}\cdot$), tlenek azotu ($\text{NO}\cdot$) oraz nadtlenoazotyn ($\text{ONOO}\cdot$) (Aslani et al. 2016).

RFT biorą udział w wielu fizjologicznych procesach w organizmie człowieka. Regulują procesy wzrostu oraz apoptozy komórek. Odgrywają ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej. W wyniku kontaktu z patogenem komórki układu odpornościowego wykazują zdolność do uwalniania dużych ilości RFT. Zjawisko to nosi nazwę „wybuch tlenowy” (Hampton et al. 1998). Jednak tlenek azotu $\text{NO}\cdot$ występujący w stężeniu fizjologicznym w organizmie człowieka jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania naczyń krwionośnych oraz utrzymywania ciśnienia krwi na optymalnym poziomie (Fang et al. 2002).

Nadmiar wolnych rodników w organizmie człowieka przyczynia się do przesunięcia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utlenienia. Jest to stan określany mianem stresu oksydacyjnego (Tangvarasittichai 2015). Zwiększona ilość RFT, która nie ulega neutralizacji przez układ antyoksydacyjny powoduje zaburzenia funkcji komórek. Wolne rodniki bardzo często prowadzą do uszkodzenia białek, lipidów, węglowodanów oraz DNA (Nimse i Pal 2015). Uszkodzenia te mogą stanowić podłoże dla wielu chorób m.in. chorób sercowo-naczyniowe (miażdżyca, nadciśnienie, choroba niedokrwienna serca), chorób neurodegeneracyjne (choroba Parkinsona, schizofrenia, choroba Alzheimera), cukrzyca, reumatoidalnego zapalenia stawów, nowotworów piersi oraz płuc. Według danych literaturowych nasilenie chorób i ich powikłania wzrastają wraz z wiekiem. Można więc przypuszczać, iż stres oksydacyjny uczestniczy w procesie starzenia (Brieger et al. 2012). Do czynników zewnętrznych wywołujących produkcję RFT można zaliczyć m.in. promieniowanie jonizujące, ultradźwięki, palenie papierosów, czy też niektóre ksenobiotyki (Tangvarasittichai 2015). Istotniejsze są jednak wewnątrzkomórkowe źródła syntezy reaktywnych form tlenu. Jednym z najważniejszych źródeł wolnych wodników w organizmie człowieka jest mitochondrialny łańcuch oddechowy. W trakcie transportu elektronów po kompleksach łańcucha, część z nich może go opuścić, co prowadzi do powstania wolnych rodników np. anionorodnika ponadtlenkowego $O_2^{\cdot-}$ (Milenkovic 2017). Może być on również generowany za pomocą oksydazy fosforanu dinukleotydu nikotynaminoadeninowego (oksydaza NADPH) oraz oksydazy ksantynowej. Kolejnym enzymem odpowiedzialnym za produkcję wolnych rodników, a dokładnie rodnika tlenu azotu NO^{\cdot} , jest syntaza tlenu azotu (NOS). Powstający tlenek może reagować z anionorodnikiem ponadtlenkowym dając nadtlenoazotyn ($ONOO^{\cdot}$), który następnie może ulec rozpadowi do bardzo toksycznego rodnika hydroksylowego (Liguori et al. 2018).

3. Antyoksydanty

Antyoksydanty można definiować jako substancje hamujące lub opóźniające utlenianie biologicznie istotnych cząstek (Flora et al. 2015). Aby zapobiec negatywnym skutkom działania wolnych rodników organizm wykazuje zdolność do ich neutralizacji, dzięki czemu stężenia wolnych rodników w normalnych warunkach utrzymują się na niskim poziomie. Można wyróżnić trzy główne mechanizmy działania przeciwutleniaczy. Pierwszy obejmuje bezpośrednie wychwytywanie powstałych już RFT. Drugi zakłada hamowanie syntezy RFT zarówno na etapie inicjacji jak i propagacji łańcucha reakcji. Trzeci mechanizm dotyczy usuwania i naprawy uszkodzeń spowodowanych reaktywnymi formami tlenu (Wolski i in. 2007).

4. Podział antyoksydantów

Antyoksydanty można podzielić na enzymatyczne i nieenzymatyczne. Do pierwszej grupy należą: dysmutaza podtlenkowa, katalaza, peroksydaza glutationowa. Nieenzymatyczne antyoksydanty stanowią większą grupę i obejmują m.in. witaminę C, E oraz A, koenzym Q oraz polifenole roślinne (Kulik-Kupka i in. 2016; Nimse i Pal 2015).

Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) jest enzymem o bardzo dużej aktywności katalizującej rozkład anionorodników ponadtlenkowych do mniej reaktywnego nadtlenu wodoru oraz tlenu. Dysmutaza ponadtlenkowa jest metaloenzymem. W związku z powyższym wymaga ona metalicznego kofaktora, którym może być m.in. cynk, miedź lub mangan (Blanco 2017). Katalaza (CAT) jest enzymem występujący w większości komórek, w szczególności w erytrocytach i wątrobie. Katalizuje on reakcje redukcji nadtlenu wodoru do tlenu oraz wody. Enzym ten do prawidłowego działania potrzebuje kofaktora w postaci żelaza lub manganu (Blanco 2017; Ighodaro 2018). Peroksydaza glutationowa (GPx) jest istotnym enzymem wewnątrzkomórkowym katalizującym redukcję organicznych nadtlenu oraz nadtlenu wodoru do odpowiednich alkoholi i wody. Do redukcji tych związków jako donor wodoru wykorzystywany jest glutation. (Ighodaro 2018). Glutation (GSH) należy do tripeptydów zbudowanych z cysteiny, glicyny i kwasu glutaminowego, który jest uznawany za jeden z najważniejszych antyoksydantów. Współpracuje on z wieloma układami w celu utrzymania homeostazy (Mischley 2017).

Koenzym Q uznawany jest za jeden z ważniejszych antyoksydantów fazy tłuszczowej. W dużych ilościach znajduje się w wewnętrznej błonie mitochondrialnej i jest związany z ochroną fosfolipidów błon komórkowych przed utlenieniem (Wolski 2007). Witamina C (kwas askorbinowy) jest związkiem uznawanym na najważniejszy antyoksydant fazy wodnej. Większość ssaków jest w stanie syntetyzować witaminę C. Wyjątek stanowią świnie morskie oraz ludzie, ponieważ nie posiadają niezbędnego do jej syntezy enzymu: oksydazy L-gulonolaktonowej. Należy zatem suplementować ją z pożywieniem. Kwas askorbinowy można znaleźć w wielu owocach i warzywach, jednak do najważniejszych źródeł należą m.in. owoce dzikiej róży, acerola, aronia, czarna porzeczka, owoce cytrusowe, natka pietruszki oraz czerwona papryka (Czerwiecki 2009). Kwas askorbinowy jest szczególnie skuteczny w neutralizacji rodników hydroksylowych, anionorodników ponadtlenkowych oraz nadtlenu wodoru. Dodatkową funkcją kwasu askorbinowego jest zdolność do regeneracji witaminy E, co dodatkowo zwiększa zdolność antyoksydacyjną organizmu (Wolski 2007). Witamina E obejmuje grupę związków o podobnej budowie, z których najbardziej reprezentatywny oraz aktywny biologicznie jest α - tokoferol. Jest on związkiem rozpuszczalnym w tłuszczach, odpowiedzialnym za obronę błon komórkowych przed szkodliwym działaniem wolnych rodników. Witamina E jest zdolna do wychwytu rodników peroksylowych $RO_2\cdot$ oraz zakończenia łańcuchowych reakcji peroksydacji lipidów (Nimse 2015). Ponadto witamina E wytwarzana jest głównie przez rośliny, zaś największe jej ilości można znaleźć w m.in. w orzechach, nasionach oleistych, kielkach zbóż oraz zielonej sałacie (Czerwiecki 2009). Witamina A występuje w dwóch podstawowych postaciach: retinolu (witamina A1) oraz 3,4 -didehydroretinolu (witamina A2). Właściwości antyoksydacyjne witaminy A wynikają z jej zdolności do przerywania łańcuchowej reakcji peroksydacji przez związanie się z rodnikami peroksyłowymi ($RO_2\cdot$) (Kulik-Kupka i in. 2016). W diecie witamina A jest dostarczana za pośrednictwem karotenoidów obecnych w owocach i warzywach. Do najważniejszych źródeł witaminy A należą m.in. pomidory, marchew, papryka, brokuły, sałata, szpinak oraz morele (Czerwiecki 2009). Spośród karotenoidów, największe znaczenie mają β - karoten, likopen oraz luteina. β - karoten jest prowitaminą witaminy A o bardzo silnych właściwościach przeciwutleniających, które wynikają z obecności wiązań podwójnych w jego strukturze chemicznej. Likopen jest pigmentem nadającym owocom czerwoną barwę. Uznawany jest za jeden z najsilniejszych antyoksydantów. Ponadto wykazuje działanie przeciwnowotworowe i hipolipemiczne. Luteina jest karotenoidem występującym głównie w żółtych i pomarańczowych warzywach oraz owocach. W organizmie pełni funkcję antyoksydacyjną oraz stanowi filtr chroniący oko przed szkodliwym promieniowaniem UV, zapobiegając zaburzeniom narządu wzroku (Young i Lowe 2018). Polifenole natomiast są organicznymi związkami chemicznymi naturalnie występującymi w roślinach. Korzyści zdrowotne wynikające ze spożywania związków polifenolowych zależą od rodzaju związku, jego biodostępności i aktywności biologicznej. Właściwości antyoksydacyjne polifenoli wynikają z ich budowy chemicznej a w szczególności obecności grup hydroksylowych zdolnych do przenoszenia elektronów lub protonów. Ilość i położenie grup funkcyjnych ściśle wpływają na zdolność wygaszania reaktywnych form tlenu. W wyniku reakcji polifenolu z rodnikiem dochodzi do powstania stosunkowo stabilnego rodnika fenoksylowego, który może następnie ulec utlenieniu do chinonu. Związki polifenolowe posiadają więc zdolność bezpośredniej reakcji z RFT w celu przerwania łańcucha reakcji prowadzącego do uszkodzenia komórek. Ponadto polifenole mogą hamować proces tworzenia wolnych rodników poprzez zdolność chelatowania jonów metali przejściowych. Dodatkowo stanowią one ochronę dla innych antyoksydantów (Manach 2004). Do najważniejszych polifenoli należą kwasy fenolowe, stilbeny oraz flawonoidy (Aslani 2016).

Wyróżniamy dwie klasy kwasów fenolowych: pochodne kwasu benzoowego oraz pochodne kwasu cynamonowego. W roślinach występują one głównie w formie związanej z cukrami oraz innymi kwasami. Przykładem pochodnej kwasu benzoowego jest kwas elagowy, będący dimerem kwasu galusowego. Wysypuje on głównie w malinach, truskawkach oraz orzechach. Jego właściwości antyoksydacyjne wynikają z obecności 4 grup hydroksylowych. Poza właściwościami antyoksydacyjnymi posiada działanie przeciwzapalne, antyhepatotoksyczne, a także hipoglikemiczne. Natomiast przykładem pochodnej kwasu cynamonowego jest kwas ferulowy występujący w dużych ilościach w ziarnach zbóż, szpinaku, winogronach i pietruszce. Jego

właściwości antyoksydacyjne wynikają ze zdolności do neutralizacji wolnych rodników oraz chelatowania jonów metali przejściowych (Gawlik-Dziki 2004). Flawonoidy natomiast stanowią najważniejszą i najliczniejszą klasę polifenoli. Wspólną cechą budowy tych związków jest układ flawanu, na który składa się 15 atomów węgla tworzących 2 pierścienie aromatyczne oraz pierścień heterocykliczny. W zależności od budowy można wyróżnić kilka podklas: flawonole, flawony, izoflawony oraz antocyjany (Aslani 2016). Kwercetyna jest związkiem należącym do podklasy flawanoli o udowodnionym działaniu antyoksydacyjnym. Wykazuje szczególną zdolność do chelatowania pierwiastków biorących udział w produkcji reaktywnych form tlenu. Kwercetyna występuje głównie w cebuli, jabłkach, winogronach oraz soi (Aslani et al. 2016; Nimse i Pal 2015). Rutyna również pełni funkcję przeciwutleniacza, ale oprócz zmiatania wolnych rodników, dodatkowo działa ochronnie na witaminę C. Największą ilość tego związku można znaleźć w pietruszce, selerze, bzie czarnym oraz aronii (Nimse i Pal 2015). Antocyjany są barwnikami nadającymi warzywom, owocom i kwiatom różnorodne zabarwienie, które w dużej mierze zależy od pH. Podobnie jak inne flawonoidy wykazują działanie antyoksydacyjne. Hamują preoksydację lipidów oraz czynniki zapalne takie jak cyklooksygenaza (Manach et al. 2004; Aslani et al. 2016). Przedstawicielem klasy stilbenów jest resweratrol. Głównymi źródłami tego antyoksydantu są skórki winogron i czerwone wino. Występuje również w orzeszkach ziemnych, jagodach i jeżynach. Resweratrol neutralizuje reaktywne formy tlenu, chłatując jony metali. Dodatkowo zwiększa aktywność endogennych enzymów chroniących przed wolnymi rodnikami. Poza działaniem antyoksydacyjnym pełni również funkcje przeciwnowotworową i kardioprotekcyjną (Wu et al. 2001).

Nieenzymatyczne antyoksydanty można również podzielić ze względu na źródło pochodzenia. Wyróżniamy wówczas antyoksydanty endo- i egzogenne. Do endogennych antyoksydantów można zaliczyć liczne metabolity m.in. kwas moczowy, bilirubinę, hormony (melatoninę) oraz niektóre białka.

Kwas moczowy jest końcowym produktem metabolizmu puryn. Jest bardzo ważnym antyoksydantem hydrofilowym, posiadającym zdolność wychwytu wolnych rodników. Ponadto wykorzystywany jest przez białka zawierające hem takich jak hemoglobina oraz katalaza do rozkładu nadtlenu wodoru i nadtlenczków organicznych (Ighodaro 2018). Bilirubina jest rozpuszczalnym w tłuszczach produktem metabolizmu hemu. Posiada zdolność do zmiatania wolnych rodników, a w szczególności rodnika hydroksylowego i nadtlenu wodoru. Melatonina natomiast jest hormonem wydzielanym przez szyszynkę, której funkcją jest regulacja rytmów okołodobowych. Posiada ona zdolność do bezpośredniej neutralizacji rodnika hydroksylowego. Działa również pośrednio poprzez stymulację enzymów antyoksydacyjnych. Melatonina dodatkowo chelatuje metale przejściowe zapobiegając tworzeniu wolnych rodników (Aslani et al. 2016). Do białek wiążących metale można zaliczyć: ferrytynę, laktoferynę, transferynę oraz ceruloplazminę. Wykazują one zdolności antyoksydacyjne działając przez wychwytywanie jonów metali przejściowych (miedzi, żelaza), które biorą udział w tworzeniu wolnych rodników (Aslani et al. 2016).

Składniki mineralne są również ważnym elementem obrony przed reaktywnymi formami tlenu. Największe znaczenie mają: siarka, selen, cynk, miedź, żelazo oraz mangan. Są one bardzo istotne dla endogennych antyoksydantów. Siarka stanowi element budowy niektórych aminokwasów (cysteiny, metioniny), enzymów, białek i innych cząsteczek jak glutation. Siarkę do organizmu można dostarczać spożywając: czosnek, cebulę, mleko i ser. Zdolność tiolowych antyoksydantów do utrzymania prawidłowego poziomu wolnych rodników opiera się na parze tiol-disiarczek. Przykładami takich układów są pary: zredukowany glutation (GSH) – utleniona forma glutationu (GSSG) oraz cysteina- cystyna. Związkiem zawierającym siarkę, który posiada właściwości antyoksydacyjne jest również kwas α -liponowy (ALA), który jest disiarczkową pochodną kwasu oktanowego. Ze względu na dobrą rozpuszczalność w wodzie i tłuszczach jest uniwersalnym antyoksydantem występującym zarówno w cytoplazmie jak i w błonach komórkowych. Zredukowana forma ALA, czyli kwas dihydroliponowy (DHHLA) jest uznawany za silniejszy przeciwutleniacz. Jednak zarówno kwas α -liponowy jak i jego zredukowana postać wykazują bardzo dużą aktywność antyoksydacyjną (Aslani et al. 2016). Selen jest również silnym antyoksydantem. W postaci selenocysteiny stanowi centrum aktywne peroksydazy glutationowej. Ponadto jest ważnym elementem strukturalnym selenoprotein, które posiadają właściwości antyoksydacyjne i pomagają

chronić białka, lipidy i DNA przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Dodatkowo białka te posiadają zdolność wiązania metali ciężkich. Selen naturalnie występuje w ziarnach zbóż, grzybach oraz orzechach brazylijskich (Aslani et al. 2016; Wołoncej i in 2016). Mangan, miedź oraz cynk stanowią element składowy enzymów z grupy dysmutaz ponadtlenkowców. Dodatkowo jony cynku wiążą się z grupami sulfhydrylowymi białek w celu zabezpieczenia ich przed utlenieniem. Przeciwdziałają także powstawaniu reaktywnych form tlenu poprzez konkurowanie z metalami prooksydacyjnymi. Jony żelaza Fe^{3+} są niezbędnym elementem hemu będącego częścią katalazy odpowiedzialnej za rozkład nadtlenu wodoru (Wołoncej i in 2016).

5. Podsumowanie

U podłoża wielu chorób leży szkodliwe działanie reaktywnych form tlenu oraz przewlekły stres oksydacyjny. Nadmiar wolnych rodników powoduje uszkodzenia białek, materiału genetycznego oraz peroksydację lipidów, co może prowadzić do rozwoju wielu chorób. Aby temu zapobiec ważne jest wyrównanie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Opisane w pracy rodzaje antyoksydantów odgrywają istotną rolę w system obronny przed reaktywnymi formami tlenu. Produkty pochodzenia roślinnego stanowią również źródło wielu przeciwutleniaczy m. in. witamin A, C i E, karotenoidów oraz polifenoli. Dostarczanie ich w odpowiedniej ilości jest ważnym elementem w profilaktyce chorób wywołanych reaktywnymi formami tlenu.

Praca zrealizowana w ramach umowy o realizację pracy naukowo-badawczej przez doktoranta nr KNW-2-040/D/8/N

6. Literatura

- Aslani BA, Ghobadi S (2016) Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life Sciences* 146: 163 – 173.
- Blanco A, Blanco G (2017) *Medical Biochemistry*, Academic Press, 205 – 214.
- Brieger K, Schiavone S, Miller FJ Jr et al. (2012) Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly* 142: w13659.
- Czerwiecki L (2009) Współczesne poglądy na rolę przeciwutleniaczy roślinnych w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. *Roczn. PZH* 60(3): 201 – 206.
- Fang Y, Yang S, Wu G, (2002) Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18: 872 – 879.
- Flora G, Mittal M, Flora SJS (2015) *Handbook of Arsenic Toxicology*, Academic Press, 589 – 626.
- Gawlik-Dziki U (2004) Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 4(41): 29 – 40.
- Hampton MB, Kettle AJ, Christine C et al. (1998) Inside the Neutrophil Phagosome: Oxidants, Myeloperoxidase and Bacterial Killing. *Blood* 92(10): 3007 – 3017.
- Ighodaro OM, Akinloye OA (2018) First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid, *Alexandria Journal of Medicine* 54(4): 287 – 293.
- Kulik-Kupka K, Nowak J, Koszowska A i in. (2016) Witaminy w walce z nowotworami, *Med Rodz* 1(19): 26 – 31.
- Liguori I, Russo G, Curcio F et al. (2018) Oxidative stress, aging, and diseases, *Clinical Interventions in Aging* 13: 757 – 772.
- Manach C, Scalbert A, Morand C et al. (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition* 79(5): 727 – 747.
- Milenkovic D, Blaza JN, Larsson N et al. (2017) The Enigma of the Respiratory Chain Supercomplex, *Cell Press* 25(4): 765 – 776.
- Mischley LK (2017) Nutrition and Nonmotor Symptoms of Parkinson's Disease, *International Review of Neurobiology*, Academic Press 134: 1143 – 1161.

- Nimse SB, Pal D (2015) Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. RSC Adv 5: 27986 – 28006.
- Tangvarasittichai S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. World journal of diabetes 6(3): 456 – 480.
- Young AJ, Lowe GL (2018) Carotenoids-Antioxidant Properties. Antioxidants (Basel) 11: 7(2): 28.
- Wolski T, Kalisz O, Gerkowicz M i in. (2007) Rola i znaczenie antyoksydantów w medycynie ze szczególnym uwzględnieniem chorób oczu. Postępy Fitoterapii 2: 82 – 90.
- Wołoncej M, Milewska E, Roszkowska-Jakimiec W (2016) Pierwiastki śladowe jako aktywatory enzymów antyoksydacyjnych. Postępy Hig Med Dosw 70: 1483 – 1498.
- Wu JM, Wang Z, Hsieh T et al. (2001). Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine (Review). International Journal of Molecular Medicine 8: 3 – 17.

21. Budowa i funkcje jąder szwu

Structure and function of raphe nuclei

Protokowicz Karolina, Ptaszek Kacper

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

Opiekun naukowy: Edyta Jurkowlaniec

Karolina Protokowicz: karolina_protokowicz@wp.pl

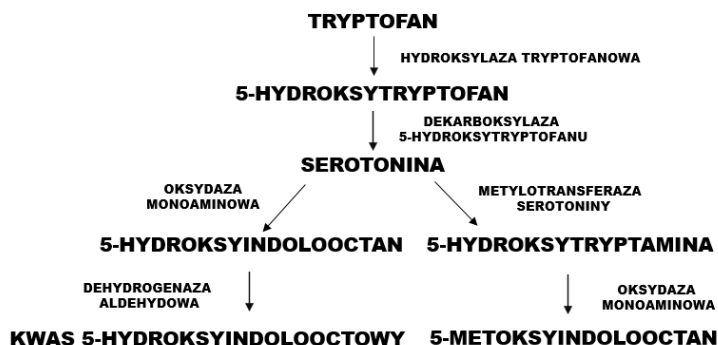
Słowa kluczowe: serotonina, 5-HT, jądro wielkie szwu, jądro grzbietowe szwu

Streszczenie

Serotonina (5-hydroksytryptamina, 5-HT) to endogenna indoloamina. Powstaje w wyniku przemian enzymatycznych tryptofanu dostarczanego wraz z pożywieniem. Głównym miejscem syntezy serotoniny w mózgowiu są jądra szwu. Znajdują się one w pniu mózgu i skupiają wzdłuż linii pośrodkowej. Ze względu na położenie oraz projekcje, jądra te można podzielić na dwie grupy: na jądra grupy przedniej i tylnej. Jądra grupy przedniej wysyłają projekcje do przodomózgowia, natomiast jądra grupy tylnej do tyłomózgowia. Układ serotonergiczny rozwija się najszybciej ze wszystkich układów neuroprzekaźnikowych. 5-HT kontroluje wiele funkcji ośrodkowego układu nerwowego, co sprawia, że jest jednym z ważniejszych neuroprzekaźników. Z tego względu dysfunkcje układu serotonergicznego są często brane pod uwagę jako przyczyny wielu zaburzeń neurologicznych, takich jak ADHD, czy zaburzenia ze spektrum autyzmu.

1. Wstęp

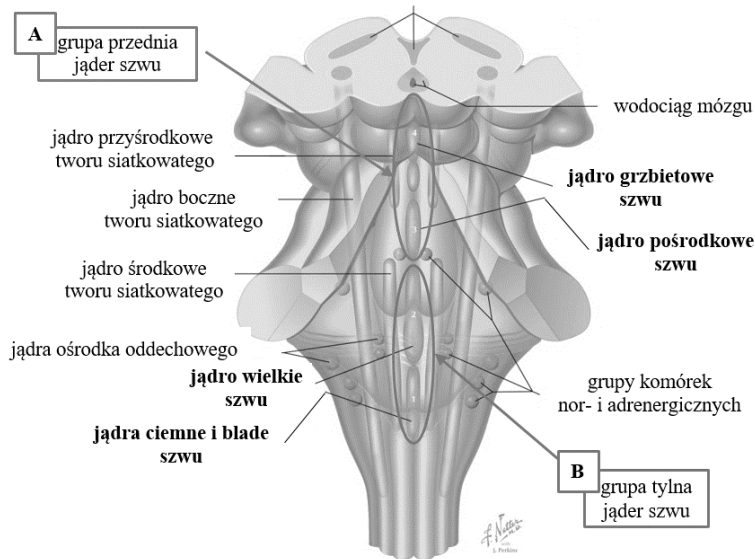
W ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) komórki serotonergiczne zorganizowane są w jądra szwu. Struktury te rozciągają się od pośrodkowej części nakrywki aż do skrzyżowania piramid. Jądra szwu nie mają wyraźnie zarysowanych granic cytoarchitektonicznych, co jest przyczyną rozbieżności w piśmiennictwie w ocenie ich liczby (Hornung 2003, Shibata i in 2012). Układ serotonergiczny rozwija się jako jeden z pierwszych w OUN, wpływając na rozwój pozostałych układów neuroprzekaźników. Głównym neuroprzekaźnikiem syntezowanym przez jądra szwu jest serotonina (5-HT). 5-HT powstaje w wyniku dwuetapowej syntezy (Rys.1). Prekursorem serotoniny jest tryptofan dostarczany wraz z pożywieniem. W pierwszym etapie dochodzi do addycji grupy hydroksylowej do L-tryptofanu przy udziale hydroksylazy tryptofanowej. Można rozróżnić dwa rodzaje tego enzymu: hydroksylaza tryptofanowa 1, która występuje wyłącznie obwodowo oraz hydroksylaza tryptofanowa 2, która obecna jest tylko w OUN (Mosienko i in 2015). W wyniku pierwszego etapu powstaje 5-hydroksytryptofan. Drugim etapem biosyntezy 5-HT jest dekarboksylacja 5-hydroksytryptofanu, w obecności dekarboksylazy 5-tryptofanu (Stępień i in 2014). Większość 5-HT wytwarzana jest poza OUN. Wielkość cząsteczki 5-HT nie pozwala na jej przejście przez barierę krew-mózg, z tego względu 5-HT wytworzona na obwodzie nie ma wpływu na stężenie tego neuroprzekaźnika w mózgowiu.



Rys.1 Synteza i metabolizm serotoniny (na podstawie Stępień i in 2014).

2. Klasyfikacja jąder szwu

Ze względu na położenie oraz kierunek projekcji jądra szwu można podzielić na dwie grupy: jądra szwu grupy przedniej, których główne projekcje wysyłane są w kierunku przodomózgowia oraz jądra szwu grupy tylnej, których drogi eferentne docierają do tyłomózgowia i rdzenia kręgowego (Rys.2). Do grupy przedniej należą: jądro grzbietowe szwu (DR), jądro pośrodkowe szwu (MnR) oraz jądro wzdlużne tylne (CLi). Na grupę tylną składają się: jądro wielkie szwu (RMg), jądro ciemne szwu (ROb), jądro blade szwu (RPa) oraz lateral reticular formation (Hornung 2003).



Rys.2 Lokalizacja jąder szwu w mózgowiu człowieka: A: grupa przednia i B: grupa tylna (na podstawie Hansen i Koepfen 2002).

Grupa przednia jąder szwu stanowi aż 85% wszystkich neuronów serotonergicznycch obecnych w mózgowiu. Najmniejszym z trzech jąder grupy przedniej jest CLi, które uważane jest za jedno z jąder brzusznej nakrywki śródmózgowia (VTA, Hornung 2003). CLi jest wysunięte najbardziej w kierunku przodomózgowia ze wszystkich jąder szwu. Od strony brzusznej sąsiaduje z jądrem międzykonarowym, a bocznie z jądrem czerwonym. Oprócz neuronów serotonergicznycch, CLi zawiera neurony syntetyzujące substancję P oraz hydroksylazę tyrozynową (Halliday i in 1990). Kolejnym jądrem grupy przedniej jest DR. Skupia ono około 30% wszystkich neuronów serotonergicznycch, co sprawia, że DR jest największym jądrem szwu. Sięga od poziomu jądra nerwu okoruchowego w śródmózgowiu do przedniej części mostu. Aksony neuronów DR zwane są włóknami D. Włókna te są bardzo cienkie i pokryte licznymi, różnokształtymi żyłakowatościami (Hensler 2006). Większość neuronów serotonergicznycch znajduje się w tylnej części jądra. Neurony budujące przednią część jądra produkują substancję P oraz katecholaminy (Baker i in 1990). CLi oraz DR wysyłają projekcje do tych samych struktur, jednak ze względu na rozmiar, udział DR jest dużo większy. Włókna typu D trafiają głównie do struktur związanych z układem dopaminergicznym. Należą do nich struktury takie jak: hipokamp, istota czarna, wzgórze, podwzgórze oraz ciało migdałowate. Do ostatniego jądra dociera aż 10% wszystkich włókien. Projekcje aferentne DR trafiają również do kory mózgowej (Vertes i Linley 2008). Ostatnim jądrem szwu z grupy przedniej jest MnR. Razem z DR jest odpowiedzialne za najwyższą podaż serotoniny do przodomózgowia. MnR rozciąga się od jądra ruchowego nerwu trójdzielnego do ramion łączących mózdzku. Włókna typu M, czyli aksony neuronów MnR są grube (silnie zmielinizowane), a kuliste żyłakowatości znajdują się na dystalnych częściach aksonów (Hensler 2006). Włókna M unerwiają głównie ciało suteczkowate, jądra podwzgórza, boczne jądro uzdeczki, przegrodę oraz hipokamp. Wszystkie jądra grupy przedniej otrzymują impulsację od tych samych struktur i należą do nich: jądra szwu grupy

tylnej, struktury układu limbicznego, boczne jądra uzdeczki oraz pole przedwzrokowe boczne (Vertes i Linley 2008).

Na cztery jądra grupy tylnej składa się 15% wszystkich neuronów serotonergicznym obecnych w OUN. Największym jądrem z tej grupy jest RMg. U człowieka zbudowane jest ono z około 30 tys. neuronów. RMg położone jest w środkowej części mostu, poniżej jądra rdzenia twarzowego. Kolejnym jądrem jest ROb, które znajduje się w grzbietowej części rdzenia przedłużonego. Oprócz serotoniny, komórki budujące to jądro produkują również substancję P oraz galaninę. RPa jest najmniejszym z jąder szwu, zbudowane jest tylko z 1000 neuronów. Usytuowane jest między piramidami na wysokości wstęgi przyśrodkowej. Drugą, największą po RMg populacją neuronów serotonergicznym w grupie tylnej jest lateral reticular formation. Na jej budowę składa się 18 tys. neuronów serotonergicznym. Formacja ta rozciąga się od RMg do jądra siatkowatego bocznego. Połączenia zstępujące jąder grupy tylnej docierają głównie do jąder motorycznych autonomicznego i somatycznego układu nerwowego. Drogi eferentne tych jąder zasilają również zstępującą część układu siatkowatego pnia mózgu. Ponadto aksony pochodzące od RMg łączą się w drogę grzbietowo-boczną i trafiają do rogów tylnych rdzenia kręgowego (Hornung 2003). Główne unerwienie grupa tylna otrzymuje z istoty szarej okołowodociągowej (PAG), ciała migdałowego oraz jąder podwzgórza. Część impulsacji pochodzi z autonomicznego układu nerwowego. Włókna wstępujące do RMg pochodzą również z jądra zatwarzowego oraz jądra okołoramiennego przyśrodkowego w moście.

3. Funkcje jąder szwu i serotoniny w OUN

Różnorodność struktur, do których wysyłają projekcje jądra szwu, wskazuje na to jak ważnym neuroprzekaźnikiem jest serotonina i jak wiele funkcji pełni. W działaniu 5-HT pośredniczą receptory serotoninowe, które rozmieszczone są w błonie komórkowej neuronów. Wśród nich wyróżniono siedem rodzin i kilkanaście podtypów, a większość należy do grupy receptorów sprzężonych z białkiem G. Wyjątek stanowią receptory serotoninowe typu 5-HT₃, które należą do receptorów jonotropowych (Tab.1).

Tab.1 Podział rodzin receptorów 5-HT z uwzględnieniem mechanizmu i wpływu jaki wywierają (na podstawie Pazos i Palacios 1985).

Rodzina	Mechanizm	Wpływ
5-HT ₁	Obniżenie poziomu komórkowego cAMP	hamujący
5-HT ₂	Podwyższenie komórkowego poziomu IP ₃ i DAG	pobudzający
5-HT ₃	Depolaryzacja błony komórkowej	pobudzający
5-HT ₄	Podwyższenie poziomu komórkowego cAMP	pobudzający
5-HT ₅	Obniżenie poziomu komórkowego cAMP	hamujący
5-HT ₆	Podwyższenie poziomu komórkowego cAMP	pobudzający
5-HT ₇	Podwyższenie poziomu komórkowego cAMP	pobudzający

W przebiegu ontogenezy, zanim jądra szwu zostaną zorganizowane w pniu mózgu, wytwarzają połączenia z komórkami Cajala-Retziusa. Główną funkcją tych komórek jest wywarzanie reeliny, białka, które odgrywa ważną rolę podczas procesów migracji nowych neuronów. Białko to związane z organizacją takich struktur jak hipokamp, ciało migdałowe oraz jądra szwu. Połączenia między jądrami szwu a komórkami Cajala-Retziusa mają znaczenie również po okresie rozwojowym

OUN, ponieważ reelin bierze także udział w procesach neurogenezy w dojrzałym mózgowiu (Shehabeldin i in 2018).

Jak wspomniano wyżej, RMg otrzymuje bezpośrednie projekcje z PAG, struktury istotnej w przewodzeniu impulsacji bólowej. Poprzez jej stymulację elektryczną udało się uzyskać efekt przeciwbólowy. Dzięki połączeniom RMg z rogami tylnymi rdzenia kręgowego, jądra szwu stanowią część wewnętrznego układu przeciwbólowego. Dodatkowo zauważono, że bezpośrednia stymulacja elektryczna RMg również wyzwała działanie przeciwbólowe (Hellman i Mason 2012).

Badania na szczurach oparte na iniekcji greliny do DR wskazały na udział tej struktury w kontrolowaniu procesów pamięciowych oraz powstawaniu stanów lękowych (Carlini i in 2004). Grelina jest hormonem wytwarzanym w żołądku między innymi podczas okresów głodu. Podanie pokarmu powoduje zahamowanie jej wytwarzania. Jedną z funkcji tego hormonu jest hamowanie uwalniania serotoniny w OUN poprzez jego oddziaływanie na jądro łukowate podwzgórza, które wysyła projekcje do jąder szwu. Podanie greliny bezpośrednio do DR spowodowało zmniejszenie ilości przyjmowanego pokarmu. Dodatkowo zauważono pogorszenie pamięci u badanych szczurów oraz wzrost stanów lękowych (Carlini i in 2004).

Poza działaniem przeciwbólowym stymulacja elektryczna RMg ma również wpływ na zmianę zachowania. W badaniach prowadzonych w Katedrze Fizjologii Zwierząt i Człowieka do modelowania wybranych zaburzeń ze spektrum autyzmu stosuje się stymulację elektryczną RMg oraz DR u szczurów. Szczury poddane chronicznej stymulacji RMg wykazywały się wyższą aktywnością lokomotoryczną w porównaniu do niestymulowanych zwierząt. Zauważono również zwiększoną liczbę oddechów u stymulowanych zwierząt. Poza zwiększoną aktywnością lokomotoryczną, zwierzęta wykazywały podwyższony poziom lęku, mniejszą liczbę interakcji socjalnych. Cechy te wpisują się w obraz kliniczny zaburzeń ze spektrum autyzmu, co może świadczyć o udziale RMg w powstawaniu tego zaburzenia (Ptaszek i in 2015). Ze względu na położenie RMg i połączenia z jądrami motorycznymi autonomicznego i somatycznego układu nerwowego, powyższe wyniki potwierdzają udział RMg w kontroli reakcji lokomotorycznych.

Drugim sposobem modelowania zaburzeń ze spektrum autyzmu jest chroniczna stymulacja DR u szczurów. Zwierzęta z grupy stymulowanej charakteryzowały się zwiększonym poziomem stanów lękowych, gorszą pamięcią oraz niższym poziomem zachowań socjalnych w porównaniu do szczurów niestymulowanych. Tak jak w przypadku chronicznej stymulacji elektrycznej RMg, opisywane zachowania stymulowanych szczurów stanowią częściowy obraz kliniczny zaburzeń ze spektrum autyzmu (praca magisterka, 2019).

Kolejną funkcją jąder szwu jest udział w procesach kontroli oddychania. W zależności od stymulowanego jądra szwu zmienia się napięcie mięśni oddechowych. W przypadku kiedy stymulacji poddawane jest RMg zwiększa się napięcie mięśniowe, natomiast kiedy stymulowane są jądra grupy przedniej napięcie mięśniowe spada. Uszkodzenie jąder szwu powoduje brak możliwości kontroli napięcia mięśniowego, co wiąże się z desynchronizacją aktywności oddechowej. Ze względu na kontrolę napięcia mięśni oddechowych, jądra szwu są również zaangażowane w odruchy związane z udrażnianiem dróg oddechowych, takie jak kaszel czy kichanie (Budzińska 1998, Harper i in 2015).

5-HT bierze również udział w kontroli cyklu snu i czuwania. W pinealocytach szyszynki dochodzi do enzymatycznych przemian 5-HT w melatoninę, której synteza odbywa się w ciemności. Blokowanie syntezy 5-HT, a co za tym idzie również melatoniny prowadzi do rozregulowania cyklu dobowego, a w konsekwencji prowadzi do bezsenności. Zauważono również zmiany w długości trwania poszczególnych faz snu u osób z zaburzoną syntezą 5-HT (Whitney i in 2016).

Udział 5-HT w kontroli cyklu dobowego jest również dowodem na udział tego neuroprzekaźnika w powstawaniu depresji. Zaburzony cykl dobowy prowadzi do problemów z koncentracją, pamięcią, nauką oraz skutkuje obniżonym nastrojem. Wymienione objawy stanowią obraz kliniczny zaburzeń depresyjnych. Liczne badania nad depresją wskazują na to, że objawy depresyjne pojawiają się w wyniku obniżonego neuroprzekaźnictwa 5-HT w OUN. Wysoka skuteczność leków stosowanych w leczeniu tego zaburzenia, takich jak SSRI (selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny), wskazuje na to, że jedną z przyczyn powstawania choroby jest obniżony poziom 5-HT w mózgowiu. Mechanizm działania tych leków opiera się na zatrzymaniu 5-

HT w szczelinach synaptycznych, co skutkuje zwiększonym stężeniem tego neuroprzekaźnika (Daut i Fonken 2019).

Większość jąder szwu zawiera neurony serotonergiczne, natomiast część populacji komórek syntetyzuje substancję P. Ten neuropeptyd zaangażowany jest w aktywację układu immunologicznego, gdyż jedną z jego funkcji jest aktywacja mitozy komórek odpornościowych. Dzięki aktywności substancji P uwolnione zostają cytokiny prozapalne, co sugeruje udział jąder szwu w powstawaniu „sickness behaviour” (Ebner i Singewald 2006).

4. Podsumowanie

Projekcje jąder szwu docierają do wielu istotnych struktur w OUN. Przytoczone w pracy badania pokazują szereg funkcji, które są kontrolowane poprzez jądra szwu oraz 5-HT. Zaburzenia w mechanizmie neuroprzekaźnictwa 5-HT leżą u podłoża wielu jednostek chorobowych, mogą również przyczyniać się do powstawania zaburzeń neurorozwojowych. Cechy zaburzonego przekaźnictwa 5-HT pokrywają się również z objawami zaburzeń depresyjnych. Serotonina oraz jądra szwu bez wątpienia mają wpływ na nastrój oraz cykl snu i czuwania. W literaturze znaleźć można również doniesienia o wkładzie tych struktur w procesy znoszenia bólu i ich udziale w endogennym, opioidowym systemie przeciwbólowym. Jądra szwu oraz serotonina mają wpływ na procesy pobierania pokarmu, dysfunkcje układu serotonergicznego mogą więc być brane pod uwagę jako przyczyny powstawania takich zaburzeń, jak anoreksja czy bulimia. Oprócz samej serotoniny, komórki budujące jądra szwu syntetyzują również substancję P, co wskazuje na częściowy udział tych struktur kontroli układu immunologicznego.

5. Piśmiennictwo

- Baker KG, Halliday GM, Törk, I (1990) Cytoarchitecture of the human dorsal raphe nucleus, *J Comp Neurol.* 301: 147-161
- Budzińska K (1998) Regulacja aktywności oddechowej, 81-86. Warszawa. rozprawa habilitacyjna
- Carlini VP, Varas MM, Cragolini AB i in (2004) Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin, *Biochem Biophys Res Commun.* 313: 635-641
- Daut RA, Fonken LK (2019) Circadian regulation of depression: a role for serotonin, *Front Neuroendocrinol.* doi: 10.1016/j.yfrne.2019.04.003
- Ebner K, Singewald N (2006) The role of substance P in stress and anxiety responses, *Amino Acids* 3: 251-272
- Halliday GM, Li YW, Blumbergs PC i in (1990) Neuropathology of immunohistochemically identified brainstem neurons in Parkinson's disease, *Ann Neurol.* 27: 373-385
- Hansen JT, Koepfen BM (2002) Atlas of neuroanatomy and neurophysiology. Selections from the Netter collection of medical illustration. USA: Icon Custom Communications
- Harper RM, Kumar R, Macey PM i in (2015) Impaired neural structure and function contributing to autonomic symptoms in congenital central hypoventilation syndrome, *Front Neuroendocrinol.* 9: 415 (1-13)
- Hellman KM, Mason P (2012) Opioids disrupt pro-nociceptive modulation mediated by raphe magnus, *J Neurosci.* 32: 13668-13678
- Hensler JG (2006) Serotonergic modulation of the limbic system, *Neurosci Biobehav Rev.* 30: 203-214
- Hornung JP (2003) The human raphe nuclei and the serotonergic system, *J Chem Neuroanat.* 26: 331-341
- Mosienko V, Beis D, Pasqualetti M i in (2015) Life without brain serotonin: reevaluation of serotonin function with mice deficient in brain serotonin synthesis, *Behav Brain Res.* 277: 78-88
- Pazos A, Palacios JM (1985) Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain, *Brain Res.* 346: 231-249 i 305-320
- Ptaszek K, Plucińska K, Polasik P i in (2015) The influence of electrical stimulation of the raphe magnus on rat behaviours, *Acta Neurobiol Exp.* 75: 88-89

- Shehabeldin R, Lutz D, Karsak M i in (2018) Reelin controls the positioning of brainstem serotonergic raphe neurons, *PLoS One* 13: e0200268 (1-21)
- Shibata M, Goto N, Goto J i in (2012) Nuclei of the human raphe, *Okajimas Folia Anat Jpn.* 89: 15-22
- Stępień A, Walecka-Kapica E, Błońska A i in (2014) Rola tryptofanu i serotoniny w patogenezie i leczeniu zespołu jelita nadwrażliwego, *Folia Med Lodz.* 41/2: 139-154
- Vertes RP, Linley SB (2008) Efferent and afferent connections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat [w:] Monti JM, Pandi-Perumal SR, Jacobs BL, Nutt DJ (red.) *Serotonin and sleep: molecular, functional and clinical aspects.* Basel: Birkhäuser.
- Whitney MS, Shemery AM, Yaw AM i in (2016) Adult brain serotonin deficiency causes hyperactivity, circadian disruption, and elimination of siestas, *J Neurosci.* 36: 9828-9842

22. Analiza różnic płciowych w wybranych etapach metabolizmu tryptofanu

Analysis of sexual differences in selected stages of tryptophan metabolism

Iwona Sirocka, Kacper Ptaszek

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

Opiekun naukowy: Edyta Jurkowlanec

Sirocka Iwona: iwona.sirocka@gmail.com

Słowa kluczowe: serotonina, dymorfizm płciowy, depresja, zaburzenia lękowe

Streszczenie

Głównym elementem rozpatrywanym w kontekście różnic płciowych jest zazwyczaj wpływ sterydowych hormonów gonadalnych. Pogląd ten nie oddaje jednak zawilości szeregu różnic w zapadalności na różne dolegliwości. W tej pracy skupiamy się na metabolizmie tryptofanu – prekursora serotoniny, zaangażowanej między innymi w regulację rytmu dobowego, nastroju oraz procesów zapamiętywania i uczenia się. Ryzyko rozwoju niektórych zaburzeń związanych z funkcjonowaniem układu serotonergicznego jest różne w zależności od płci, np. ryzyko wystąpienia depresji, czy zaburzeń lękowych u kobiet jest niemal 2-krotnie wyższe niż w przypadku mężczyzn (Perry i in. 2017). Im większa jest wiedza na temat wpływu różnic płciowych na funkcjonowanie organizmu, tym lepszą opiekę medyczną zapewnimy kobietom i mężczyznom.

1. Wstęp

Tryptofan (kwas 2-amino-3-indolopropanowy, Trp) jest aminokwasem egzogennym, niezbędnym do życia, pozyskiwanym wraz z pokarmem. Głównymi źródłami tryptofanu naszej diecie są orzechy, drób, nabiał i rośliny strączkowe. Tryptofan jest zaangażowany w wiele procesów metabolicznych, m.in. syntezę białek, serotoniny (5-hydroksytryptaminy, 5-HT), melatoniny oraz szlak kynureninowy (Richard i in. 2009).

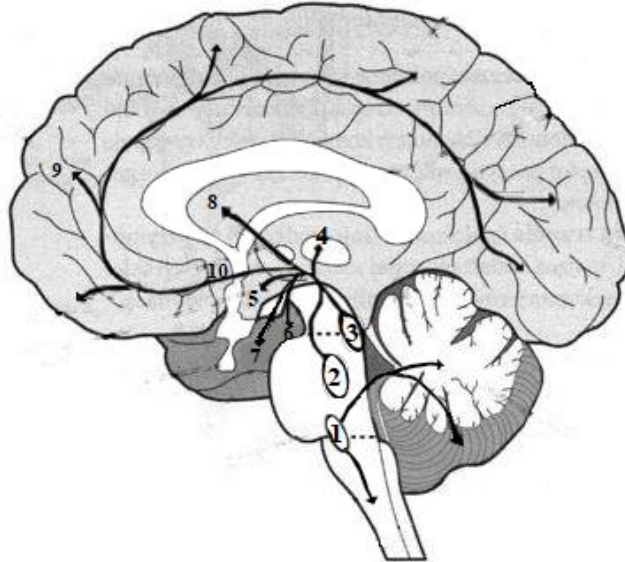
Tryptofan, poza swoją rolą w syntezie białek, jest metabolizowany dwoma głównymi szlakami: szlakiem kynureninowym, rozpoczynającym się oksydacją z udziałem 2,3-dioksygenazy tryptofanowej (TDO) lub 2,3-dioksygenazy indoloaminowej (IDO), zachodzącym głównie w wątrobie oraz szlakiem serotonergicznym za pomocą hydroksylazy tryptofanowej (TPH), obserwowanego w 95% w komórkach śródmiąższowych jelita cienkiego. Tylko 5% tryptofanu ulega przemianom do serotoniny w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), w jądrach szwu (Wang i in. 2016). Po aktywacji receptora serotoniną, jej nadmiar ulega wychwytwi zwrotnemu przez błonę presynaptyczną lub rozkładowi za pomocą monoaminooksydazy typu A (MAO A) do kwasu 5-hydroksyindolooctowego (5-HIAA).

Tryptofan jest aktywnie transportowany przez barierę krew-mózg, wraz z innymi wielkocząsteczkowymi neutralnymi aminokwasami (LNAA). Co więcej, jego dostępność w ośrodkowym układzie nerwowym jest ściśle związana ze stosunkiem Trp/LNAA. W związku z konkurencyjnym przechodzeniem przez barierę krew-mózg tryptofanu i LNAA (im więcej LNAA, tym mniej Trp przechodzi przez barierę krew-mózg), doświadczalnym modelem ostrej deplecji tryptofanu jest podawanie badanym mieszanki białkowej z LNAA pozbawionej tryptofanu, co znacznie ogranicza ilość tego aminokwasu w OUN (Silber i Schmitt 2010).

Układ serotonergiczny w OUN ma rozległe projekcje, obejmujące niemal całe mózgowie (Rys. 1). Wyróżnia się kilkanaście rodzin receptorów serotonergicznych wraz z typami. W ramach niniejszej pracy skupiamy się tylko na dwóch z nich, wybranych ze względu na istotność z punktu widzenia różnic płciowych (Kroeze i in. 2002).

Receptor 5-HT_{1A} w jądrach szwu jest autoreceptorem, co oznacza, że jego aktywność jest hamowana dużą ilością 5-HT w przestrzeni międzysynaptycznej. Receptory 5-HT_{1A} znajdują się głównie w hipokampie, ale także w korze mózgowej i przegrodzie, na błonach postsynaptycznych neuronów w tych regionach (Kroeze i in. 2002).

Receptory 5-HT_{2A} znajdują się w rozległych obszarach kory mózgowej, brzusnym prążkowie, jądrze półleżącym, a także w guzku węchowym (Barnes i Sharp 1999). Zahamowanie sygnalizacji tych neuronów skutkuje wzmożeniem reakcji lękowych na bodziec, przywrócenie aktywności odwraca ten efekt (Songtchalert i in. 2018).



Rys. 1. Uproszczony schemat projekcji jądra przyśrodkowego, jądra grzbietowego oraz jądra wielkiego szwu (wg Konopackiego i in. 2017, zmodyfikowane). Oznaczenia: 1. j. wielkie szwu 2. j. pośrodkowe szwu 3. j. grzbietowe szwu 4. wzgórze 5. podwzgórze 6. hipokamp 7. ciało migdałowate 8. prążkowie 9. kora przedczołowa 10. j. półleżące.

2. Opis zagadnienia

Od ponad czterdziestu lat wiadomo, że różnice płciowe odgrywają ogromną rolę nie tylko w częstotliwości zapadania na różne choroby czy zaburzenia psychiczne, np. depresję, zaburzenia lękowe, a także zaburzenia ze spektrum autyzmu (ASD), ale też wpływają na poziom syntezy serotoniny i jej metabolitów, powinowactwo do receptorów i transporterów serotoniny (5-HTT). Mogą się również przyczyniać do trudności w diagnozowaniu, przykładowo ASD diagnozowane jest ok. 5-krotnie częściej u chłopców niż u dziewczynek, mimo że szacunkowo stosunek ten powinien wynosić 1:1,4 (Frazier i in. 2017; Hull i in. 2017). Dziewczynki charakteryzują się nieco innym obrazem ASD, co zmniejsza częstość rozpoznania u nich ASD. Dodatkowo, badania wykazały, że ligandy receptora 5-HT_{2A}, czyli LSD oraz inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny, np. paroksetyna (SSRI, leki często stosowane w leczeniu zaburzeń lękowych, depresji, czy zaburzeń odżywiania) wykazują się niższym poziomem powinowactwa do 5-HT_{2A} przy wysokim stężeniu progesteronu w osoczu (faza lutealna cyklu menstruacyjnego), odwrotny zaś efekt zaobserwowano przy wysokim stężeniu estradiolu (faza pęcherzykowa) (Songtchalert i in. 2018), co może wpływać na skuteczność terapii i standard życia dorosłych pacjentek. Ponadto, działanie SSRI u kobiet jest słabsze niż u mężczyzn, co objawia się wyższymi wartościami procentowymi wychwytu zwrotnego serotoniny (Songtchalert i in. 2018). Ważne jest zatem poznanie zarówno różnic, jak i cech wspólnych wpływu czynników płciowych na metabolizm serotoniny.

3. Przegląd piśmiennictwa

Obniżony poziom dostępnego we krwi tryptofanu obserwuje się u pacjentek i pacjentów cierpiących na zaburzenia odżywiania - bulimię i anoreksję; niższy niż u zdrowych ludzi jest stosunek

Trp/LNAA, przy jednocześnie wyższym poziomie serotoniny (Askenazy i in. 1998). Równie ważnym elementem metabolizmu Trp jest szlak kynureninowy. Jego liczne metabolity mają swój udział w schorzeniach takich, jak otyłość związana z zespołem metabolicznym, czy zespół jelita drażliwego. Przykładowo, u dorosłych mężczyzn z zespołem metabolicznym zaobserwowano wyższy poziom kynureniny niż u zdrowych mężczyzn, a także u zdrowych i chorych kobiet (Mange i in. 2014).

Perry i in. w swojej pracy z 2017 r. podkreślają, że kobiety znacznie częściej niż mężczyźni cierpią na zaburzenia lękowe (odpowiednio 7,7% do 4,1%) oraz depresję (21,3% o 12,7%), choć mężczyźni częściej popełniają samobójstwo chorując na depresję (7% chorych mężczyzn, 1% chorych kobiet). Zwracają uwagę na 3 różne aspekty, które mogą się przyczynić do takiego stanu rzeczy: stres we wczesnym dzieciństwie, polimorfizm genu kodującego transporter serotoniny (5-HTT) i wpływ wariantu genu kodującego MAO A cechującego się wysoką (MAO A-H) lub niską ekspresją (MAO A-L)(Tab. 1.). W przypadku stresu we wczesnym dzieciństwie istnieje wyższe ryzyko rozwoju zaburzeń psychicznych przez długotrwałą aktywację odpowiedzi stresowych, co wpływa na aktywność metylotransferazy katecholowej, hormonu kortykotropowego, czy aktywność neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF). Chociaż u kobiet częściej dochodzi do rozwoju zaburzeń lękowych, to u mężczyzn obserwuje się zmiany neuroanatomiczne bezpośrednio związane z długotrwałym stresem, w tym podwyższoną ekspresję c-fos w obrębie całego mózgu oraz aktywację osi podwzgórzowo–przysadkowo–nadnerczowej, a także silniejszy efekt warunkowania negatywnego w kontekście strachu (Perry i in. 2017). Możliwe wyjaśnienie tego zjawiska przedstawiono w pracy Loi i in. (2014), gdzie w doświadczeniu wykonanym na szczurach, samce poddane stresowi okołoporodowemu wykazywały się podwyższonym poziomem neurogenezy, aktywnością BDNF i lepszą pamięcią przestrzenną w okresie dojrzewania, które zanikały u starszych osobników. Odwrotne wyniki uzyskano u samic w każdym z powyższych aspektów, w tym również odwrotną tendencję do zmian zależnych od wieku - obniżoną neurogenezę u młodych, a podwyższoną u dorosłych samic.

Tab. 1. Następstwa polimorfizmu wybranych genów w układzie serotonergicznym u kobiet i mężczyzn, na podstawie Perry i in. 2017.

Polimorfizm genowy	Konsekwencje polimorfizmu u kobiet	Konsekwencje polimorfizmu u mężczyzn
5-HTTLPR s	wyższy poziom 5-HIAA	niższy poziom 5-HIAA
	powiększone ciało migdałowate u cierpiących na zaburzenia lękowe	nietypowy stan spoczynkowy połączeń w ciele migdałowatym
	większa objętość hipokampa	mniejsza objętość hipokampa
MAO A-H lub MAO A-L	wyższa aktywność ciała migdałowatego i hipokampa w warunkach stresowych (MAO A-H)	wyższa aktywność ciała migdałowatego i hipokampa w warunkach stresowych (MAO A-L)
	wyższa dostępność receptora 5-HT1A	podwyższona aktywność hipokampa i obniżona kory zakrętu obręczy (MAO A-L)
TPH 218C	wyższe ryzyko wystąpienia depresji; niższy poziom tryptofanu w osoczu	wyższe ryzyko wystąpienia depresji

Interakcja gen-płeć zachodzi w przypadku różnych wariantów genu regionu polimorficznego związanego z wariantem genu transportera serotoniny – 5-HTT (5-HTTLPR), wpływającego na ekspresję genu kodującego białko transportujące serotoninę z przestrzeni międzysynaptycznej do neuronu presynaptycznego (Tab. 1). Na polimorfizm ten składa się długa sekwencja 16. powtórzeń (l – *long*) i krótka sekwencja 14. powtórzeń (s – *short*), która obniża poziom transkrypcji tego genu. Kolejnym zagadnieniem omawianym przez Perry i in. (2017) są allele regionu polimorficznego

związanego z MAO A (niska ekspresja MAO A-L, wysoka ekspresja MAO A-H). Mężczyźni o genotypie MAO A-L mają większe skłonności do zachowań agresywnych i impulsywnych, w szczególności, jeśli byli ofiarami przemocy w okresie dzieciństwa (Byrd i Manuck 2014). Wariant MAO A-H jest wiązany ze wzrostem aktywności brzuszno-bocznej kory przedczołowej i utratą istoty szarej u mężczyzn, a także z zachowaniami agresywnymi, ryzykiem rozwoju depresji i zaburzeń lękowych u kobiet (Perry i in. 2017).

Ngun i in. (2011) wskazują na znaczne różnice nie tylko w metabolizmie serotoniny (Tab. 2), płęć ma wpływ również na działanie katecholamin. Sprzężenie zwrotne dodatnie między wysokim poziomem danej katecholaminy a jej receptorami reguluje bowiem poziom dopaminy w mózgowiu samców szczurów, a noradrenaliny u samic. Dodatkowo, zwraca się uwagę na to, iż gen *Sry* (znajdujący się na chromosomie Y) reguluje działanie hydroksylazy tyrozynowej (TH), potrzebnej do syntezy dopaminy, co wskazuje na różnice płciowe w jej metabolizmie. Ponadto, embriony samic szczurów cechują się wyższą liczbą komórek dopaminergicznych w obrębie śródmózgowia, a z kolei analiza morfometryczna wykazała, że to neurony dopaminergiczne embrionów samców są większe.

Tab. 2. Porównanie różnic w układzie serotonergicznym w wybranych strukturach ośrodkowego układu nerwowego, na podstawie Ngun i in. 2011. Objasnienia: 5-HT – serotonina, 5-HT1A – receptor serotonergiczny 1A, 5-HTT – transporter serotoniny.

Struktura mózgowia	Kobiety	Mężczyźni
prążkowie	wyższa dostępność 5-HTT	niższa dostępność 5-HTT
podwzgórze	niższa ekspresja mRNA 5-HT1A	wyższa ekspresja mRNA 5-HT1A
j. brzuszno-przysrodkowe podwzgórze	niższa ekspresja mRNA 5-HT1A	wyższa ekspresja mRNA 5-HT1A
ciało migdałowe	wyższy poziom 5-HT pozakomórkowej po działaniu bodźca lękowego	niższy poziom 5-HT pozakomórkowej po działaniu bodźca lękowego
j. środkowe ciała migdałowego	niższa ekspresja mRNA 5-HT1A	wyższa ekspresja mRNA 5-HT1A
hipokamp	wyższa ekspresja mRNA 5-HT1A	wyższa ekspresja mRNA 5-HT1A
jądra szwu	niższy poziom syntezy 5-HT	wyższy poziom syntezy 5-HT
pień mózgu	wyższa dostępność 5-HTT	niższa dostępność 5-HTT

Polimorfizm genów kodujących obydwie typy hydroksylazy tryptofanowej (TPH; TPH1 funkcjonuje w metabolizmie obwodowo, TPH2 w OUN), regulowanych poziomem estrogenów i testosteronu również mają ogromne znaczenie. Allel TPH218C jest skorelowany nie tylko z ryzykiem wystąpienia depresji u mężczyzn i u kobiet, dodatkowo jest związany z niskim poziomem tryptofanu w osoczu kobiet chorujących na depresję. Inne allele tego genu odgrywają rolę w rozwoju depresji poporodowej (Porter i in. 2008).

Co ciekawe, również mikrobiom jelitowy może wpływać w sposób zupełnie odmienny na behavior i zmiany neuroanatomiczne w zależności od płci. Badania kohortowe na myszach typu *germ-free* (hodowanych w możliwie jak najbardziej sterylnych, izolowanych warunkach, w celu ograniczenia i kontroli bakterii ich mikrobiomu; GF) i konwencjonalnie hodowanych szczepu Swiss Webster (Clarke i in. 2012) wykazało, iż istnieją znaczne różnice nie tylko ze względu na status mikrobiologiczny flory bakteryjnej myszy, płęć również była czynnikiem kontrastującym. W przypadku analizowanego przez badaczy poziomu ekspresji genu kodującego neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (gen *Bdnf*) w hipokampie znaczny spadek wykryto tylko w przypadku samców typu GF, w porównaniu do myszy kontrolnych (z hodowli konwencjonalnych). Ponadto, samce GF charakteryzowały się wyższym stężeniem serotoniny i kwasu 5-indoloctowego

w tkance hipokampa w porównaniu do innych samców z grupy kontrolnej, co było bardzo zbliżone do wyników samic z grupy kontrolnej i eksperymentalnej (GF). Kolejnym elementem różnicującym był poziom dostępnego tryptofanu w osoczu. Samce GF cechowały się istotnie wyższym poziomem tego aminokwasu w porównaniu do kontroli, u samic GF było podobnie. U obu płci z kolei doszło do obniżenia stosunku kynurenina/tryptofan w porównaniu do ich mikrobiologicznie kompletnych odpowiedników, co wskazuje na odmienny metabolizm tryptofanu u osobników pozbawionych mikroflory bakteryjnej. Wyniki testu badającego zachowanie lękowe wskazały na obniżony poziom lęku u myszy GF, jednak zmiany te były odwracalne – umieszczenie 3 tygodniowych szczurów GF w klatkach ze ściółką z kałem pobranymi z klatek konwencjonalnie hodowanych myszy, znormalizowało ich reakcje, co sugeruje, iż potencjalnym kierunkiem terapii zaburzeń lękowych może zostać właśnie manipulacja mikrobiomem jelitowym.

4. Podsumowanie i wnioski

Różnice w funkcjonowaniu organizmu zależnie od płci nie ograniczają się tylko do klasycznie rozpatrywanych w tym kontekście sterydowych hormonów gonadalnych, czy roli środowiska w kształtowaniu psychiki, ale jego wpływ na organizm jest również kontrolowany genetycznie i metabolicznie. Od tych różnic może zależeć skuteczność prowadzenia terapii nie tylko chorób psychicznych, lecz także np. otyłości związanej z zespołem metabolicznym (Mangge i in. 2014), czy intensywności objawów zespołu jelita drażliwego (Fitzgerald i in. 2008). Badania dowodzą, że hormony płciowe mogą wpływać na ekspresję genów transporterów serotoniny, co z kolei przekłada się na dostępność tryptofanu i jego metabolitów (Sontachalert i in. 2018). Szczegółowe badania metabolizmu poszczególnych szlaków transmitterów są niezwykle ważne w aspekcie zapadalności na zaburzenia psychiczne, takie jak bulimia, anoreksja, czy depresja i zaburzenia lękowe, a także wiele innych schorzeń bardziej uderzających w jedną płęć. Ważne jest także poszukiwanie nowych perspektyw terapii – takim kierunkiem może okazać się dogłębna analiza coraz bardziej popularnego mikrobiomu jelitowego i osi jelitowo-mózgowej, nie tylko względem różnic obserwowanych w przypadku osób chorych, a wpływ różnic w metabolizmie osobniczym w ogóle. Diagnostyka i leczenie wielu chorób często pomijają różnice międzypłciowe, jednak ta tematyka cieszy się coraz większym zainteresowaniem w wielu dziedzinach. Jest to kolejny krok w kierunku zindywidualizowania podejścia do terapii i poprawy stanu zdrowia pacjentów.

5. Piśmiennictwo

- Askenazy F, Candito M, Caci H i in. (1998) Whole blood serotonin content, tryptophan concentrations, and impulsivity in anorexia nervosa. *Biological Psychiatry*. 43: 188-195.
- Barnes NM, Sharp T (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*. 38:1083–1152.
- Byrd AL, Manuck SB (2014) MAOA, childhood maltreatment, and antisocial behavior: analysis of gene environment interaction. *Biological Psychiatry*. 75:9–17.
- Clarke G, Grenham S, Scully P i in. (2012) The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry*. 18(6):666-673.
- Frazier TW, Strauss M, Klingemier EW i in. (2017) A meta-analysis of gaze differences to social and nonsocial information between individuals with and without autism. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 56:546-555.
- Fitzgerald P, Cassidy Eugene M, Clarke G i in. (2008) Tryptophan catabolism in females with irritable bowel syndrome: relationship to interferon-gamma, severity of symptoms and psychiatric comorbidity. *Neurogastroenterology & Motility*. 20:1291–1297.
- Hull L, Mandy W, Petrides KV (2017) Behavioural and cognitive sex/gender differences in autism spectrum condition and typically developing males and females. *Autism SAGE*. 21:706-727.
- Konopacki J, Kowalczyk T, Bocian R, red. (2017) *Podstawy fizjologii zwierząt*. Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego.

- Kroeze WK, Kristiansen K, Roth BL (2002) Molecular biology of serotonin receptors – structure and function at the molecular level. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2: 507-528.
- Loi M, Koricka S, Lucassen PJ i in. (2014) Age- and sex-dependent effects of early-life stress on hippocampal neurogenesis. *Frontiers Endocrinology*. 5:13.
- Mange H, Summers KL, Meinitzer A, i in. (2014) Obesity-related dysregulation of the tryptophan-kinurenine metabolism: role of age and parameters of the metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)*. 22: 195-201.
- Ngun TC, Ghahramani N, Sánchez FJ i in. (2011) The genetics of sex differences in brain and behavior. *Frontiers Neuroendocrinology*. 32(2): 227–246.
- Perry LM, Goldstein-Piekarski AN, Williams LM (2017) Sex differences modulating serotonergic polymorphisms implicated in the mechanistic pathways of risk for depression and related disorders. *Journal of Neuroscience Research*. 95:737–762.
- Porter RJ, Mulder RT, Joyce PR i in. (2008) Tryptophan hydroxylase gene (TPH1) and peripheral tryptophan levels in depression. *Journal of Affective Disorders*. 109:209–212.
- Richard DM, Dawes MA, Mathias CW i in. (2009) L-tryptophan: basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *International Journal of Tryptophan Research*. 2: 45–60.
- Silber BY, Schmitt JA (2010) Effects of tryptophan loading on human cognition, mood, and sleep. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 34:387–407.
- Songtchalert T, Roomruangwong C, Carvalho AF i in. (2018) Anxiety disorders: sex differences in serotonin and tryptophan metabolism. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 18(19):1704–1715.
- Wang Q, Liu D, Song P i in. (2016) Deregulated tryptophan-kinurenine pathway is linked to inflammation, oxidative stress, and immune activation pathway in cardiovascular diseases. *Frontiers in Bioscience (Landmark)*. 20:1116–1143.

23. Neurotoksykologia

Neurotoxicology

Katarzyna Stelmasiak⁽¹⁾, Ewelina Szwedo-Brzozowska⁽¹⁾, Magdalena Ogórek⁽¹⁾, Adriana Zasybska⁽¹⁾, Magdalena Borówka⁽¹⁾, Anna Szkatuła-Łupina⁽²⁾, Paweł Halczuk⁽¹⁾

⁽¹⁾Katedra i Klinika Neurologii Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 4 w Lublinie, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Katedra i Klinika Otolaryngologii Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 4 w Lublinie, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: Agnieszka Korchut

Stelmasiak Katarzyna: kastelmasiak@gmail.com

Słowa klucze: zatrucie, układ nerwowy, toksyny

Streszczenie

Wiele osób codziennie ma styczność z neurotoksynami, często o tym nie wiedząc. Wśród substancji potencjalnie szkodliwych znajdują się m.in. leki, metale ciężkie, środki ochrony roślin, dodatki do żywności używki i rozpuszczalniki. Zatrucia układu nerwowego często przybierają niecharakterystyczny obraz kliniczny, ich rozpoznanie jest utrudnione przez brak swoistych metod diagnostycznych, a konsekwencje mogą mieć trwały charakter, dlatego w przypadku podejrzenia zatrucia istotne jest wyjątkowo dokładne zabrańie wywiadu i badanie przedmiotowe pacjenta.

1. Wstęp

Narażenia na zatrucia układu nerwowego (UN) stanowią w ostatnim czasie gorący, szeroko dyskutowany temat w mediach. Często podejmuje się temat korelacji narażenia na zatrucie związkami rtęci i innych metali ciężkich a wystąpieniem zaburzeń zachowania, zaburzeń ze spektrum autyzmu lub choroby Alzheimera. Jak dotąd nie udowodniono takiego związku przyczynowo-skutkowego, co nie stanowi przeszkody do szerzenia dezinformacji dla wielu osób. Lekarze w swojej codziennej pracy zawodowej bardzo często stykają się z wieloma pytaniami z tego zakresu, dlatego warto znać zarówno charakterystykę zatruc poszczególnymi substancjami, jak i ostatnie doniesienia w tym temacie.

2. Opis zagadnienia i przegląd literatury

Postawienie diagnozy toksycznego uszkodzenia UN wymaga wyjątkowo dokładnego zebrania wywiadu i starannego badania przedmiotowego. Należy wziąć pod uwagę m. in. skład, dawkę oraz liczbę podejrzaną substancji, a także ostatnie dane epidemiologiczne. Należy zwrócić uwagę na czas ekspozycji, okres pomiędzy ekspozycją a wystąpieniem objawów, wrażliwość człowieka na określone substancje, która również może być osobniczo zmienna, a także możliwość wystąpienia kaskady objawów oraz efektów psychologicznych. Należy ustalić ponad wszelką wątpliwość możliwość wystąpienia narażenia na daną substancję oraz wykluczyć inne przyczyny wystąpienia charakterystycznego zespołu objawów. Objawy mogą być nieswoiste, maskowane przez choroby współistniejące, niekoniecznie przyjmują typowy obraz sugerujący uszkodzenie UN, a wyniki badań laboratoryjnych krwi mogą być prawidłowe lub jedynie w niewielkim stopniu przekraczać ustaloną normę. W ustaleniu rozpoznania pomocne bywają próbki zanieczyszczonej wody, gleby lub powietrza, badania laboratoryjne krwi, analiza włosów i paznokci, badania neuroobrazowe, które niestety mają w przypadku zatruc układu nerwowego niską czułość, a także badania przewodnictwa nerwowego (ENG) i elektromiograficzne (EMG), które jest bardzo istotne w przypadku uszkodzenia obwodowego układu nerwowego. Najczęściej zatrucia układu nerwowego przybierają obraz ostrej lub przewlekłej encefalopatii, zespołów mózdkowych, pozapiramidowych, neuropatii obwodowej oraz uszkodzeń nerwów czaszkowych. W ostrej encefalopatii obserwujemy śpiączkę, stupor, splątanie, senność lub hiperaktywność, zaburzenia pamięci i zachowania, natomiast

w przewlekłej dominuje obraz otępienia, z możliwym towarzyszącym drżeniem. Neuropatia obwodowa zwykle przybiera obraz polineuropatii czuciowo-ruchowej zwłaszcza odsiebnych części kończyn, nierzadko z towarzyszącymi parestezjami. Wśród uszkodzeń nerwów czaszkowych najczęściej obserwuje się uszkodzenie nerwu wzrokowego (II), nieco rzadziej dochodzi do uszkodzenia włókien czuciowych nerwu trójdzielnego (V). Wśród substancji potencjalnie neurotoksycznych możemy wyróżnić leki, używki, substancje biologiczne, metale ciężkie, rozpuszczalniki, promieniowanie, środki ochrony roślin w tym herbicydy, insektycydy, rodentycydy i fungicydy, dodatki do żywności i zanieczyszczenia powietrza.

2.1 Metale ciężkie

Ołów

Związki ołowiu mogą uszkadzać dehydratazę kwasu delta-aminolewulinowego, oksydazę koproporfirynową i ferrochelatazy, czyli enzymy sulfhydrylowe biorące udział w syntezie hemu, czego efektem jest gromadzenie się we krwi i moczu kwasu delta-aminolewulinowego, koproporfiryny III oraz protoporfiryny cynkowej. Funkcja cytochromu P450 w wątrobie, mitochondrialnej oksydazy cytochromu c oraz innych enzymów zawierających hem zostaje znacząco zaburzona, jak również metabolizm komórkowy poprzez uszkodzenie sprzężonej z wapniem ATP-azy, kanałów wapniowych i enzymów aktywowanych przez wapń.

Zatrucia ołowiem częściej występują w formie przewlekłej niż ostrej, wywołując wówczas uszkodzenie zarówno ośrodkowego, jak i obwodowego układu nerwowego, kiedy to mogą imitować chorobę neuronu ruchowego. Ostra encefalopatia ołowicza może zostać wywołana przez łąknięcie opaczne, częściej u dzieci. Narażenie na zatrucie ołowiem w dzieciństwie może skutkować tendencją do zachowań agresywnych i kryminalnych w dorosłości, co koreluje również z mniejszą objętością istoty białej mózgowia (Beckwith 2018). U osób dorosłych może być spowodowane przez narażenie zawodowe w postaci lutowania, pracy przy produkcji karoserii samochodowych, baterii, wytopiania metalu, produkcji farb, rur wodociągowych, pocisków ołowianych, użycia insektycydów, ale także nielegalnej produkcji alkoholu i waczenia benzyny. Osoby dorosłe z przewlekłym zatruciem ołowiem, kiedy stężenie Pb wynosi 25-60ug/dl zgłaszają bóle głowy, obniżenie nastroju, drażliwość, wydłużenie czasu reakcji (Shvachiy i in. 2018), co należy różnicować przede wszystkim z zakażeniami grypopodobnymi, a także kolką nerkową i ostrą porfirią przerywaną. Przy przewlekłym utrzymywaniu stężenia Pb we krwi powyżej 60ug/dl może wystąpić osłabienie siły mięśniowej, a w dalszym etapie zaniki mięśni odsiebnych części kończyn. U dzieci stężenie Pb we krwi powyżej 80ug/dl skutkuje rozwinięciem ciężkiej encefalopatii ołowicznej ze splątaniem, stuporem lub śpiączką, napadami padaczkowymi i ataksją. Przy podejrzeniu ekspozycji na ołów należy zbadać jego stężenie we krwi, gdyż jego poziom jest znacznie stabilniejszy niż w moczu. U osób zdrowych nie powinno ono przekraczać 5ug/dl, choć niektórzy uważają stężenia na poziomie 30ug/dl lub 50ug/dl za bezpieczne. Powyżej 70ug/dl występuje wysokie ryzyko neuropatii obwodowej. Stężenie ołowiu w moczu nie powinno przekraczać 150ug/g kreatyniny. W przypadku podejrzenia autyzmu, zespołu deficytu uwagi, zaburzeniami rozwoju zwłaszcza umysłowego i problemów językowych u dzieci zaleca się badanie stężenia ołowiu i protoporfiryny cynkowej we krwi oraz kwasu aminolewulinowego w moczu. W morfologii krwi obwodowej niepokojąca jest niedokrwistość i bazofilne nakrapianie erytrocytów. W badaniu ENG zwraca uwagę obniżenie szybkości przewodzenia.

W terapii stosuje się dekontaminację i leczenie wspomagające pod postacią mannitolu i kortykosteroidów dożylnie oraz ostrożne podawanie substancji chelatujących, których nie podaje się przy stężeniach niższych niż 40ug/dl we krwi. Można zastosować w tym celu sól dwusodowa kwasu etylenodiamnotetraoctowego (EDTA) w dawce 30mg/kg masy ciała raz na dobę, dimerkaprol lub kwas 3-dimerkaptobursztynowy (DMSA).

Rtęć

Rocznie wydobywa się około 10 tys. ton i uwalnia do atmosfery 2-3 tys. ton rtęci. Rtęć występuje w postaci metalicznej, związków organicznych i nieorganicznych, które mogą się przekształcać w siebie nawzajem. Głośne epidemiczne zatrucia to m.in. choroba z Minamaty, czyli zatrucie około 2,5 tys. osób w Japonii rybami skażonymi metylortęcią i "szaleństwo kapeluszników"

czyli zatrucie azotanem rtęci wytwórców kapeluszy piłśniowych. Do zatruc dochodzi również wskutek nieprawidłowego użycia termometrów, uszkodzenia amalgamatów rtęciowych i przy wykorzystaniu starych technik fotograficznych. W przypadku ostrego zatrucia obserwuje się bóle głowy, drżenie, encefalopatię i napady padaczkowe, natomiast przy zatruciach przewlekłych dochodzi do wystąpienia neuropatii obwodowej czuciowo-ruchowej, parkinsonizmu, encefalopatii z otępieniem, dyzartrii i subklinicznych zaburzeń neuropsychicznych. Objawy zatrucia zależą od struktury chemicznej związków rtęci, związki krótkołańcuchowe takie jak metylortęć i etylortęć łatwiej wnikają do OUN kumulując się w korze mózgu, mózdzku i nerwach obwodowych powodując parestezje, drżenie, ataksję, spastyczność, ograniczenie pola widzenia i eretyzm, czyli zespół objawów, na który składa się m.in. nieśmiałość, nerwowość, bezsenność, problemy emocjonalne, trudności ze skupieniem i problemy pamięciowe (Farina i Aschner 2017). Ekspozycja na związki rtęci w okresie prenatalnym może skutkować ciężkimi wadami wrodzonymi, jak mikrognacja, mikrocefalia, ślepotą, zaburzenia funkcji ruchowych i znaczące opóźnienie rozwoju umysłowego. Udowodniono, że populacja spożywająca ryby z Amazonki skażone niewielkimi ilościami metylortęci w długiej obserwacji cierpi z powodu zaburzeń widzenia, w tym pogorszenia kontrastu, spostrzegania kolorów i ograniczenia pola widzenia (Feitosa-Santana i in. 2018). Stężenie Hg we krwi zdrowego człowieka nie przekracza 10-20ug/l, a w moczu 20ug/l, choć niektórzy badacze alarmują, że nawet najmniejsza obecność rtęci we krwi może być fatalna w skutkach.

W terapii stosuje się dekontaminację i chelatację, dimerkaprol domięśniowo 3-5mg/kg m.c. co 4 godziny przez pierwszy dzień, w drugim dniu co 12 godzin, a następnie raz dziennie. Można stosować również kwas 2,3-dimerkaptobursztynowy I 2,3-dimerkatpopropanosulfonian.

Arsen

Zatrucie arsenem stanowi problem globalny, gdyż jego związki przedostające się z naturalnych źródeł geologicznych i kopalń do ujęć wody na terenie np. Bangladeszu są odpowiedzialne za zatrucie dziesiątków milionów ludzi, powodując m.in. zmiany neurodegeneracyjne i upośledzenie funkcji umysłowych (Escudero-Lourdes 2016). Arsen jest obecny również w owocach morza, pestycydach, barwnikach, farbach, istnieje ryzyko zatrucia nim podczas galwanizacji i wytapiania metali. Ostre zatrucie objawia się encefalopatią, może mieć charakter wieloukładowy z krwawą biegunką, wymiotami, niewydolnością nerek, zaburzeniami rytmu serca, spadkiem wartości ciśnienia tętniczego, mioglobinurią, śpiączką, a nawet może mieć skutek śmiertelny. Po 7-14 dniach pojawiają się trwałe poprzeczne białe bruzdowania na paznokciach, tzw. linie Meesa i polineuropatia czuciowo-ruchowa typu demielinizacyjnego z przewagą niedowładu w kończynach dolnych, może również dojść do upośledzenia funkcji umysłowych. Przy zatruciu przewlekłym może dojść do rozwoju nie tylko do neuropatii obwodowej na tle uszkodzenia aksonów z wtórną demielinizacją, ale również nowotworów różnych okolic ciała. Może także przebiegać pod postacią tzw. choroby czarnych stóp z zaburzeniami naczyniowymi i martwicą. Celem potwierdzenia zatrucia arsenem oznacza się jego stężenie w moczu, które u zdrowego człowieka nie przekracza 75ug/dl. Próby stosowania analizy włosów nie powiodły się.

W terapii stosuje się dimerkaprol, w przypadku braku dostępności mniej skuteczną penicylaminę, a w razie potrzeby hemodializy.

Tal

Możliwość zatrucia talem istnieje w przypadku pracy w przemyśle ciężkim, natomiast w przeszłości z uwagi na jego powszechne zastosowanie w produkcji rodentycydów był to częsty problem medyczny. W ostrym zatruciu dominują objawy żołądkowo-jelitowe, ale również splątanie i halucynacje, po kilku tygodniach w obrazie klinicznym zaczynają pojawiać się cechy polineuropatii z parestezjami, a następnie encefalopatii z choreoatetozą i ruchami mimowolnymi, miokloniami, zaburzeniami depresyjnymi, lękowymi i pogorszeniem funkcji pamięciowych (Tsai 2006). Najbardziej charakterystycznym objawem, występującym po 1-3 tygodniach od narażenia jest łysienie, a przy przewlekłym zatruciu dochodzi do zapalenia skóry. Z uwagi na szybkie wchłanianie się talu do wnętrza komórek oznaczenie jego stężenia we krwi jest bezcelowe, dla monitorowania zatrucia oznacza się jego stężenie w moczu, które nie powinno przekraczać 0,8ug/l. Można również

oznaczyć jego stężenie we krwi lub w moczu po podaniu 45mEq chlorku potasu doustnie, który wykazuje szybkie działanie wypierające tal z komórek, jest to próba prowokacyjna.

W leczeniu ostrego zatrucia stosuje się środki przeczyszczające, roztwór chlorku potasu i diurezę forsowaną celem przyspieszenia wydalania talu z moczem i kałem, a celem opóźnienia wchłaniania błękit pruski i węgiel aktywowany.

Mangan

Ryzyko zatrucia manganem stanowi problem głównie wśród pracowników przemysłu żelaznego, osób zajmujących się wydobywaniem, wytopianiem i spawaniem metali, osób pracujących w produkcji fajerwerków, suchych baterii oraz nawozów sztucznych. W ostrym zatruciu dominuje obraz encefalopatii, natomiast w przewlekłym narażeniu objawy imitują chorobę Parkinsona z dodatkowymi zaburzeniami zachowania i upośledzeniem funkcji poznawczych nawet w stopniu głębokim. Badanie przeprowadzone na grupie brazylijskich dzieci narażonych na długotrwałą styczność ze związkami manganu wykazały jego wpływ na obniżenie poziomu inteligencji i zwiększenie częstości zaburzeń zachowania (Carvalho i in. 2018).

Terapia lewodopą i związkami chelatującymi ma dość niską skuteczność.

Glin

Przez wiele lat podejrzewano gromadzenie glinu w splotach neurofibrylarnych o rozwój choroby Alzheimera, jednak ostatecznie nie udało się udowodnić tej teorii (Bondy 2016). Zatrucie glinem może wystąpić podczas dializ, dochodzi wówczas do rozwinięcia tzw. otępienia dializacyjnego, któremu można zapobiegać poprzez zmianę składu płynu dializacyjnego. Wzrost stężenia glinu wykazano również w mocznicy. Pracownicy przemysłu metalurgicznego bez odpowiedniej wentylacji są narażeni na wystąpienie tzw. porażenia wytapiaczy, czyli parestezji, drżenia, ataksji i niedowładów kończyn oraz zaburzeń pamięci.

2.2 Pestycydy

Związki fosforoorganiczne stosowane w rolnictwie i ogrodnictwie stanowią zagrożenie dla osób je stosujących oraz pracujących przy ich produkcji. Są to związki łatwo rozpuszczalne w tłuszczach, ulegające szybkiemu wchłonięciu nie tylko po spożyciu, ale także podczas wdychania i w kontakcie ze skórą. Mają silne działanie hamujące na acetylocholinesterazę, dzięki czemu w pierwszym stadium zatrucia dochodzi do wystąpienia ostrego przełomu cholinergicznego z efektami z receptorów nikotynowych, czyli osłabieniem siły mięśni kończyn, fasykulacjami, tachykardią i efektami z receptorów muskarynowych, czyli zwięzieniem źrenic, ślinieniem i gwałtownym łzawieniem, a także wysokim ryzykiem wystąpienia napadów padaczkowych, ataksją i zaburzeniami świadomości prowadzącymi do śpiączki. Drugie stadium zatrucia występuje po 2-4 dniach od narażenia i jest nazywane zespołem pośrednim. W tym czasie niedowłady ulegają nasileniu, zwłaszcza w odcinkach proksymalnych kończyn, zajmując również mięśnie twarzy, szyi i tułowia wraz z mięśniami oddechowymi, niosąc za sobą bezpośrednie zagrożenie życia. U osób, które przeżyją po 1-5 tygodniach rozwija się trzecie stadium, czyli późna neuropatia ruchowa, możliwa jest postać ruchowo-czuciowa z parestezjami w efekcie zaburzenia transportu aksonalnego i mechanizmu wstecznego obumierania aksonu (dying back). W trzecim etapie objawy przypominają stwardnienie zanikowe boczne, jednak przebieg obu chorób znacznie się różni. Ponadto wg ostatnich doniesień wieloletnie narażenie na niewielkie stężenia pestycydów znacząco zwiększa częstość zachorowań na padaczkę (Requena i in. 2018).

Istnieje możliwość określenia stężenia substancji i ich metabolitów we krwi oraz moczu celem potwierdzenia zatrucia, jak również metody pośredniej w postaci pomiaru aktywności cholinesterazy w erytrocytach lub osoczu.

W terapii zatruc należy zwrócić szczególną uwagę na udzielenie pierwszej pomocy w postaci zdjęcia odzieży i dokładnego przemycia skóry w przypadku obłania płynnym środkiem. W razie potrzeby można zastosować płukanie żołądka, udrożnić drogi oddechowe i monitorować parametry życiowe chorego. Odtrutką na związki fosforoorganiczne jest atropina podawana podskórnie w dawce 0,5-1mg co 15 minut do uzyskania rozszerzenia źrenic, suchości skóry i śluzówek, zaczerwienienia skóry twarzy. Chorym w stanie ciężkim można podawać oksymy, np. 2-chlorek pralidoksymu

fosfodiesterazy w ciągłym wlewie dożylnym możliwie szybko od chwili narażenia, celem przywrócenia aktywności acetylocholinesterazy.

2.3 Lotne związki organiczne

W grupie lotnych związków organicznych mogących wywołać zatrucie UN wyróżnia się węglowodory alifatyczne i aromatyczne, alkohole, ketony, azotany alifatyczne, estry, substancje stosowane w premedykacji znieczulenia ogólnego, rozpuszczalniki chlorowcoorganiczne i nośniki aerozoli. Wśród węglowodorów aromatycznych szczególną uwagę zwraca toluen powodujący trwałe uszkodzenia mózgu i mózdzku. Węglowodory alifatyczne takie jak n-heksan i metylo-n-butylketon stosowane w przemyśle farbiarskim, glazurnictwie i lakiernictwie, w środkach odtłuszczających, czyszczących, klejach w tym klejach do wyrobu obuwia, a także w klejach używanych do wachania celem odurzania się wywołują efekt znieczulenia i uśpienia w zatruciu ostrym oraz trwałe neuropatie obwodowe i ataksję początkowo kończyn dolnych, następnie górnych, w zatruciach przewlekłych. Objawy wymagają różnicowania z zespołem Guillaina-Barrego, jednak należy pamiętać o tym, że w badaniu ENG oba schorzenia są opisywane jako uszkodzenie typu demielinizacyjnego. W badaniu histopatologicznym widoczny jest obrzęk neurofilamentów aksonalnych i zwyrodnienie dystalnych części aksonów. Inne rozpuszczalniki takie jak akrylamid, bromek metylu czy dwusiarczek węgla stosowany przy wyrobie sztucznego jedwabiu, w przemyśle tekstylnym i gumowym, glazurnictwie i wyrobie cementu oraz galwanizacji wywołują objawy encefalopatii w przypadki zatrucia ostrego oraz neuropatii i objawów imitujących zespoły parkinsonowskie w przypadku zatruc przewlekłych. Węglowodory halogenowane jak m.in. chloroform czy chlorek metylenu powodują uszkodzenie błon komórkowych neuronów i zaburzenia przewodnictwa nerwowego. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż efekt toksyczny rozpuszczalników jest nasilany przez inne lotne związki znajdujące się często w tym samym produkcie.

2.4 Tlenek węgla (CO)

Zatrucie CO stanowi istotne zagrożenie w wielu gospodarstwach domowych szczególnie w okresie grzewczym, jak również dla osób korzystających z grzejników paliwowych i pracujących z użyciem włączonych silników samochodowych. CO dzięki wyższemu powinowactwu do hemoglobiny niż cząsteczki tlenu bezpośrednio uszkadza struktury komórkowe wywołując niedotlenienie tkanek. CO wiąże się również z mioglobina i oksydazą cytochromu c. W ostrym zatruciu CO objawy mogą mieć łagodny charakter przypominający infekcję wirusową jak złe samopoczucie, ból i zawroty głowy, nudności, duszność i trudności z koncentracją lub ciężki, ze śpiączką i nawet zgonem. U części osób w ciągu 3-240 dni po wystąpieniu zatrucia rozwija się charakterystyczny zespół neuropsychiczny z zaburzeniami osobowości, zespołem otępiennym i objawami psychotycznymi (Sun i in. 2018), u innych może dojść do uszkodzenia mózdzku i rozwoju zespołu parkinsonowskiego. Uszkodzenie mózgu może zostać uwidocznione dzięki badaniom neuroobrazowym jak TK, MRI i spektroskopii MR, a w badaniu histopatologicznym opisywana jest wieloogniskowa martwica mózgu oraz uszkodzenie mieliny zwłaszcza w korze mózgowej i gałce bladej. W rozpoznaniu można wspomóc się oznaczeniem stężenia karboksyhemoglobiny (COHb), które u osób niepalących nie powinno przekraczać 5%, a u palaczy papierosów norma jest podniesiona do 12%, przy czym pamiętając o czasie, w jakim chory pokonuje drogę do szpitala nie można wykluczyć zatrucia CO również przy prawidłowych stężeniach COHb we krwi.

Pierwszą czynnością podjętą w terapii zatrucia CO jest podaż 100% tlenu przez maskę bez rezerwuaru do czasu spadku poziomu COHb poniżej 10%, takie działanie powoduje udowodniony efekt skrócenia połowicznej eliminacji COHb z 4-5 godzin do 1-2 godzin. Jeszcze bardziej efektywnie działa stosowanie tlenu w komorze hiperbarycznej, skracając okres połowicznej eliminacji COHb do nawet 20 minut, dlatego ta metoda jest coraz chętniej stosowana, zwłaszcza w przypadku śpiączki.

2.5 Podtlenek azotu (N₂O)

N₂O stosowany celem znieczulenia w gabinetach stomatologicznych może być przyczyną zatrucia w przypadku wadliwej wentylacji lub przy celowym odurzaniu się. Zespół objawów przy zatruciu tymże został opisany przez Layzera, stąd nazwa zespołu Layzera, w skład którego wchodzi

parestezje, objaw Lhermitta, ataksja, parapareza, zaburzenia funkcji zwieraczy. W badaniu ENG widoczne są cechy polineuropatii czuciowo-ruchowej części typu aksonalnego, często z zajęciem tylnych i bocznych sznurów rdzenia kręgowego, tak jak w zespołach z niedoboru witaminy B12. W badaniach laboratoryjnych krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego nie stwierdza się charakterystycznych odchyień. W kilka tygodni po zaprzestaniu nadużywania N2O objawy ustępują.

2.6 Toksyny pochodzenia zwierzęcego i roślinnego

W rejonach subtropikalnych morski zespół neurotoksyczny lub ciguatera występuje endemicznie, jednak transport żywności umożliwia zatrucie rybami żyjącymi na rafach koralowych również w innych częściach świata. Początkowe objawy ostrego zatrucia dotyczą przewodu pokarmowego, następnie odczuwane są parestezje, świąd skóry i paradoksalne zaburzenia odczuwania temperatury, a w dalszym etapie bóle mięśniowe, fasykulacje, szczękościsk, skurcze mięśni kończyn, a nawet niewydolność oddechowa. W badaniu ENG u chorego szybkość przewodzenia jest zwolniona, jednak nie dysponujemy wiarygodnymi i swoistymi metodami diagnostycznymi, wobec czego leczenie jest jedynie objawowe.

Zatrucie owocami morza, a dokładniej obecną w mięczakach saksytoksyną blokującą kanały sodowe ma znacznie bardziej burzliwy przebieg, częściej prowadzi do niewydolności oddechowej i jest obarczone wyższym ryzykiem zgonu z powodu jej działania neurotoksycznego, genotoksycznego, wzmagającego proces stresu oksydacyjnego i apoptozy (da Silva i in. 2014). Towarzyszy mu ataksja mózdkowa, w badaniu ENG nie obserwuje się typowych odchyień, a leczenie pozostaje objawowe. Kwas domoikowy o działaniu agonistycznym do receptora glutaminergicznego występujący w małżach okazał się być odpowiedzialny za epidemię encefalopatii w 1987r.

Przypadkowe spożycie szaleju jadowitego bogatego w cykutoksynę, która ma możliwość przekraczania bariery krew-mózg, skutkuje sedacją, majaczeniem, halucynacjami i napadami padaczkowymi. Przeciwnie, neurodepresyjne działanie wykazuje andromedotoksyna znajdująca się w rododendronie. Częste spożywanie lędźwianu siewnego w okresach głodu, zawierającego beta-oksaloamino-L-alaninę o działaniu neuropobudzającym powoduje neurolatyryzm objawiający się paraparezą spastyczną. Maniok spożywany w Afryce w okresach suszy zawiera linamarynę, która po przekształceniu do cyjanków uszkadza komórki nerwowe i wywołuje paraplegię nazywaną chorobą konzo, z towarzyszącymi zaburzeniami słuchu, wzroku i dyzartrią.

2.7 Metanol

Osoby nadużywające etanolu niekiedy spożywają zamiast niego toksyczny metanol. Zatrucie nim objawia się początkowo zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi i stanem upojenia, jednak szybko może dojść do trwałego uszkodzenia wzroku, wystąpienia śpiączki, a przekształcenie metanolu do formaldehydu i kwasu mrówkowego powoduje kwasicę i w efekcie krwotoki oraz obrzęk w mózgu i narządach wewnętrznych, z wysokim ryzykiem zgonu. W terapii stosuje się etanol lub 4-metylopirazol celem zablokowania przemian metabolicznych metanolu na pierwszym etapie i wydaleniu go z moczem, a także hemodializy i wyrównywanie kwasicy.

3. Podsumowanie

Zatrucia układu nerwowego mogą przybierać niecharakterystyczny obraz kliniczny, dlatego w codziennej pracy lekarza należy zwracać szczególną uwagę na dokładne zebranie wywiadu oraz badanie przedmiotowe, i ocenić możliwe ryzyko styczności z neurotoksynami. Znajomość patomechanizmu zatruc i metod diagnostycznych oraz leczniczych wśród personelu medycznego może uchronić chorych przed trwałymi konsekwencjami zatruc, jak otępieniem, zespołem parkinsonowskim i polineuropatią mogącą prowadzić do niesprawności.

4. Literatura

Beckwith TJ, Dietrich KN, Wright JP et al. (2018) Reduced regional volumes associated with total psychopathy scores in an adult population with childhood lead exposure. *Neurotoxicology* 67:1-26.

- Bondy SC (2016) Low levels of aluminum can lead to behavioral and morphological changes associated with Alzheimer's disease and age-related neurodegeneration. *Neurotoxicology* 52:222-229.
- Carvalho CF, Oulhote Y, Mrtorelli M et al. (2018) Environmental manganese exposure and associations with memory, executive functions, and hyperactivity in Brazilian children. *Neurotoxicology* 69:253-259.
- Escudero-Lourdes C (2016) Toxicity mechanisms of arsenic that are shared with neurodegenerative diseases and cognitive impairment: Role of oxidative stress and inflammatory responses. *Neurotoxicology* 53:223-235.
- Farina M, Aschner M (2017) Methylmercury-Induced Neurotoxicity: Focus on Pro-oxidative Events and Related Consequences. *Advances in Neurobiology* 18:267-286.
- Feitosa-Santana C, Souza GDS, Sirius EVP et al. (2018) Color vision impairment with low-level methylmercury exposure of an Amazonian population - Brazil. *Neurotoxicology* 66:179-184.
- Requena M, Parron T, Navarro A et al. (2018) Association between environmental exposure to pesticides and epilepsy. *Neurotoxicology* 68:13-18.
- da Silva CA, de Moraes EC, Costa MD et al. (2014) Saxitoxins induce cytotoxicity genotoxicity and oxidative stress in teleost neurons in vitro. *Toxicon* 86:8-15.
- Shvachiy L, Geraldles V, Amaro-Leal A et al. (2018) Intermittent low-level lead exposure provokes anxiety, hypertension, autonomic dysfunction and neuroinflammation. *Neurotoxicology* 69:307-319.
- Stępień A red. (2015) *Neurologia* tom III. 379-383.
- Sun TK, Chen YY, Huang SH et al. (2018) Neurotoxicity of carbon monoxide targets caudate-mediated dopaminergic system. *Neurotoxicology* 65:272-279.
- Tsai YT, Huang CC, Kuo HC et al. (2006) Central nervous system effects in acute thallium poisoning. *Neurotoxicology* 27(2):291-295.

24. Zagrożenie wypaleniem zawodowym personelu medycznego

Danger of burnout by medical personnel

Dorota Szałabska⁽¹⁾, Sandra Kryśka^(3,4), Grajek Mateusz^(2,3), Sobczyk Karolina^(2,3), Działach Eliza⁽⁵⁾, Suchoń Przemysław⁽²⁾

⁽¹⁾ Studium doktoranckie Wydziału Nauk o Zdrowiu, SUM w Katowicach

⁽²⁾ Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, SUM w Katowicach

⁽³⁾ Studium doktoranckie AWF im. Jerzego Kukuczki w Katowicach

⁽⁴⁾ Śląska Wyższa Szkoła Medyczna w Katowicach

⁽⁵⁾ Zagłębiowskie Centrum Onkologii Szpital Specjalistyczny im. Sz. Starkiewicza w Dąbrowie Górniczej

Dorota Szałabska: dorota.szalabska@gmail.com

Słowa kluczowe: stres, kadra medyczna, psychika, przepracowanie

Streszczenie

Zespół wypalenia zawodowego to grupa charakterystycznych objawów zarówno psychicznych i somatycznych, które są następstwem przewlekłego stresu związanego z wykonywaniem pracy zawodowej. Jest to najbardziej popularne, ale nie jedyne określenie zespołu wypalenia zawodowego. Syndrom wypalenia stanowi konsekwencje długotrwałego przeciążenia emocjonalnego jednostki związanej z wykonywaną przez tą osobę pracą zawodową. Należy w tym miejscu również podkreślić, że zespół wypalenia zawodowego nie jest równoznaczny z przemęczeniem ani depresją, z którą bardzo często bywa utożsamiany. Problematyka zespołu wypalenia zawodowego wśród pracowników ochrony zdrowia była również tematem jednej z sesji na konferencji Europejskiej Federacji Stowarzyszeń Medycznych i Światowej Organizacji Zdrowia. Konferencja odbyła się w Oslo w Norwegii w dniach 11-12 marca 2005 r. Również tutaj podkreślono zwiększającą się skalę zjawiska wypalania się pracowników ochrony zdrowia, jego negatywne konsekwencje zarówno zdrowotne jak i ekonomiczne. Zwrócono także uwagę na działania profilaktyczne pomagające zminimalizować zagrożenie wystąpienia zespołu wypalenia zawodowego.

1. Zespół wypalenia zawodowego – informacje ogólne

Zespół wypalenia zawodowego to grupa charakterystycznych objawów zarówno psychicznych i somatycznych, które są następstwem przewlekłego stresu związanego z wykonywaniem pracy zawodowej (Siemińska i in. 2007). Jest to najbardziej popularne, ale nie jedyne określenie zespołu wypalenia zawodowego. Syndrom wypalenia stanowi konsekwencje długotrwałego przeciążenia emocjonalnego jednostki związanej z wykonywaną przez tą osobę pracą zawodową. Należy w tym miejscu również podkreślić, że zespół wypalenia zawodowego nie jest równoznaczny z przemęczeniem ani depresją, z którą bardzo często bywa utożsamiany.

Charakteryzowane schorzenie jest autonomiczną jednostką chorobową opisaną w Międzynarodowej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych (ang. *International Statistical Classification of Disease and Related Health Problems* – ICD-10). W klasyfikacji tej zespół wypalenia (Z73.0) zakwalifikowany został do czynników wpływających na stan zdrowia i kontakt ze służbą zdrowia (ICD-10 2000).

Zgodnie z najpopularniejszymi teoriami na rozwój zespołu wypalenia zawodowego wpływ ma wiele czynników. Do najważniejszych z nich zalicza się:

- trudne warunki pracy,
- złą organizację miejsca i czasu pracy,
- brak poczucia spełnienia zawodowego,
- zbyt duże oczekiwania stawiane sobie oraz współpracownikom,
- brak poczucia wsparcia ze strony bliskich, współpracowników, społeczeństwa,

- zarobki nieadekwatne do wykonanej pracy,
- brak poczucia spełnienia w życiu osobistym,
- niskie poczucie własnej wartości (Fengler 2001).

Pojawienie się wymienionych powyżej czynników nie determinuje pojawienia się z niedługim czasie pełnoobjawowego syndromu wypalenia. Zdaniem Ch. Maslach pełnoobjawowy zespół wypalenia zawodowego przejawia się u jednostki poprzez wystąpienie wszystkich spośród następujących objawów:

- wyczerpanie emocjonalne,
- depersonalizację,
- obniżenie potrzeby osobistych sukcesów (Sęk 2006).

Osoby z zespołem wypalenia zawodowego cechują się subiektywnym przeświadczeniem braku pomocy ze strony współpracowników. Uważają, że nie mogą liczyć na pomoc zespołu, że wszystko muszą robić sami, a sukces i tak jest przypisywany całemu zespołowi lub komuś innemu. Niektórzy z nich są wręcz przekonani o niechęci ze strony kolegów z pracy, jak również o tym, że są obarczani obowiązkami kolegów z zespołu (Fengler 2001).

Do innych charakterystycznych objawów zespołu wypalenia zawodowego zalicza się także:

- częstsze niż zazwyczaj występowanie różnego rodzaju objawów somatycznych,
- częstsze niż zazwyczaj absencje w pracy,
- apatię,
- chroniczne zmęczenie,
- frustrację,
- cynizm,
- sarkazm,
- częstsze niż zazwyczaj uleganie wypadkom przy pracy (Fengler 2001).

Zespół wypalenia zawodowego nie jest schorzeniem, które pojawia się nagle. Syndrom rozwija się powoli, a czas ten jest zależny jest od jednostki, jej indywidualnych predyspozycji i cech osobowości. Niemniej jednak zespół wypalenia zawodowego jest schorzeniem, które można podzielić na kilka zasadniczych faz. Zgodnie z założeniami przedstawionymi przez Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne (ang. *American Psychology Association* APA) wyróżnia się następujące fazy:

- fazę I – okres zauroczenia pracą zawodową, pełnej satysfakcji z osiągniętych efektów, entuzjazmu oraz pozytywnej energii i optymizmu,
- fazę II – okres przebudzenia, rozmycia się idealistycznych złudzeń w stosunku do pracy zawodowej, w czasie której jednostka zauważa, że musi wkładać w wykonywanie pracy i osiągnięcie zamierzonych efektów coraz więcej energii,
- fazę III – okres szorstkości, w czasie której jednostka zaczyna coraz częściej zauważać, że wykonywanie pracy zawodowej zaczyna przysparzać jej coraz więcej trudu i wymaga od jednostki coraz większych nakładów energii,
- fazę IV – okres ujawnienia się pełnoobjawowego zespołu wypalenia zawodowego,
- fazę V – okres powrotu do stanu sprzed ujawnienia się choroby, czas leczenia zespołu wypalenia (Kamrowska 2007).

Zdiagnozowanie zespołu wypalenia zawodowego nie jest zadaniem prostym. Może to wynikać z przeświadczenia, że jest to problem wstydlivy, o którym się nie mówi. Dodatkowym czynnikiem utrudniającym wczesne rozpoznanie zespołu wypalenia zawodowego jest mylne przeświadczenie jednostki o jej stanie. Bardzo często zespół wypalenia zawodowego mylony jest ze zmęczeniem spowodowanym przepracowaniem (Lief 1963). Zasadnicza różnica pomiędzy zwykłym przepracowaniem, a zespołem wypalenia polega na tym, że w przypadku przepracowania objawy najczęściej ustępują po krótkim wypoczynku, relaksie. Natomiast w przypadku zespołu wypalenia zawodowego objawy nawracają pomimo relaksu, kilkudniowego odpoczynku czy nawet dłuższego urlopu. Konieczne jest również różnicowanie zespołu wypalenia zawodowego z tak poważną, a wspomnianą już wcześniej, jednostką chorobową jaką jest depresja (Pines 1993).

W przypadku zespołu wypalenia zawodowego nie ma jednorodnych kryteriów diagnostycznych, dzięki którym można stwierdzić, że dana jednostka jest już wypalona lub jeszcze wypalona nie jest. Specjalista może jedynie ocenić stopień, w jakim u danej osoby rozwinęły się objawy zespołu wypalenia zawodowego. Ocena wystąpienia i stopnia zaawansowania syndromu wypalenia jest oceną bardzo indywidualną. Zdarza się bowiem, że czynniki, które powodują zespół wypalenia u jednych dla innych mogą być neutralne lub wręcz działać na nich mobilizująco (Świętochłowski 2001).

I to właśnie różnorakie działanie tych samych czynników ryzyka na różne osoby jest jedną z przyczyn niewielkiej skuteczności działań profilaktycznych w aspekcie zespołu wypalenia zawodowego. Nie można do wszystkich podchodzić jednakowo, z tym samym schematem działań profilaktycznych. Kolejną ważną przyczyną nieskuteczności działań profilaktycznych są duże trudności w ich realizacji. Jednym z czynników wpływających na rozwój syndromu wypalenia jest wysokość zarobków nieadekwatna do wysiłku i zaangażowania włożonego w wykonywaną pracę. W tym wypadku usunięcie tego czynnika czy chociażby jego zminimalizowanie jest działaniem niezwykle trudnym, wymagającym szeregu zmian, w wielu przypadkach niemożliwym (Wichowicz 2004).

W prawidłowo prowadzonej terapii syndromu wypalenia powinni brać czynny udział psychologowie, psychoterapeuci, a w niektórych przypadkach (np. gdy na podłożu zespołu wypalenia zawodowego doszło do rozwinięcia się ciężkiej depresji) również psychiatrzy. Ich zadaniem jest dobranie odpowiedniej terapii do stopnia zaawansowania syndromu wypalenia oraz predyspozycji jednostki. Najczęściej leczenie opiera się na psychoterapii, która ma za zadanie uświadomić jednostce problem, zrozumieć jego przyczyny i nauczyć się z nim walczyć. Dodatkowo podczas terapii dotknięci zespołem wypalenia zawodowego uczą się różnego rodzaju technik relaksacji, radzenia sobie ze stresem oraz organizacji czasu pracy. W niektórych, cięższych przypadkach psychoterapia wspomagana jest leczeniem farmakologicznym (zwłaszcza, gdy doszło do rozwinięcia się depresji) (Wichowicz 2004).

2. Występowanie zespołu wypalenia zawodowego u personelu medycznego

Personel medyczny – lekarze, pielęgniarki, ratownicy medyczni oraz sanitariusze – to zawody odpowiedzialne społecznie. Od decyzji przedstawicieli tych zawodów zależy zdrowie, a niekiedy również i życie innych. Od osób wykonujących wymienione zawody oczekuje się również dobrze rozwiniętych umiejętności społecznych. Dlatego też pracownicy sektora ochrony zdrowia są grupą zawodową w znacznym stopniu narażoną na wystąpienie zespołu wypalenia zawodowego (Musiańska 2004).

Wśród czynników predysponujących do wystąpienia zespołu wypalenia zawodowego u personelu medycznego można wyróżnić charakterystyczne warunki pracy i specyfikę zawodu. Lekarze, pielęgniarki oraz ratownicy medyczni niekiedy w ułamkach sekund, muszą podejmować decyzję dotyczące sposobu wykonania zabiegu, leczenia pacjenta czy interwencji, którą powinni podjąć. Pracują pod ciągłą presją czasu oraz konsekwencji podejmowanych decyzji (Orzechowska i in. 2008).

Kolejnym czynnikiem mogącym wpłynąć na wystąpienie zespołu wypalenia zawodowego jest konieczność nawiązywania bliskich relacji interpersonalnych z pacjentem i jego rodziną. Personel medyczny, szczególnie lekarze i pielęgniarki, muszą cechować się empatią, umieć zaangażować się w proces diagnostyczno-terapeutyczny danego pacjenta, okazywać mu wsparcie i pomoc w tym trudnym momencie życiowym (Orzechowska i in. 2008).

Bardzo ważnym, a obecnie wyraźnie coraz ważniejszym czynnikiem predysponującym do rozwoju syndromu są zarobki personelu medycznego, nieadekwatne do czasu, wysiłku i zaangażowania włożonego w wykonywanie pracy zawodowej. Nie bez znaczenia w tym kontekście jest również brak lub niewielkie możliwości rozwoju zawodowego i awansu. Sytuacja ta jest szczególnie widoczna wśród młodych lekarzy i pielęgniarek. Nadmierne obciążenie pracą oraz zarobki niewspółmierne do wykonywanej pracy wielu z nich nie pozwalają na dalszy rozwój zawodowy, a tym samym na awans (Orzechowska i in. 2008).

Brak efektu terapeutycznego jest kolejnym czynnikiem predysponującym do wypalania się personelu medycznego. Nie ma nic bardziej frustrującego dla ambitnego, młodego lekarza niż brak poprawy stanu zdrowia pacjenta pomimo wszelkich jego starań. Wielu lekarzy odbiera to jako swego rodzaju porażkę. A im częściej zdarzają im się takie „porażki”, tym częściej zaczynają wątpić w swoją wiedzę i umiejętności, przestają ufać swojej intuicji (Musialska 2004).

Grupą szczególnie podatną na ten czynnik są lekarze i pielęgniarki pracujące na oddziałach psychiatrycznych. Mają oni do czynienia z bardzo różnymi przypadkami. Wielu spośród tych pacjentów nie przeżywa na taki oddział dobrowolnie, część z nich jest agresywna w stosunku do personelu. Lekarze i pielęgniarki oddziałów psychiatrycznych są narażeni na jeszcze większy stres w miejscu pracy niż ich koledzy z innych oddziałów, gdyż znacznie częściej spotykają się z nieprzewidywalnością zachowań pacjentów. W licznych wypadkach kontakt z pacjentem oraz nawiązanie z nim relacji jest utrudnione lub wręcz uniemożliwione przez chorobę. Specyfiką oddziałów psychiatrycznych jest także świadomość ryzyka prób samobójczych oraz samobójstw wśród pacjentów. Wielu lekarzy psychiatrów samobójstwa swoich pacjentów traktuje jako osobistą porażkę zawodową, wyraz braku odpowiedniej wiedzy i kompetencji, a nie jako konsekwencje choroby psychicznej (Anczewska i Roszczyńska 2004).

Wśród czynników predysponujących do wystąpienia zespołu wypalenia zawodowego u lekarzy i pielęgniarek wymienia się również stosunek pacjentów do lekarzy i personelu pomocniczego. Pacjenci coraz częściej odznaczają się roszczeniową postawą nie przyjmującą sprzeciwu. Rozwój technologii, powszechność internetu sprawiły, że obecnie każdy pacjent może znaleźć w sieci portale umożliwiające postawienie autodiagnozy czy strony ukazujące możliwości terapeutyczne w danym schorzeniu. Niestety, wiele z tych stron i portali zawiera błędne lub niewłaściwie sprecyzowane informacje. Jednak tak łatwa dostępność do informacji medycznej sprawia, że zdarza się, że osoby przychodzące do specjalisty z już postawioną przez siebie diagnozą. Od lekarza oczekują jedynie przepisania odpowiedniego leku lub wykonania zabiegu. Nie chcą pogodzić się z myślą, że ich przypuszczenia są błędne, a lekarz przed wypisaniem recepty musi zapoznać się z wynikami odpowiednich badań. Bardzo często pacjenci mają mylne wyobrażenie co do możliwości współczesnej medycyny. Nie rozumieją, że nie wszystkie jednostki chorobowe udaje się wyleczyć, ani że w pewnych wypadkach współczesna medycyna jest bezsilna. Pacjenci najczęściej w takich sytuacjach popadają w frustrację, którą przelewają na lekarzy i pielęgniarki. Zmiana postaw pacjentów wobec lekarzy objawia się również poprzez akty agresji, zarówno słownej jak i fizycznej, pacjentów w stosunku do lekarzy i pielęgniarek (Henzel-Korzeniowska 2004).

Problem wypalenia zawodowego wśród pracowników ochrony zdrowia staje się coraz powszechniejszy. Jak wynika z badań przeprowadzonych na przestrzeni ostatnich dekad syndrom wypalenia jest wśród lekarzy i pielęgniarek zjawiskiem częstym. Już w 1999 r. przeprowadzone zostały w Polsce badania dotyczące wypalenia zawodowego lekarzy. Z analizy danych przedstawionych przez badaczy można zauważyć, że lekarze pracujący w polskim systemie ochrony zdrowia cechują się dość wysokim poziomem zaangażowania w pracę i poczucia sukcesów zawodowych (współczynnik ten był wyższy niż w przypadku lekarzy pracujących w amerykańskiej opiece zdrowotnej). Poziom wyczerpania emocjonalnego zarówno lekarzy pracujących w polskim systemie ochrony zdrowia jak i ich kolegów ze Stanów Zjednoczonych jest porównywalny. Podobne wyniki osiągnięto w przypadku porównania poziomu depersonalizacji pacjentów. Zarówno lekarze polscy jak i amerykańscy wykazują średni poziom depersonalizacji (Świderski 1999).

Dane z badania przeprowadzonego w pierwszej połowie 2004 r. wykazały, że zjawisko wypalenia zawodowego wśród lekarzy internistów jest zjawiskiem dość powszechnym. Aż 44% biorących udział w badaniu lekarzy internistów to osoby z widocznymi cechami zespołu wypalenia zawodowego. Warto tu również podkreślić, że 60% wypalonych lekarzy to osoby żyjące samotnie. Dość duży jest również odsetek osób zagrożonych wypaleniem zawodowym – 28% internistów biorących udział w badaniu (Aouli 2019).

Natomiast dane z przeprowadzonego w 2008 r. badania wykazują, że 21,8% poddanych badaniu lekarzy i aż 49% poddanych badaniu pielęgniarek wykazuje wysoki stopień wyczerpania emocjonalnego. Równocześnie 16,4% ankietowanych lekarzy i 66% ankietowanych pielęgniarek wskazało, że ich zaangażowanie w pracę zawodową jest niskie. Dodatkowo 61,8% lekarzy oraz

64,2% pielęgniarek przyznało się do depersonalizacji pacjentów, czyli skupiania się na schorzeniu, a nie na pacjencie (Orzechowska i in. 2008).

Podobnych wyników badań nad częstością występowania zespołu wypalenia zawodowego można doszukać się również w angielskojęzycznej literaturze. Badania przeprowadzone w pięciu hiszpańskich szpitalach z udziałem niemalże 1100 pracowników ochrony zdrowia wykazały, że zespół wypalenia zawodowego jest zjawiskiem dość powszechnym. Aż 41,6% badanych zadeklarowało odczuwanie wysokiego poziomu wyczerpania emocjonalnego. 23% ankietowanych, głównie lekarzy, przyznało się do depersonalizacji swoich pacjentów. Dodatkowo 27, 9% badanych uznało, że ich zaangażowanie w pracę zawodową i rozwój kariery jest niskie (Grau 2005).

Również na półkuli południowej zespół wypalenia zawodowego wśród lekarzy i pielęgniarek jest istotnym problemem. Dowodzą tego liczne badania prowadzone w tym zakresie. Wśród nich warto wspomnieć badania przeprowadzone w Nowej Zelandii na grupie lekarzy psychiatrów. Badanie to wykazało, że ponad 2/3 poddanych badaniu psychiatrów wykazuje wysoki poziom wyczerpania emocjonalnego. Dodatkowo około 60% psychiatrów biorących udział w badaniu wykazywało niski poziom zaangażowania w pracę zawodową. Depersonalizacja pacjentów nie jest w tej grupie badanej czynnikiem znaczącym ani często występującym (Kumar 2005).

Podobne wyniki badań dotyczących częstości występowania zespołu wypalenia zawodowego u lekarzy i pielęgniarek pracujących na oddziałach psychiatrycznych uzyskali już w latach 90-tych XX w. Sullivan (1993) oraz Leither (1996). Personel oddziałów psychiatrycznych jest znacznie bardziej narażony na wystąpienie zespołu wypalenia zawodowego niż personel medyczny innych oddziałów głównie ze względu na specyficzny rodzaj chorób leczonych na tym oddziale oraz na specyfikę pacjentów przyjmowanych na oddziały psychiatryczne.

Jak widać z wyników przytoczonych wyżej badań zespół wypalenia zawodowego jest bardzo częstym zjawiskiem. I wbrew obiegowej opinii syndrom wypalenia jest zjawiskiem niebezpiecznym. Niebezpieczeństwo wynikające z wypalenia się spowodowane jest w głównej mierze konsekwencjami jakie niesie ze sobą zespół wypalenia zawodowego.

3. Podsumowanie

O tym, że zespół wypalenia zawodowego wśród pracowników ochrony zdrowia jest zjawiskiem częstym i niebezpiecznym świadczyć może również fakt pojawienia się różnorodnych deklaracji i dokumentów dotyczących zespołu wypalenia zawodowego. Najważniejszym z takich dokumentów jest „Deklaracja w sprawie zespołu wypalenia zawodowego wśród lekarzy” utworzona przez Europejskie Forum Stowarzyszeń Medycznych i Światowej Organizacji Zdrowia. Deklaracja ta powstała na posiedzeniu Europejskiego Forum Stowarzyszeń Medycznych w Berlinie, które odbyło się w dniach 7-9 lutego 2003 r.

W dokumencie tym podkreślono wielki niepokój związany z regularnym wzrostem liczby lekarzy i pielęgniarek dotkniętych zespołem wypalenia zawodowego. Uznano w nim również, że syndrom wypalenia jest zagrożeniem zarówno dla zdrowia pracowników ochrony zdrowia jak i ich pacjentów, gdyż wpływa na jakość świadczonych przez nich usług. Deklaracja zachęca Światową Organizację Zdrowia do uznania ważności konsekwencji zespołu wypalenia zawodowego i podjęcia działań uczulających państwa członkowskie na ten problem, ponieważ syndrom wypalenia powoduje również poważne konsekwencje finansowe (absencje w pracy, przechodzenie na wcześniejsze emerytury). Nakłania również wszystkie narodowe stowarzyszenia medyczne do podjęcia działań zmierzających do zwiększenia świadomości członków stowarzyszeń na temat istotności zespołu wypalenia zawodowego oraz jego konsekwencji. Dodatkowo deklaracja nawołuje do podjęcia międzynarodowych badań dotyczących czynników ryzyka i przyczyn zespołu wypalenia zawodowego oraz dostępności i jakości działań profilaktycznych syndromu wypalenia (Europejskie Forum Zdrowia 2003).

Problematyka zespołu wypalenia zawodowego wśród pracowników ochrony zdrowia była również tematem jednej z sesji na konferencji Europejskiej Federacji Stowarzyszeń Medycznych i Światowej Organizacji Zdrowia. Konferencja odbyła się w Oslo w Norwegii w dniach 11-12 marca 2005 r. Również tutaj podkreślono zwiększającą się skalę zjawiska wypalenia się pracowników ochrony zdrowia, jego negatywne konsekwencje zarówno zdrowotne jak i ekonomiczne. Zwrócono

także uwagę na działania profilaktyczne pomagające zminimalizować zagrożenie wystąpienia zespołu wypalenia zawodowego (Knypl 2005).

4. Piśmiennictwo

- Musialska M (2004) Zespół wypalenia zawodowego u lekarzy. *Służba Zdrowia* 43: 3343-3346.
- Orzechowska A, Talarowska M, Drozda R, i in. (2008) Zespół wypalenia zawodowego u lekarzy i pielęgniarek. *Pol. Merk. Lek.* 150: 507.
- Anczewska M, Roszczyńska J (2004) Jak uniknąć objawów wypalenia w pracy z chorymi. Warszawa. Wydawnictwo Instytutu Psychiatrii i Neurologii.
- Siemiński M, Nitka-Siemińska A, Nyka WM (2007) Zespół wypalenia. *Forum Medycyny Rodzinnej* 1: 45-49.
- ICD-10 (2000) Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w ICD 10. Opisy kliniczne i wskazówki diagnostyczne. Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Vesalius”, Instytut Psychiatrii i Neurologii, Kraków-Warszawa.
- Fengler J (2001) Pomaganie mężczy. Wypalenie zawodowe w pracy zawodowej, Gdańskie Wydawnictwo Psychologiczne, Gdańsk.
- Sęk H (2007) Wypalenie zawodowe. Przyczyny, mechanizmy, zapobieganie, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Kamrowska A. (2007) Wypalenie zawodowe, *Pol. Merk. Lek.*, 136: 317
- Lief HI, Lief VF, Lief NR (1963) *The psychological basis of medical practise.* Harper and Row, New York.
- Pines A (1993) *Burnout: An Existential Perspective* [w:] Schaufeli WB, Maslach C, Marek T (red.) *Professional Burnout: Recent Developments in Theory and Research.* Washington.
- Świętochowski W (2001) Wypaleni ludzie. *Charaktery* 1: 42.
- Wichowicz H, Nitka-Sieminska A, Ryś D, Siemiński M (2004) Zespół wypalenia zawodowego w praktyce lekarskiej. *Standardy Med.* 6: 663–670.
- Świderski T, Langer D, Popkowska-Zerbin H. (1999) Wypalenie zawodowe a poczucie koherencji u lekarzy. *Nowiny Psychol.*, 3: 69-74.
- Aouil, B, Haj-Bakru B (2019) Wypalenie zawodowe a poczucie sensu życia lekarzy internistów, praca opublikowana na portalu psychologia.net
- Kumar S, Fischer J, Robinson E i wsp. (2007) Burnout and job satisfaction in New Zealand psychiatrists: a national study. *Int. J. Soc. Psychiatry* 53: 306-316.
- Sullivan PJ. (1993) Occupational stress in psychiatric nursing. *J. Advanc. Nursing* 18: 591-601.
- Leiter MP, Harvie PL (1996) Burnout among mental health workers: a review and a research agenda. *Intern. J. Soc. Psych* 42: 90-101.
- Europejskie Forum Stowarzyszeń Medycznych i Światowej Organizacji Zdrowia (2003) Deklaracja w sprawie zespołu wypalenia zawodowego wśród lekarzy, Berlin, 7-9 luty 2003 r.
- Knypl K (2005) Zespół wypalenia zawodowego lekarzy, *Gazeta Lekarska* 4: 45-48.

25. Motywacja i komunikacja wśród personelu medycznego

Motivation and communication among medical staff

Dorota Szałabska⁽¹⁾, Mateusz Grajek^(3,4), Eliza Działach⁽²⁾, Karolina Sobczyk^(3,4), Sandra Kryśka⁽³⁾, Przemysław Suchoń⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Studium doktoranckie Wydziału Nauk o Zdrowiu, SUM w Katowicach

⁽²⁾ Zagłębiowskie Centrum Onkologii Szpital Specjalistyczny im. Sz. Starkiewicza w Dąbrowie Górniczej

⁽³⁾ Studium doktoranckie AWF im. Jerzego Kukuczki w Katowicach

⁽⁴⁾ Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, SUM w Katowicach

Szałabska Dorota: dorota.szalabska@gmail.com

Słowa kluczowe: menadżer, kompetencje, kadra medyczna, profesjonalizm.

Streszczenie

Do zasadniczych zadań systemu ochrony zdrowia należy zaspokajanie potrzeb zdrowotnych obywateli przy równoczesnym nacisku na możliwie najbardziej efektywne wykorzystanie dostępnych zasobów. Obecnie coraz częściej wskazuje się również, iż nowe uwarunkowania gospodarcze, szczególnie odnoszące się do działalności gospodarczej w sektorze usług medycznych wymuszają niejako na jednostkach ochrony zdrowia wyraźną zmianę do zarządzania własną działalnością. Wskazuje się, iż zarządzanie personelem w zakładach opieki zdrowotnej – zarówno publicznych jak i niepublicznych – związane jest nie tylko z istniejącą w nich infrastrukturą czy ich specjalizacją, ale również koniecznością sprostania wymaganiom, jakie stawiane są podmiotom opieki zdrowotnej przez pacjentów. Bardzo duże znaczenie w tym kontekście mają także procesy restrukturyzacji finansowej w sektorze ochrony zdrowia, wywierające bardzo duży wpływ na proces restrukturyzacji zatrudnienia personelu medycznego.

1. Wstęp

Obecnie coraz częściej podkreśla się, iż kapitał ludzki traktowany jest jako źródło budowania przewagi konkurencyjnej w sektorze ochrony zdrowia. Także w odniesieniu do podmiotów świadczących usługi zdrowotne kapitał ludzki zyskuje nowego znaczenia. Wynika to z faktu, iż personel medyczny i pracownicy administracji zakładów opieki zdrowotnej wpływają bezpośrednio na jakość usług zdrowotnych oferowanych przez tego świadczeniodawcę. Obserwowane obecnie gwałtowne przemiany gospodarcze i społeczne i zmiany w zakresie systemów organizacyjnych wymuszają niejako coraz większą potrzebę skupienia uwagi na efektywne zarządzanie. Dzięki dostosowaniu sposobu zarządzania organizacją, w tym również organizacją działającą w zakresie ochrony zdrowia, możliwe jest uzyskanie wyższej efektywności i możliwość szybkiego reagowania na zmiany. Nowoczesne zarządzanie organizacją dużą wagę przykładają do rozwoju i usamodzielniania pracowników i rozwoju ich umiejętności mających wartość dla organizacji. Współcześni menedżerowie zatrudnieni w placówkach ochrony zdrowia powinni posiadać umiejętności, kompetencje i doświadczenie, które umożliwią im właściwe zarządzanie podmiotem ochrony zdrowia. W kontekście aktualnej sytuacji gospodarczo-politycznej i sytuacji ekonomicznej polskiego systemu ochrony zdrowia wskazuje się na konieczność szerokiego uświadamiania potrzeb systemu i jego elementów składowych i rozwijania kompetencji zawodowych menadżerów ochrony zdrowia (Wenerska 2016).

Wskazuje się, iż każda osoba zarządzająca placówką ochrony zdrowia – niezależnie od jej wielkości czy poziomu referencyjnego – powinna posiadać dobrze rozwinięte umiejętności menedżerskie, pozwalające na właściwe planowanie, organizowanie, motywowanie i kontrolowanie funkcjonowania placówki na różnych jej płaszczyznach z wykorzystaniem dostępnych zasobów ludzkich, rzeczowych i finansowych (Jończyk 2011).

Coraz liczniejszą grupę zarządzających placówkami ochrony zdrowia stanowią osoby posiadające wykształcenie medyczne i nierzadko wieloletnie doświadczenie zawodowe. Zarządzanie

placówkami medycznymi przez takie osoby umożliwia im skuteczną komunikację z ordynatorami i kierownikami i lepsze zrozumienie potrzeb materialnych i potrzeb kadrowych zarządzanych przez siebie jednostkach. Zarządzający placówkami ochrony zdrowia posiadający wykształcenie medyczne cechują się również bardzo dobrą znajomością specjalistycznego języka medycznego, co pozwala im budować autorytet (Matecka 2015).

Niemniej jednak zarządzanie placówką ochrony zdrowia, szczególnie szpitalem, który może zatrudniać 400-1500 osób, wiąże się z posiadaniem przez menedżerów nie tylko wiedzy medycznej i doświadczenia zawodowego, ale również formalnego wykształcenia w zakresie zarządzania i szerokich umiejętności w tym zakresie. Zarządzanie placówką ochrony zdrowia wiąże się, bowiem z koniecznością zarządzania ograniczonymi zasobami ludzkimi, rzeczowymi i finansowymi (Matecka 2015).

Konieczność zarządzania zasobami rzeczowymi w podmiocie ochrony zdrowia odnosi się do konieczności zarządzania środkami trwałymi – nieruchomościami, aparaturą i środkami transportu będącymi własnością zakładu opieki zdrowotnej i zapasami – głównie lekami, produktami leczniczymi, jednorazowym sprzętem medycznym, odczynnikami, odzieżą ochronną, produktami żywnościowymi i środkami czystości. Mnogość i różnorodność tych zasobów sprawia, iż od zarządzających oczekuje się szerokiej wiedzy z zakresu ekonomii i prawa. Zarządzanie zasobami materialnymi wiąże się niejednokrotnie z koniecznością odnawiania budynków i dostosowywania ich do aktualnych wymogów sanitarno-epidemiologicznych i wymogów technicznych, które określono w przepisach prawa. Nie bez znaczenia jest także konieczność okresowej wymiany sprzętu wykorzystywanego do udzielania świadczeń medycznych, na nowocześniejszy, dający dokładniejsze i szybsze wyniki i bezpieczniejszy. Wszystkie te czynniki sprawiają, iż zarządzający podmiotem leczniczym zmuszeni są niejednokrotnie do poszukiwania dodatkowych źródeł finansowania, niezależnych od posiadanego kontraktu z Narodowym Funduszem Zdrowia (NFZ). Najczęściej wspomniane dodatkowe środki pochodzą z funduszy Unii Europejskiej lub funduszy Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej. W związku z tym od menedżerów ochrony zdrowia oczekuje się umiejętności pisania wniosków o pozyskanie środków unijnych i doświadczenia w pozyskiwaniu, wykorzystywaniu i rozliczaniu dotacji z funduszy unijnych (Matecka 2015).

2. Menedżer w ochronie zdrowia – zarządca, kierownik, motywator, coach

Zgodnie z aktualnymi wymaganiami prawnymi podmioty lecznicze zobowiązane są do gromadzenia, przetwarzania i przechowywania informacji medycznych dotyczących pacjentów. W związku z tym od osób zarządzających podmiotami leczniczymi oczekuje się posiadania co najmniej podstawowej wiedzy w zakresie prawa medycznego, przepisów dotyczących archiwizacji dokumentów i możliwości wykorzystania systemów informatycznych w ochronie zdrowia. Nie bez znaczenia jest także wiedza zarządzającego na temat systemów informatycznych wykorzystywanych przez NFZ, szczególnie System Zarządzania Obiegiem Informacji, Systemu Informatycznego Monitorowania Profilaktyki, Systemu Elektronicznej Rejestracji Usług Medycznych (Matecka 2015).

Na konieczność posiadania przez zarządzających chociaż podstawowej wiedzy z zakresu prawa wpływa również specyfika rynku usług zdrowotnych, Podmioty lecznicze z jednej strony są traktowane jako typowe przedsiębiorstwa, z drugiej natomiast jako podmioty służące wyższemu dobru, czyli zabezpieczeniu zdrowia i życia określonej populacji. Ten dualizm i istniejąca sprzeczność celów sprawiają, iż na osobach zarządzających spoczywa dodatkowa odpowiedzialność wymuszająca konieczność posiadania dość rozległej wiedzy w zakresie aktów i uregulowań prawnych tworzących ramy funkcjonowania placówki. Równocześnie ciągłe zmiany i nowelizacje istniejących aktów prawnych czy powoływanie nowych przyczyniają się do konieczności ciągłego aktualizowania wiedzy menedżerów ochrony zdrowia w tym zakresie (Urbaniak 2008).

Menedżer podmiotu leczniczego, szczególnie jeśli jest to podmiot sprywatyzowany, powinien również posiadać chociaż podstawową wiedzę w zakresie mechanizmów, które niejako rządzą zachowaniem rynku usług zdrowotnych i zachowaniem pacjentów zgłaszających się do tego podmiotu. Świadomość konieczności dostosowania strategii organizacji do zmieniającego się otoczenia i zmieniających się potrzeb pacjentów może mieć kluczowe znaczenie dla funkcjonowania

podmiotu leczniczego. W związku z tym wśród niezbędnych umiejętności zarządzającego placówką ochrony zdrowia zalicza się również znajomość zasad komunikacji marketingowej (Worobjow 2003).

Dodatkowo konieczność podejmowania analiz projektowanych wydatków na cele marketingowe wymusza na zarządzających ochroną zdrowia konieczność posiadania chociaż podstawowej wiedzy i umiejętności w zakresie określania grupy docelowej, określenia kanałów dotarcia do klienta i zastosowania odpowiedniego języka komunikacji. Wspomniana wiedza i umiejętności pozwolą zarządzającym na właściwe porozumienie się ze specjalistami ds. marketingu i wspólne wytyczenie ram działania (Mirowski 2012).

Zmiany demograficzne charakterystyczne dla Polski sprawiają, iż branża medyczna powinna coraz mocniej koncentrować swoją uwagę i podejmowane działania na populacji osób po 65 roku życia, których liczba w społeczeństwie systematycznie się zwiększa. W kontekście tej niezwykle istotnej informacji zarządzający placówkami ochrony zdrowia powinni w planowanych i realizowanych przez siebie działaniach uwzględniać konieczność dostosowania placówki do oczekiwań i wymagań osób starszych. Niezwykle istotna w tym kontekście jest również świadomość menedżerów ochrony zdrowia zmieniających się stereotypów dotyczących tej grupy wiekowej (Koziełski 2012).

Właściwe i efektywne realizowanie zadań stawianych przed zarządzającymi placówkami ochrony zdrowia wymaga od nich również posiadania określonych zasobów – cech osobowości i umiejętności – w sferze społeczno-psychologicznej. Wspomniane kompetencje, obok kompetencji twardych mogą stanowić o sukcesie menedżera lub jego porażce, szczególnie w sytuacji kontaktów interpersonalnych. Bardzo duże znaczenie przypisywane jest jednej z głównych ról zawodowych menedżera, czyli zarządzaniu zasobami ludzkimi. Wobec tego kluczowe znaczenie przypisywane jest takim umiejętnością zarządzających placówkami ochrony zdrowia jak (Matecka 2015): nawiązywanie i podtrzymywanie kontaktów, skuteczne komunikowanie się, kreowanie właściwego, pożądanego wizerunku, budowanie własnego autorytetu, przewodzenie podległymi pracownikami, motywowanie pracowników do opracowywania i wprowadzania zmian, rozwiązywanie konfliktów pojawiających się w zespole, konstruktywne radzenie sobie ze stresem własnym i stresem swoich pracowników, udzielanie wsparcia o charakterze informacyjnym, instrumentalnym i emocjonalnym pracownikom.

Głównym celem funkcjonowania każdego menedżera jest podejmowanie działań doprowadzających do realizacji określonych celów przy równoczesnej dbałości o pracowników i budowanie ich poczucia zadowolenia z wykonywanej pracy. Bez dbałości o wszystkie z wymienionych tych elementów bardzo prawdopodobnym staje się występowanie w zespole zadaniowym lub w grupie pracowników negatywnych zjawisk, szczególnie zwiększonej absencji, zwiększonego ryzyka porzucenia pracy przez pracowników czy trudności z nawiązaniem współpracy zarządzającego placówką ochrony zdrowia z zespołem zadaniowym lub grupą pracowników (Filipowicz 2014).

Podkreśla się również, iż kompetencje społeczne zarządzających placówkami ochrony zdrowia powinny sprzyjać osiągnięciu celów i wartości społecznie akceptowalnych. Równocześnie kompetencje te nie powinny być wykorzystywane jako instrument służący realizacji celów społecznych, które umożliwiają manipulowanie innymi osobami (Borkowski 2003).

Dlatego też wśród kolejnych, istotnych kompetencji społecznych menedżerów ochrony zdrowia zalicza się umiejętność panowania nad własnymi emocjami, umiejętność szybkiego adaptowania się do zmian i umiejętność reagowania adekwatnie do sytuacji. Duże znaczenie przypisywane jest także umiejętności modyfikowania własnych zachowań i własnych postaw. Posiadając taki zestaw umiejętności zarządzający placówką ochrony zdrowia pozyska możliwość (Matecka 2015): podejmowania właściwych decyzji w warunkach presji czasowej, braku kompletnych danych czy informacji i stresu informacyjnego rozumianego jako nadmiar informacji płynących z różnych źródeł, podawanych niejednokrotnie w agresywnej formie, przewidywania skutków dokonywanych przez siebie wyborów i podejmowanych decyzji, brania odpowiedzialności za podejmowane decyzje i wybory, wprowadzania korekt, w sytuacjach, w których są potrzebne.

Cele, jakie stawiają przed sobą placówki ochrony zdrowia odnoszą się w głównej mierze do pozyskiwania klientów-pacjentów, zapewnienia pacjentom możliwie najlepszej, kompleksowej

opieki i wysokiego poziomu usług medycznych, które umożliwią na budowanie długotrwałych relacji z usługobiorcą. Aby jednak możliwa była realizacja tych celów niezbędne jest zaangażowanie wszystkich osób zatrudnionych w podmiocie leczniczym. To pełne zaangażowanie jest z kolei możliwe jedynie dzięki właściwej, konstruktywnej komunikacji wewnętrznej. Pracownicy zakładu opieki zdrowotnej powinni być bieżąco informowani nie tylko o bieżących decyzjach i najbliższych planach dotyczących podmiotu leczniczego, ale również powinni być regularnie edukowani, motywowani, aktywowani i integrowani. Równocześnie wskazuje się, iż w procesie komunikacji wewnętrznej bardzo duże znaczenie ma także zgodność informacji, które przekazywane są pracownikom ze stanem faktycznym i działaniami podejmowanymi w podmiocie leczniczym. Nie bez znaczenia jest w tym miejscu również dążenie do realizacji wszystkich porozumień zawartych pomiędzy zarządzającymi a pracownikami (Matecka 2015).

Efektywność funkcjonowania placówek ochrony zdrowia, szczególnie wielospecjalistycznych placówek publicznych, jest kolejną niezwykle istotną kwestią dla zarządzających. Wynika to ze stałego niedofinansowania systemu ochrony zdrowia, pomimo stałego wzrostu nakładów na opiekę zdrowotną. Trudna sytuacja ekonomiczna placówek ochrony zdrowotnej stawia przed zarządzającymi szereg zadań. Właściwe wprowadzenie i realizacja tych zadań, w opinii specjalistów może przyczynić się do efektywniejszego wykorzystania dostępnych zasobów, a tym samym również do poprawy sytuacji finansowej placówki. Wśród tych zadań wymienia się przede wszystkim (Wenerska 2016): opracowanie i wprowadzenie strategii marketingowej dla klientów realizujących świadczenia zdrowotne nie finansowane z środków NFZ, określenie rentowności wykonywanych w placówce procedur medycznych, określenie rentowności poszczególnych oddziałów, poradni i działów medycznych placówki ochrony zdrowia, określenie właściwych zasad polityki zakupów w placówce, zarządzanie na drodze budżetowania, ocena czy usługi outsourcingowe rzeczywiście są dla placówki tańszym rozwiązaniem, określenie właściwych zasad polityki zarządzania zapasami, zlokalizowanie i eliminacja „wąskich gardeł”, określenie zasad przepływu pieniędzy w placówce, doskonalenie organizacji.

Opracowanie i wdrożenie właściwej strategii marketingowej zachęcającej do korzystania z usług placówki również przez pacjentów spoza NFZ powinno być jednym z pierwszych działań realizowanych przez zarządzających placówką zdrowotną, której sytuacja finansowa nie jest stabilna i które borykają się z problemami finansowymi. Takie działanie pozwala, bowiem na uniezależnienie się organizacji od jednego klienta – w tym przypadku NFZ – a tym samym na zmniejszenie ryzyka niepewności i problemów finansowych. Umożliwia ono dodatkowo na częstsze wykorzystywanie sprzętu i wiedzy i umiejętności personelu medycznego w zakresie tych procedur medycznych, które w ramach kontraktu z NFZ wykonywane są rzadko, a w warunkach komercyjnych mogą cieszyć się dużą popularnością. Szczególne znaczenie w tym kontekście przypisywane jest opracowaniu i wdrożeniu planu marketingowego pozyskiwania pacjentów komercyjnych (Wenerska 2016).

Nie mniejsze znaczenie ma właściwe określenie rentowności procedur medycznych. Tylko, dzięki odpowiedniemu oszacowaniu kosztów procedur medycznych, adekwatnych do realnie poniesionych kosztów może stanowić podstawę do podejmowania trafnych decyzji ekonomicznych w zakładzie opieki zdrowotnej. Jest ono również niezbędne w procesie restrukturyzacji zakładu opieki zdrowotnej. Dzięki tym informacjom zarządzający placówką będą mieli jasne i czytelny podział procedur medycznych, których wykonywanie będzie nieść ze sobą zysk dla placówki medycznej i świadczeń medycznych, których wykonywanie będzie wiązało się z koniecznością ponoszenia przez placówkę dodatkowych kosztów. Uzyskanie analogicznych informacji niesie ze sobą również określenie rentowności poszczególnych oddziałów czy poradni składających się na zakłada opieki zdrowotnej. Należy przy tym zaznaczyć, iż szacowanie rentowności poradni czy oddziałów powinno uwzględniać także koszty pośrednie czy koszty niezwiązane bezpośrednio z wykonywaniem świadczeń medycznych tj. sprzątanie czy ochronę obiektu (Wenerska 2016).

W ramach określania właściwej i racjonalnej polityki zakupów niezbędne jest zwrócenie szczególnej uwagi na całą politykę zakupową zakładu opieki zdrowotnej, uwzględniając i zliczając wszystkie koszty związane z zakupem, przeprowadzaniem audytów u dostawców i przeprowadzaniem zakupów wspólnie z innymi zakładami opieki zdrowotnej. Dzięki tak wnikliwej analizie możliwe jest nie tylko poznanie aktualnej sytuacji placówki w kontekście polityki zakupów,

ale również wdrożenie działań korygujących, działań naprawczych i nowych zasad zakupów w placówce. Specjaliści wskazują także na pozytywny wpływ zarządzania poprzez budżetowanie na sytuację ekonomiczną placówki ochrony zdrowia. Największa i najważniejszą korzyścią z jego zastosowania jest wzrost wartości placówki. Wzrost ten jest możliwy do osiągnięcia na drodze uzyskania większej ilości informacji, które są niezbędne do podejmowania racjonalnych decyzji strategicznych. Należy przy tym podkreślić, iż proces zmiany sposobu zarządzania w placówce na zarządzanie poprzez budżetowanie i proces podejmowania decyzji w odniesieniu do nowych warunków musi angażować równocześnie wszystkie działy placówki ochrony zdrowia. W innym przypadku wprowadzenie zmian i działań korygujących nie przyniesie zakładanych rezultatów. Zarządzanie poprzez budżetowanie może także umożliwić wprowadzenie w zakładzie opieki zdrowotnej dodatkowych narzędzi motywujących (Wenerska 2016).

Analiza funkcjonowania zakładu opieki zdrowotnej – tak w kontekście właściwego zarządzania nim jak również w odniesieniu do jego sytuacji ekonomicznej – powinna odnosić się także do dokładnej analizy każdej działalności – medycznej i niemedycznej – realizowanej w tej placówce i rozważania czy działalność ta powinna być realizowana we własnych strukturach placówki medycznej czy należy ją wydzielić i realizować dzięki wykorzystaniu usług outsourcingowych. Najważniejszym kryterium korzystania lub rezygnacji z tego rodzaju usług powinien być rachunek ekonomiczny. Jeśli na rynku funkcjonuje organizacja, która potrafi wykonywać te same usługi na analogicznym lub lepszym poziomie od poziomu w placówce ochrony zdrowia, a cena za taką usługę jest analogiczna do kosztów ponoszonych przez zakład opieki zdrowotnej lub niższa od tych kosztów to wówczas zasadne jest rozważenie czy nie lepszym rozwiązaniem będzie zakup tych usług. Niezwykle istotne staje się wówczas jednak dokładne oszacowanie dodatkowych kosztów związanych z zakupem usługi – o ile takie są – i dokładna analiza jakości usług zewnętrznych (Jończyk 2011).

Bardzo duża waga przykładana jest także do właściwego gospodarowania zasobami i ustalenia właściwej polityki zarządzania zasobami przy równoczesnym uwzględnianiu, iż utrzymywanie zasobów również stanowi koszt dla placówki medycznej. Obecnie coraz częściej podkreśla się, iż racjonalna gospodarka zasobami powinna skupiać się na maksymalnej redukcji zasobów przy równoczesnej optymalizacji przepływów materiałowych. Wskazuje się również, iż zasadniczym celem zarządzania zasobami w placówce ochrony zdrowia powinno być zapewnienie takiej ich wielkości jaka jest niezbędna do prowadzenia działalności statutowej przy równoczesnym minimalizowaniu kosztów związanych z zarządzaniem i utrzymywaniem zasobów. Istotne korzyści i usprawnienia w całym procesie zarządzania placówką zdrowotną ma także identyfikacja i likwidacja wąskich gardeł, pojawiających się w każdej organizacji, również w placówkach ochrony zdrowia. Im mniejsza jest liczba wąskich gardeł w placówce medycznej tym lepiej i sprawniej realizowany jest proces zarządzania placówką ochrony zdrowia (Matecka 2015).

W każdej dobrze funkcjonującej organizacji zasadnicze znaczenie dla jej ekonomicznego bezpieczeństwa ma odpowiedni przepływ pieniędzy. Dobrze funkcjonujące placówki powinny korzystać z efektów swoich zysków i oszczędności, mając tym samym stały i nieskrępowany dostęp do wypracowanych przez siebie funduszy. To z kolei motywuje pracowników do lepszej i wydajniejszej pracy i przyczyni się do samodzielnego poszukiwania przez nich kolejnych metod i sposobów optymalizacji kosztów. Ostatnim z przedstawionych powyżej aspektów jest ciągłe doskonalenie organizacji. Tylko dzięki niemu możliwe jest odnoszenie przez tą organizację sukcesu. Specjaliści zaznaczają przy tym, iż proces ciągłego doskonalenia nie zawsze musi odnosić się do wdrażania w organizacji dużych i gwałtownych zmian. Może on również polegać na wdrażaniu drobnych, choć istotnych zmian i nowych rozwiązań, które w niedalekiej przyszłości przyczynią się poprawy sytuacji i pozycji rynkowej całej organizacji (Matecka 2015).

3. Podsumowanie

Dbałość o wynik ekonomiczny podmiotu leczniczego, przy równoczesnej dbałości o dobro pacjenta stanowi niezwykle istotny aspekt funkcjonowania zakładu opieki zdrowotnej. W związku z tym zarządzający ochroną zdrowia wdrażając zmiany restrukturyzacyjne powinni zwrócić szczególną uwagę na analizę konkurencyjności placówki i podejmować się prób diagnozowania

oddziaływania otoczenia na sposób funkcjonowania zakładu opieki zdrowotnej. Pełnienie funkcji menedżerskich w podmiotach medycznych wymaga od zarządzających wielu umiejętności, specjalistycznej wiedzy i kompetencji. Równocześnie stała presja różnych grup, których interesów niejednokrotnie nie da się pogodzić, sprawia, iż zarządzanie placówką ochrony zdrowia jest problematycznym zajęciem. Deficyty w kompetencjach osób zarządzających mogą utrudniać, a w wielu przypadkach wręcz uniemożliwiać adekwatne, elastyczne i skuteczne funkcjonowanie zakładu opieki zdrowotnej, utrudniając lub uniemożliwiając tym samym realizację zadań stawianych zarządzającym i podległym im pracownikom. Niski poziom kompetencji, szczególnie kompetencji miękkich, zarządzającego placówką zdrowotną może ujawniać skłonność do mechanicznego powtarzania określonych zachowań i stosowania nieadekwatnych technik zarządzania, nie przynoszących zakładanych efektów.

4. Piśmiennictwo:

- Borkowski J (2003) Podstawy psychologii społecznej. Dom Wydawniczy Elipsa, Warszawa.
- Filipowicz G (2014) Zarządzanie kompetencjami: Perspektywa firmowa i osobista. Oficyna Wolters Kluwer Business, Warszawa.
- Jończyk J (2011) Rozwój polskiej opieki zdrowotnej w kontekście potrzeb zdrowotnych społeczeństwa. Optimum, Warszawa.
- Kozielski R (2012) Nadciąga „silver tsunami”. Marketing w Praktyce 8: 30-32.
- Matecka M, Sielska J, Dąbrowska E (2015) Kompetencje menedżera podmiotu leczniczego. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego 41: 293-304.
- Mirowski K (2012) Cel: złoty klient. Marketing w Praktyce 10:19–21.
- Urbaniak M, Pachciarz A (2008) Aspekty prawne pozycji dyrektora samodzielnego publicznego zakładu opieki zdrowotnej. Wydawnictwo Wyższej Szkoły Biznesu, Piła.
- Wenerska A (2016) Wyzwania stojące przed menedżerem ochrony zdrowia w świetle zmian w systemie opieki zdrowotnej. Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu 429: 317-327.
- Worobjow L (2009) Rozważania nad komunikacją marketingową w marketingu wewnętrznym i zewnętrznym. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego 42: 205-209.

26. Nowe narkotyki – aspekty prawne, epidemiologia, budowa, diagnostyka i objawy zatrucia

New drugs – legal aspects, epidemiology, structure, diagnosis and symptoms of poisoning

Typiak Anna, Włodyka Gabriela, Tracz Paulina, Witkowska Karina, Sączawa Michał, Pieciewicz-Szczęsna Halina

Katedra i Zakład Epidemiologii i Metodologii Badań Klinicznych, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Opiekun naukowy: Halina Pieciewicz-Szczęsna

Typiak Anna: annatpk0@gmail.com

Słowa kluczowe: dopalacze, nowe substancje psychoaktywne, syntetyczne opioidy, kanabinomimetyki, psychostymulanty

Streszczenie

Nowe substancje psychoaktywne (NSP), potocznie zwane dopalaczami są to substancje działające na ośrodkowy układ nerwowy w sposób podobny do substancji odurzających, psychotropowych lub psychoaktywnych, jednak w porównaniu do tych substancji nie są one objęte zakazami prawnymi. Możliwości syntezy związków narkotycznych są praktycznie nieograniczone, a ich nowy, nieznan skład utrudnia identyfikację zażytej substancji w stanie zagrożenia życia spowodowanego zatruciem nowymi narkotykami. Na podstawie przeglądu literatury zebrano informacje na temat epidemiologii, budowy chemicznej i sposobu działania nowych narkotyków oraz diagnostyki i objawów zatrucia dopalaczami. W pracy przedstawiono również aspekty prawne poruszające tematykę handlu i zażywania nowych substancji psychoaktywnych w Polsce.

1. Wprowadzenie

Nowe narkotyki, potocznie zwane dopalaczami, są to produkty zawierające substancje działające na ośrodkowy układ nerwowy. Efekty ich działania są zbliżone do tych wywołanych przez dotychczas poznane narkotyki. Zostały one wprowadzone na rynek w celu obejścia prawa – substancje zawarte w dopalaczach ze względu na unikalny skład nie są wpisane na wykaz zakazanych substancji psychotycznych, których posiadanie, produkcja, przetwarzanie i obrót są nielegalne. Dopalacze powstają przez zmiany strukturalne dotychczas poznanych narkotyków lub synteze całkowicie nowych grup związków. Wiąże to za sobą problemy w praktyce klinicznej lekarzy, ponieważ nie są znane ich właściwości farmakokinetyczne oraz toksyczność. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach ustalono, że dopalacze wywołują efekty toksyczne w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, a także serca oraz nerek. Poddano analizie 84 opisy przypadków śmierci osób, u których wykryto obecność nowych środków psychoaktywnych. Wykazała ona, że w prawie połowie przypadków przyczyną śmierci było zatrucie dopalaczami. W pozostałych przypadkach przyczyną zgonu był inny mechanizm niż zatrucie lub brak było informacji o ostatecznej przyczynie zgonu. Dopalacze sprzedawane są pod postacią m.in. proszków, kapsułek, tabletek, tekturek nasączonych substancjami halucynogennymi, co wiąże się z łatwą możliwością ich zażycia. Nie wymaga to posiadania odpowiednich narzędzi w przeciwieństwie do narkotyków podawanych drogą dożylną. Stosunkowo niższa cena oraz atrakcyjne nazwy również mogą zachęcać nabywców dopalaczy, szczególnie młode osoby (Kołaczkiewicz i Krasucka 2017; Lubecka i in. 2018; Osmałek i in. 2018; Zawilska 2016).

2. Analiza literatury naukowej oraz danych epidemiologicznych

2.1 Aspekty prawne

W Polsce w 2008 roku powstał pierwszy sklep z dopalaczami, pod koniec 2010 roku aktywną sprzedaż prowadziło już 1500 sklepów. 2 października 2010 roku Główny Inspektorat Sanitarny

nakazał zaprzestanie dystrybucji dopalaczy, nakazał zamknięcie sklepów, hurtowni oraz laboratoriów, w których wytwarzane były nowe narkotyki, co spowodowało rozprzestrzenienie się rynku w sklepach internetowych.

Od 21 sierpnia 2018 roku obowiązuje nowelizacja ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii, wprowadzająca karę do 3 lat pozbawienia wolności za posiadanie znacznych ilości dopalaczy oraz do 12 lat za handel. Poprzednio obowiązywały jedynie kary finansowe. Nowa ustawa ma również usprawnić proces wpisywania nowych substancji na listę związków zakazanych, co ma ograniczyć dystrybucję nowych narkotyków. Osoby uzależnione od dopalaczy dzięki nowej ustawie będą mogły liczyć na leczenie, wsparcie psychologiczne na takim samym poziomie co osoby uzależnione od narkotyków (Błachut i Szukalski 2012; Krakowiak i in. 2019; <http://prawo.sejm.gov.pl>; Klimczak 2018).

2.2 Epidemiologia

Najwięcej zatruć dopalaczami występuje w grupie wiekowej 16-24 lat. W ostatnich latach obserwowana jest tendencja spadkowa w grupie wiekowej 13-18 lat oraz od 2016 r. obserwuje się wzrost liczby zatruć w grupach wiekowych 19-24 oraz 30-39 lat. Częściej po dopalacze sięgają mężczyźni (80%). Analizując dane statystyczne opublikowane przez Główny Inspektorat Sanitarny w latach 2014-2018 zwraca uwagę największa liczba zatruć i podejrzeń zatruć dopalaczami w Polsce w roku 2015. Spowodowane to było między innymi tak zwaną epidemią Mocarza – syntetycznego kanabinoidu. W województwie śląskim odnotowano wówczas w ciągu jednego miesiąca około 2 tysiące zatruć tym dopalaczem. W roku 2018 w porównaniu do roku poprzedniego odnotowano wzrost liczby zatruć w przeliczeniu na 100 tysięcy mieszkańców: w roku 2017 liczba ta wynosiła 11,00 przypadków na 100 tysięcy mieszkańców, w roku 2018 - 11,08. Województwami o największych liczbach zatruć w przeliczeniu na 100 tysięcy mieszkańców są województwa łódzkie oraz śląskie. Liczba zgonów w roku 2018 była najwyższa – odnotowano 65 zgonów, w tym 16 w województwie śląskim i 15 w województwie łódzkim. W roku 2017 liczba zgonów wynosiła 26. Według rzecznika prasowego Głównego Inspektoratu Sanitarnego wzrost liczby zgonów w roku 2018 mógł być spowodowany wprowadzeniem na rynek syntetycznych opioidów, które w przypadku zatrucia prowadzą do depresji układu oddechowego i śmierci, jak również z powodu wprowadzenia nowelizacji ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii – osoby zajmujące się dystrybucją oraz syntezą nowych narkotyków przed wejściem ustawy w życie sprzedawali całkowicie nowe mieszanki substancji w niższych cenach (Krakowiak i in. 2019; <https://gis.gov.pl>; Lechowicz-Dyl i in. 2018; Wrześniewska-Wal 2012).

2.3 Budowa oraz mechanizm działania nowych narkotyków

Szacunkowa liczba nowych substancji psychoaktywnych zarejestrowanych w latach 2005-2017 wynosiła 670. Przeważająca ilość, czyli 70% wszystkich substancji, została zarejestrowana w ciągu ostatnich 5 lat (Krakowiak i in. 2019).

Wyróżnia się 6 podstawowych grup dopalaczy (Krakowiak i in. 2019):

- związki psychostymulujące,
- syntetyczne kanabinomimetyki,
- związki o działaniu halucynogennym,
- syntetyczne opioidy,
- nowe pochodne benzodiazepiny,
- i inne.

Związki psychostymulujące mają działanie zbliżone do ekstazy i kokainy. Do tej grupy należą syntetyczne katynony, które stanowią 74,99% wykrywanych nowych narkotyków. Katynon jest związkiem chemicznym naturalnie występującym w czuwalicze jadalnej. Działanie tej grupy substancji polega na zwiększaniu pozakomórkowego stężenia dopaminy, noradrenaliny i serotoniny. Związki psychostymulujące stosowane są w celu poprawienia nastroju, wywołania stanu euforycznego, wzrostu koncentracji, pobudzenia oraz wyostrenia zmysłów. Stosowane są głównie donosowo i doustnie (Krakowiak i in. 2019; Lubecka i in. 2018, Stary 2018; Zawilska 2016).

Mechanizm działania syntetycznych kanabinomimetyków polega na działaniu na receptory kanabinoidowe CB1 oraz CB2. Siła ich działania jest wielokrotnie wyższa od siły działania Δ^9 -tetrahydrokanabinolu występującego w marihuanie. Stanowią one 18,56% spośród wszystkich wykrywanych nowych substancji psychoaktywnych. Stosowane są one głównie jako dodatek do marihuany lub zamiennik w celu uniknięcia wykrycia marihuany podczas kontroli na obecność narkotyków. Stosowane są głównie ze względu na działanie rozluźniające. Zazwyczaj zażywane są drogą wziewną (Krakowiak i in. 2019; <https://gis.gov.pl>; Lubecka i in. 2018; Osmatek i in. 2018).

Związki o działaniu halucynogennym są głównie stosowane epizodycznie przez osoby młode. Wyróżnia się związki pochodzenia naturalnego i syntetycznego. Do pierwszej grupy zalicza się między innymi N,N-dimetylotryptaminę, salwinorynę A oraz amid kwasu lizergowego. N,N-dimetylotryptamina występuje w liściach mimozy. Jest składnikiem rytualnego napoju ayahuasca o działaniu halucynogennym. Dimetylotryptamina stosowana doustnie traci właściwości halucynogenne, dlatego przyjmowana jest dożylnie, donosowo lub wziewnie. Salwinoryna A naturalnie występuje w szaławii wieszce. Siła działania tej substancji jest czterokrotnie mniejsza od halucynogenu LSD. Mechanizm działania polega na wybiórczym pobudzaniu receptorów κ -opiodowych. Przyjmowana jest głównie drogą wziewną. Amid kwasu lizergowego jest substancją występującą naturalnie w nasionach powojników. Jego siła działania stanowi 10% aktywności LSD. Do grupy syntetycznych związków halucynogennych zalicza się między innymi analogi LSD, które działają poprzez antagonizm na receptory serotoninowe 5-HT_{2A}. Innymi substancjami zaliczanymi do syntetycznych halucynogenów są związki NBOMe oraz metoksetamina. Związki NBOMe są agonistami receptorów serotoninowych 5-HT_{2A} oraz λ_1 -adrenergicznych. Mają działanie zbliżone do wywoływanych przez LSD. Stosowane są głównie podjęzykowo. Metoksetamina jest pochodną ketaminy. Stosowana jest głównie donosowo lub doustnie. Mechanizm działania polega między innymi przez antagonizm receptorów NMDA pobudzanych przez kwas glutaminowy oraz receptorów muskarynowych w ośrodkowym układzie nerwowym (Błachut, Szukalski 2012; Krakowiak i in. 2019; Zawilska 2016).

Syntetyczne opioidy działają poprzez receptory μ -opiodowe. Do tej grupy należy między innymi fentanyl i jego analogi. Stanowią one 2,65% wszystkich wykrytych nowych substancji psychoaktywnych. Fentanyl pozyskiwany jest z leczniczych systemów transdermalnych, a następnie stosowany dożylnie albo drogą wziewną lub syntetyzowany w laboratoriach i sprzedawany w postaci proszku. Siła działania fentanylu jest ponad 50 razy większa od działania morfiny, a objawy zatrucia syntetycznymi opioidami są bardzo niebezpieczne, mogą prowadzić w krótkim czasie do depresji ośrodka oddechowego i śmierci (Krakowiak i in. 2019; <https://gis.gov.pl>; Stary 2018; Zawilska 2016).

Nowe pochodne benzodiazepin są stosowane ze względu na działanie uspokajające, nasenne oraz w celu złagodzenia zespołu odstawienia po innych substancjach psychoaktywnych. Stanowią 0,57% nowych substancji psychoaktywnych (Krakowiak i in. 2019; <https://gis.gov.pl>; Stary 2018).

2.4 Diagnostyka

Do badania pacjenta z podejrzeniem zatrucia NSP wykorzystuje się schemat ABCDE. Wywiad powinien obejmować ustalenie, jak doszło do zatrucia oraz co spożywał pacjent. Jeśli nie jest możliwe zebranie wywiadu, należy przeszukać rzeczy osobiste pacjenta oraz jego otoczenie, gdyż pacjent może mieć przy sobie substancje psychoaktywną lub przedmioty wskazujące na jej spożycie tj. opakowania, lufki, bibułki (Stary 2018).

Nieoceniona jest znajomość toksydromów, które mogą wskazywać na charakter zażytej substancji, a następnie umożliwiać dalsze postępowanie diagnostyczne i leczenie. Mimo postępu technologicznego i ogromnego zapotrzebowania, ze względu na intensywne tworzenie nowych substancji, nie ma przesiewowych testów diagnostycznych do detekcji NPS. Istnieją badania laboratoryjne, które pozwalają nam stwierdzić rodzaj substancji w organizmie, choć w przypadku NSP jest to trudne i wymaga specjalistycznego sprzętu często niedostępnego w codziennej praktyce. Testy te jednak nie zawsze są wystarczające. Najczęściej stosuje się techniki chromatografii gazowej (GC) oraz chromatografii cieczowej (LC) sprzężone z różnymi technikami spektroskopowymi ich stosowanie jest jednak kosztowne i czasochłonne (Lubecka i in. 2018; Majchrzak 2018).

Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS) i chromatografia cieczowa sprzężona z detektorem masowym to najczęściej wykorzystywane techniki w diagnostyce toksykologicznej, szczególnie dla substancjach posiadających właściwości lotne. W przypadku techniki GC-MS analizy opierają się na wykorzystaniu jonizacji chemicznej (CI) lub jonizacji typu elektron - impakt (EI). Technikę można rozszerzyć np. poprzez zastosowanie tandemowej spektroskopii mas, która dostarcza dodatkowe informacje o strukturze cząsteczki (Lubecka i in. 2018; Majchrzak 2018).

Dla chromatografii cieczowej sprzężonej z detekcją mas (LC-MS) analizy prowadzone są w trybach monitorowania reakcji wielokrotnych tj. multiple reaction monitoring (MRM) oraz monitorowania wybranych reakcji tj. selected reaction monitoring (SRM), a najczęściej spotykanym typem jonizacji jest electrospray (ESI) (Majchrzak 2018).

Kolejną techniką do oznaczania związków występujących w dopalaczach, jest ultrawysokosprawna chromatografia cieczowa (UHPLC) sprzężona ze spektrometrem masowym z analizatorem czasu przelotu (TOF – MS), ewentualnie odmiana tej techniki z jednym lub kilkoma kwadrupolami – UHPLC – QTOF – MS. Dzięki tej technice możliwa jest analiza związków w wielu próbkach w formie proszków, tabletek, kapsułek i suszy roślinnych (Majchrzak 2018).

2.5 Najczęściej stosowane substancje oraz opis ich działania

Spektrum objawów wywołanych zażywaniem NSP może być bardzo różnorodne i rozległe. Często skutków zażywania tych substancji nie da się przewidzieć. Objawy pożądane to uczucie pobudzenia, relaks, stan euforii, wyostrenie zmysłów czy halucynacje wzrokowe i słuchowe. Zażywaniu dopalaczy towarzyszą również objawy niepożądane. Do objawów łagodnych należą: bóle głowy, bóle w klatce piersiowej, zaburzenia rytmu serca (tachykardia, migotanie przedsionków, częstoskurcz, komorowy), bóle brzucha, nudności, wymioty, biegunka, bezsenność, problemy z koncentracją, stany lękowe po zażyciu NSP mogą wystąpić również objawy zagrażające życiu człowieka takie jak: zawał serca, udar mózgu, stany agresji, śpiączka, niewydolność oddechowa, niewydolność nerek (ostra, przewlekła), czy niewydolność wątroby (Kołaczkiewicz i Krasucka 2017).

Syntetyczne kanabinomimetyki:

WH-018 powoduje (Kołaczkiewicz i Krasucka 2017):

- wzrost ciśnienia tętniczego,
- przekrwienie gałek ocznych,
- zaburzenia koordynacji ruchowej, zaburzenia uwagi,
- wysuszenie śluzówek,
- przyśpieszone tętno,
- zawroty głowy, apatię,
- dekoncentrację,
- niemożność skupienia uwagi,
- lęki i urojenia oraz uaktywnienie chorób psychicznych.

Mocarz syntetyczny kanabinomimetyki charakteryzuje się siłą działania 800 razy większą niż niesyntetyczna marihuana.

Objawy zatrucia psychostymulantami na podstawie katynonów (Krakowiak i in. 2019; Stary 2018; Zawilska 2016):

- tachykardia,
- wzrost ciśnienia tętniczego krwi,
- palpacje,
- ból w klatce piersiowej,
- zapalenie mięśnia sercowego,
- zatrzymanie akcji serca,
- bezsenność,
- bóle głowy,
- drgawki,
- zaburzenia widzenia,

- drażliwość,
- agresja,
- samookaleczenia,
- niepokój,
- napady paniki,
- depresja,
- myśli i próby samobójcze,
- urojenia paranoidalne, omamy słuchowe i wzrokowe,
- krwawienie z nosa, rabdomioliza, ostre uszkodzenie nerek.

Objawy występujące po zażyciu opioidów (Krakowiak i in. 2019; Stary 2018; Zawilska 2016):

- depresja ośrodka oddechowego (obniżenie pojemności wdechowej, zmniejszenie liczby oddechów aż do bezdechu),
- wąskie źrenice, szpilkowate (współwystępujące zwolnienie oddechu oraz zwięźnienie źrenic są objawem pozwalającym z dużą pewnością podejrzewać zatrucie opioidami),
- hipotensja,
- zaburzenia rytmu serca,
- napady drgawkowe,
- wymioty,
- zaburzenia perystaltyki (zaparcia),
- spowolnienie psychoruchowe,
- senność,
- bradykardia,
- zaburzenia oddychania.

W ostrych zatruciach mogą pojawić się:

- drgawki,
- ostre uszkodzenia układu oddechowego
- zaburzenia rytmu i przewodzenia.

Pochodne benzodiazepiny powodują (Krakowiak i in. 2019; Stary 2018; Kołacz i Krasucka 2017):

- zawroty głowy,
- senność,
- zaburzenia ze strony OUN,
- powoduje bóle brzucha, nudności, wymioty,
- bóle głowy,
- kołatanie serca,
- brak apetytu,
- stany lękowe,
- bezsenność,
- zaburzenia treści myślenia,
- zmiany nastroju,
- dezorientację,
- rozdrażnienie,
- drgawki.

Objawy po zażyciu związków halucynogennych (Krakowiak i in. 2019; Zawilska 2016):

- tachykardia,
- wzrost ciśnienia tętniczego krwi,
- związki działające przez pobudzenie receptorów serotoninowych mogą prowadzić do wystąpienia zespołu serotoninowego, którego objawy to: biegunka, wzmożona potliwość, skurcze mięśni szkieletowych,

- wzmożona potliwość,
- zaburzenia świadomości,
- zaburzenia toku myślenia: gonitwa myśli,
- intensywne omamy, urojenia,
- depresja,
- napady lęku, paniki
- myśli i próby samobójcze.

Syntetyczny związek NBOMe może dodatkowo powodować (Krakowiak i in. 2019; Zawilska 2016):

- obkurczenie mięśni gładkich naczyń krwionośnych, co w konsekwencji może doprowadzić do martwicy tkanek palców dłoni i stóp.

3. Podsumowanie

Analiza dane epidemiologiczne pozwala wyciągnąć wniosek, iż problem zatruć dopalaczami jest wciąż bardzo aktualny. Spadek liczby zatruć nowymi narkotykami w grupie wiekowej 13-18 lat wskazuje na skuteczność akcji informacyjnych na temat szkodliwości zażywania nieznanymi środkami na terenie szkół. Wzrost liczby zatruć w starszych grupach wiekowych świadczy o konieczności wdrożenia działań mających na celu edukację o zagrożeniach spowodowanych zażywaniem nowych narkotyków na terenach uczelni wyższych oraz w prasie i telewizji. Wzrost liczby zgonów z powodu zatrucia nowymi narkotykami w roku 2018 obrazuje z jak dużym niebezpieczeństwem wiąże się przyjmowanie tych środków. Dopalacze często sprzedawane są jako mieszanki kilku różnych substancji, w opakowaniach, na których nie ma informacji o składzie chemicznym. Wprowadzanie na rynek całkowicie nowych, dotychczas nieznanymi narkotyków utrudnia proces diagnostyczny oraz wydłuża czas leczenia w przypadku zatruć. Obecność NSP w płynach ustrojowych można zidentyfikować wykorzystując metodę chromatografii cienkowarstwowej, jednakże w większości szpitali ze względu na częstą niedostępność tej metody rozpoznaniu decydują wywiad sugerujący zażycie substancji psychoaktywnej oraz obraz kliniczny. Właściwości farmakokinetyczne oraz toksyczność tych związków testowana jest na osobach zażywających te substancje, dlatego kupując dopalacze konsument nie jest świadomy skutków działania na organizm (Krakowiak i in. 2019; Wrześniewska–Wal 2012; Zawilska 2016).

4. Literatura

- Błachut D, Szukalski B (2012) Dopalacze – właściwości chemiczne, skala zagrożeń i przeciwdziałanie rozpowszechnianiu. *Przegląd Bezpieczeństwa Wewnętrznego*, 4(6), 111-135.
<https://gis.gov.pl>
<http://prawo.sejm.gov.pl>
- Klimczak M (2018) Ustawa o tzw. Dopalaczach wchodzi w życie.
- Kończak J, Krasucka W (2017) Zatrucia dopalaczami jako przyczyna ostrej i przewlekłej niewydolności nerek. *Forum Nefrologiczne* Vol. 10, No. 2: 149-154.
- Krakowiak A, Rutkiewicz A i in. (2019) „Dopalacze” – od teorii do praktyki klinicznej. *α-medica press*, 15-48, 185-186.
- Lechowicz-Dyl K, Pawlak B, Starzyńska-Rosiecka D (2018) Dopalacze zabijają, ustawa czeka na podpis. <https://www.mp.pl/pacjent/psychiatria/aktualnosc/192305,dopalacze-zabijaja-ustawa-czeka-na-podpis>
- Lubecka B, Lubecki M, Pudło R (2018) „Dopalacze”—co wiemy o nowych substancjach psychoaktywnych?. *Psychiatria*, 15(2), 99-109.
- Majchrzak M (2018) Chromatograficzne i spektroskopowe oznaczanie nowych substancji psychoaktywnych (tzw. dopalaczy) w materiale rzeczowym i biologicznym.
- Osmalek K, Liniarski M, Kopański Z (2018) Dopalacze –mechanizm działania, objawy, postępowanie ratownicze. *Journal of Clinical Healthcare* 1/2018: 29-33.
- Stary A (2018) Wpływ Nowych Substancji Psychoaktywnych na postępowanie ratownicze w stanach zagrożenia zdrowotnego.

- Wrześniewska–Wal I (2012) Dopalacze w prawie i laboratorium. Diagnostyka laboratoryjna Journal of Laboratory Diagnostics 48 (3): 333-338.
- Zawilska J (2016) Nowe związki psychoaktywne („dopalacze”). Część 1. Informacje ogólne. Med. Prakt. Psychiatria, 1: 45–50.
- Zawilska J (2016) Nowe związki psychoaktywne („dopalacze”). Część 2. Syntetyczne kanabinomimetyki. Med. Prakt. Psychiatria, 2: 41–47.
- Zawilska J (2016) Nowe związki psychoaktywne („dopalacze”). Część 3. Związki psychostymulujące. Med. Prakt. Psychiatria, 3: 53–61.
- Zawilska J (2016) Nowe związki psychoaktywne („dopalacze”). Część 4. Związki halucynogenne. Med. Prakt. Psychiatria, 4: 49–56.
- Zawilska J (2016) Nowe związki psychoaktywne („dopalacze”). Część 5. Opioidy. Med. Prakt. Psychiatria, 5: 55–60.

27. Wybrane zagadnienia dotyczące nerwu błędnego

Selected issues concerning the vagus nerve

Oskar Wiśniewski, Aneta Brzezińska

Katedra Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Opiekun naukowy: Wiesław Kozak

Wiśniewski Oskar: owisniew@doktorant.umk.pl

Brzezińska Aneta: aneta.brzezinska1@gmail.com

Słowa kluczowe: cytokiny, zapalenie, neuroimmunomodulacja

Streszczenie

Nerw błędny reprezentuje główny składnik przywspółczulnego układu nerwowego, który nadzoruje szeroki zakres kluczowych funkcji organizmu, w tym kontrolę nastroju, odpowiedzi immunologicznej, trawienia i tętna. Tworzy on jedno z połączeń między mózgiem a przewodem pokarmowym i wysyła informacje o stanie narządów wewnętrznych do mózgu za pośrednictwem włókien doprowadzających. W niniejszym artykule omówiono różne funkcje nerwu błędnego, ze szczególnym uwzględnieniem jego roli w neuroimmunomodulacji oraz chorób i zaburzeń, które są związane z funkcjonowaniem tego nerwu.

1. Wprowadzenie

Nerw błędny stanowi główny składnik przywspółczulnego układu nerwowego, który nadzoruje szeroki wachlarz kluczowych funkcji organizmu, w tym kontrolę nastroju, odpowiedzi immunologicznej, trawienia i częstości akcji serca, przekazuje również, poprzez włókna aferentne, informacje o stanie narządów wewnętrznych do mózgu. Stanowi on dziesiąty nerw czaszkowy, rozciągający się od pnia mózgu przez szyję i klatkę piersiową aż do jamy brzusznej.

Nerw ten jest odpowiedzialny za regulację funkcji narządów wewnętrznych, takich jak trawienie, częstość akcji serca i częstość oddechów, a także aktywność naczynioruchowa i pewne działania odruchowe, takie jak kaszel, kichanie, polykanie i wymioty. Jego aktywacja prowadzi do uwolnienia acetylocholiny w synapsach każdego rodzaju. Acetylocholina wiąże się z receptorami nikotynowymi oraz muskarynowymi, a w konsekwencji stymuluje skurcze mięśni w przywspółczulnym układzie nerwowym (Breit i in. 2018).

W odcinku szyjnym, nerw błędny zapewnia unerwienie większości mięśni gardła i krtani, które są odpowiedzialne za polykanie i wokalizację. W klatce piersiowej zapewnia główne przywspółczulne zaopatrzenie serca i odpowiada za spowolnienie częstości akcji serca. W jelitach nerw ten reguluje skurcz mięśni gładkich. Neurony przedzwojowe włókien eferentnych wychodzą z jądra motorycznego grzbietowego nerwu błędnego umiejscowionego w rdzeniu i unerwiają mięśnie oraz błony śluzowe jelit, zarówno w blaszce właściwej, jak i w mięśniach zewnętrznych. Gałąź trzewna zaopatruje w nerwy jelito od bliższej części dwunastnicy do dystalnej części zstępującej okrężnicy. Do brzusznych aferentów nerwu błędnego należą mechanoreceptory błony śluzowej, chemoreceptory i receptory napięcia w przełyku, żołądku i proksymalnym odcinku jelita cienkiego oraz zakończenia czuciowe w wątrobie i trzustce. Czuciowe komórki aferentne znajdują się w zwojach guzkowatych i wysyłają informację do jądra pasma samotnego. Jądra pasma samotnego przekazuje informacje sensoryczne do kilku rejonów ośrodkowego układu nerwowego (m.in. do miejsca sinawego, jądra migdałowatego i wzgórze) (Breit i in. 2018).

2. Rola nerwu błędnego w jelitowym układzie nerwowym

Oś mózgowo-jelitowa jest dwukierunkowym neurohumoralnym systemem łączności pomiędzy ośrodkowym układem nerwowym, a układem pokarmowym. Nerw błędny w tym systemie

odpowiada za monitorowanie fizjologicznej homeostazy i łączenie emocjonalnych i poznawczych obszarów mózgu z aktywnością jelitową (aktywacja immunologiczna, przepuszczalność jelit, odruch jelitowy i sygnalizacja enteroendokrynowa). Oś mózgowo-jelitowa obejmuje mózg, rdzeń kręgowy, autonomiczny układ nerwowy oraz oś podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) (Carabotti i in. 2015). Włókna eferentne nerwu błędnego (stanowiące 10-20% wszystkich włókien) wysyłają sygnały w kierunku od ściany jelita do mózgu, a nerwy aferentne (stanowiące 80-90% wszystkich włókien) w kierunku od ściany jelita do mózgu. W aktywację oraz regulację osi HPA zaangażowane są włókna aferentne, które koordynują reakcje adaptacyjne organizmu na wszelkiego rodzaju stresory. Stres środowiskowy, a także podwyższony poziom ogólnoustrojowych prozapalnych cytokin, aktywuje oś HPA poprzez wydzielanie czynnika uwalniającego kortykotropinę (CRF) (Pariante i Lightman 2008). Uwolnienie tego czynnika stymuluje zaś wydzielanie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) w przysadce mózgowej. Ta stymulacja z kolei prowadzi do uwalniania kortyzolu w nadnerczach. Zarówno komponent nerwowy, jak i hormonalny osi mózgowo-jelitowej wpływa na czynność komórek efektorowych w jelitach (komórki układu odpornościowego, komórki nabłonkowe, neurony jelitowe, komórki mięśni gładkich oraz komórki śródmięszowe Cajala) (Mayer i in. 2014).

3. Nerw błędny jako modulator jelitowej homeostazy immunologicznej

Przewód pokarmowy podlega stałej ekspozycji na antygeny pokarmowe, potencjalne patogeny i symbiotyczną mikroflorę jelitową, które stanowią czynnik ryzyka rozwoju zaburzeń immunologicznych. Przewód pokarmowy w dużym stopniu jest unerwiony przez włókna nerwu błędnego, które łączą ośrodkowy układ nerwowy z jelitowym układem odpornościowym, czyniąc z nerwu błędnego główny składnik osi neuroendokrynoimmunologicznej. Oś ta jest zaangażowana w skoordynowane reakcje neuronalne, behawioralne i endokrynologiczne, pełniące rolę „obrony pierwszego rzutu” przed czynnikami zewnętrznymi. W odpowiedzi na patogeny i inne szkodliwe bodźce, TNF- α jest wytwarzany przez aktywowane makrofagi oraz komórki dendrytyczne w błonie śluzowej jelit (Tracey 2002). Wraz z prostaglandynami i interferonami, TNF- α jest ważnym mediatorem miejscowego i ogólnoustrojowego stanu zapalnego, a wzrost jego poziomu powoduje kliniczne objawy stanu zapalnego, w tym obrzęk, ból i zaczerwienienie (Rogler 2017). Jądro grzbietowe nerwu błędnego, zawierające czuciowe jądra przewodu pokarmowego, pole oraz grzbietowe jądro ruchowe błędnika, reaguje na zwiększone krążące ilości TNF- α przez zmianę aktywności ruchowej nerwu błędnego (Goehler 2000).

Przeciwpalna aktywność nerwu błędnego zachodzi poprzez trzy różne szlaki. Pierwszym z nich jest opisana wcześniej oś HPA. Drugą drogą jest współczulny szlak przeciwpalny śledziony, w którym następuje stymulacja współczulnego nerwu śledziony. W szlaku tym noradrenalina uwalniana na dystalnym końcu połączeń nerwu śledzionowego z receptorem β 2-adrenergicznym limfocytów śledziony powoduje uwalnianie acetylocholiny. Acetylocholina hamuje następnie uwalnianie TNF- α przez makrofagi śledziony poprzez działanie na α -7-nikotynowe receptory acetylocholiny (Martelli i in. 2014). Trzeci szlak, zwany cholinergicznym szlakiem przeciwpalnym zachodzi poprzez nerwowe włókna eferentne, które oddziałują za pomocą połączeń synaptycznych na neurony jelitowe, one z kolei uwalniają acetylocholinę po związaniu się z makrofagami (Bonaz i in. 2016). Acetylocholina wiąże się z α -7-nikotynowymi receptorami acetylocholiny makrofagów w celu zahamowania produkcji TNF- α (Tracey 2009). W porównaniu z osią HPA, cholinergiczny szlak przeciwpalny cechuje się wyższą prędkością przewodnictwa nerwowego, które umożliwia natychmiastową regionalną modulację stanu zapalnego. Z tego względu szlak ten odgrywa kluczową rolę w jelitowej odpowiedzi immunologicznej i utrzymaniu homeostazy, a także stanowi bardzo interesujący cel dla opracowania nowych metod leczenia chorób zapalnych związanych z układem odpornościowym jelita.

Opisane powyżej inicjowanie zapalenia oraz hamowanie stanu zapalnego stanowi główne składnik odruchu zapalnego. Pojawienie się patogennych organizmów aktywuje komórki wrodzonego układu odpornościowego, które uwalniają cytokiny. Nasilone sygnały eferentne w nerwie błędnym hamują uwalnianie obwodowych cytokin przez makrofagowe receptory nikotynowe i cholinergiczny szlak przeciwpalny. Eksperymentalna aktywacja tego szlaku hamuje

syntezę TNF- α w wątrobie, śledzionie oraz sercu, a także obniża poziom TNF- α w surowicy krwi obwodowej (Bernik i in. 2002).

4. Stymulacja nerwu błędnego

Stymulacja nerwu błędnego (VNS) polega na dostarczaniu impulsów elektrycznych do tego nerwu. Wyróżniamy jej dwa rodzaje: bezpośrednią inwazyjną stymulację, która jest obecnie najczęstszym zastosowaniem oraz pośrednią przezskórną nieinwazyjną stymulację. Inwazyjne stosowanie VNS wymaga chirurgicznego wszczępienia małego generatora impulsów pod skórę lewej strony klatki piersiowej. Generator zaś dostarcza impulsy elektryczne przez nerw błędny do mózgu. Postuluje się, że te impulsy elektryczne wykazują działanie przeciwpadaczkowe, przeciwdepresyjne i przeciwzapalne poprzez zmianę pobudliwości komórek nerwowych (Bajbouj i in. 2010). W przeciwieństwie do pierwszego typu stymulacji, pośrednia VNS pozwala na nieinwazyjną stymulację nerwu błędnego – nie jest wymagana jakakolwiek interwencja chirurgiczna. W przypadku tej metody stymulator jest przymocowany zazwyczaj do małżowiny usznej za pomocą klipsów nausznych i dostarcza impulsy elektryczne transdermalnie do nerwu błędnego (Rong i in. 2016). Badaniem pilotażowe, w którym zbadano zastosowanie VNS u 60 pacjentów z opornym na leczenie zaburzeniem depresyjnym, wykazało istotną kliniczną poprawę u 30-37% pacjentów (Sackeim, 2001). Pięć lat później stymulacja nerwu błędnego w leczeniu depresji została zatwierdzona przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA).

Mechanizm, dzięki któremu stymulacja nerwu błędnego może przynieść korzyści pacjentom niereagującym na konwencjonalne leki przeciwdepresyjne, jest niejasny. Neuroobrazowanie potwierdziło, że VNS zmienia aktywność wielu regionów korowych i podkorowych mózgu. Poprzez bezpośrednie lub pośrednie połączenia anatomiczne (m.in. za pośrednictwem jądra pasma samotnego), nerw błędny ma strukturalne połączenia z kilkoma obszarami limbicznymi i korowymi mózgu regulującymi nastrój. Badania wpływu VNS na depresję wykazały spadek spoczynkowej aktywności mózgu w brzusznej części kory przedczołowej, rzutującej na ciało migdałowate i inne regiony mózgu modulujące emocje. Postuluj się, że VNS prowadzi do modulacji metabolizmu monoamin w tych regionach, co prowadzi do działania przeciwdepresyjnego (Pardo i in. 2008).

5. Zaburzenia związane z nerwem błędnym

5.1 Depresja

Etiologia depresji jest złożona i obejmuje zarówno czynniki społecznie oraz stresory środowiskowe, jak również czynniki genetyczne i fizjologiczne, takie jak podwyższony poziom aktywacji osi HPA, przewlekły stan zapalny lub zaburzenia w neuroprzekaznictwie monoamin. Wskazuje się, że brak tryptofanu, będącego prekursorem serotoniny, może wywoływać objawy typowe dla depresji, tj. obniżony nastrój, smutek i uczucie beznadziejności. Największą aktywność osi HPA obserwuje się u osób z depresją, wówczas mechanizmy hamujące sprzężenie zwrotne kortyzolu są upośledzone, przyczyniając się do nadmiernego wydzielania cytokin. Wykazano, że przewlekła ekspozycja na podwyższony poziom cytokiny prozapalnej może prowadzić do depresji (Felger i Lotrich 2013). Można to wytłumaczyć faktem, iż nadmierna ekspresja cytokin prowadzi do obniżenia poziomów serotoniny. Zgodnie z tym leczenie środkami przeciwzapalnymi może zmniejszyć objawy depresyjne.

Europejskie wieloośrodkowe badanie wykazało pozytywny wpływ stymulacji nerwu błędnego na objawy depresyjne u pacjentów z depresją oporną na standardową terapię. Zastosowanie stymulacji nerwu błędnego w okresie 3 miesięcy spowodowało, że wskaźnik pozytywnej reakcji na stymulację wynosił 37%, a wskaźnik remisji (utajenia objawów) - 17%. Po 1 roku leczenia wskaźnik pozytywnej reakcji na stymulację osiągnął 53%, a odsetek remisji wyniósł 33%. Metaanaliza porównująca stosowanie stymulacji nerwu błędnego do zwykłego leczenia, u pacjentów z depresją, wykazała, iż około 50% badanych odpowiedziało pozytywnie na terapię (w ostrej fazie choroby), a długoterwały współczynnik remisji wyniósł 20% po 2 latach leczenia (Berry i in. 2013). Ponadto, pięcioletnie prospektywne badanie, które porównywało efekty standardowej terapii oraz leczenia wspomagającego VNS, w depresji opornej na leczenie, wykazało lepszy wynik kliniczny i wyższy

wskaźnik remisji w grupie leczonej VNS (Aaronson i in. 2017). Dotyczyło to nawet pacjentów ze współistniejącą depresją i lękiem, którzy często nie reagują na leki przeciwdepresyjne.

Pacjenci z depresją wykazują zwiększone stężenie cytokin prozapalnych w osoczu krwi i mózgu. Korzyści ze stymulacji nerwu błędnego w leczeniu depresji mogą wynikać z działania hamującego produkcję prozapalnych cytokin i znacznego wzrostu obwodowych cytokin przeciwzapalnych. Ponadto, poprawa stanu zdrowia po stymulacji nerwu błędnego jest związana ze zmienionym wydzielaniem kortykoliberyny, zapobiegając w ten sposób zwiększonej aktywacji osi HPA. Zmodyfikowane wytwarzanie i wydzielanie tego hormonu może wynikać z bezpośredniej stymulacji na drodze z nerwu błędnego przez jądro pasma samotnego do jądra przykomorowego podwzgórza. Wykazano, że stymulacja nerwu błędnego hamuje wytwarzanie TNF- α we krwi obwodowej, które zwiększa się w depresji klinicznej (Breit i in. 2018).

5.2 Zespół stresu pourazowego (PTSD)

Zespół stresu pourazowego to zaburzenie lękowe, które może rozwinąć się po silnej traumie i charakteryzuje się doświadczaniem natrętnych wspomnień, retrospekcji, koszmarów sennych, unikania kontaktów społecznych i dysfunkcji społecznych. Objawy PTSD można podzielić na cztery główne grupy: objawy intruzji (gdy traumatyczne zdarzenie uporczywie nawraca i jest stale przeżywane), zachowanie unikowe (unikanie bodźców związanych z traumą), zmiany poznawcze i afektywne oraz zmiany pobudzenia i reaktywności. Ludzie cierpiący na PTSD mają tendencję do życia w stanie ciągłego zagrożenia. Wykazują zachowania charakterystyczne dla postawy „walki i ucieczki” oraz dysocjację behawioralną, bez możliwości osiągnięcia spokojnego stanu i rozwijania pozytywnych interakcji społecznych. Z czasem te niepożądane reakcje autonomiczne prowadzą do rozwoju zwiększonego ryzyka towarzyszących chorób psychicznych, takich jak uzależnienia oraz chorób sercowo-naczyniowych (Williamson i in. 2014).

Objawy pourazowych zaburzeń stresowych są częściowo związane z aktywnością nerwu błędnego. Aktywność nerwu błędnego, mająca odzwierciedlenie w rytmie serca, zmienia się wraz z oddychaniem. W ten sposób, wpływ nerwu błędnego na serce można ocenić obliczając amplitudę rytmicznych fluktuacji rytmu zatokowego serca i oddechowego (RSA). Niedawne badania wykazały zmniejszone spoczynkowe RSA u weteranów z PTSD. Ponadto wykazano, że pacjenci z PTSD mają niższą zmienność częstości akcji serca niż zdrowi ludzie (Chang i in. 2013). Stymulacja nerwu błędnego okazała się obiecująca jako opcja terapeutyczna w leczeniu zaburzeń lękowych opornych na konwencjonalne leczenie, w tym PTSD. Wykazano, że stymulacja nerwu błędnego zmniejsza lęk u szczurów oraz poprawia stan pacjentów cierpiących na depresję oporną na leczenie. Po stymulacji, nerw błędny wysyła sygnały do jądra pasma samotnego, jądro to wysyła bezpośrednie sygnały do ciała migdałowatego i podwzgórza. Co więcej, stymulacja nerwu błędnego zwiększa uwalnianie noradrenaliny w ciele jądrowym podstawnym, a także hipokampie i korze mózgowej. Infuzja noradrenaliny do ciała migdałowatego skutkuje wyłumieniem objawów PTSD (Berlau i McGaugh 2006). Zatem, VNS może być dobrym narzędziem do niwelowania objawów i leczenia choroby. Jednym z efektów neurofizjologicznych stymulacji nerwu błędnego jest zmniejszenie aktywności hipokampa, prawdopodobnie poprzez wzmocnienie sygnalizacji GABA-ergicznej. Hipokamp jest głównym elementem odpowiedzialnym za przetwarzanie strachu, ponieważ pełni funkcje kluczowej struktury w pamięci epizodycznej i kodowaniu kontekstu przestrzennego.

5.3 Zapalne choroby jelit

Ta grupa chorób obejmuje głównie dwa zaburzenia: wrzodziejące zapalenie jelita grubego (CU) i chorobę Crohna (CD). Ich wspólną cechą charakterystyczną jest przewlekłe, niekontrolowane zapalenie błony śluzowej jelit. W CD dominującymi objawami są biegunka, ból brzucha i utrata masy ciała, podczas gdy w przebiegu CU biegunka jest głównym objawem, któremu często towarzyszy krwawienie z odbytu. U osób z chorobami zapalnymi jelit występuje miejscowy chroniczny stan zapalny, układ odpornościowy śluzówki pozostaje stale aktywowany, a jelito przewlekłe zaognione. Podczas stanu zapalnego prozapalne cytokiny (IL-1 β , IL-6, TNF- α) uwalniane z błony śluzowej jelit aktywują przekaźniki nerwu błędnego kończące się w jądrze pasma samotnego, a następnie przekazują sygnalizację w celu aktywacji osi HPA (Breit i in. 2018). Co więcej, doniesiono o przeciwzapalnej roli włókien nerwu błędnego kontrolowanej przez cholinergiczny szlak

przeciwzapalny. Jak wspomniano wcześniej, acetylocholina uwolniona na odległym eferentnym końcu nerwu błędnego zmniejsza wytwarzanie prozapalnych cytokin, takich jak TNF- α . Stymulacja nerwu błędnego niweluje ogólnoustrojową reakcję zapalną na endotoksynę i zapalenie jelit. Nerw ten pośrednio moduluje także aktywność odpornościową śledziony poprzez połączenia ze śledzionowym nerwem współczulnym. U szczurów z zapaleniem okrężnicy 3-godzinna terapia z wykorzystaniem VNS przez okres 5 dni doprowadziła do zmniejszenia poziomów markerów stanu zapalnego oraz złagodzenia objawów zapalenia okrężnicy (Meregani i in. 2011).

Stymulacja nerwu błędnego powinna być przedmiotem zainteresowania lekarzy zajmujących się leczeniem chorób zapalnych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów. U pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów przeprowadzono badanie, które wykazało poprawę objawów we wczesnym i późnym stadium choroby, wykorzystując terapię z VNS przez 1-4 min dziennie (Koopman i in. 2016). Badanie to było pierwszym, które wykazało, iż VNS hamuje wytwarzanie TNF- α i innych cytokin u ludzi przez stymulowanie odruchu zapalnego, prowadząc do nasilenia objawów. Dane te wskazują na rolę przeciwzapalną nerwu błędnego i zapewniają potencjalne zastosowania terapeutyczne u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit (Marshall i in. 2015).

6. Podsumowanie

Interakcja między jelitem a mózgiem opiera się na złożonym systemie, który obejmuje nie tylko połączenia nerwowe, ale także hormonalne, immunologiczne i humoralne.

Nerw błędny jest istotną częścią osi mózgowo-jelitowej i odgrywa ważną rolę w modulacji stanu zapalnego, utrzymaniu homeostazy jelitowej i regulacji przyjmowania pokarmu, sytości i homeostazy energii. Interakcja między odżywianiem a nerwem błędnym jest dobrze znana, a napięcie nerwu błędnego może wpływać na przyjmowanie pokarmu i przyrost masy ciała. Ponadto nerw błędny odgrywa ważną rolę w patogenezie zaburzeń psychicznych, otyłości, a także innych chorób wywołanych stresem i chorób zapalnych. Stymulacja nerwu błędnego i kilka technik medytacji pokazują, że modulowanie nerwu błędnego ma działanie terapeutyczne, głównie ze względu na jego właściwości relaksujące i przeciwzapalne.

Badania dotyczące interakcji między czynnikami odżywczymi, czynnikami somatycznymi, takimi jak częstość akcji serca, leczenie psychologiczne i farmakologiczne oraz aktywność nerwu błędnego mogą potencjalnie prowadzić do kompleksowych opcji leczenia obejmujących VNS, podejścia żywieniowe, leki i interwencje psychologiczne, oparte na podejściu, które można dostosować do potrzeb indywidualnego pacjenta.

7. Literatura

- Aaronson ST, Sears P, Ruvuna F i in. (2017) A 5-year observational study of patients with treatment-resistant depression treated with vagus nerve stimulation or treatment as usual: comparison of response, remission, and suicidality. *Am J Psychiatry* 174: 640–8.
- Bajbouj M, Merkl A, Schlaepfer TE i in. (2010) Two-year outcome of vagus nerve stimulation in treatment-resistant depression. *J Clin Psychopharmacol* 30: 273–81.
- Berlau DJ, McGaugh JL (2006) Enhancement of extinction memory consolidation: the role of the noradrenergic and GABAergic systems within the basolateral amygdala. *Neurobiol Learn Mem* 86: 123–32.
- Bernik TR, Friedman SG, Ochani M i in. (2002) Pharmacological stimulation of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J Exp Med* 195: 781–8.
- Berry SM, Broglio K, Bunker M i in. (2013) A patient-level meta-analysis of studies evaluating vagus nerve stimulation therapy for treatment-resistant depression. *Med Devices (Auckl)* 6: 17–35.
- Bonaz B, Sinniger V, Pellissier S (2016) Anti-inflammatory properties of the vagus nerve: potential therapeutic implications of vagus nerve stimulation. *J Physiol* 594: 5781–90.
- Breit S, Kupferberg A, Rogler G i in. (2018) Vagus Nerve as Modulator of the Brain–Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. *Front. Psychiatry* 9: 44.

- Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA i in. (2015) The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol* 28: 203–9.
- Chang H-A, Chang C-C, Tzeng N-S i in. (2013) Decreased cardiac vagal control in drug-naïve patients with posttraumatic stress disorder. *Psychiatry Investig* 10: 121–30.
- Felger JC, Lotrich FE (2013) Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience* 246: 199–229.
- Goehler LE, Gaykema RP, Hansen MK i in. (2000) Vagal immune-to-brain communication: a visceral chemosensory pathway. *Auton Neurosci* 85: 49–59.
- Koopman FA, Chavan SS, Miljko S i in. (2016) Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 113: 8284–9.
- Marshall R, Taylor I, Lahr C i in. (2015) Bioelectrical stimulation for the reduction of inflammation in inflammatory bowel disease. *Clin Med Insights Gastroenterol* CGast-S31779
- Martelli, D, McKinley MJ, McAllen RM (2014) The cholinergic anti-inflammatory pathway: a critical review. *Autonomic Neuroscience* 182: 65-69.
- Mayer EA, Savidge T, Shulman RJ (2014) Brain gut microbiome interactions and functional bowel disorders. *Gastroenterology* 146: 1500–12.
- Meregnani J, Clarençon D, Vivier M i in. (2011) Anti-inflammatory effect of vagus nerve stimulation in a rat model of inflammatory bowel disease. *Auton Neurosci* 160: 82–9.
- Pardo JV, Sheikh SA, Schwindt GC i in. (2008) Chronic vagus nerve stimulation for treatment-resistant depression decreases resting ventromedial prefrontal glucose metabolism. *Neuroimage* 42: 879–89.
- Pariante CM, Lightman SL (2008) The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 31: 464–8.
- Rogler G (2017) Resolution of inflammation in inflammatory bowel disease. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2: 521–30.
- Rong P, Liu J, Wang L i in. (2016) Effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on major depressive disorder: a nonrandomized controlled pilot study. *J Affect Disord* 195: 172–9.
- Tracey KJ (2009) Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol* 9: 418–28.
- Williamson JB, Porges EC, Lamb DG i in. (2014) Maladaptive autonomic regulation in PTSD accelerates physiological aging. *Front Psychol* 5: 1571.

28. Wielokierunkowość różnicowania adipopochodnych komórek macierzystych

Multidirectional differentiation of adipose-derived stem cell

Woroszyło Szymon⁽¹⁾, Wojnar Tomasz⁽¹⁾, Gwiżdż Joanna⁽¹⁾, Simka Klaudia⁽²⁾

⁽¹⁾ Zakład Biologii Molekularnej Katedry Biologii Molekularnej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾ Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Opiekun naukowy: Barbara Strzałka-Mrozik, Joanna Gola

Szymon Woroszyło: szymon.woroszylo@med.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: ADSC, inżynieria tkankowa, medycyna regeneracyjna

Streszczenie

Adipopochodne komórki macierzyste (ang. adipose-derived stem cells; ADSCs) wykazują szerokie spektrum różnicowania, wysoką żywotność w hodowli i wysoki potencjał proliferacyjny *in vitro*. Liczne badania dowodzą, że posiadają one zdolność różnicowania się w kierunku komórek wywodzących się ze wszystkich trzech listków zarodkowych w wyniku czego mogą postawać m.in: adipocyty, osteocyty, neurony, komórki gleju, hepatocyty czy komórki endokryne trzustki. W niniejszej pracy przedstawiono kierunki różnicowania adipopochodnych komórek macierzystych z uwzględnieniem czynników odpowiedzialnych za ten proces. Omówiono również możliwości zastosowania ADSC w medycynie regeneracyjnej, terapii komórkowej oraz przemyśle kosmetycznym w oparciu o przegląd aktualnego piśmiennictwa.

1. Wstęp

Mezenchymalne komórki macierzyste (ang. mesenchymal stem cells; MSCs) stały się w ostatnich latach obiektem licznych zainteresowań naukowców. Stanowią one dobrą alternatywę dla embrionalnych komórek macierzystych, których sposób pozyskania budzi wiele kontrowersji oraz wątpliwości etycznych. MSCs posiadają zdolność do nieograniczonego namnażania się oraz różnicowania w kierunku komórek pochodzenia mezodermalnego, tj.: w adipocyty, osteocyty, chondrocyty, miocyty czy fibroblasty. MSCs usytuowane są między innymi w szpiku kostnym i krwi obwodowej dorosłych osób, a także w łożysku i krwi pępowinowej. Bardzo dobrym źródłem komórek macierzystych jest również tkanka tłuszczowa biała, a komórki z niej pozyskane określa się jako adipopochodne komórki macierzyste (ang. adipose-derived stem cells; ADSCs).

2. Opis zagadnienia

Szerokie spektrum różnicowania, wysoki potencjał proliferacyjny jak i wiele innych zalet ADSC, związanych m.in. z łatwością hodowli oraz pozyskania tkanki tłuszczowej powodują, że komórki te mogą znaleźć różnorakie zastosowanie w medycynie regeneracyjnej oraz terapii różnych schorzeń, m.in. cukrzycy. Liczne badania dowodzą, że ADSC wykazują pluripotencję, a więc oprócz możliwości różnicowania się w obrębie jednego lista zarodkowego - mezodermy, zdolne są także do różnicowania się w kierunku komórek pochodzenia ektodermalnego oraz endodermalnego, w wyniku czego mogą powstawać: neurony, komórki gleju, hepatocyty czy komórki endokryne trzustki. Za dyferencjację ADSC w kierunku konkretnych tkanek odpowiedzialne są różne warunki środowiskowe oraz czynniki transkrypcyjne, które promują różnicowanie w danym kierunku, a hamują w innym, zapewniając równowagę pomiędzy różnymi programami różnicowania. Niniejsza praca ma na celu przedstawienie szerokich możliwości różnicowania adipopochodnych komórek macierzystych, opisanie czynników odpowiedzialnych za indukcję tego procesu oraz ukazanie

możliwości zastosowania tych komórek w medycynie regeneracyjnej i terapii licznych schorzeń w oparciu o przegląd aktualnego piśmiennictwa.

3. Przegląd literatury

3.1 Osteocyty

Jednym z pierwszych odkrytych czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za różnicowanie mezenchymalnych komórek macierzystych jest produkt genu *TAZ* (ang. *transcriptional coactivator with PDZ-binding motif*) - koaktywator transkrypcyjny z motywem wiążącym domenę PDZ. W zależności od jego ekspresji, MSC kierowane są na drogę adipogenezy lub osteogenezy. W celu zróżnicowania ADSC w kierunku osteocytów do medium hodowlanego należy dodać witaminę C, D, deksametazon, kwas walproinowy, BMP-2 (ang. *bone morphogenic protein 2*, białko morfogenetyczne kości) i glicerofosforan. Efektywność procesu różnicowania ADSC w kierunku osteocytów określa się poprzez pomiar aktywności fosfatazy alkalicznej oraz obserwację mikroskopową zawartości wapnia odkładanego w macierzy zewnątrzkomórkowej po wcześniejszym wybarwieniu komórek (Olkowska-Truchanowicz 2009). W celu zwiększenia wydajności różnicowania ADSC w kierunku osteocytów można zastosować nanorurki węglowe, co skutkuje zwiększonym odkładaniem wapnia oraz zwiększoną aktywnością metaboliczną osteocytów (Patel i in. 2018). Wykazano również, że niektóre antybiotyki mogą powodować zwiększoną wydajność różnicowania ADSC. Najsilniejszą indukcję osteogenezy, potwierdzoną pomiarem ekspresji markerów specyficznych dla osteocytów, wykazała amfoterycyna B w połączeniu z jonami miedzi Cu^{2+} oraz penicyliną (Skubis i in. 2017).

3.2 Adipocyty

Różnicowanie ADSC w kierunku adipocytów wymaga obecności w pożywce różnicującej: deksametazonu, insuliny, rozyglitazonu, IBMX (izobutylometyloksantyna; ang. *isobutylmethylxanthine*) oraz indometacyny (Olkowska-Truchanowicz 2009). O zróżnicowaniu komórek w kierunku adipocytów świadczą powstające wakuole lipidowe, które można wybarwić fluorescencyjnie i obserwować pod mikroskopem, jak również zmierzyć intensywność fluorescencji (Meyer i in. 2015). Zhang X. i in. wykazali, iż czynnik wzrostu fibroblastów 10 (ang. *fibroblast growth factor*, FGF10) indukuje różnicowanie ADSC w kierunku dojrzałych adipocytów, co może zostać wykorzystane w kosmetologii w celu miejscowego zwiększenia tkanki tłuszczowej (Zhang i in. 2010). Zastosowanie antybiotyków takich jak amfoterycyna B wraz z jonami miedzi Cu^{2+} oraz penicylina również prowadzi do indukcji różnicowania adipogenetycznego. Zostało to potwierdzone badaniami ekspresji markerów charakterystycznych dla adipocytów oraz barwieniem wakuoli lipidowych czerwieńią oleistą O (Skubis i in. 2017). Proces różnicowania ADSC może być zależny od produktu białkowego genu *Klotho* (ang. *secreted Klotho*, SKL), odpowiedzialnego m.in. za hamowanie starzenia. Nadekspresja *Klotho* znacznie przyspiesza adipogenezę. SKL również reguluje różnicowanie ADSC w kierunku osteocytów oraz miofibroblastów (Fan i Sun 2016).

3.3 Komórki nabłonkowe

Czynnik transkrypcyjny RUNX2 (ang. *Runt-related transcription factor 2*) nasila różnicowanie ADSC do adipocytów oraz osteocytów, jednakże Li Q. i in. wykazali, że odgrywa on również rolę w różnicowaniu tych komórek w kierunku komórek nabłonkowych. Sugeruje to możliwość zastosowania ADSC m.in. w regeneracji ran oparzeniowych (Li i in. 2017). W celu różnicowania ADSC w kierunku komórek naskórka wykorzystuje się olejek z Emu (EO; ang. *Emu Oil*) wraz ze skafoldami z nanowłókien, co skutkuje nasileniem proliferacji oraz potencjału dyferencyjnego. Proces różnicowania można potwierdzić za pomocą immunobarwienia oraz analizy ekspresji markerów specyficznych dla komórek naskórka. Wykorzystanie EO wraz ze skafoldami i ADSC może być skutecznym środkiem leczniczym w terapii głębokich ran, urazowych uszkodzeń skóry oraz ran oparzeniowych (Pilehvar-Soltanahmadi i in. 2017).

3.4 Chondrocyty

W celu różnicowania ADSC w kierunku chondrocytów niezbędne jest wzbogacenie pożywki DMEM (ang. *Dulbecco's Modified Eagle Medium*) lub OriCell w czynniki różnicujące tj: TGF- β (transformujący czynnik wzrostu β , ang. *transforming growth factor β*), FGF-2 (czynnik 2 wzrostu fibroblastów; ang. *fibroblast growth factor 2*), BMP-6 i 7, kwas askorbinowy, insulinę oraz deksametazon (Olkowska-Truchanowicz 2009; Meyer i in. 2015). Zastosowanie skafoldów i innych struktur trójwymiarowych naśladuje fizjologiczne środowisko i pozwala na wydajniejsze różnicowanie ADSC do chondrocytów. Najprostszą metodą oceny efektywności różnicowania jest wybarwienie charakterystycznej dla chondrocytów macierzy zewnątrzkomórkowej przy pomocy błękitu alcańskiego, błękitu toluidynowego lub safraniny. Różnicowanie ADSC w kierunku chondrocytów może znaleźć zastosowanie w regeneracji tkanki chrzęstnej, która *in vivo* posiada słabą zdolność do regeneracji (Stromps i in. 2014).

3.5 Tenocyty

Zróżnicowanie ADSC w kierunku komórek ścięgien (tenocytów) zostało uzyskane przez Madhurakkat Perikamana z wykorzystaniem immobilizowanego na skafoldzie PDGF-BB (płytkopochodny czynnik wzrostu BB; ang. *platelet-derived growth factor BB*). Zróżnicowane komórki ekspresywały charakterystyczne dla tenocytów markery. Dla potwierdzenia różnicowania zastosowano również barwienie immunofluorescencyjne. Zastosowanie odpowiedniego gradientu PDGF oraz dostosowanie warunków przestrzennych różnicowania pozwala na zaprojektowanie tkankowych połączeń kość-ścięgno (Madhurakkat Perikamana i in. 2018).

3.6 Miocyty i kardiomiocyty

ADSC wykazują potencjalną zdolność do regeneracji mięśni szkieletowych oraz mięśnia sercowego. Wzbogacenie medium hodowlanego o deksametazon i hydrokortyzon skutkuje różnicowaniem się ADSC w kierunku miocytów, natomiast zastosowanie w hodowli metylocelulozowej pożywki z dodatkiem IL-3, IL-6 (interleukina 3, 6; ang. *interleukins 3, 6*) oraz SCF (czynnik wzrostu komórek macierzystych; ang. *stem cell factor*) prowadzi do otrzymania kardiomiocytów (Olkowska-Truchanowicz 2009). Mechanizm różnicowania ADSC w kierunku miocytów oraz regeneracji mięśni badano z wykorzystaniem wszczepu komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej. Dzięki sekrecji IL-6 przez różnicujące się komórki dochodziło do aktywacji i napływu makrofagów M2 odpowiedzialnych za regenerację komórek mięśniowych. Możliwości różnicowania ADSC w kierunku miocytów i kardiomiocytów budzą nadzieje na wykorzystanie ich w leczeniu skutków niedokrwienia kończyn (Pilny i in. 2019).

3.7 Miofibroblasty

García-Honduvilla N. i in. przeprowadzili różnicowanie adipopochodnych komórek macierzystych w kierunku miofibroblastów. Źródłem czynników różnicujących był naturalny ekstrakt z jaj *C.aspera* (e-CAF). Doświadczenie to daje nadzieje na wykorzystanie ADSC w regeneracji skóry oraz zapobieganiu jej starzenia (García-Honduvilla 2017). Różnicowanie oraz odróżnicowywanie ADSC w kierunku miofibroblastów było celem badań Desai VD i in. Zastosowanie TGF- β skutkowało powstaniem komórek ekspresujących charakterystyczne dla miofibroblastów markery, natomiast obecność bFGF skutkowała przeciwnym efektem – spadkiem ekspresji owych markerów, zmianą ścieżek sygnałowych jak i zmian morfologicznych oraz uzyskaniem komórek o fenotypie podobnym do fibroblastów. Odkrycie to potencjalnie umożliwia manipulowanie procesami naprawczymi w tkankach miękkich. Jest to o tyle znaczące, że niekontrolowana aktywność miofibroblastów może prowadzić do zwłóknienia tkanek. Zastosowanie ADSC może umożliwić kontrolę tych procesów (Desai i in. 2014).

3.8 Komórki śródbłonka naczyń

Różnicowanie ADSC w kierunku śródbłonka naczyń jest możliwe, gdyż wykazano, że posiadają one wspólne komórki progenitorowe z adipocytami. Preadipocyty pobudzają powstawanie komórek śródbłonka, a z kolei komórki śródbłonka pobudzają proliferację prekursorów adipocytów. Oba typy komórek wspierają angiogenezę i adipogenezę. Różnicowanie ADSC

w kierunku komórek śródbłonka jest możliwe w pożywce dla komórek śródbłonka z FBS (serum płodowe z cieląt; ang. *fetal bovine serum*) przy nieobecności czynników adipogennych. Ze względu na wydzielanie wielu czynników angiogennych, ADSC mogą być dobrą alternatywą dla mezenchymalnych komórek szpiku w medycynie regeneracyjnej oraz w terapii komórkowej chorób niedokrwienych (Olkowska-Truchanowicz 2009). Sun Y. i in. wykazali, że Il-7 może zwiększać wydajność różnicowania ADSC w kierunku śródbłonka naczyń limfatycznych poprzez ścieżkę sygnalizacyjną AKT (Sun i in. 2019).

3.9 Neurony i astrocyty

Dyferencjacja adipopochodnych komórek macierzystych w kierunku neuronów jest możliwa dzięki zastosowaniu pożywki wzbogaconej w insulinę, hydroksykortyzol, hydroksyanizol, EGF (czynnik wzrostu naskórka; ang. *epidermal growth factor*), FGF i kwas walproinowy. ADSC mogą być potencjalnie wykorzystane w leczeniu skutków urazu mózgowia i nerwów obwodowych a także udaru mózgu (Olkowska-Truchanowicz 2009). Shi F. wykazali indukcję różnicowania ADSC w kierunku neuronów poprzez białko prionowe PrP^C (ang. *cellular prion protein*). PrP^C wpływa na profil ekspresji miRNA-124, który z kolei prowadzi do wyciszenia ekspresji małej C-końcowej domeny fosfatazy 1 (Shi i in. 2016). ADSC mogą zostać zróżnicowane również w kierunku astrocytów, jednakże wydajność tego procesu jest niska, a uzyskane komórki charakteryzują się krótkotrwałą przeżywalnością. Jedną z przyczyn tych zjawisk mogą być procesy apoptozy i autofagii zachodzące w zróżnicowanych komórkach, jednakże wymaga to dalszych badań (Yuan i in. 2016). Skutecznego różnicowania ADSC w kierunku astrocytów dokonali Cheng i in. z wykorzystaniem pożywki, w której głównym czynnikiem różnicującym był IBMX. Proces różnicowania został potwierdzony z zastosowaniem metod immunohistochemicznych, techniki *Western blott* oraz na podstawie kolorymetrycznych pomiarów glutaminianu w supernatancie (po wcześniejszym odwirowaniu pożywki). Możliwość zróżnicowania ADSC do dojrzałych astrocytów budzi nadzieje na wykorzystanie ich w celu regeneracji centralnego układu nerwowego po różnych urazach (Cheng i in. 2018).

3.10 Komórki endokryne trzustki

Różnicowanie ADSC w kierunku komórek endokrynych trzustki jest osiągane w obecności pentagastryny, HGF, eksedyny 4 oraz aktywiny A. Można również zastosować dużą ilość glukozy w pożywce lub witaminę B₃ (Olkowska-Truchanowicz J 2009). Komórki macierzyste tkanki trzustkowej mogą ulec różnicowaniu w kierunku komórek wysp trzustkowych dzięki hodowaniu ich wraz z komórkami macierzystymi trzustki (kokultura). Różnicowanie zostało potwierdzone immunohistochemicznie oraz z zastosowaniem metody PCR (łańcuchowa reakcja polimerazy; ang. *polymerase chain reaction*) i *Western blott*. Komórki po różnicowaniu wykazywały wzrost ekspresji genu kodującego insulinę zarówno na poziomie mRNA jak i białkowym. Pomimo, iż eksperyment różnicowania przeprowadzony był na komórkach szczurzych, istnieje realna szansa, iż w przyszłości ludzkie ADSC znajdą zastosowanie w celach regeneracyjnych wysp trzustkowych oraz w terapii cukrzycy (Hefei i in. 2015).

3.11 Hepatocyty

ADSC mogą różnicować się w kierunku komórek wątroby dzięki zastosowaniu czynnika wzrostu hepatocytów HGF (czynnik wzrostu hepatocytów; ang. *hepatocyte growth factor*), dimetylosulfotlenku (DMSO; ang. *dimethyl sulfoxide*) oraz onkostatyny M (Olkowska-Truchanowicz J 2009). Nhung T. i in. porównali wydajność różnicowania ADSC w kierunku hepatocytów w obecności różnych induktorów. Zastosowano HGF, FGF, onkostatynę M oraz ekstrakt z wątroby. Wyniki wykazały, że ekstrakt z wątroby promuje różnicowanie adipopochodnych komórek macierzystych w kierunku adipocytów w stopniu znacznie większym niż pozostałe czynniki (Nhung i in. 2015). Apostolou KG i in. określili wpływ transplantacji ADSC na zdolności regeneracyjne wątroby. Komórki wszczepiono w mięszsz wątrobowy szczurów. Zaobserwowano zmniejszenie uszkodzeń wątroby oraz wzrost ekspresji HGF i innych markerów wątrobowych. Transplantacja ADSC znacznie przyspieszyła proces regeneracji wątroby, co może być przydatne w leczeniu ostrej

niewydolności wątroby jak i innych schorzeń prowadzących do uszkodzenia tego organu (Apostolou i in. 2018).

Adipopochodne komórki macierzyste mimo braku nieograniczonej zdolności do rozwoju w kierunku komórek krwi, posiadają zdolność do wspomagania szpiku kostnego w procesie hematopozy (Olkowska-Truchanowicz 2009)

W poniższej tabeli przedstawiono przykładowe czynniki indukujące różnicowanie adipopochodnych komórek macierzystych w kierunku komórek różnych tkanek (Tab. 1).

Tab. 1. Czynniki indukujące różnicowanie ADSC w kierunku różnych komórek.

Kierunek różnicowania ADSC	Czynniki różnicujące
Adipocyty	deksametazon, insulina, rozyglitazon, IBMX, indometacyna, FGF10, TAZ, SKL, RUNX2
Osteocyty	witamina C, witamina D, deksametazon, kwas walproinowy, BMP-2, glicerofosforan, TAZ, SKL, RUNX2
Komórki nabłonka	RUNX2, EO
Chondrocyty	TGF- β , FGF-2, BMP-6 i 7, kwas askorbinowy, insulina, deksametazon
Miocyty	deksametazon, hydrokortyzon, IL-6
Miofibroblasty	e-CAF, SKL, TGF- β
Kardiomiocyty	IL-3, IL-6, SCF
Komórki śródbłonna	FBS, IL-7
Neurony	insulina, hydroksykortyzol, hydroksyanizol, EGF, FGF, kwas walproinowy, PrP ^C
Komórki endokrynne trzustki	pentagastryna, HGF, ekседyna 4, aktywina A, duża ilość glukozy, witamina B ₃ .
Hepatocyty	HGF, DMSO, onkostatyna M, ekstrakt z wątroby
Astrocyty	IBMX
Tenocyty	PDGF-BB

4. Podsumowanie

Powszechność występowania tkanki tłuszczowej oraz nieskomplikowana procedura izolacji ADSC powodują, że komórki te zyskują coraz większą popularność w świecie nauki. Wysoka żywotność w hodowli, jak również intensywny wzrost i namnażanie się *in vitro* sprawiają, że warto przyjrzeć się możliwościom wykorzystania adipopochodnych komórek macierzystych w medycynie. Zdolność ADSC do różnicowania się w komórki wywodzące się ze wszystkich trzech listków zarodkowych umożliwia poszukiwanie coraz to nowszych zastosowań dla tych komórek. ADSC mogą być szeroko wykorzystywane w medycynie regeneracyjnej, terapii komórkowej oraz potencjalnie w przemyśle kosmetycznym. Być może w przyszłości z zastosowaniem komórek macierzystych wywodzących się z tkanki tłuszczowej będzie można leczyć urazy mózgu, regenerować uszkodzoną tkankę chrzęstną czy też narządy takie jak trzustka i wątroba. Wciąż jednak potrzeba dalszych badań nad opracowaniem optymalnych procedur różnicowania tych komórek, zapewniających wysoką żywotność oraz efektywność, tak aby mogły być one zastosowane w terapii.

5. Literatura

Apostolou KG, Papanikolaou IG, Katselis C i in. (2018) Undifferentiated Adipose Tissue Stem Cell Transplantation Promotes Hepatic Regeneration, Ameliorates Histopathologic Damage of the Liver, and Upregulates the Expression of Liver Regeneration- and Liver-Specific Genes in a Rat Model of Partial Hepatectomy. *Stem Cells Int.* 2018:1393607.

- Cheng Z, Ou Y, Zhang L i in. (2018) The glutamate clearance function of adipose stromal cells-derived astrocytes. *Neurosci Lett.* 677: 94-102.
- Desai VD, Hsia HC, Schwarzbauer JE (2014) Reversible modulation of myofibroblast differentiation in adipose-derived mesenchymal stem cells. *PLoS One.* 9(1).
- Fan J, Sun Z (2016) The Antiaging Gene Klotho Regulates Proliferation and Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells. *Stem Cells.* 34(6): 1615-1625.
- García-Honduvilla N, Cifuentes A, Ortega M.A. i in. (2017) High sensitivity of human adipose stem cells to differentiate into myofibroblasts in the presence of *C. aspersa* egg extract. *Stem Cells Int.*
- Hefei W, Yu R, Haiqing W i in. (2015) Morphological characteristics and identification of islet-like cells derived from rat adipose-derived stem cells cocultured with pancreas adult stem cells. *Cell Biol Int.* 39(3): 253-263.
- Li Q, Zhao H, Xia S i in (2017) RUNX2 promotes epithelial differentiation of ADSCs and burn wound healing via targeting E-cadherin. *Oncotarget.* 9(2): 2646-2659.
- Madhurakkat Perikamana SK, Lee J, Ahmad T i in. (2018) Harnessing biochemical and structural cues for tenogenic differentiation of adipose derived stem cells (ADSCs) and development of an in vitro tissue interface mimicking tendon-bone insertion graft. *Biomaterials.* 165: 79-93.
- Meyer J, Salamon A, Herzmann N i in. (2015) Isolation and Differentiation Potential of Human Mesenchymal Stem Cells From Adipose Tissue Harvested by Water Jet-Assisted Liposuction. *Aesthetic Surgery Journal* 35(8): 1030-1039.
- Nhung TH, Nam NH, Nguyen NT i in. (2015) A comparison of the chemical and liver extract-induced hepatic differentiation of adipose derived stem cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 51(1): 1085-1092.
- Olkowska-Truchanowicz J (2009) Różnicowanie komórek prekursorowych izolowanych z tkanki tłuszczowej – nowe możliwości dla inżynierii tkankowej i terapii komórkowej. *Postępy biologii komórki* 36(2): 217-231.
- Patel SC, Alam O, Sitharaman B (2018) Osteogenic differentiation of human adipose derived stem cells on chemically crosslinked carbon nanomaterial coatings. 106(5): 1189-1199.
- Pilehvar-Soltanahmadi Y, Nouri M, Martino MM i in. (2017) Cytoprotection, proliferation and epidermal differentiation of adipose tissue-derived stem cells on emu oil based electrospun nanofibrous mat. *Exp Cell Res.* 357(2): 192-201.
- Pilny E, Smolarczyk R, Jarosz-Biej M i in (2019) Human ADSC xenograft through IL-6 secretion activates M2 macrophages responsible for the repair of damaged muscle tissue. *Stem Cell Res Ther.* 10(1): 93.
- Shi F, Yang Y, Wang T i in. (2016) Cellular Prion Protein Promotes Neuronal Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells by Upregulating miRNA-124. *J Mol Neurosci.* 59(1): 48-55.
- Skubis A, Gola J, Sikora B i in. (2017) Impact of Antibiotics on the Proliferation and Differentiation of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Int J Mol Sci.* 18(12).
- Stromps JP, Paul NE, Rath B i in. (2014) Chondrogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells: A New Path in Articular Cartilage Defect Management? *Biomed Res Int.*
- Sun Y, Lu B, Deng J i in. (2019) IL-7 enhances the differentiation of adipose-derived stem cells toward lymphatic endothelial cells through AKT signaling. *Cell Biol Int.* 43(4): 394-401.
- Yuan X, Zhang L, Wang S i in. (2016) Mitochondrial apoptosis and autophagy in the process of adipose-derived stromal cell differentiation into astrocytes. *Cell Biol Int.* 40(2): 156-165.
- Zhang X, Wu M, Zhang W i in. (2010) Differentiation of human adipose-derived stem cells induced by recombinantly expressed fibroblast growth factor 10 in vitro and in vivo. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 46(1): 60-71.

29. Wpływ TNF- α na procesy nowotworzenia

Effect of TNF- α on the processes of carcinogenesis

Woroszyło Szymon⁽¹⁾, Gmyrek Weronika⁽¹⁾, Drzyzga Rafał⁽¹⁾, Skowronek Bartłomiej⁽²⁾

⁽¹⁾ Zakład Biologii Molekularnej Katedry Biologii Molekularnej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾ Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Opiekun naukowy: Barbara Strzałka-Mrozik, Joanna Gola

Szymon Woroszyło: szymon.woroszylo@med.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: czynnik martwicy nowotworów, kachektyna, kacheksyna, kancerogeneza, nowotwory

Streszczenie

TNF- α , czyli czynnik martwicy nowotworów jest cytokiną wykrywaną w wielu typach guzów nowotworowych. Wykazuje dwukierunkowe działanie na komórki nowotworowe. Z jednej strony może hamować ich proliferację i kierować je na szlak apoptozy, z drugiej jednak strony może prowadzić do wzrostu masy guza oraz przyczyniać się do przerzutowania komórek nowotworowo zmienionych. Jego działanie zależy głównie od stężenia, gdyż w niskim stężeniu wykazuje właściwości pronowotworowe, podczas gdy przy wyższych stężeniach odpowiedzialny jest za działanie przeciwnowotworowe. Wiadomo, że TNF- α wpływa na procesy nowotworzenia poprzez odmienne mechanizmy w różnych typach nowotworów. Konieczne są dalsze badania nad dogłębnym poznanie molekularnych mechanizmów działania czynnika martwicy nowotworów i potencjalnego przełożenia zdobytej wiedzy na terapię przeciwnowotworową.

1. Wstęp

Czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α – ang. *tumor necrosis factor α*) zwany również kacheksyną lub kachektyną jest cytokiną związaną z procesem zapalnym produkowaną w głównej mierze przez monocyty, makrofagi oraz w mniejszych ilościach przez inne komórki (niektóre limfocyty, neutrofile, keratynocyty, fibroblasty, adipocyty, mastocyty). TNF- α jest zdolny do łączenia się z receptorami TNFR1 oraz TNFR2 co prowadzi do aktywacji ścieżki sygnałowej i zapoczątkowania kaskady reakcji, które przebiegają niezależnie od siebie i prowadzą do powstania dwóch efektów o charakterze antagonistycznym, czyli indukcji apoptozy lub jej hamowania. TNF- α wykazuje dwukierunkowe działanie w odniesieniu do procesów nowotworzenia. Z jednej strony może hamować proliferację komórek nowotworowych oraz kierować je na szlak apoptozy, a z drugiej strony przyczynia się do powstawania przerzutów ze względu na udział w aktywacji metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej. Działanie TNF- α zależne jest od jego stężenia. Przy wysokich stężeniach powoduje indukcję odpowiedzi przeciwnowotworowej prowadząc do śmierci nowotworowo zmienionych komórek na drodze oddziaływania z receptorem TNFR1, pobudzenia komórek układu immunologicznego czy też zmian w śródbłonku nowotworowych naczyń krwionośnych. Jednakże przy niskich stężeniach w mikrośrodkowisku guza wywołuje efekt pronowotworowy, wzmagając angiogenezę i prowadząc do wzrostu masy guza. TNF- α może powodować zwiększone przyleganie komórek nowotworowych do śródbłonka naczyń oraz przyczyniać się do migracji komórek nowotworowo zmienionych.

2. Opis zagadnienia

Ambiwalentny wpływ czynnika martwicy nowotworów na komórki nowotworowe powoduje, że nie można jednoznacznie określić jego wpływu na procesy nowotworzenia. Aktywacja TNF- α może indukować różne zmiany w komórce poprzez różne szlaki sygnałowe wpływając w sposób niejednorodny na komórki nowotworowo zmienione. Jego różne stężenie w mikrośrodkowisku

guza skutkuje odmiennym działaniem odniesieniu do różnych komórek nowotworowych. Może zarówno działać antynowotworowo indukując apoptozę i hamując proliferację, jak również pronowotworowo przyczyniając się do powstawania przerzutów. Pod uwagę należy również wziąć fakt, że jego obecność w guzie może wpływać na komórki nie tylko w zależności od stężenia, ale również odmiennie na różne typy nowotworów. Poznając dokładnie molekularne mechanizmy nowotworzenia związane z czynnikiem martwicy nowotworów możliwe będzie zaprojektowanie odpowiedniej terapii celującej nie tylko w TNF- α , ale również w czynniki związane z regulacją jego aktywności, czy też kolejne cząsteczki w szlaku sygnałowym TNF- α lub zastosowanie całkowicie odmiennej strategii leczenia związanej ze spodziewanym mechanizmem działania TNF- α w konkretnym środowisku.

3. Przegląd literatury

3.1 Glejak

Emodyna jest związkami antrachinonowym wyizolowanym z rabarbaru zbudowanym z pierścienia antracenowego z dołączonymi trzema grupami hydroksylowymi, odpowiedzialnymi za jego aktywność. Emodyna może znacznie hamować wzrost i zmniejszać żywotność komórek nowotworowych glejaka linii U251 poprzez aktywację ścieżki sygnałowej TNF- α /RIP1/RIP3. Powoduje wzrost poziomu zarówno TNF- α , jak również RIP1 (ang. *receptor-interacting protein 1*) i RIP3 oraz MLKL (ang. *mixed lineage kinase domain like pseudokinase*). Zhou i in. badali indukcję apoptozy oraz nekroptozy przez emodynę w zależności od dawki i czasu. Stężenie hamujące IC50 (ang. *inhibitory concentration 50*), czyli stężenie dla którego wzrost i proliferacja komórek w hodowli zostają zahamowane w 50% w stosunku do wzrostu komórek kontrolnych, wyniosło 22,44 μ M. Zaobserwowano spadek żywotności komórek w badanym zakresie 0-40 μ M, a wzrost stężenia był związany z większym efektem cytotoksycznym. Zależność od czasu była mniej zauważalna, a największy spadek żywotności zaobserwowano po 48 godz. Aktywujący wpływ emodyny na TNF- α (indukcja nekroptozy) szlaku zależnym od TNF- α nie został w pełni udowodniony i wciąż potrzebne są dalsze badania nad jej molekularnymi mechanizmami (Zhou i in. 2019).

3.2 Niedrobnokomórkowy rak płuca

Guo i in. badali wpływ SNP (polimorfizm pojedynczego nukleotydu; ang. *single nucleotide polymorphism*) w genach ścieżki sygnałowej indukowanej przez TNF- α (TNF/TNFR – ang. *tumor necrosis factor receptor*) na przeżycie pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca (NSCLC – ang. *non-small lung cancer*). Dzięki genotypowaniu i analizie wyników odkryto, że niektóre SNPs są związane z korzystnym rokowaniem i dłuższym czasem przeżycia. Konieczne są dalsze badania w celu opisanego mechanizmów stojących za zaobserwowanymi zależnościami (Guo i in. 2019). Pal i in. badali wpływ TNF- α na odpowiedź komórek raka płuca na promieniowanie jonizujące. Zaobserwowano wzrost wrażliwości komórek na radioterapię związany z TNF- α oraz inhibicją wzrostu komórek. Było to związane ze zwiększoną aktywacją kinaz SAPK (ang. *stress-activated protein kinases*) oraz JNK (ang. *jun amino-terminal kinases*) i p38. Również uszkodzenia DNA przez promieniowanie jonizujące były zwiększone przez TNF- α . Terapia z wykorzystaniem samego TNF- α lub w połączeniu z promieniowaniem jonizującym nie tylko indukowała apoptozę komórek nowotworowych, ale również hamowała ich migrację i przerzutowanie. Analiza bioinformatyczna pokazała, że wyższa ekspresja TNF- α była związana z niższym ryzykiem progresji choroby nowotworowej. Obecność cytokin w mikrośrodowisku guza, w tym TNF- α determinuje wrażliwość na stosowane leczenie, dlatego ważne jest, aby brać pod uwagę nie tylko wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałowe, ale również wszystkie mediatory współtworzące mikrośrodowisko guza (Pal i in. 2018). Z kolei Zhao i in. badali wpływ benzo(a)pirenu (BaP) na migrację i inwazję komórek niedrobnokomórkowego raka płuca wspomaganą przez TNF- α . Linie komórkowe raka płuca A549 oraz YTMCLC były traktowane BaP przez 24h w różnych stężeniach. Dowiedziono, że benzo(a)piren powodował promocję inwazji i migracji komórek, co sugeruje wpływ BaP na przerzutowanie komórek raka płuca do innych tkanek. Zauważono również wzrost poziomu TNF- α , NF- κ B, kaspazy 3 oraz kaspazy 8, co sugeruje, że BaP aktywuje szlak sygnałowy TNF- α . Co więcej, badano wpływ wyciszenia ekspresji genu *TNF- α* poprzez shRNA. *TNF- α* shRNA zahamowało zarówno migrację jak

i inwazję komórek obu linii. Wyniki badania pokazały, że wyciszenie genu *TNF-α* za pomocą shRNA niweluje wpływ benzo(a)pirenu na przerzutowanie komórek raka płuca (Zhao i in. 2018).

3.3 Płaskonabłonkowy rak jamy ustnej

Zheng i in. badali wpływ *TNF-α* na migrację i przerzutowanie komórek płaskonabłonkowego raka jamy ustnej (OSCC – ang. *oral squamous cancer cells*). Jak dotąd nie jest do końca jasne, czy *TNF-α* hamuje, czy też ułatwia przerzutowanie komórek tego nowotworu. W stężeniach niższych, rzędu 10 do 20 ng/ml, *TNF-α* przyczynia się do migracji OSCC poprzez odmienne ścieżki sygnałowe. Podczas tego badania zaobserwowano, że wysokie dawki *TNF-α* (100 ng/ml) w sposób znaczący hamują migrację komórek nowotworowych OSCC linii CAL-27 i SCC-25. Aby szerzej opisać mechanizmy tego zjawiska skupiono się na analizie wpływu microRNA. Pokazano, że *TNF-α* zwiększa ekspresję miR-765, którego nadekspresja powodowała zahamowanie migracji OSCC. Zwiększenie ekspresji miR-765 indukowało nadekspresję p66Shc, cząsteczki sygnalizacyjnej szlaku EMP3 (ang. *epithelial membrane protein 3*). Zahamowanie przerzutowania było związane z sygnalizacją kadheryny E, nabłonkowym białkiem adhezyjnym ułatwiającym przyleganie komórek oraz ZO-1 (ang. *zonula occludens-1*), czyli białkiem odpowiedzialnym za tworzenie połączeń między komórkami. Wyniki badań pokazały, że możliwa jest inhibicja przerzutowania komórek płaskonabłonkowego raka jamy ustnej poprzez szlak miR-765-EMP3-p66Shc (Zheng i in. 2017).

3.4 Rak jelita grubego

Walther i in. badali wpływ krótko i długotrwałego podawania *TNF-α* na powstawanie oporności wielolekowej (MDR – ang. *multidrug resistance*) poprzez geny związane z MDR, w tym *ABCB1* (ang. *subfamily B 1 gene*). Oporność wielolekowa jest jedną z głównych przeszkód w skutecznej chemioterapii nowotworów. Badano wpływ czasu ekspozycji na *TNF-α* komórek raka jelita grubego linii HCT15, charakteryzującej się wysoką ekspresją *ABCB1*, na utrzymywanie się oporności wielolekowej. Krótkotrwałe leczenie *TNF-α* tj. 30-120 minut nie powodowało zauważalnych zmian, jednak długotrwałe wystawienie komórek na działanie *TNF-α* (24-96h) prowadziło do zmniejszenia ekspresji *ABCB1* poprzez receptor *TNF* (*TNFR*). Dzięki temu doszło do uwrażliwienia komórek na leczenie chemioterapeutykami. Mechanizm sensytyzacji polegał na tłumieniu aktywacji *NF-κB/p65* (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells/p65*) oraz resyntezie *IκBα*, który jest inhibitorem *NF-κB*, oraz zmniejszenia jądrowego nagromadzenia *NF-κB/p65*, jak również zmniejszenia stopnia jego wiązania do sekwencji promotorowej genu *ABCB1* (Walther i in. 2015).

3.5 Rak piersi

Wolczyk i in. badali wpływ *TNF-α* na migrację komórek raka piersi. Procesy przerzutowania są powiązane z aktywacją specyficznych proteaz związanych z błoną komórkową lub wydzielanych zewnątrzkomórkowo. Udowodniono, że *TNF-α* może zwiększać stężenie proteaz związanych z błoną w tratwach lipidowych. Poprzez zwiększenie sekrecji metaloproteinazy 9 (*MMP9* – ang. *matrix metalloproteinase-9*) *TNF-α* przyczynia się do zwiększenia migracji oraz przerzutowania komórek raka piersi. Odkryto również, że *TNF-α* powoduje nadekspresję *CD26* oraz *FAP-α* (ang. *fibroblast activation protein α*), jak również aktywuje ścieżkę sygnałową *MAPK/ERK* (ang. *mitogen-activated protein kinases/ extracellular signal-regulated kinases*) poprzez zwiększenie stopnia fosforylacji *ERK1/2*. *TNF-α* może być celem terapeutycznym w leczeniu raka piersi wrażliwego na stymulację *TNF-α* w celu zahamowania migracji i przerzutowania komórek nowotworowych (Wolczyk i in. 2016). Z kolei Wang i in. badali wpływ białka indukowanego przez *TNF-α* (*TIPE2* – ang. *tumor necrosis factor-induced protein 8-like-2*) na proliferację komórek raka piersi oraz powstawanie guza. Ekspresja *TIPE2* jest obniżona w sposób znaczący w raku piersi, zaś jego nadekspresja powoduje zahamowanie proliferacji komórek *in vitro* oraz wzrostu guza *in vivo* w raku piersi. Oprócz tego *TIPE2* inhibuje migrację i inwazję komórek raka piersi poprzez zapobieganie transmisji mezenchymalno-nabłonkowej (*EMT* – ang. *epithelial-mesenchymal transition*). Mechanizm polega na hamowaniu w komórkach raka piersi ekspresji β -kateniny oraz cykliny D1, jak również *c-Myc*, czyli białek przyczyniających się do niekontrolowanego wzrostu komórek nowotworowych. Wynika

badania pokazują, że TIPE2, jako białko indukowane przez TNF- α , może odgrywać znaczącą rolę w proliferacji komórek raka piersi, inwazji oraz tworzeniu guza, a zatem może być celem molekularnym terapii przeciwnowotworowej (Wang i in. 2017).

3.6 Rak szyjki macicy

Yang i in. badali przyczyny niewrażliwości komórek raka szyjki macicy na działanie czynnika martwicy nowotworów. Autorzy badania odkryli, że dwie linie raka szyjki macicy, Hela i Siha charakteryzują się opornością na toksyczny efekt działania TNF- α . Wykazano, że stymulacja komórek przez TNF- α powoduje wzrost ekspresji miR-130b oraz spadek ekspresji genu *PTEN* (ang. *phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten*), kodującego fosfatazę o działaniu supresorowym na komórki nowotworowe. Następnie zauważono, że blokada funkcji miR-130b, jak również nadekspresja *PTEN* uwrażliwiała komórki raka szyjki macicy na cytotoksyczny wpływ czynnika martwicy nowotworów. Zatem możliwe jest wykorzystanie inhibicji miR-130b lub stymulacji *PTEN* w celu zwiększenia wrażliwości komórek na antynowotworowe działanie TNF- α (Yang i in. 2018).

3.7 Chłoniak B-komórkowy

Nocturne i in. badali wpływ terapii anti-TNF- α na funkcję komórek NK (ang. *natural killer*) i ich nadzór immunologiczny nad chłoniakiem B-komórkowym. Zaobserwowano, że stosowanie inhibitorów TNF- α wpływało negatywnie na funkcję komórek NK oraz powodowało zmniejszenie stopnia ich aktywacji. Prawidłowe działanie komórek NK zostało osłabione, co może być konsekwencją hamowania sygnalizacji TNFR1. Wcześniejsze badania wykazały, że zablokowanie TNF- α osłabia aktywację i cytotoksyczną aktywność komórek NK indukowaną przez IL-2. Zablokowanie funkcji czynnika martwicy nowotworów prowadziło również do osłabienia sekrecji IFN- γ , degranulacji oraz rozpadu komórek chłoniaka (Nocturne i in 2017).

3.8 Rak wątroby

Zhang i in. badali interakcję TNF- α z katepsyną C (CTSC – ang. *cathepsin C*) w szlaku sygnałowym TNF- α /p38 MAPK w raku wątrobokomórkowym (HCC – ang. *hepatocellular carcinoma*). Nadekspresja katepsyny C była obecna w komórkach HCC, co wiązało się ze zwiększoną proliferacją i przerzutowaniem komórek nowotworowych, jak również z gorszym rokowaniem. CTSC wykazywała działanie onkogenne poprzez ścieżkę sygnałową zależną od TNF- α . W wyniku jej działania dochodziło do aktywacji TNF- α /p38 co promowało przeżycie komórek. Zaobserwowano również, że TNF- α może aktywować ekspresję katepsyny C, jak również może być przez nią aktywowany. Nadekspresja CTSC powodowała wzrost aktywności metaloproteinaz MMP-3 oraz MMP-9 oraz wimentyny, które są cząsteczkami znajdującymi się w dalszych etapach szlaku TNF- α /p38. Wyniki badania pokazują, że katepsyna C może być potencjalnym celem terapii przeciwnowotworowej w raku wątrobokomórkowym (Zhang i in. 2019).

3.9 Rak żołądka

Celem badania prowadzonego przez Rossi i in. była ocena wpływu nadekspresji TNF- α oraz jego ścieżki sygnałowej w raku żołądka. TNF- α i jego receptory TNFR1 (ang. *tumor necrosis factor receptor 1*) i TNFR2 (ang. *tumor necrosis factor 2*) odgrywają istotną rolę w raku żołądka, regulują takie procesy komórkowe jak przeżycie komórki, jak również jej apoptozę. Modulacja tej ścieżki sygnałowej jest możliwa również za pośrednictwem microRNA. Zaobserwowano zmniejszenie ekspresji mediatorów apoptozy takich jak TNFR1 oraz CASP3 (ang. *caspase 3*), podczas gdy TNF, TNFR2, TRADD (ang. *TNFR1-associated death domain protein*), TRAF2 (ang. *TNF receptor-associated factor 2*), CFLIP (ang. *cellular FLICE (FADD-like IL-1 β -converting enzyme)-inhibitory protein*) oraz NFKB2 odpowiedzialne za przeżycie komórek wykazywały nadekspresję w komórkach raka żołądka. Odkryto, że za regulację tych genów odpowiedzialna jest zawiła sieć powiązań miRNA:mRNA, jednakże do wyróżniających się miRNA zdających się odgrywać większą rolę niż inne, należą miR-19a oraz miR-103a, których celem są liczne geny ścieżki sygnałowej TNF- α , w tym *TNF*, *TNFR1*, *TNFR2*, *CFLIP*, *TRADD*, *CASP3* oraz *CASP8*. Wyniki badań pokazały, że TNFR2 może stać się celem terapeutycznym raka żołądka (Rossi i in. 2019). Z kolei Hu i in. badali wpływ

TNF- α oraz białka fuzyjnego pd20-TNF- α na tworzenie się wątrobowych przerzutów raka żołądka. Badano wpływ cytotoksyczny danego białka fuzyjnego na prawidłowe fibroblasty mysie linii L929. Pd20-TNF- α znacznie zmniejszało żywotność komórek. Zaobserwowano zwiększanie się stopnia apoptozy wraz ze wzrostem stężenia białka fuzyjnego. Następnie badano *in vitro* inwazyjność komórek linii XGC9811-L charakteryzujących się wysoką zdolnością do inwazji. Pd20-TNF- α w sposób znaczący zmniejszyło stopień inwazyjności komórek nowotworowych. Badania *in vivo* na myszach pokazały, że białko fuzyjne pd20-TNF- α jest zdolne w zmiernym stopniu zmniejszać zmiany nowotworowe oraz hamować przerzutowanie do wątroby. Wysoka aktywność biologiczna pd20-TNF- α , wysoki stopień promocji apoptozy, jak również znaczne hamowanie zdolności komórek do przerzutowania daje podstawy do dalszych badań nad jego wykorzystaniem w leczeniu przerzutującego raka żołądka, czy też innych białek fuzyjnych z TNF- α w leczeniu różnych schorzeń nowotworowych (Hu i in. 2014).

3.10 Rak prostaty

Rak prostaty jest jednym z najczęściej występujących nowotworów u mężczyzn. Jego wzrost jest kontrolowany poprzez receptor androgenowy zarówno na ścieżkach od niego zależnych jak i niezależnych. Główną cechą charakterystyczną tego nowotworu jest postępujące zapalenie mogące mieć charakter obszarowy w miejscu zmiany, bądź też ogólnoustrojowy, co spowodowane jest zwiększonym napływem limfocytów w obrębie tkanki nabłonkowej prostaty, oraz podniesionym poziomem cytokin prozapalnych. Najistotniejsze z nich to: CXCL2 (ang. *C-X-C motif chemokine ligand 2*), CXCL12 (ang. *C-X-C motif chemokine ligand 12*) i TNF- α , oraz interleukiny takie jak IL-6, IL-8, IL-11 i IL-33. Substancje te przyczyniają się do aktywacji szlaków: JAK-STAT3, NF- κ B, RAS-RAF-MAPK, oraz PI3K-AKT (McAllister i in. 2018). TNF- α w komórkach nowotworowych prostaty jest głównym mediatorem trzech ścieżek kierujących komórki na szlak apoptozy. Są to: szlak MAPK, klasyczny szlak NF- κ B i indukowany TNF- α szlak sygnalizacji śmierci zależny od kaspazy. W wyniku rozregulowania epigenetycznego w obrębie nowotworowych komórek prostaty dochodzi do zaburzenia homeostazy i występowania nieprawidłowej ilości TNF- α , co przyczynia się do wzrastającego odczynu zapalnego (Kim i in. 2011). Ponadto TNF- α prowadzi do indukcji ekspresji receptora typu 7 cytokiny (CCR7 – ang. *C-C chemokine receptor type 7*) oraz wpływa na przyłączanie do niego liganda cytokiny 21 (CCL21 – ang. *C-C motif chemokine ligand 21*), co przyczynia się do zwiększenia potencjału przerzutowego komórek raka prostaty poprzez węzły chłonne (Schillaci i in. 2019). TNF- α koreluje ze stopniem zaawansowania nowotworu prostaty, a jego poziom w surowicy krwi może stanowić istotny marker biochemiczny w monitorowaniu efektów leczenia, remisji lub jako biomarker prognostyczny postępowania choroby (Michalaki i in. 2004; Schillaci i in. 2019).

4. Podsumowanie

Czynnik martwicy nowotworów obecny w mikrośrodkowisku wielu guzów nowotworowych wykazuje dwojakie działanie. Charakteryzuje się zarówno właściwościami przeciwnowotworowymi jak i pronowotworowymi. TNF- α jest powiązany z różnymi szlakami sygnałowymi i w różnych nowotworach może wykazywać działanie poprzez odmienne mechanizmy. Jednakże wiadomo już, że efekt aktywności TNF- α związany jest z jego stężeniem w mikrośrodkowisku guza. Niskie stężenie związane jest z jego właściwościami pronowotworowymi, gdzie odpowiedzialny jest za wzrost proliferacji komórek nowotworowo zmienionych, jak również przyczynia się do migracji i przerzutowania komórek. Wysokie stężenie wykazuje działanie przeciwstawne i przyczynia się do indukcji apoptozy i inhibicji proliferacji komórek nowotworowych. Nie można zatem definitywnie przypisać TNF- α jednej, konkretnej roli, która posłużyłaby jako podstawa w terapii nowotworów. Należy dokładnie określić mechanizm działania czynnika martwicy nowotworów w danym guzie nowotworowym, poznać ścieżki sygnałowe, w których uczestniczy, dokładnie przeanalizować już poznane lub odkryć nowe cząsteczki wpływające na TNF- α , a następnie zaprojektować terapię dopasowaną do molekularnego mechanizmu jego działania.

5. Literatura

- Guo Y, Feng Y, Liu H i in. (2019) Potentially functional genetic variants in the TNF/TNFR signaling pathway genes predict survival of patients with non-small cell lung cancer in the PLCO cancer screening trial. *Mol Carcinog*. doi: 10.1002/mc.23017.
- Hu SJ, Jiang RX, Xie HH i in. (2014) Purification of a Pd20-TNF α fusion protein that prevents liver metastasis of gastric cancer. *Tumour Biol*. 35(8) : 7523-7529.
- Kim SJ, Kelly WK, Fu A i in. (2011) Genome-wide methylation analysis identifies involvement of TNF- α mediated cancer pathways in prostate cancer. *Cancer lett*. 302(1): 47-53.
- McAllister MJ, Underwood MA, Leung HY i in. (2018) A review on the interactions between the tumour microenvironment and androgen receptor signaling in prostate cancer. *Transl Res*. 206: 91-106.
- Michalaki V, Syrigos K, Charles P i in. (2004) Serum levels of IL-6 and TNF- α correlate with clinicopathological features and patient survival in patients with prostate cancer. *Br J Cancer*. 90(12): 2312-2316.
- Nocturne G, Boudaoud S, Ly B i in (2017) Impact of anti-TNF therapy on NK cells function and on immunosurveillance against B-cell lymphomas. *J Autoimmun*. 80: 56-64.
- Pal S, Yadav P, Sainis KB i in. (2018) TNF- α and IGF-1 differentially modulate ionizing radiation responses of lung cancer cell lines. *Cytokine*. 101: 89-98.
- Rossi AFT, Contiero JC, Manoel-Caetano FDS i in. (2019) Up-regulation of tumor necrosis factor- α pathway survival genes and of the receptor TNFR2 in gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 11(4): 281-294.
- Schillaci O, Scimeca M, Trivigno D i in. (2019) Prostate cancer and inflammation: A new molecular imaging challenge in the era of personalized medicine. *Nucl Med Biol*. 68-69: 66-79.
- Walther W, Kobelt D, Bauer L i in. (2015) Chemosensitization by diverging modulation by short-term and long-term TNF- α action on ABCB1 expression and NF- κ B signaling in colon cancer. *Int J Oncol*. 47(6): 2276-2285.
- Wang K, Ren Y, Liu Y i in. (2017) Tumor Necrosis Factor (TNF)- α -Induced Protein 8-like-2 (TIPE2) Inhibits Proliferation and Tumorigenesis in Breast Cancer Cells. *Oncol Res*. 25(1): 55-63.
- Wolczyk D, Zaremba-Czogalla M, Hryniewicz-Jankowska A i in. (2016) TNF- α promotes breast cancer cell migration and enhances the concentration of membrane-associated proteases in lipid rafts. *Cell Oncol (Dordr)* 39(4): 353-363.
- Yang L, Wang Y, Shi S i in (2018) The TNF- α -induced expression of miR-130b protects cervical cancer cells from the cytotoxicity of TNF- α . *FEBS Open Bio*. 8(4): 614-627.
- Zhang GP, You X, Li SQ (2019) Cathepsin C Interacts with TNF- α /p38 MAPK Signaling Pathway to Promote Proliferation and Metastasis in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Res Treat*. doi: 10.4143/crt.2019.145.
- Zhao G, Wang Z, Huang Y i in. (2018) Effects of Benzoapyrene on migration and invasion of lung cancer cells functioning by TNF- α . *J Cell Biochem*. 119(8): 6492-6500.
- Zheng Z, Luan X, Zha J i in. (2017) TNF- α inhibits the migration of oral squamous cancer cells mediated by miR-765-EMP3-p66Shc axis. *Cell Signal*. 34: 102-109.
- Zhou J, Li G, Han G i in. (2019) Emodin induced necroptosis in the glioma cell line U251 via the TNF- α /RIP1/RIP3 pathway. *Invest New Drugs*. doi: 10.1007/s10637-019-00764-w.