

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Nauki medyczne i nauki o zdrowiu

Część VI - Farmacja



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 978-83-66392-24-3)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-66392-23-6)

Ilość znaków w książce: 517 tys.

Ilość arkuszy wydawniczych: 12.9

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. Biomedyczne właściwości związków pochodzenia grzybowego	7
<i>Agata Chudzik, Wiktoria Piątek</i>	
2. Leki przeciwdepresyjne – podział, mechanizm i działania niepożądane	14
<i>Monika Drózd, Dominik Straszak, Gabriela Widelska, Aleksandra Dymek</i>	
3. Problemy wynikające ze stosowania leków w okresie laktacji	20
<i>Joanna Filarowska, Małgorzata Łupina, Gabriela Bielecka-Papierz, Małgorzata Łopatyńska-Mazurek, Paweł Grochecki, Jolanta Kotlińska</i>	
4. Zastosowanie ziół w leczeniu zespołu policystycznych jajników	26
<i>Paulina Głodo, Marzena Kukła, Martyna Kościuszko, Aneta Józefko, Aleksandra Sesil Sarapata, Joanna Pec, Filip Wałach, Bartłomiej Matejko</i>	
5. Zastosowanie ziół w leczeniu nadciśnienia tętniczego	32
<i>Paulina Głodo, Marzena Kukła, Martyna Kościuszko, Aneta Józefko, Aleksandra Sesil Sarapata, Joanna Pec, Filip Wałach, Bartłomiej Matejko</i>	
6. Potencjalne zastosowanie pochodnych inozytolu w leczeniu chorób człowieka	38
<i>Gonkowski Ignacy</i>	
7. Szkodliwe działanie erytrozyny	44
<i>Gonkowski Ignacy</i>	
8. Suplementy diety stosowane w prewencji i leczeniu cukrzycy oraz osteoporozy	50
<i>Sylwia Jopek, Aleksandra Białek, Anna Lisowska, Izabela Pałka, Bartłomiej Matejko</i>	
9. Medyczne wykorzystanie kwasu hialuronowego	56
<i>Ładniak Agata</i>	
10. Chitozan i ditlenek tytanu - obiecujące połączenie w kompozycie sztucznej skóry	62
<i>Ładniak Agata</i>	
11. Nowe perspektywy zastosowania inhibitorów dipeptydylopeptydazy-IV w medycynie	68
<i>Łupina Małgorzata, Filarowska Joanna, Bielecka-Papierz Gabriela, Łopatyńska-Mazurek Małgorzata, Grochecki Paweł, Listos Joanna</i>	
12. Przegląd testów behawioralnych wykorzystywanych w farmakologii doświadczalnej	74
<i>Łupina Małgorzata, Filarowska Joanna, Bielecka-Papierz Gabriela, Łopatyńska-Mazurek Małgorzata, Grochecki Paweł, Listos Joanna</i>	
13. Fukoidyna – lecznicze panaceum z głębi oceanu	80
<i>Matusiak Jakub</i>	
14. Nanocząstki srebra jako alternatywa dla antybiotyków	87
<i>Matuśkiewicz Weronika, Banasiewicz Joanna</i>	
15. Lekooporność bakterii	93
<i>Matuśkiewicz Weronika, Katarzyna Bąk, Banasiewicz Joanna</i>	
16. Farmakologiczne i niefarmakologiczne metody leczenia osteoporozy pomenopauzalnej	99
<i>Orzeł Anna, Klatka Barbara, Janeczko Dominika, Neścior Małgorzata, Hołowczuk Magdalena, Piech Piotr, Terpiłowski Michał</i>	
17. Farmakologiczna profilaktyka żylnych chorób zakrzepowo-zatorowej w codziennej praktyce klinicznej	106
<i>Neścior Małgorzata, Hołowczuk Magdalena, Terpiłowski Michał, Orzeł Anna, Janeczko Dominika, Piech Piotr, Klatka Barbara</i>	

18. Niesteroïdowe leki przeciwzapalne – przegląd literaturowy	113
<i>Anna Ploch-Jankowska, Danuta Pentak, Lidia Szymczak-Mazur, Małgorzata Maciążek-Jurczyk, Sławomir Wilczyński</i>	
19. Leki przeciwpłytkowe i przeciwzakrzepowe	120
<i>Straszak Dominik, Drózd Monika, Dymek Aleksandra, Widelska Gabriela, Tabin Mateusz, Matosiuk Dariusz</i>	
20. Farmakoterapia ADHD	126
<i>Straszak Dominik, Drózd Monika, Dymek Aleksandra, Widelska Gabriela, Tabin Mateusz, Matosiuk Dariusz</i>	
21. Neuroprotekcjne właściwości resweratrolu	132
<i>Wicha-Komsta Katarzyna</i>	
22. Działania niepożądane doustnych środków antykoncepcyjnych	138
<i>Rafał Ziemiński, Patrycja Gierszon, Kamil Szpiech, Marcin Zaniuk, Michał Piwoński, Tomasz Gęca, Anna Kwaśniewska</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 zaczną 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. Biomedyczne właściwości związków pochodzenia grzybowego

Biomedical properties of fungi-derived compounds

Agata Chudzik⁽¹⁾, Wiktoria Piątek⁽²⁾

⁽¹⁾Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurochirurgii Dziecięcej, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Opiekun naukowy: prof. dr hab. Radosław Rola

Agata Chudzik: agata.wojtowicz@umlub.pl

Słowa kluczowe: grzyby jadalne, związki biologicznie aktywne

Streszczenie

Świadomość konsumentów odnośnie substancji bioaktywnych oraz prozdrowotny wpływ preparatów pochodzenia naturalnego zwiększa ich udział w światowym rynku farmaceutyków. Wiele z tych substancji otrzymuje się z organizmów grzybowych. Wartość prozdrowotną i odżywczą grzyby zawdzięczają związkom izolowanym z owocników, grzybni oraz wydzielanym do podłoża (sekretom). Zaliczamy do nich białka, sacharydy, witaminy, składniki mineralne, kwasy tłuszczowe, związki fenolowe czy błonnik pokarmowy. Substancje te wykazują między innymi działanie przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne, immunomodulujące, antibakteryjne, przeciwwirusowe, obniżające poziom cholesterolu we krwi, przeciwzapalne oraz przeciwcukrzycowe.

1. Wstęp

Od wielu lat grzyby cenione są za walory smakowe i zapachowe, jednak bardzo ważne jest też ich zastosowanie w medycynie (Wasser 2002). Po raz pierwszy właściwości lecznicze grzybów opisał Hipokrates około 400 roku p.n.e. Informacje na temat przydatności grzybów jako leków lub substancji wspomagających zdrowie można znaleźć też w medycynie chińskiej, gdzie stosuje się je od ponad 2000 lat (Sanchez 2004). Grecy uznawali je za boski pokarm, Rzymianie podawali grzyby na ucztach oraz próbowali je hodować. Natomiast dla Egipcjan były one na tyle cennym produktem, że spożywać go mogli tylko najbogatsi. Badania naukowe zapoczątkowane w latach 60. XX wieku w USA, wykazały obecność w grzybach wielu związków biologicznie aktywnych (Wasser 2002, 2010). Współcześnie prowadzone prace badawcze potwierdziły i udokumentowały wiedzę na temat właściwości leczniczych grzybów.

Obecnie grzyby są obiektem zainteresowań badaczy z całego świata. Oprócz smaku i potencjału kulinarnego grzybów, zaczyna się dostrzegać wiele innych zastosowań tych organizmów. Około 700 gatunków grzybów wykazuje właściwości prozdrowotne (Reshetnikov i in. 2001). Wartość odżywcza grzybów jest związana z obecnością białek o dużej przyswajalności, niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, jak również polisacharydów oraz składników mineralnych. Ponadto są one źródłem błonnika, a także witamin. Grzyby to także cenne uzupełnienie diety, co więcej mogą być traktowane jako żywność funkcjonalna. Związki aktywne zawarte w grzybach posiadają właściwości antibakteryjne, antywirusowe, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe oraz przeciwalergiczne. Bezpośrednie spożywanie owocników oraz stosowanie suplementów diety, takich jak preparaty zawierające w składzie ekstrakty grzybowe wpływa w sposób pozytywny na zdrowie (Wasser i in. 1999).

2. Opis zagadnienia

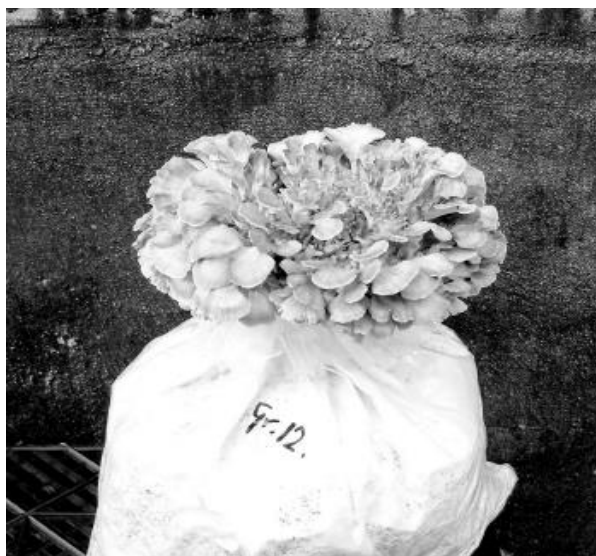
Praca ma charakter przeglądowy, a jej celem jest charakterystyka substancji bioaktywnych o zastosowaniu medycznym obecnych w grzybach poszczególnych gatunków.

3. Przegląd literatury

3.1 Związki biologicznie aktywne występujące w grzybach

Grzyby stanowią ogromne, ale w dużej mierze niewykorzystane źródło nowych produktów farmaceutycznych. Leczenie za pomocą grzybów określane jest mianem mykoterapii lub fungoterapii. Najliczniejszą grupą związków biologicznie aktywnych obecnych w grzybach są polisacharydy oraz kompleksy białkowo-cukrowe wchodzące w skład ich ściany komórkowej. Inne to witaminy, składniki mineralne, kwasy tłuszczowe, związki fenolowe czy błonnik pokarmowy (Rajewska i Bałasińska 2004; Barros i in. 2008). Do najbardziej cenionych gatunków grzybów o właściwościach leczniczych należą m.in. lakownica lśniąca – *Ganoderma lucidum*, twarząk jadalny – *Lentinula edodes*, wrośniak różnobarwny – *Trametes versicolor*, żagwica listkowata – *Grifola frondosa*, pieczarka brazylijska – *Agaricus blazei*, zimówka aksamitnotrzonowa – *Flammulina velutipes* czy soplówka jeżowata – *Hericium erinaceus* (Sas-Golak i in. 2011).

Polisacharydy obecne w grzybach wykazują wiele właściwości prozdrowotnych. Działają immunostymulująco, przeciwnowotworowo, hipoglikemicznie, a także antyoksydacyjnie (Stachowiak, Reguła 2012; Wasser 2002; Zhang i in. 2007). Aktywność tych związków zależy od ich masy cząsteczkowej, rozpuszczalności w wodzie, ilości rozgałęzień, a także struktury III-rzędowej. Największą immunoaktywność posiadają β (1 \rightarrow 3) glukany z rozgałęzieniami β (1 \rightarrow 4), a także β (1 \rightarrow 6) (Jękot 2015). Mechanizm działania polisacharydów nie został jeszcze w pełni poznany. Wiadomo jednak, że modyfikują one zachodzące reakcje biochemiczne. Są w stanie nawet stukrotnie zwiększyć aktywność komórek antyrakowych, a tym samym uniemożliwiają rozrost guza. Indukują produkcję interferonu oraz są odpowiedzialne za aktywację komórek obronnych organizmu takich jak makrofagi, makrofagi, leukocyty czy limfocyty T (Valíček 2011). Lakownica lśniąca jest wyjątkowo zasobna w polisacharydy, które stanowią od 10 do 50 % suchej masy owocników (Skalicka-Wozniak i in., 2012). Do najważniejszych polisacharydów pochodzenia grzybowego należą: lentinan (twarząk jadalny – *Lentinula edodes*), pleuran (bocznik ostrygowaty – *Leurotus ostreatus*), schizofilan (rozszczepka pospolita – *Schizophyllum commune*), skleroglukan (grzyby z rodzaju *Sclerotium*) i grifolan (żagwica listkowata – *Grifola frondosa*) (Rys 1.) (Siwulski 2014).



Rys. 1 Żagwica listkowata – *Grifola frondosa* (Lindequist i in. 2005).

Grupa związków o działaniu owadobójczym, grzybobójczym czy przeciwwirusowym to terpeny. Pochodną terpenów obecną w grzybach są terpenoidy. Ich efekt leczniczy polega przede wszystkim na działaniu immunomodulacyjnym oraz przeciwnowotworowym. Badania wykazały, że terpenoidy obecne w grzybach wykazują działanie przeciwwirusowe, szczególnie przeciw wirusowi

HIV-1 oraz wirusowi opryszczki (Mothana i in. 2000). Zmniejszają również ryzyko zachorowania na choroby układu sercowo-naczyniowego poprzez hamowanie syntezy cholesterolu czy zdolność obniżania ciśnienia krwi (Berger 2004). Bogatym źródłem terpenoidów jest lakownica lśniąca. Izolowane z niej substancje mają zdolność hamowania wzrostu komórek rakowych, a także zmniejszania ich inwazyjności (Liu i in. 2007, Sliva 2003). Jednym z takich związków jest seskwiterpen – illudin S, z grzybów *Omphalotus olearius* i *Lampteromyces japonicus*, który zaktywowany przez glutation łączy się z DNA, powodując zahamowanie procesu replikacji, a w konsekwencji doprowadza do śmierci komórki nowotworowej (Rajewska, Bałasińska 2004)

Innymi substancjami o właściwościach terapeutycznych izolowanymi z grzybów są związki fenolowe. Są organicznymi związkami chemicznymi wykazującymi przede wszystkim intensywne działanie antyoksydacyjne. Największy procent spośród nich stanowią polifenole oraz kwasy fenolowe. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające wykazują kwasy: wanilinowy oraz kawowy. Natomiast kwasy: galusowy, p-hydroksybenzoesowy i protokatechowy poza działaniem antyoksydacyjnym charakteryzują się potwierdzonymi *in vitro* i *in vivo* właściwościami przeciwwirusowymi, przeciwbakteryjnymi, przeciwzapalnymi a także przeciwgrzybiczymi. Kwas protokatechowy działa ponadto kardioprotekcyjnie immunomodulująco, przeciwzakrzepowo i chemoprewencyjnie. Kwasy fenolowe takie jak hydroksybenzoesowy, protokatechowy czy kawowy wyizolowano z pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*) czy twardziaka jadalnego (*Lentinula edodes*) (Rys 2.) (Sas-Golak i in. 2011).



Rys. 2 Twardziak jadalny – *Lentinula edodes* (Finimundy i in. 2014).

Niezwykle cenną grupę związków bioaktywnych stanowią białka. Wśród nich możemy wymienić lektyny czyli glikoproteiny tworzące połączenia białkowo-cukrowe, będące grupą związków biologicznie aktywnych o wysokiej masie cząsteczkowej. Działają one na układ immunologiczny poprzez pobudzanie organizmu do procesu jakim jest dojrzewanie komórek odpornościowych (Siwulski i in. 2014).

Enzymy grzybowe to odgrywające bardzo ważną rolę białka, które nawet w małych stężeniach są w stanie znacząco przyspieszyć przebieg danej reakcji biochemicznej. Grzyby zawierają szereg enzymów o zróżnicowanych właściwościach. Wśród nich wymieniana się superoksydysmutazę (dysmutaza ponadtlenkowa SOD), której zadaniem jest ochrona przed wolnymi rodnikami oraz peroksydazę i katalazę odpowiedzialne za eliminację nadtlenu wodoru, który w dużych stężeniach może wykazywać działanie rakotwórcze (Valíček 2011). Innym istotnym enzymem jest dehydrogenaza celobiozowa (CDH) wykazująca właściwości antyoksydacyjne, antybakteryjne i antybiofilmowe w stosunku do takich mikroorganizmów jak *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* oraz *Pseudomonas putida* (Thallinger i in. 2014). Proteazy grzybowe są enzymami zaangażowanymi między innymi w procesy apoptozy, szeroko pojętej odporności, krzepnięcia krwi oraz osmoregulacji (Ashton-Rickard 2013).

3.2 Właściwości terapeutyczne grzybów

Jak wskazano powyżej wiele substancji obecnych w grzybach wykazuje właściwości prozdrowotne. W zależności od gatunku, działanie związków izolowanych z grzybów jest różne (Tabela 1). Dzięki temu substancje biologicznie aktywne, zawarte w komórkach grzybów, mają szerokie spektrum zastosowań.

Tab.1 Właściwości terapeutyczne niektórych gatunków grzybów (Stamets 2005).

Właściwości Gatunek	Antybakteryjne	Przeciwgrzybicze	Przeciwzapalne	Antyutleniające	Antynowotworowe	Antywirusowe	Wpływ na ciśnienie krwi	Wpływ na poziom cukru we krwi	Wpływ na układ sercowo-	Obniżenie poziomu cholesterolu	Wpływ na system immunologiczny	Wpływ na układ oddechowy	Redukcja stresu
<i>Agaricus brasiliensis</i>													
<i>Cordyceps sinensis</i>													
<i>Flammulina velutipes</i>													
<i>Ganoderma lucidum</i>													
<i>Grifola frondosa</i>													
<i>Inonotus obliquus</i>													
<i>Lentinula edodes</i>													
<i>Schizophyllum commune</i>													
<i>Trametes versicolor</i>													
<i>Ganoderma applanatum</i>													

3.3 Właściwości przeciwnowotworowe

Właściwości przeciwnowotworowe grzybów, czyli zdolność blokowania powstawania komórek rakowych, jako pierwszy opisał Lucas w 1957 roku. Wykazał, że ekstrakty z owocników borowika szlachetnego (*Boletus edulis*) zwiększają przeżywalność myszy chorych na mięsaka Sarcoma 180 (Sas-Golak i in. 2011). Pierwsze leki przeciwnowotworowe, które były ekstraktami zawierającymi polisacharydy wyizolowane z grzybów, wprowadzili do leczenia Japończycy. Istnieje około 650 gatunków grzybów wyższych wykazujących potencjał przeciwnowotworowy (Wasser 2002). Wśród nich można wymienić borowika szlachetnego (*Boletus edulis*), koźlarza (*Leccinum*), maślaka zwyczajnego (*Suillus luteus*) czy boczniki (*Pleurotus*) (Sas-Golak i in. 2011). Grzyby są źródłem nie tylko bezpośrednio oddziałujących czynników przeciwnowotworowych, ale również produkują tzw. immunomodulatory, które stymulują układ odpornościowy do zwalczania komórek rakowych. Aktywne substancje zawarte w grzybach pobudzają limfocyty T, makrofagi, oraz komórki NK (ang. Natural Killer) do produkcji cytokin, m.in. TNF- α (ang. tumor necrosis factor α), IL-1 β (interleukina 1 β), IFN γ (**interferon** γ), które hamują proliferację komórek nowotworowych, a także indukują ich apoptozę. Grzyby są także źródłem związków stymulujących układ odpornościowy. Lentinan, schizophyllan i frakcja MD z żagwicy listkowatej (*Grifola frondosa*) oraz substancje takie jak PSK (polisacharyd Krestin) i PSP (polisacharydopeptyd), które są pozyskiwane z wrośniaka różnobarwnego (*Trametes versicolor*), wykorzystywane są w Azji w leczeniu nowotworów żołądka, jelita grubego oraz piersi (Siwulski i in. 2014).

3.4 Właściwości antyoksydacyjne

Proces antyoksydacji polega na eliminacji z organizmu wolnych rodników tlenowych, spowalniając procesy starzenia organizmu oraz zapobiegając rozwojowi chorób. Przeciwuutleniające właściwości grzybów są bardzo dobrze udokumentowane. Wykazano działanie antyoksydacyjne ekstraktów z: żagwicy listkowatej (*Grifola frondosa*), soplówki jeżowatej (*Hericium erinaceus*), płomiennicy zimowej (*Flammulina velutipes*), twardziaka jadalnego (*Lentinula edodes*), boczniaka ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*), polówki wiązkowej (*Agrocybe aegerita*), pieczarki brazylijskiej (*Agaricus blazei*), borowika szlachetnego (*Boletus edulis*) i czernidłaka kołpakowatego (*Coprinus comatus*) (Siwulski i in. 2014). Aktywność antyoksydacyjna jest związana głównie zawartością związków fenolowych w ekstraktach grzybowych (Rathee 2012).

3.5 Właściwości przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe

Działanie przeciwbakteryjne grzybów ma związek z obecnością chitosanów i chityny (Rajewska, Bałasińska 2004). Silną aktywność antybakteryjną owocników stwierdzono u pieprznika jadalnego (*Cantharellus cibarius*). Związki obecne w tym grzybie działają przeciwko gronkowcowi złocistemu (*Staphylococcus aureus*), laseczce woskowej (*Bacillus cereus*) i laseczce siennej (*Bacillus subtilis*) (Sas-Golak i in. 2011). Szczególnie interesujące są związki wykazujące działanie przeciwdrobnoustrojowe w stosunku do opornych szczepów bakterii. Hydrochinony seskwiterpenowe produkowane przez lakownice czerwonawą (*Ganoderma pfeifferi*) nazywane ganomycynami, hamują wzrost opornego na metycylinę gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) a także mikroorganizmów odpowiedzialnych za problemy skórne (*Pityrosporum ovale*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*) (Lindequist i in. 2005).

Działanie przeciwko wirusom wykazują substancje o małej masie cząsteczkowej. Ganoderiol, ganodermanontriol i kwas ganodermowy z lakownicy lśniącej wykazują aktywność antywirusową przeciw wirusowi HIV-1, natomiast ganodermediol i lucidadiol otrzymane z ganodermy czerwonawej przeciwko wirusowi grypy typu A (Siwulski i in. 2014).

3.6 Inne właściwości

Problemy zdrowotne związane z układem sercowo-naczyniowym to choroby cywilizacyjne XXI wieku. Związkiem hamującym aktywność głównego enzymu syntezy cholesterolu – reduktazy hydroksymetyloglutarylo-CoA jest izolowana z grzybów lowastatyna. Grzyby są też obfitym źródłem mewinoliny czyli substancji działającej hipocholesterolemicznie (Rajewska, Bałasińska 2004). Również zawartość terpenoidów zapobiega odkładaniu się cholesterolu w tętnicach i rozwojowi miażdżycy.

Związki obecne w grzybach mają także działanie przeciwalergiczne. Ekstrakty zawierające kwasy ganodermowe C i D wyizolowane z lakownicy lśniącej hamują reakcję histaminową, która jest odpowiedzialna za pojawienie się alergii (Siwulski i in. 2014). Wspomagają regulację nadwrażliwego systemu immunologicznego osób chorujących na różnego typu alergię. Właściwości antyalergiczne wykazywały także ekstrakty etanolowe z *Hypsizygus marmoreus*, płomiennicy zimowej (*Flammulina velutipes*), łuskwiaka nameko (*Pholiota nameko*) i boczniaka mikołajkowego (*Pleurotus eryngii*) (Siwulski i in. 2014).

4. Podsumowanie

Grzyby jadalne powszechnie występują w polskich lasach. Organizmy te są cennym źródłem różnych związków aktywnych biologicznie. Substancje w nich obecne wykazują działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwnowotworowe, przeciwuutleniające oraz obniżają poziom cukru i cholesterolu we krwi. Wykorzystanie substancji obecnych w grzybach daje ogromne możliwości w rozwoju medycyny. W świetle przytoczonych informacji niezbędne są dalsze badania, które umożliwią poznanie właściwości substancji izolowanych z nieprzebadanych dotąd gatunków grzybów oraz rozwinięcie badań już istniejących. Niezbędne jest też kształtowanie świadomości społecznej na temat właściwości grzybów i ich potencjalnego wykorzystania.

5. Literatura

- Ashton-Rickard PG (2013) An emerging role for serine protease inhibitors in T lymphocyte immunity and beyond. *Immunology Letters*, 152: 65-76.
- Barros L, Cruz T, Baptista P, i in. (2008) Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals, *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2742-2747.
- Berger A, Rein D, Kratky E, i in. (2004) Cholesterol-lowering properties of *Ganoderma lucidum* in vitro, ex vivo, and in hamsters and minipigs. *Lipids in health and disease*, 3(1), 2: 7-10.
- Finimundy TC, Dillon AJP, Henriques JAP, i in. (2014) A Review on General Nutritional Compounds and Pharmacological Properties of the *Lentinula edodes* Mushroom, *Food and Nutrition Sciences*, 5: 1095-1105.
- Jękot B, Muszyńska B, Mastalerz T, i in. (2015) Fukoidan – polisacharyd o wielokierunkowej aktywności biologicznej. *Postępy Fitoterapii*, 4: 250-257.
- Lindequist U, Niedermeyer TH, Jülich WD (2005) The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(3): 285-299.
- Liu J, Shimizu K, Konishi F, i in. (2007) Anti-androgenic activities of the triterpenoids fraction of *Ganoderma lucidum*. *Food Chemistry*, 100(4): 1691-1696.
- Mothana RA, Jansen R, Jülich WD, i in. (2000) Ganomycins A and B, new antimicrobial farnesyl hydroquinones from the basidiomycete *Ganoderma pfeifferi*. *Journal of natural products*, 63(3): 416-418.
- Muszyńska B, Sułkowska-Ziaja K, Malec M (2012) Związki o działaniu antyoksydacyjnym występujące w jadalnych i leczniczych gatunkach grzybów (Basidiomycota). *Botanika Farmaceutyczna*, 68(9): 629-639.
- Rajewska J, Bałasińska B (2004) Związki biologicznie aktywne zawarte w grzybach jadalnych i ich korzystny wpływ na zdrowie *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 58: 352-357.
- Rathee S, Rathee D, Rathee D, i in. (2012) Mushrooms as therapeutic agents. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(2): 459-474.
- Reshetnikov SV, Tan KK (2001) Higher Basidiomycota as a source of antitumor and immunostimulating polysaccharides. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 3(4) 361-394.
- Sanchez C (2004) Mini-review, modern aspects of mushroom culture technology, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64: 759-762.
- Sas-Golak, I, Sobieralski K, Siwułski M, i in. (2011) Skład, wartość odżywcza oraz właściwości zdrowotne grzybów pozyskiwanych ze stanowisk naturalnych. *Kosmos*, 3(60): 483-490.
- Siwułski M, Sobieralski K, Sas-Golak I (2014) Wartość odżywcza i prozdrowotna grzybów. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 21(1): 17-23.
- Skalicka-Wozniak K, Szypowski J, Los R, i in. (2012) Evaluation of polysaccharides content in fruit bodies and their antimicrobial activity of four *Ganoderma lucidum* (W Curt.: Fr.) P. Karst. strains cultivated on different wood type substrates. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 81(1): 17-21.
- Stachowiak B, Reguła J (2012) Health-promoting potential of edible macromycetes under special consideration of polysaccharides: a review. *European Food Research and Technology*, 234(3): 369-380.
- Stamets P (2005) Mycelium running: how mushrooms can help save the world. Ten Speed Press, 52-74.
- Thallinger B, Argirova M, Lesseva M, i in. (2014) Preventing microbial colonisation of catheters: Antimicrobial and antibiofilm activities of cellobiose dehydrogenase. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5): 402-408.
- Valíček P (2011) Houby a jejich léčivé účinky. *Start*, 1-152.
- Wasser SP (2002) Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(3): 258-274.
- Wasser SP (2010) Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 12(1): 1-16.

- Wasser SP, Weis AL (1999) Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Critical Reviews in Immunology*, 19(1): 31-62.
- Zhang M, Cui SW, Cheung PCK, i in. (2007) Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science & Technology*, 18(1): 4-19.

2. Leki przeciwdepresyjne – podział, mechanizm i działania niepożądane

Antidepressants - classification, mechanism and side effects

Monika Drózd⁽¹⁾, Dominik Straszak⁽²⁾, Gabriela Widelska⁽³⁾, Aleksandra Dymek⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Samodzielna Pracownia Radiofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾ Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾ Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽⁴⁾ Katedra i Zakład Farmakognozji z Pracownią Roślin Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: dr hab.n.farm. Monika Pitucha

Monika Drózd: monika.drozd@umlub.pl

Słowa klucze: leki przeciwdepresyjne, działania niepożądane, depresja, choroba afektywna

Streszczenie

Problemy codziennego życia sprawiają, że coraz więcej osób skarży się na spadki nastroju. Chwilowe obniżenia nastroju są normalnym zjawiskiem, natomiast jeśli występują w połączeniu z apatią, bezsennością albo objawami lękowymi to konieczna jest konsultacja lekarska, gdyż bardzo prawdopodobne jest wystąpienie depresji. Jest to podstępna choroba, która obezwładnia nasz organizm sprawiając, że nie mamy siły ani ochoty uczestniczyć w życiu społecznym, wszystko staje się obojętne. Z roku na rok coraz większa część społeczeństwa wykazuje te objawy i zostaje potwierdzona u nich diagnoza depresji. Warto być świadomym, że istnieje skuteczne leczenie farmakologiczne, które przywraca komfort dotychczasowego życia. Tak jak podczas przyjmowania wszystkich leków warto przeczytać ulotki swoich leków i poznać patogenezę swojej choroby, działania niepożądane wynikające z przyjmowania leków eliminujących jej objawy i profile działania tych leków.

1. Wstęp

Zaburzenia depresyjne objawiają się przewlekłym obniżeniem nastroju, apatią, spadkiem motywacji, bezsennością a niekiedy też objawami lękowymi. Historia leków antydepresyjnych sięga kilkudziesięciu lat wstecz, jednakże nowoczesne leki przeciwdepresyjne wykazują najwyższy profil bezpieczeństwa i wywołują dużo mniej działań niepożądanych niż leki starej generacji. Warto zaznaczyć, że bardzo ważna jest kontrola lekarska podczas całej terapii i stosowania tych leków, jedynie lekarz jest w stanie ocenić i dokładnie obserwować przebieg terapii jednocześnie eliminując ryzyko wystąpienia efektów ubocznych. Leki przeciwdepresyjne stanowią obecnie bardzo szeroką gamę leków tzw. psychotropowych, wydawanych jedynie na receptę lekarską po potwierdzeniu w wywiadzie minimalnie dwóch tygodni utrzymywania się objawów na które skarży się pacjent. Stosowane są w przebiegu depresji, choroby afektywnej dwubiegunowej, lęków, fobii, nerwic, bezsenności, apatii i wykluczenia z życia społecznego. Objawami epizodu depresyjnego są: przygnębienie, smutek, pesymizm, spadek motywacji, myśli samobójcze, niska samoocena, niekiedy też psychozy, napady lęków.

Rys historyczny

Pierwsze doniesienia poświęcone lekom przeciwdepresyjnym dotyczą lat 50. XX wieku. Delay i zespół w 1952 roku zaobserwowali przeciwdepresyjne działanie iproniazydu, który był pochodną izoniazydu, stosowaną w leczeniu gruźlicy. Dowiedziono wtedy jego wpływ hamujący rozkład neuroprzekazników. Pięć lat później Kuhn odkrył imipraminę, czyli lek należący do trójcyklicznych leków przeciwdepresyjnych. Odkrycia tego dokonano w Szwajcarii a wprowadzenie go do lecznictwa otworzyło nową erę psychiatrii. Główną zaletą była możliwość ograniczenia stosowania elektrowstrząsów, które były wtedy powszechnie stosowane. Kolejne badania prowadziły do wprowadzania do terapii coraz to nowszych leków, które miały lepiej ukierunkowane mechanizmy

działania, lepsze profile bezpieczeństwa, ograniczały się do hamowania wychwytu zwrotnego monoamin. Dzięki temu nastąpiło realne zmniejszenie ilości występowania działań niepożądanych. Leki drugiej generacji wprowadzono dużo później, w przypadku fluoksetyny w 1986 roku a w przypadku wenlafaksyny w 1993 roku. Nazywano je również atypowymi lekami przeciwdepresyjnymi i należy do nich większość leków przeciwdepresyjnych, które są obecnie stosowane w leczeniu. Postęp w leczeniu wymusił zwiększające się zapotrzebowanie na przyjmowanie tych leków, które przypisuje się głównie czynnikom socjoekonomicznym oraz dużo częstszemu konsultowaniu i rozpoznawaniu tych zaburzeń i chorób w porównaniu do kilkudziesięciu lat wstecz. Duże znaczenie miało również rozszerzenie wskazań do stosowania tej grupy leków (m.in. o zaburzenia lękowe) (Kostowski 2015).

2. Patogeneza, podział i mechanizmy działania leków przeciwdepresyjnych

Leki przeciwdepresyjne są stosowane w leczeniu chorób afektywnych. Istnieją dwa typy tych chorób – afektywna jednobiegunowa (nawracająca depresja) lub dwubiegunowa (psychoza maniakalno-depresyjna). Depresje o niewielkim nasileniu utrzymują się przewlekle dłużej niż dwa lata są nazywane dystymią. Depresje należą do chorób endogennych, które swoje warunkowanie mogą odnajdywać w genetyce lub w czynnikach zewnętrznych. Wystąpienie depresji jest równoznaczne z wystąpieniem deficytu przekąźnictwa serotonergicznego lub noradrenergicznego. Istnieją teorie mówiące, że depresja jest związana z zaburzeniami obu układów jednocześnie lub hipotezy mówiące o funkcji acetylocholino i zmianach w obrębie receptorów alfa₂ oraz 5HT₂ i 5HT_{1A}. Pewnym jest, że depresja warunkuje zaburzenia hormonalne. Zaburzenie funkcjonowania osi podwzgórze-przysadka-nadnercza poprzez długotrwałą ekspozycję na czynniki stresowe, które zwiększają prawdopodobieństwo na zachorowanie na choroby afektywne. Mechanizmem jest aktywowanie uwalniania kortykoliberyny w podwzgórzu, która następnie stymuluje uwalnianie adrenokortykotropiny w przysadce i zwiększa poziom syntezy kortyzolu w korze nadnerczy, natomiast w przebiegu depresji następuje zmniejszenie poziomu adrenokortykotropiny, natomiast stężenie kortyzolu we krwi jest bardzo wysokie i nie zmniejsza się nawet po podaniu deksametazonu (Wciórka i in. 2010).

Podział leków przeciwdepresyjnych wynika ze zróżnicowanego mechanizmu działania tych leków i różnej budowy chemicznej. Ze względu na te czynniki wyróżniamy (Janiec 2008):

- I. Inhibitory wychwytu zwrotnego neuroprzekąźników – leki te hamują wychwyt zwrotny monoamin (serotoniny, dopaminy, noradrenaliny itp.) ze szczeliny synaptycznej, jednocześnie zwiększając w niej ich stężenie.

- TLPD – trójcykliczne leki przeciwdepresyjne – nieselektywne inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny i serotoniny – amitryptylina, imipramina, dezypramina, doksepina, pipofezyna, klomipramina, dibenzepina, opipramol, noksyptylina

Najstarsza grupa leków, działająca zwłaszcza w leczeniu ciężkich postaci depresji. Są bardzo dobrze wchłaniane z przewodu pokarmowego, maksymalne stężenie we krwi osiągają ok. pięć godzin po podaniu w przypadku pojedynczych dawek. Metabolizowane w wątrobie przez cytochrom P450.

- Czterocykliczny lek przeciwdepresyjny – inhibitor wychwytu zwrotnego noradrenaliny – maprotylina
- NRI – inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny – reboksetyna
- SNRI – inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny i noradrenaliny – milnacipran, duloksetyna, wenlafaksyna

Ulepszona wersja TLPD, gdyż potrafią hamować wychwyt zwrotny noradrenaliny i serotoniny, ale tym samym nie blokując receptorów alfa₁, M i H₁, dzięki temu zmniejszając prawdopodobieństwo występowania działań niepożądanych. Stosowane są w leczeniu depresji o różnych stopniach nasilenia, nawet w przebiegu z lękiem czy depresji lekoopornej.

- NDRI – inhibitory wychwytu zwrotnego noradrenaliny i dopaminy – amineptyna, bupropion

- SSRI – selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny – sertralina, citalopram, fluoksetyna, escitalopram, zimelidyna, paroksetyna, dapoksetyna, zimelidyna, fluwoksamina
- II. Mechanizmy działania receptorowego
 - SARI – inhibitory wychwytu serotoniny, blokujące 5HT₂ receptor serotoninowy - nefazodon, trazodon
 - Antagonista receptora alfa₂ - mianseryna
 - Antagonista receptorów adrenergicznych 5HT₂, 5HT₃, alfa₂ – mirtazapina
- III. IMAO – inhibitory monoaminooksydazy
 - IMAO-A – odwracalny inhibitor monoaminooksydazy typu A – moklobemid
 - Nieodwracalne inhibitory monoaminooksydazy – iproniazyd, izokarboksazyd, fenzelzyna, tranylcypromina
- IV. Inne mechanizmy działania
 - Agonista receptorów melatonicznych MT₁ i MT₂ i antagonist receptorów 5-HT_{2C} – agomelatyna
 - Prekursor acetylocholiny – deanol
 - Zwiększenie wychwytu zwrotnego serotoniny – tianeptyna
 - Inhibitor wychwytu zwrotnego serotoniny i modulator receptorów serotoninowych – wortioksetyna
 - Inhibitor wychwytu zwrotnego serotoniny i częściowy agonista receptora 5-HT₁ – vilazodon

Mechanizmy działania leków przeciwdepresyjnych nie są do końca poznane. Z pewnością działają szybko i skutecznie w leczeniu objawów epizodów depresyjnych, jednakże nie jest zbadane ich działanie na realną przyczynę tych stanów. Wpływając na funkcjonowanie neuroprzekazników prowadzą do osiągnięcia efektu terapeutycznego poprzez:

- Działanie bezpośrednie na konkretne receptory synaptyczne
- Hamowanie wychwytu zwrotnego monoamin
- Wpływ na przekazywanie we wnętrzu 2neuronu
- Hamowanie degradacji monoamin

3. Farmakokinetyka leków przeciwdepresyjnych

W przypadku rozpatrywania działań niepożądanych należy pamiętać, że każdy pacjent może mieć swoje reakcje i odczucia po zastosowaniu każdego środka leczniczego, dlatego tak ważnym etapem jest stały, ścisły kontakt z lekarzem prowadzącym, który potrafi zaobserwować niepokojące sytuacje i zapobiegać występowaniu działań niepożądanych. W trakcie kontaktu z lekarzem prowadzącym może dojść do korekty dawkowania tych leków, chwilowego wprowadzenia leku, który będzie miał za zadanie minimalizować defekty terapii w odczuciu pacjenta, bądź jeśli to konieczne całkowitą zmianę leku. Generalnie leczenie nigdy nie będzie w 100% trafione, również dla wszystkich pacjentów skuteczne i pozbawione w równym stopniu działań niepożądanych. Szczególną grupą leków są niewątpliwie leki przeciwdepresyjne, które w mocnym stopniu ingerują w postrzeganie przez pacjenta wszystkiego co go otacza.

Najczęściej występujące działania niepożądane to: wysychanie błon śluzowych, zatrzymanie moczu, zaparcia, tachykardia, zaburzenia akomodacji oka, zwiększenie masy ciała, senność, sedacja, hipotensja, drżenia mięśniowe, zaburzenia erekcji, biegunki, zaburzenia łaknienia, nudności, zmiany skórne, zaburzenia pracy wątroby, napady drgawkowe.

Przeciwwskazania do stosowania tych leków: choroby układu krążenia, jaskra, przerost gruczołu krokowego, padaczka, zaburzenia funkcji poznawczych. Przedawkowanie tej grupy leków jest niebezpieczeństwem dla życia, zatrucia mają bardzo ciężki przebieg, występuje śpiączka, hipotonia, drgawki, groźne zaburzenia rytmu serca, zaburzenia pracy układu oddechowego.

Główne interakcje: Ta grupa może dość silnie wchodzić w interakcje z innymi lekami – NLPZ, czyli niesteroidowe leki przeciwzapalne nasilają ich działanie toksyczne, niektóre leki

metabolizowane przez cytochrom P450 mogą nasilać bądź zmniejszać działanie trójpierścieniowych leków przeciwdepresyjnych.

W przypadku leków przeciwdepresyjnych większość działań niepożądanych obserwowanych jest w pierwszych dniach od włączenia leków, ma charakter przejściowy i dosyć łagodny przebieg. Im nowsza generacja leków tym mniejsze ryzyko wystąpienia powikłań, dlatego trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne pomimo ich realnej skuteczności odchodzą już powoli do historii w większości terapii. Ważne jest by wspomnieć, że leki przeciwdepresyjne nie mają działania uzależniającego. Wszelkiego rodzaju objawy odstawienne mogą pojawić się po raptownym zaprzestaniu przyjmowania leków bez konsultacji lekarskiej, jednakże mogą one utrzymywać się maksymalnie przez kilka dni i mieć łagodny przebieg – bezsenność, zmęczenie, niepokój, bóle głowy, spadek nastroju lub ospałość. Ich występowanie łączy się bezpośrednio z odstawieniem przyjmowanych dotąd leków, gdyż ustępują automatycznie po powrocie do przyjmowania leków. Odstawianie tego typu leków powinno mieć charakter przewlekły, powolny i stopniowy. Istnieją jednak opinie pacjentów, którzy twierdzą, że mimo schodzenia powolnego z wysokiego dawkowania leków nadal odczuwają skutki zaprzestania przyjmowania tych leków. Stany takie mogą trwać nawet wiele miesięcy, jednakże są to przypadki na tyle rzadkie, że dopiero ich analizy mogą powiedzieć coś więcej. Ważny jest poziom „schodzenia z dawki”, mówi się, że optymalną, najbezpieczniejszą metodą redukcji jest obniżanie o 10% od ostatniej dawki co miesiąc. Lekarze najczęściej zalecają nieco szybsze tempo – ok. 25-50% ostatniej dawki co miesiąc, które jednak sprawdza się u znacznej większości pacjentów.

Niekiedy pacjenci cierpiący na depresję lub lęki mogą też cierpieć na inne choroby, dlatego ważne jest, żeby lekarz znał pełną historię choroby pacjenta, którego prowadzi. W przypadku chorych cierpiących na padaczkę może dojść do obniżenia progu drgawkowego, co może spowodować wystąpienie napadów padaczkowych. Ważnym jest, aby dobrać odpowiedni lek, który nie podniesie tego ryzyka. Z badań wynika, że najbezpieczniejsze jest stosowanie leków z grupy SSRI. Leki, które nie są polecane dla chorych na padaczkę to maprotylina i bupropion, gdyż zwiększają ryzyko napadów, w mniejszym stopniu również wenlafaksyna i mianseryna. Lekami „polecanymi” są: reboksetyna i mirtazapina.

Ogromnym problemem spadków nastroju i depresji jest potencjalne ryzyko popełnienia samobójstwa przez pacjenta. Niejednokrotnie problemy i natłok negatywnych myśli na tyle mocno obciążają psychikę pacjenta, że jedynym wyjściem jakie widzi jest właśnie targnięcie się na własne życie. Niestety pomimo rozpoczęcia terapii lekami przeciwdepresyjnymi pacjenci czasem na początku czują się równie źle a nawet gorzej niż przed farmakoterapią. Na szczęście zjawisko to jest stosunkowo rzadkie. Myśli samobójcze są również jednym z działań niepożądanych, które niezwłocznie należy skonsultować z lekarzem i skorygować farmakoterapię. Korzystny wpływ leków zazwyczaj obserwuje się po upływie dziesiątej doby od początku terapii, jednakże zazwyczaj już kilka dni po rozpoczęciu pacjent odnotowuje u siebie poprawę objawiającą się większą chęcią do podejmowania aktywności i większymi zasobami energii.

Leki antydepresyjne nie mogą być również łączone z alkoholem, gdyż jest to niezwykle niebezpieczne – może nasilać negatywne działanie obu substancji na organizm człowieka. Interakcje wywołane takim połączeniem mogą zwielokrotnić działanie alkoholu na organizm ludzki (przede wszystkim działanie toksyczne – agresja, nadpobudliwość, zaburzenia koncentracji, powolne myślenie i kojarzenie faktów). Nasilone zostaje również działanie samego leku przeciwdepresyjnego i również jego szkodliwość – mogą występować: niepokój, nadmierne napięcie, lęki, omamy słuchowe i wizualne, problemy z pamięcią, nadmierna senność. W przypadku leczenia pacjent powinien bezwzględnie zaniechać spożywania wszelkich napojów alkoholowych.

Leki przeciwdepresyjne są czasami stosowane w leczeniu bezsenności. Typowymi lekami nasennymi są zolpidem, zaleplon i zopiklon. Działają one ułatwiająco zasypianie, lecz ich stosowanie może doprowadzić do systematycznego zwiększania przyjmowanej dawki w celu uzyskania tego samego efektu terapeutycznego, czyli do zjawiska tolerancji, która następnie przerodzić się może w uzależnienie (psychiczne lub fizyczne). Z tego powodu powinny być stosowane od dwóch do czterech tygodni, jednakże większość pacjentów przyjmuje je przewlekłe, co jest dużym błędem. W celu leczenia zaburzeń snu często przepisywane są pacjentom leki przeciwdepresyjne, mimo, że mają

one typowych wskazań do leczenia tej jednostki chorobowej a dowody skuteczności są ciężkie do oceny. Niektórzy pacjenci boją się stosowania typowych leków nasennych i wybierają w trakcie konsultacji lekarskiej inną alternatywę. Pomoc w takiej sytuacji niosą właśnie leki przeciwdepresyjne przeznaczone typowo do leczenia zaburzeń depresyjnych oraz leki antyhistaminowe przeznaczone do leczenia alergii. Ważna jest początkowo częsta ocena stanu pacjenta przez lekarza, gdyż w przypadku stosowania tych leków można powiedzieć, że oczekujemy na wystąpienie u pacjenta w sposób całkowicie kontrolowany działania niepożądanego w postaci nadmiernej senności, która może wyleczyć problem bezsenności.

Stosowanie leków u kobiet w ciąży jest nieco bardziej skomplikowane. Preferuje się w takim przypadku psychoterapię, bądź w przypadku ciężkich przebiegów depresji leczenie można również prowadzić poprzez zabiegi elektrowstrząsowe. Farmakoterapia dla przyszłych matek jest zawsze trudnym wyborem i wynika pierwszorzędnie analizy korzyści oczekiwanych z przyjmowania przez matkę i płód leków oraz ryzyka, które leki te niosą dla ich połączonych organizmów. Leczenie takie wymaga ścisłej i systematycznej współpracy z psychiatrą. W takich przypadkach korzysta się z badań dotyczących stosowania leków przez daną grupę ludzi, jednakże zasób badań prowadzonych na kobietach ciężarnych jest zazwyczaj niewielki, natomiast w przypadku leczenia lekami przeciwdepresyjnymi jest właściwie znikomy. Istnieją doniesienia, że stosunkowo najmniejsze ryzyko wiąże się ze stosowaniem SSRI, z wyłączeniem paroksetyny, która może zwiększać ryzyko wystąpienia wad serca u płodu. Wszelkiego rodzaju ingerencja farmakologiczna w proces rozwoju płodu może działać negatywnie na przyszłe procesy życiowe noworodka, który może urodzić się z niską masą urodzeniową, w trakcie ciąży mogą doprowadzić do wad – m.in. nadciśnienia płucnego. Dzieci urodzone mogą cierpieć na objawy odstwienne objawiające się głównie rozdrażnieniem. Amerykańska Agencja Żywności i Leków sklasyfikowała większość leków przeciwdepresyjnych zaliczana jest do grupy „C”, czyli takich, które niewykluczone, że mają szkodliwy wpływ na rozwój płodu. Do grupy „B”, czyli leków w przypadku których nie ma dowodów na szkodliwy wpływ na rozwój płodu zakwalifikowano tylko nieliczne – mianserynę, maprotylinę oraz bupropion. Kolejnym etapem po narodzinach jest karmienie piersią. Udowodniono, że leki przeciwdepresyjne przyjmowane przez matkę przenikają do jej mleka, więc będą również oddziaływać w organizmie noworodka, jednakże ich poziom jest zdecydowanie niższy niż we krwi matki. Zastosowanie tych leków u matki karmiącej również jest warte analizy i podjęcia dobrej decyzji czy korzyści płynące z ich przyjmowania są ważniejsze niż ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. W obliczu najwyższej konieczności za stosunkowo bezpieczne uznaje się leki z grupy SSRI (poza paroksetyną) oraz TLPD (poza doksepiną). Podczas karmienia piersią preferowane są citalopram i escitalopram. Zaleca się zazwyczaj podawanie leku w najmniejszej dawce, która przynosi odczuwalny skutek raz na dobę, bezpośrednio po nakarmieniu dziecka.

4. Podsumowanie

Problem depresji dotyka wszystkich, zgodnie ze statystykami 2-4% populacji Europy cierpi na tę chorobę, natomiast w Polsce chorych jest około 1 mln osób i ta liczba wciąż rośnie. Problem depresji demotywuje pacjenta i zniechęca go do aktywnego życia w społeczeństwie. Dzięki postępowi medycyny są obecnie środki farmakologiczne, które zwiększają komfort życia, szacuje się, że po wdrożeniu terapii około 50-70% pacjentów uzyskuje znaczącą poprawę w poczuciu i funkcjonowaniu. Terapia depresji jest długim i trudnym okresem w życiu pacjenta, jego rodziny i otoczenia. Ważne jest wsparcie, rozmowa czy pomoc w prozaicznych czynnościach. Ocena skuteczności leków przeciwdepresyjnych w chorobie afektywnej jest możliwa do oceny dopiero po upływie minimum czterech tygodni od rozpoczęcia przyjmowania leku. Systematyczne przyjmowanie leków zakłada brak nawrotów choroby i wszelkim dolegliwościom jej towarzyszącym, dlatego po raz kolejny warto podkreślić rolę współpracy z prowadzącym lekarzem psychiatrą. Ważne jest to, by dbać o otoczenie, czyli relacje z rodziną, przyjaciółmi i najbliższymi. Otaczanie się ludźmi, którym zależy na naszym dobrym samopoczuciu zwiększa szansę na powodzenie terapii a w dalszej przyszłości może nawet na wyzdrowienie. Zgodnie z szacunkami Światowej Organizacji Zdrowia na depresję cierpi ok. 10% populacji na całym świecie, więc co dziesiąty człowiek prawdopodobnie

wykazuje jej objawy. Ważne jest bycie ich świadomym, dobre zapoznanie się z nimi i bycie czujnym czy wokół nas nie znajduje się osoba, która potrzebuje pomocy.

5. Literatura

Janiec W (2008) Farmakodynamika. 1: 215-228.

Kostowski W (2015) Co wiemy o depresji? <https://instytucja.pan.pl/>

Wciórka J, Pużyński S, Rybakowski J (2010) Psychiatria metody leczenia, zagadnienia etyczne, prawne, publiczne, społeczne. 3: 65-123; 199-204.

3. Problemy wynikające ze stosowania leków w okresie laktacji

Problems resulting from the use of medicines during lactation

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: Prof. dr hab. n. farm. Jolanta Kotlińska

Joanna Filarowska: joanna.filarowska@gmail.com

Słowa kluczowe: karmienie piersią, klasyfikacja prof. Hale'a, klasyfikacja prof. Briggs'a, klasyfikacja WHO

Streszczenie

Karmienie piersią jest najbardziej optymalnym sposobem żywienia niemowląt. Mleko kobiece jest lekkostrawne i łatwo przyswajalne, przystosowane do rozwoju funkcji trawiennych niedojrzałego jeszcze przewodu pokarmowego. Zawiera także niezbędne składniki odżywcze w odpowiednich ilościach i korzystnym składzie dostosowanym do potrzeb organizmu niemowlęcia. Problem może być sytuacja, kiedy matka karmiąca piersią wymaga farmakoterapii. Na szczęście matki karmiące piersią mogą bezpiecznie stosować większość przepisanych leków. Wiadomo, że większość leków przenosi się do mleka, jednak zachodzi to w stopniu, który nie jest niebezpieczny dla dziecka. Istnieje kilka różnych klasyfikacji leków w zależności od ich bezpieczeństwa stosowania w laktacji. Trzy najważniejsze z nich to klasyfikacja prof. Briggs'a, Hale'a oraz WHO, które zostaną omówione poniżej.

1. Wstęp

Mleko wytwarzane przez kobietę jest najlepszym pożywieniem dla noworodka, ponieważ pokarm ten najlepiej odpowiada potrzebom dziecka, jest dostosowany do możliwości trawiennych młodego organizmu i tak skomponowany, by rozwój dziecka przebiegał prawidłowo. Karmienie piersią daje wiele korzyści, zarówno natychmiastowych jak i długoterminowych w porównaniu do karmienia mlekiem modyfikowanym. Mleko kobiece jest prawie idealną mieszanką witamin, białek i tłuszczów, niezbędnych noworodkowi do prawidłowego rozwoju, a dodatkowo jest bogate w przeciwciała pomagające zwalczyć bakterie i wirusy. Zauważono, że karmienie piersią obniża ryzyko zachorowania dziecka na astmę oraz alergie. Ponadto niemowlęta karmione wyłącznie piersią przez kilka pierwszych miesięcy życia rzadziej zapadają na infekcje ucha, układu oddechowego oraz biegunki. Chociaż ostatnie badania wyraźnie sugerują że liczba kobiet, które decydują się na karmienie piersią rośnie, liczba kobiet które przerwały karmienie piersią, aby wziąć leki jest zbyt wysoka. Badania przeprowadzone w krajach zachodnich wskazują, że od 90% do 99% kobiet karmiących piersią otrzymuje co najmniej 1 lek już w pierwszym tygodniu po porodzie. Choć nie jest znana dokładna liczba kobiet, które zaprzestają karmienia piersią ze względu na obawy związane z działaniem leków, badania sugerują, że dla matek, które przedwcześnie przerywają karmienie piersią, stosowanie leków jest głównym powodem (Hale 2005).

2. Opis zagadnienia

Mleko ludzkie powstaje w pęcherzykach mlecznych zlokalizowanych w gruczołach piersiowych. Pęcherzyki te są zbudowane z komórek zwanych laktocytami, które są zdolne do pobierania składników odżywczych z krwi matki oraz do syntetyzowania i wydzielania biologicznej substancji o dużych walorach odżywczych i immunologicznych. Każdy pęcherzyk zakończony jest przewodem mlecznym, przewody zaś łączą się ze sobą w coraz szersze drogi transportowe, aż do

najszerzych, wyprowadzających mleko na szczyt brodawki piersiowej (Pawlus B i in. 2004). Mleko ludzkie jest płynem zawierającym ponad 200 różnorodnych składników, a jego dokładny skład jest dynamiczny i zmienia się w trakcie okresu laktacji, w ciągu dnia, jest też zależny od populacji z której wywodzi się matka. Wyróżniamy cztery zasadnicze, odmienne od siebie rodzaje wydzieliny gruczołowej. Pierwsza z nich to wydzielina przedporodowa, powstająca już w trzecim trymestrze ciąży. Jest ona wynikiem zmian jakie zachodzą wtedy w gruczole piersiowym oraz efektem procesów prowadzących do wytwarzania mleka w okresie około- i poporodowym. Drugim rodzajem wydzieliny jest siara, wytwarzana w małych ilościach w ciągu pierwszych kilku dni po porodzie. Jest ona bogata w składniki immunologiczne, takie jak immunoglobuliny, laktoferyna, leukocyty, a także czynniki wzrostu. Siara charakteryzuje się również stosunkowo niskim stężeniem laktozy, co może wskazywać na to, że pełni ona raczej funkcję immunologiczną niż odżywczą. Trzecia wydzielina gruczołu piersiowego to tzw. mleko przejściowe, które produkowane jest przez okres około 2 tygodni, aż do wytworzenia ostatniego rodzaju wydzieliny gruczołu sutkowego jakim jest mleko dojrzałe (Ballard i Morrow 2013). Wyróżniamy trzy źródła pochodzenia składników mleka. Niektóre składniki są syntetyzowane w komórkach wydzielniczych sutka z prekursorów pochodzących z osocza; inne są wytwarzane przez komórki gruczołu sutkowego, a jeszcze inne są przenoszone bezpośrednio z osocza matki do mleka. Wszystkie fizjologiczne i biochemiczne zjawiska wpływające na skład osocza mogą również wpływać na skład mleka. Skład mleka może być dalej modyfikowany przez hormony lub inne czynniki bioaktywne, które mogą wpływać na procesy biosyntezy w gruczole sutkowym. (Howard i Lawrence 1999). Oprócz składników odżywczych do mleka matki mogą przechodzić także substancje potencjalnie niebezpieczne, w tym leki.

Cząsteczki leków przechodzą do mleka głównie dzięki mechanizmowi dyfuzji prostej. Z osocza matki przechodzą one przez ściany naczyń włosowatych do komórek pęcherzykowych. Podczas pierwszych 4 – 10 dni okresu laktacji istnieją duże przerwy pomiędzy komórkami pęcherzykowymi, które umożliwiają zwiększony dostęp immunoglobulin, limfocytów i białek matczynych, a także leków do mleka. Po pierwszych 7 dniach laktacji komórki pęcherzykowe pęcznią i zamykają szczeliny wewnątrzkomórkowe, przez co ograniczają dostęp substancji do mleka. Powszechnie uznaje się, że leki penetrują bardziej do siary i mleka przejściowego niż do mleka dojrzałego (Wilson i in. 1980). Przy doborze leku, który musi być zastosowany u kobiety w okresie laktacji ważne jest wzięcie pod uwagę czynników, które wpływają na stężenie leku w mleku matki. Zaliczamy do nich:

2.1 Stężenie leku w osoczu matki

Jak wspomniano wcześniej, dyfuzja bierna jest głównym mechanizmem za pomocą którego leki przechodzą do mleka. Polega ona na przenoszeniu niezjonizowanych cząsteczek leku, rozpuszczalnych w lipidach, z roztworu wodnego po jednej stronie błony lipidowej, wnikięciu do niej i przejściu do fazy wodnej po drugiej stronie błony. Szybkość dyfuzji biernej jest wprost proporcjonalna do gradientu stężeń po obu stronach błony i do pola jej powierzchni. W związku z tym im wyższe stężenie leku zostanie osiągnięte w osoczu matki, tym wyższe będzie ono w mleku. Na stężenie leku w osoczu wpływa również objętość dystrybucji. Ten parametr farmakokinetyczny jest definiowany jako hipotetyczna objętość płynów ustrojowych, w której lek, po równomiernym rozmieszczeniu, osiągałby takie samo stężenie jak we krwi (Błaszczak 2011). Duża objętość dystrybucji przyczyni się do niższego stężenia leku w osoczu matki, a następnie niższego stężenia w mleku (Howard 1999).

2.2 Wiązanie z białkami osocza matki

Wolny, niezwiązany lek łatwo ulega dyfuzji, podczas gdy silnie związane z białkami leki, takie jak ibuprofen lub warfaryna (oba w 99% związane z białkiem) nie są zdolne do dyfuzji w znaczących ilościach (Howard, 1999).

2.3 Stopień jonizacji

Leki przecinają błony biologiczne w postaci niezjonizowanej. Mleko matki charakteryzuje się na ogół nieco bardziej kwaśnym odczynem (pH 7,2) niż osocze matki (pH 7,4), więc przyciąga słabe zasady organiczne (np. oksykodon, kodeina). Takie leki stają się zjonizowane i „uwięzione”

w mleku. I odwrotnie, słabe kwasy organiczne, takie jak penicylina, mają tendencję do jonizacji, utrzymywania się w osoczu matki i nieprzechodzenia do mleka (Howard, 1999).

2.4 Rozpuszczalność w tłuszczach

Oprócz dyfuzji biernej do fazy wodnej, leki rozpuszczalne w tłuszczach (np. citalopram) mogą znaleźć się w kropelkach tłuszczu w mleku, jednakże zawartość tłuszczu w mleku zmienia się w zależności od wieku niemowlęcia i fazy karmienia (Howard, 1999).

2.5 Farmakogenomika matczyzna

Lepszemu zrozumieniu wpływu farmakogenomiki na stężenie leku może przysłużyć się przykład kodeiny, która jest metabolizowana do morfiny przez enzym cytochromu P450 (CYP) 2D6. Fenotyp ultraszybkiego metabolizmu występuje u 10% mieszkanek Europy Zachodniej oraz 30% mieszkanek Afryki Północnej. Powtarzające się dawki kodeiny u tych kobiet wytwarzają znaczne ilości morfiny, której szybki transfer z osocza matki do mleka może spowodować depresję ośrodkowego układu nerwowego i potencjalnie śmierć noworodka (Howard i Lawrence 1999).

3. Przegląd literatury:

Matki karmiące piersią mogą bezpiecznie stosować większość przepisanych leków. Wiadomo, że większość leków przenosi się do mleka, jednak zachodzi to w stopniu, który nie jest niebezpieczny dla dziecka. Istnieje kilka różnych klasyfikacji leków w zależności od ich bezpieczeństwa stosowania w laktacji. Trzy najważniejsze zostaną omówione poniżej:

Klasyfikacja leków wg prof. Briggsa wyróżnia następujące klasy leków:

1. Substancje lecznicze kompatybilne z karmieniem piersią

Zaliczane są tu substancje lecznicze które nie przechodzą do mleka matki w klinicznie istotnych ilościach lub ich stosowanie nie stanowi ryzyka dla dziecka karmionego piersią. Przykładami takich substancji są: paracetamol, ibuprofen, lewotyroksyna, doksycyklina.

2. Leki prawdopodobnie kompatybilne z karmieniem piersią

Do tej grupy zaliczane są substancje czynne wobec których brak jest danych dotyczących bezpieczeństwa stosowania w czasie laktacji lub dane te są ograniczone, jednakże sugerują one, że lek nie stanowi znaczącego ryzyka dla karmionego dziecka. Przykładami takich substancji są: bisakodyl, chlorheksydyna, mometazon, naproksen

3. Substancje lecznicze potencjalnie toksycznych dla dziecka karmionego piersią

Zaliczane są tu leki, dla których brak jest danych dotyczących bezpieczeństwa stosowania w czasie laktacji lub dane te są ograniczone, jednakże właściwości substancji leczniczych wskazują, że mogą one stanowić ryzyko dla dziecka karmionego piersią. Przy stosowaniu tych leków nie zaleca się karmienia piersią. Przykładami takich substancji są: citalopram, diazepam, metoprolol, tramadol

4. Substancje lecznicze potencjalnie toksyczne dla matki

Do tej grupy zaliczane są substancje lecznicze, dla których brak jest danych dotyczących bezpieczeństwa stosowania w czasie laktacji lub dane te są ograniczone. Właściwości substancji leczniczych wskazują, że mogą one stanowić ryzyko utraty witamin lub składników odżywczych przez organizm matki. Przy stosowaniu tych substancji leczniczych nie zaleca się karmienia piersią.

5. Substancje lecznicze przy stosowaniu których należy wstrzymać się z karmieniem piersią

Zaliczane są tu substancje lecznicze, które potencjalnie mogą przenikać do mleka mamy, ale korzyści z leczenia mamy karmiącej tymi substancjami leczniczymi przewyższają korzyści płynące z karmienia piersią dla dziecka. W związku z tym zaleca się czasowe wstrzymanie karmienia piersią do czasu zakończenia terapii i wyeliminowania substancji leczniczej z organizmu mamy i/lub osiągnięcia we krwi kobiety niskich stężeń danej substancji leczniczej. Przykładami takich substancji są: metronidazol, pralidoksym, tinidazol

6. Substancje lecznicze przeciwwskazane w czasie karmienia piersią

Do tej grupy zaliczane są substancje lecznicze, dla których dostępne dane, wskazują na możliwe poważne działania niepożądane u dziecka karmionego piersią. Karmienie piersią jest przeciwwskazane w przypadku konieczności przyjmowania tych leków przez mamę karmiącą.

Przykładami takich substancji są: atorwastatyna, metotreksat, danazol, bromokryptyna (Briggs i in. 2012).

Klasyfikacja leków wg prof. Hale'a.

Najbardziej znaną i powszechnie stosowaną klasyfikacją dotyczącą bezpieczeństwa stosowania leków w czasie laktacji są Kategorie Ryzyka Laktacyjnego wg Prof. Hale'a. Wg tej klasyfikacji substancje lecznicze zaliczane są do 5 kategorii:

1. Kategoria L1 – leki najbezpieczniejsze – zgodne z karmieniem piersią

Do tej kategorii zaliczane są substancje lecznicze, które były przyjmowane podczas laktacji przez dużą liczbę matek i nie zaobserwowano żadnego negatywnego ich wpływu na karmione piersią dzieci, substancje lecznicze, dla których przeprowadzono badania kontrolowane wśród matek karmiących piersią, i dla których te badania wykazały brak ryzyka wpływu na zdrowie dziecka ani odległego działania szkodliwego oraz substancje lecznicze, niedostępne drogą doustną dla dziecka. Przykładami leków należących do tej kategorii są: ampicylina, ibuprofen, insulina, paracetamol.

2. Kategoria L2 – leki bezpieczne – prawdopodobnie zgodne z karmieniem piersią

Do tej kategorii zaliczane są substancje lecznicze, które były stosowane u ograniczonej liczby matek i które nie wykazały zwiększonego ryzyka wystąpienia działań niepożądanych u karmionych piersią dzieci, a także substancje lecznicze, dla których istnienie ryzyka szkodliwego wpływu na karmione piersią dziecko jest mało prawdopodobne. Przykładami leków należących do tej grupy są: acyklowir, azytromycyna, citalopram, diklofenak

3. Kategoria L3 – leki prawdopodobnie bezpieczne – prawdopodobnie zgodne z karmieniem piersią

Do tej kategorii zaliczane są substancje lecznicze, dla których nie istnieją kontrolowane badania na grupie kobiet karmiących piersią, ale ryzyko niepożądanego działania leku u karmionego piersią dziecka jest możliwe, substancje lecznicze, dla których badania wykazały tylko minimalny niezagrażający efekt niepożądany oraz nowe substancje lecznicze, które nie mają przeprowadzonych odpowiednich badań. Przykładami leków należących do tej grupy są: ciprofloksacyna, hydrokortyzon (stosowany doustnie), meloksikam, tramadol. Należy nadmienić, że leki należące do kategorii L3 powinny być stosowane tylko wtedy, gdy korzystny efekt ich działania u matki przewyższa ryzyko u dziecka.

4. Kategoria L4 – leki potencjalnie niebezpieczne

Do tej kategorii zaliczane są substancje lecznicze, dla których istnieją dowody szkodliwego wpływu na karmione piersią dziecko oraz substancje lecznicze, dla których istnieją dowody niekorzystnego wpływu na proces laktacji, jednakże korzyści z ich zastosowania u matek karmiących mogą być akceptowane mimo ryzyka dla dziecka. Przykładami leków należących do tej grupy są: kodeina, kwas walproinowy, glimepiryd, metamizol. Leki należące do kategorii L4 mogą być stosowane, jeżeli lek jest niezbędny dla ratowania życia matki lub inny, bezpieczniejszy lek nie może być stosowany lub jest nieskuteczny.

5. Kategoria L5 – leki niebezpieczne – przeciwwskazane

Do tej kategorii zaliczane są substancje lecznicze, dla których badania na grupie matek karmiących piersią wykazały istotne i udokumentowane ryzyko niekorzystnego, szkodliwego wpływu na zdrowie dziecka karmionego piersią oraz substancje lecznicze szkodliwe dla dziecka. Ryzyko dla dziecka, wynikające ze stosowania przez matkę leków z kategorii L5 w czasie karmienia piersią, przewyższa każdą możliwą korzyść z karmienia, dlatego też leki z kategorii L5 są przeciwwskazane u kobiet karmiących. Przykładami leków należących do tej grupy są: danazol, isotretynoina, paklitaksel, letrozol. (Hale 2004).

W 2002 roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organisation*) opracowała i opublikowała własną klasyfikację dotyczącą bezpieczeństwa stosowania leków w czasie laktacji. WHO zalicza substancje lecznicze do 5 grup:

1. Substancje lecznicze zgodne z karmieniem piersią.

WHO do tej grupy leków zalicza związki, dla których nie są znane przeciwwskazania do ich stosowania w okresie laktacji; substancje te uznawane są za bezpieczne do stosowania przez kobietę w okresie laktacji, np. lewotyroksyna, ibuprofen, paracetamol

2. Substancje lecznicze zgodne z karmieniem piersią, ale przy stosowaniu których konieczne jest monitorowanie działań niepożądanych u dziecka.

Zaliczane są tu związki, dla których możliwe jest wystąpienie działań niepożądanych u dziecka karmionego piersią. Niemniej jednak te działania niepożądane nie zostały dotychczas zaobserwowane/zgłoszone lub występowały sporadycznie i miały łagodny przebieg. Substancje, które zostały zaklasyfikowane do tej grupy to np. efedryna, kodeina, morfina.

3. Substancje lecznicze, które należy unikać w czasie karmienia piersią, jeśli to możliwe. Jeżeli występuje konieczność ich zastosowania należy monitorować działania niepożądane u dziecka.

Zaliczane są tu związki, w stosunku do których zgłoszono wystąpienie pewnych działań niepożądanych u dziecka karmionego piersią. Te substancje lecznicze mogą być stosowane przez mamę karmiącą, jeżeli jest to naprawdę konieczne, a innej, bezpieczniejszej alternatywy nie ma. Substancje, które zostały zaklasyfikowane do tej grupy to np. klindamycyna, atenolol, haloperidol.

4. Substancje lecznicze, które należy unikać w czasie karmienia piersią, jeśli to możliwe, bo mogą hamować laktację.

Zaliczane są tu związki, które mogą hamować laktację. W związku z tym, jeżeli to możliwe powinny być unikane. Jeżeli jednak mama karmiąca musi przyjmować taki lek, nie ma konieczności odstawiania dziecka od piersi czy podawania mieszanki mlekozastępczej, a ewentualne spadki w produkcji mleka, powinny być kompensowane przez częste przystawianie dziecka do piersi lub stymulację laktacji za pomocą laktatora. Przykładami substancji należących do tej grupy są: amilorid, furosemid, hydrochlorotiazyd.

5. Substancje lecznicze, które należy unikać w czasie karmienia piersią

Do tej grupy należą związki, które mogą powodować poważne działania niepożądane u dziecka karmionego piersią i nie powinny one być stosowane w okresie laktacji. Jeżeli konieczne jest podanie tego leku mamie karmiącej, należy czasowo odstawić dziecko od piersi, w przypadku długotrwałej terapii konieczne jest zakończenie laktacji. Do tej grupy należy m.in. cyklosporyna, cytarabina, cis platyna. (World Health Organisation 2002).

4. Podsumowanie

Cząsteczki praktycznie wszystkich leków przenikają do mleka ludzkiego. Na szczęście stężenie przenikniętego leku jest często śladowe, w związku z czym matkom należy doradzać kontynuację karmienia piersią. Istnieje grup leków przeciwwskazanych, przy których karmienie piersią powinno być zaprzestane. Należą tu leki przeciwnowotworowe, cytostatyczne czy leki przeciwko chorobie AIDS. W każdym przypadku zastosowania leku musi najpierw zostać oszacowane względne ryzyko dla niemowlęcia. Należy wziąć pod uwagę dawkę leku zawartą w mleku matki oraz zalety karmienia piersią dziecka. Czynniki niemowlęce, które powinny zostać wzięte pod uwagę to wcześniactwo, osłabienie, bezdech, leki przeciwwskazane czy inne czynniki, które zmniejszałyby zdolność niemowlęcia do tolerowania nawet niskich stężeń leków matczyńskich (Hale T. 2004).

5. Literatura

- Ballard O, Morrow AL (2013) Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric Clinics* 60.1: 49-74.
- Błaszczak J (2011) Farmakokinetyka, metabolizm i hepatotoksyczność paracetamolu po narażeniu pojedynczym i łącznym z trichloroetylenem I N-acetylcysteina. Uniwersytet Medyczny, Poznań.
- Briggs GG, Freeman RK, Yaffe SJ (2012) *Drugs in pregnancy and lactation: a reference guide to fetal and neonatal risk*. Lippincott Williams & Wilkins.

- Hale TW (2004) Maternal medications during breastfeeding. *Clinical obstetrics and gynecology* 47.3: 696-711.
- Hale TW (2005) Pharmacology review: drug therapy and breastfeeding: pharmacokinetics, risk factors, and effects on milk production. *Neoreviews* 5(4):e164-e172.
- Howard CR, Lawrence RA (1999) Drugs and breastfeeding. *Clinics in perinatology* 26.2: 447-478.
- Institute of Medicine (1991) Nutrition during lactation. Henry Holt and Company.
- Pawlus B, Kordek A, Łoniewska B (2004) Podstawowe składniki mleka kobiecego – najnowsze wiadomości. *Medycyna Rodzinna* 5: 213-216.
- Wilson JT, Brown RD, Cherek DR i in. (1980) Drug excretion in human breast milk. *Clinical Pharmacokinetics* 5.1: 1-66.
- World Health Organization (2002) Breastfeeding and maternal medication: recommendations for drugs in the eleventh WHO model list of essential drugs.

4. Zastosowanie ziół w leczeniu zespołu policystycznych jajników

The use of herbs in the treatment of polycystic ovary syndrome

Paulina Głodo⁽¹⁾, Marzena Kukła⁽¹⁾, Martyna Kościszko⁽¹⁾, Aneta Józefko⁽¹⁾, Aleksandra Sesil Sarapata⁽¹⁾, Joanna Pec⁽¹⁾, Filip Wałach⁽¹⁾, Bartłomiej Matejko⁽²⁾

⁽¹⁾Koło naukowe dietetyki przy Klinice Chorób Metabolicznych

⁽²⁾Katedra Chorób Metabolicznych Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

Paulina Głodo: paulaglodo@gmail.com

Słowa kluczowe: fitoterapia, zaburzenia metaboliczne, medycyna alternatywna

Streszczenie

Zespół policystycznych jajników (PCOS) to jedna z najczęściej występujących endokrynopatii u kobiet w okresie reprodukcyjnym. Objawy schorzenia obejmują: zaburzenia miesiączkowania, policystyczne jajniki w obrazie ultrasonograficznym, hiperandrogenizm. U pacjentek często obserwuje się nadmierną masę ciała, zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej, insulinooporność, które stanowią czynniki ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2. Coraz więcej ziół ma udowodnione naukowo korzystne działanie na efekty terapii wielu schorzeń metabolicznych. Celem niniejszej pracy było przedstawienie przeglądu dotychczasowej wiedzy na temat zastosowania ziół w profilaktyce i leczeniu PCOS, pochodzącej z przeprowadzonych dotąd badań klinicznych. Wykazano, że fitoterapia może w istotny sposób wspomagać konwencjonalne metody leczenia PCOS, a największe korzyści przynosi stosowanie: buzdyganka naziemnego, cynamonowca wonnego, lukrecji, niepokalanka mnisiego i kozieradki pospolitej.

1. Wstęp

Zespół policystycznych jajników (PCOS) to jedna z najczęściej występujących endokrynopatii u kobiet w wieku rozrodczym. Do typowych objawów schorzenia należą: zaburzenia miesiączkowania, policystyczne jajniki w obrazie ultrasonograficznym, hiperandrogenizm. Diagnostyka jest trudna ze względu na konieczność różnicowania go na tle innych, dających podobne symptomy, jednostek chorobowych. U pacjentek często obserwuje się nadwagę lub otyłość, zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej. Profil zaburzeń jest porównywany do zespołu metabolicznego (MS). Istotny czynnik ryzyka w obu schorzeniach stanowi insulinooporność, prowadząca do hiperinsulinizmu. W ostatnich latach pojawia się coraz więcej badań na temat alternatywnej metody postępowania leczniczego w PCOS- fitoterapii. Może ona wspomagać farmakoterapię poprzez wpływ na poprawę wyników badań biochemicznych pacjentek.

2. Opis zagadnienia

Zespół policystycznych jajników (PCOS) jest uważany za jedno z najczęściej występujących zaburzeń endokrynologicznych. Dotyka około 4-12% kobiet w okresie reprodukcyjnym. Stanowi on ponadto najczęstszą przyczynę hiperandrogenizmu u kobiet (Drosdzol-Cop i in. 2014; Skałba i in. 2005).

PCOS jest schorzeniem, które ingeruje w wiele procesów przebiegających w organizmie kobiety. Pośród objawów wyróżnia się nie tylko zaburzenia hormonalne, ale również metaboliczne (Skałba i in. 2005). Plejotropowość objawów i różnice osobnicze w obrazie klinicznym przysparzają trudności w diagnozie. Proces rozpoznania opiera się na potwierdzeniu występowania charakterystycznych objawów oraz na odpowiednim postępowaniu różnicującym, pozwalającym na wykluczenie innych jednostek chorobowych, dających podobne symptomy. Aktualnie obowiązującymi kryteriami służącymi do rozpoznania PCOS u kobiet dorosłych są: Kryteria National Institutes of Health (NIH), Kryteria Rotterdamskie oraz Kryteria Androgen Excess Society (AES) (Skałba i in. 2005).

W 2003 r. w Rotterdamie zaproponowano kryteria diagnostyczne, według których podstawę do rozpoznania stanowi występowanie dwóch z trzech warunków: rzadkie/brak owulacji, kliniczne/biochemiczne objawy hiperandrogenizmu, obraz w USG jajników torbielowatych: obecność w każdym z jajników co najmniej 12 pęcherzyków o średnicy 2-9 mm lub zwiększonej objętości gruczołów (>10 cm³) (Idzior- Waluś i in. 2009). Co ciekawe, te kryteria są jedynymi, za pomocą których możliwa jest diagnoza bez objawów nadmiaru androgenów.

Udowodniono współistnienie w PCOS zaburzeń metabolicznych: gospodarki węglowodanowej, lipidowej, występowanie otyłości. Symptomy te nie stanowią jednak podstawy do zdiagnozowania zespołu. Dunaif A i Fauser BC zasugerowali rozdzielenie PCOS na dwa fenotypy: zespół z jednoczesnymi zaburzeniami metabolicznymi oraz dający jedynie objawy w zakresie reprodukcyjnym (Dunaif et al. 2013).

Dotychczas nie został opisany dokładny patomechanizm rozwoju PCOS. Zespół jest uwarunkowany wieloczynnikowo. Zaburzeniem leżącym u podłoża tego schorzenia jest insulinooporność. Jest to stan zaburzenia homeostazy glukozy, do którego dochodzi ze względu na zmniejszenie stopnia wrażliwości tkanek organizmu na insulinę, bez względu na poziom jej stężenia w surowicy krwi. Kiedy tkanki przestają prawidłowo reagować na obecność insuliny dochodzi do jej nadmiernej produkcji. Taki stan nazywamy hiperinsulinemią.

Mówi się o trzech rodzajach dysfunkcji, których konsekwencją jest insulinooporność: dysfunkcji przedreceptorowej, receptorowej i poreceptorowej. Ostatnie z nich są defektem obserwowanym przy PCOS. Dunaif A i wsp. w swoich badaniach udowodnili istnienie u pacjentek zaburzeń postreceptorowych (Dunaif et al. 2001). Receptor insuliny ma budowę podobną do receptora insulinopodobnego czynnika wzrostu-I (IGF-I). Ten zaś posiada swoje receptory w jajnikach i jest odpowiedzialny za stymulację syntezy androgenów w komórkach tekalnych. Duże stężenie insuliny imitując działanie IGF-I na odpowiednie receptory prowadzi do zaburzeń steroidogenezy jajnikowej, czego konsekwencją jest hiperandrogenizm (Wesołowski i Wańkowicz 2011). Badania wykazały, że androgeny wpływają na zmniejszenie stężenia adiponektyny, hormonu odpowiedzialnego za insulinowrażliwość (Nishizawa H et al. 2002). Wymieniając zatem kliniczne następstwa insulinooporności jakimi są: zespół metaboliczny, cukrzyca typu 2, choroby układu sercowo-naczyniowego, obturacyjny bezdech senny, niealkoholowe stłuszczenie wątroby wyróżnia się również zespół policystycznych jajników (Wesołowski i Wańkowicz 2011).

Wysokie stężenie insuliny dodatkowo hamuje syntezę w wątrobie białka wiążącego hormony płciowe (SHBG, sex hormon binding globulin), co powoduje wzrost stężenia we krwi wolnych, aktywnych androgenów (Ożegowska i in. 2015). Stężenie SHBG u kobiet z PCOS może być traktowane jako marker insulinooporności, stanowiący podstawę do podjęcia decyzji o jej leczeniu, wprowadzając środki mające na celu zwiększenie stopnia wrażliwości tkanek na insulinę (Ożegowska i in. 2015).

Zaburzona, zwiększona produkcja hormonów powoduje manifestację objawów hiperandrogenemii (Xita et. al. 2002). Nie bez znaczenia są również czynniki genetyczne. Odkryto wiele genów odpowiedzialnych za procesy biosyntezy i metabolizmu hormonów steroidowych. Na ogół u kobiet cierpiących na PCOS obserwuje się model dziedziczenia autosomalny, dominujący (Szydłarska i in. 2010). W ostatnim latach zaczęto badać związek stresu oksydacyjnego z występowaniem PCOS, jednak potrzeba dalszych badań w celu weryfikacji stwierdzonych zależności pomiędzy nimi (Fenkei et al. 2003).

Można wyróżnić cztery kierunki leczenia PCOS:

- I. Leczenie braku owulacji;
- II. Leczenie hirsutyzmu;
- III. Leczenie zaburzeń metabolicznych;
- IV. Prewencja raka trzonu macicy.

Terapie ukierunkowywane są indywidualnie do aktualnych potrzeb i celów pacjentek. Postępowanie, które ma na celu stymulowanie owulacji i leczenie niepłodności stosuje się w czasie kiedy pacjentka chce zająć w ciążę. Kobiety, które nie planują dziecka leczone są objawowo. W takich przypadkach celem farmakoterapii jest minimalizacja objawów hiperandrogenemii, czy patologii metabolicznych. Wczesne rozpoznanie PCOS i wdrożenie odpowiedniego leczenia może znacząco

zmniejszyć problemy reprodukcyjne i metaboliczne związane z tą jednostką chorobową oraz przyczynić się do redukcji ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych (Krysiak i in. 2005).

3. Przegląd literatury

Farmakologiczne leczenie zaburzeń miesiączkowania obejmuje doustną pigułkę antykoncepcyjną (OCP) i indukcję owulacji cytrynianem kломifenu w zależności od potrzeb związanych z płodnością (Brown J. et al. 2009). Postępowanie w związku z hiperandrogenizmem obejmuje leki antyandrogenne i hipoglikemizujące (Tang T et al. 2006). Dużą skuteczność wykazuje tutaj metformina, ponieważ poprawia wrażliwość na insulinę i łagodzi hiperandrogenizm, jednak jej stosowanie wiąże się ze stosunkowo dużą częstością występowania działań niepożądanych: nudności, wymiotów i zaburzeń żołądkowo-jelitowych (Tang T et al. 2010). Na każdym etapie postępowania terapeutycznego obok farmakoterapii niezbędnymi elementami są odpowiednio zbilansowana dieta i aktywność fizyczna. Te dwa elementy warunkują zarówno postęp w leczeniu objawowym (redukcja nadwagi/otyłości sprzyja poprawie wskaźników biochemicznych: zmniejszenie stężenia wolnych androgenów, insulinooporności, dyslipidemii), jak i odgrywają istotną rolę w przywróceniu regularnych owulacji (Krysiak i in. 2005).

Konwencjonalne leczenie farmakologiczne odnoszące się do pojedynczych objawów PCOS jest często nieskuteczne i w niektórych przypadkach związane z działaniami niepożądanymi takimi jak trudności z zajściem w ciążę (Susan Aretz et al. 2014). Dowody naukowe sugerują stosowność multidyscyplinarnego podejścia do leczenia tego schorzenia oraz rozważenie alternatywnych metod terapii takich jak zmiana stylu życia redukcja/utrzymanie masy ciała czy ziołolecznictwo (Susan Aretz i in. 2017). Okazuje się, że niektóre ekstrakty ziołowe mogą mieć pozytywny wpływ w przypadku nieregularności/braku miesiączki, hiperandrogenizmu i PCOS. (Susan Aretz i in. 2014). Leki ziołowe wykazują złożone funkcje o potencjale synergicznych i antagonistycznych interakcji między różnymi związkami (Susan Aretz et al. 2014). Mogą wpływać zarówno na reakcje biochemiczne, jak i zmieniać funkcje narządów, cechują się również wysokim stopniem akceptacji przez kobiety z PCOS, co uzasadnia możliwość stosowania ich, jako alternatywną lub pomocniczą metodę terapii (Susan Aretz et al. 2014). Badania przedkliniczne i kliniczne dostarczają wstępnych dowodów świadczących, iż opisane w dalszej części pracy zioła mogą mieć korzystne działanie dla kobiet z PCOS. W dalszej części pracy opisano kilka najlepiej udokumentowanych ziół o dużym potencjale terapii PCOS.

Buzdyganek naziemny (*Tribulus terrestris*) przyczynia się do poprawy parametrów endokrynologicznych związanych z rozrodnością oraz wykazuje wpływ na zmiany morfologiczne w policystycznych jajnikach i zmniejszenie ich objętości. W trakcie stosowania buzdyganka naziemnego (w dawce 250 mg dziennie przez 5 dni) zaobserwowano również poprawę insulinooporności, wzrost poziomu FSH (hormon folikulotropowy) i indukcję owulacji (Susan Aretz et al. 2014).

Cynamonowiec wonny (*Cinassomum Cassia*), podany jako suplement uczestniczkom jednego z badań, prowadził do zmniejszenia oporności na insulinę, obniżenia poziomu LH (hormon luteinizujący) i testosteronu, poprawy parametrów metabolicznych oraz regularności cykli miesiączkowych. Dawka zastosowanego w interwencji wynosiła 1,5 g /d przez okres 6 miesięcy. Rezultaty świadczą o celowości stosowania cynamonu w terapii PCOS. Jednak nie wszystkie badania wykazują jednoznacznie na wzrost wrażliwości na insulinę czy obniżenie poziomu androgenów (Daniel H et al. 2014). Cynamon w połączeniu z piwonią chińską (*Paeonia lactiflora*) przyczyniał się również do możliwości wystąpienia owulacji, u kobiet, które miały nieregularne miesiączki lub ich brak (Susan Aretz et al. 2014).

Lukrecja (*Glycyrrhiza* spp.), przedstawiona na Rys.1 łagodzi patologiczne zmiany w policystycznych jajnikach i redukuje objętość torbieli. Wpływ lukrecji na obniżanie poziomu androgenów został wykazany w badaniach zarówno na kobietach zdrowych jak i kobietach z PCOS (Susan Aretz et al. 2014). Dodatkowo suplementacja lukrecją poprawia wrażliwość na insulinę oraz powoduje wzrost poziomu estradiolu. Zmiany hormonalne w jajnikach są tłumaczone wpływem tej rośliny na aromatyzowanie testosteronu do 17-betaestradiolu (Susan Aretz et al. 2014). Badania Lee i wsp. wykazują pozytywny wpływ lukrecji na zmiany morfologiczne w policystycznych jajnikach,

redukcję torbieli i objętości jajników, a także istotnie zwiększone wskaźniki owulacji (Susan Aretz et al. 2014). W badaniach korzystano z dawek lukrecji w granicach 3,5 – 7 g dziennie (Susan Aretz et al. 2014). Wykazano, że obniżeniu wolnego i całkowitego testosteronu sprzyja suplementacja lukrecji razem z piwonią chińską (Susan Aretz et al. 2014). *Paeonia lactiflora* wykazuje, więc dobroczynne działanie zarówno w obecności cynamonu jak i lukrecji.



Rys.1. Lukrecja (*Glycyrrhiza* spp.), źródło: [https://pl.wikipedia.org/wiki/Lukrecja_\(ro%C5%9Blina\)](https://pl.wikipedia.org/wiki/Lukrecja_(ro%C5%9Blina))

Niepokalaniek mnisi (*Vitex agnus-castus*) pokazany na Rys.2 inicjuje pozytywne efekty endokrynologiczne objawiające się obniżeniem poziomu prolaktyny i LH, a także podniesieniem poziomu FSH, co uzasadnia jego rolę w leczeniu wydłużonych cykli miesięczkowych bądź braku miesiączki i związanej z nią niepłodności (Susan Aretz et al. 2014). Głównymi związkami odpowiedzialnymi za opisany efekt są diterpeny. Wykazują one działanie dopaminergiczne (wiązaną z receptorami dopaminowymi skutkuje zmniejszeniem wydzielania prolaktyny) (Susan Aretz et al. 2014). Badania służące porównaniu skuteczności bromokryptyny i niepokalanek mnisiego wykazały brak występowania skutków ubocznych u osób przyjmujących *Vitex agnus-castus*, w porównaniu do osób przyjmujących bromokryptynę, w przypadku, której 12,5% badanych zgłaszało nudności i wymioty. Efektywność obu terapii była wysoka, a jej różnica nieistotna statystycznie (Susan Aretz et al. 2014).



Rys.2. Niepokalanek mnisi., źródło: https://pl.wikipedia.org/wiki/Niepokalaniek_pospolity

Pluskwica groniasta (*Cimicifuga racemosa*) przyczynia się do obniżenia poziomu prolaktyny, LH oraz wzrostu poziomu FSH. Roślina ta sprzyja blokowaniu efektów estrogenów, co umożliwia zniwelowanie zaburzeń owulacji i zwiększa szansę na ciążę (Shahin AY, Mohammed SA 2014). Kilukrotnie wykazano, że efektywność klomifenu jest wyższa w połączeniu z *Cimicifuga racemosa* (obserwuje się wyższe wskaźniki ciąży) (Shahin AY, Mohammed SA 2014).

Kozieradka pospolita (*Trigonella foenum-graecum* L.) wykazuje m.in. działanie hipoglikemiczne i przeciwwzapalne. Ekstrakt z tej rośliny wykorzystuje się u kobiet z zespołem

policystycznych jajników opornych na insulinę lub z współwystępującą nadwagą Nasiona kozieradki przyczyniają się do nasilenia owulacji oraz zwiększenia progesteronu we krwi (Kilar i in. 2016).

Swaroop A. i wsp. wykazali, że ekstrakt z kozieradki pospolitej podawany w dawce 2 x 500 mg na dzień przez 90 dni przyczynił się do znacznego zmniejszenia objętości jajników u kobiet z zdiagnozowanym PCOS. Ponadto u około 46% tych kobiet zaobserwowano zmniejszenie wielkości torbieli, podczas gdy 36% badanych uzyskało całkowite rozpuszczenie torbieli. Istotny jest również fakt, że 71% badanych kobiet zgłosiło powrót regularnego cyklu miesięczkowego po zakończeniu leczenia, a 12% pacjentek zaszło w ciążę. Zaobserwowano również znaczny wzrost LH i FSH w porównaniu z wartościami wyjściowymi (Swaroop A et al. 2015). Do podobnych wniosków doszedł Bashtian M.H. gdzie w terapii PCOS wspomaganą ekstraktem z nasion kozieradki i metforminą zaobserwowano poprawę wyników badań ultrasonograficznych i cykliczności menstruacyjnej (Bashtian M et al. 2013).

4. Podsumowanie i wnioski

W dzisiejszych czasach coraz więcej pacjentów interesuje się medycyną alternatywną. Jednym z jej przykładów jest ziołolecznictwo. Dotychczasowe badania dotyczące fitoterapii w przypadku PCOS pokazują obiecujące rezultaty. Pozytywny wpływ ziół w trakcie terapii schorzenia zaobserwowano w przypadku stosowania między innymi: buzdzyganka ziemnego, cynamonowca wonnego, lukrecji, pluskwicy groniastej czy kozieradki pospolitej. Wymienione zioła lub ich ekstrakty, przyjmowane regularnie przyczyniały się do: poprawy wrażliwości tkanek na działanie insuliny, obniżenia poziomu LH, prolaktyny i testosteronu, wzrostu stężeń estradiolu i FHS oraz przywrócenia regularności owulacji. Przy założeniu, że najważniejszymi i obowiązkowymi metodami w procesie leczenia pozostają farmakoterapia i tryb życia (odpowiednia dieta, aktywność fizyczna), można rozważyć rekomendację ziołolecznictwa jako elementu wspomagającego poprawę wyników pacjentek z PCOS.

5. Literatura

- Bashtian M H, Emami S A, Mousavifar N et al. (2013) Evaluation of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.), effects seeds extract on insulin resistance in women with polycystic ovarian syndrome. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 12(2):475–481.
- Brown J, Farquhar C, Beck J, et al (2009) Clomiphene and antioestrogens for ovulation induction in PCOS. *Cochrane Database Syst Rev*.
- Drozdol-Cop A, Sidło-Stawowy A, Sajdak D i wsp. (2014) Rozpoznanie zespołu policystycznych jajników u dziewcząt. *Ginekol. Pol.* 85 (2): 145-148.
- Dunaif A, Fauser BC (2013) Renaming PCOS-a two-state solution. *J Clin Endocrinol Metab.* 98(11): 4325-8.
- Dunaif A, Wu X, Lee A et al. (2001) Defects in insulin receptor signalling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Am. J. Physiol. Endocrinol, Metab.* 281: 392-399.
- Fencki V, Fencki S, Yilmazer M et al. (2003) Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. *Fertil. Steril.* 80: 123 –127.
- Kilar M, Kilar J, Różański H (2016) Wykorzystanie kozieradki pospolitej (*Trigonella foenum-graecum* L.) w zielarstwie i fitoterapii. *Herbalism.* 1 (2): 89–106.
- Krysiak R, Okopień B, Herman Zbigniew S. (2005) Postęp w leczeniu zespołu policystycznych jajników. *Pol. Merkuriusz Lek.* 19 (114): 848-854.
- Krzysiek J, Radowicki, Wołczyński, redaktorzy (2009) Zespół policystycznych jajników. Wyd. 1. Studio PIN, Kraków: 31-42.
- Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K et al. (2002) Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes* 51: 2734.
- Ożęgowska, Pawelczyk (2015) The role of insulin and selected adipocytokines in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) - a literature review. *Ginekol. Pol.* 86 (4): 300-304.

- Shahin AY, Mohammed SA (2014) Adding the phytoestrogen Cimicifugae Racemosae to clomiphene induction cycles with timed intercourse in polycystic ovary syndrome improves cycle outcomes and pregnancy rates-a randomized trial. *Gynecol Endocrinol*
- Skałba P, Dąbkowska-Huć A (2005) Metaboliczne aspekty zespołu policystycznych jajników (PCOS). *Endokrynol Pol.* 6(56): 960-963.
- Susan Aretz, Jason Anthony Abbott, Caroline Anne Smith et al. (2014) Herbal medicine for the management of polycystic ovary syndrome (PCOS) and associated oligo/ amenorrhoea and hyperandrogenism; a review of the laboratory evidence for effects with corroborative clinical findings *The official journal of the International Society for Complementary Medicine Research (ISCMR)* 14:511.
- Swaroop A, Jaipuria A S, Gupta S K et al. (2015) Efficacy of a novel fenugreek seed extract (*Trigonella foenum-graecum*, Furocyst™) in polycystic ovary syndrome (PCOS) *International Journal of Medical Sciences* 12(10):825–831.
- Szydłarska, Wiesław Grzesiuk, Ewa Bar-Andziak (2010) Kontrowersje wokół patogenezy zespołu policystycznych jajników. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii* (6); 3: 141-146.
- Tang T, Glanville J, Hayden CJ et al. (2006) Combined lifestyle modification and metformin in obese patients with polycystic ovary syndrome. A randomized, placebo-controlled, double-blind multicentre study. *Hum Reprod.* 21(1): 80–89.
- Tang T, Lord JM, Norman RJ et al. (2010) Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 1:2–12.
- Wesołowski P, Wańkiewicz Z (2011) Insulinooporność- metody rozpoznania i następstwa kliniczne. *Nefrol. Dial. Pol.* 15: 243-246.
- Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A (2002) The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Eur. J. Endocrinol.* 147: 717–725.

5. Zastosowanie ziół w leczeniu nadciśnienia tętniczego

The use of herbs in the treatment of hypertension

Paulina Głodo⁽¹⁾, Marzena Kukła⁽¹⁾, Martyna Kościszko⁽¹⁾, Aneta Józefko⁽¹⁾, Aleksandra Sesil Sarapata⁽¹⁾, Joanna Pec⁽¹⁾, Filip Wałach⁽¹⁾, Bartłomiej Matejko⁽²⁾

⁽¹⁾Koło naukowe dietytyki przy Klinice Chorób Metabolicznych

⁽²⁾Katedra Chorób Metabolicznych Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

Paulina Głodo: paulagłodo@gmail.com

Słowa kluczowe: fitoterapia, zaburzenia metaboliczne, medycyna alternatywna

Streszczenie

Nadciśnienie tętnicze (NT) stanowi obecnie jedną z najczęstszych chorób przewlekłych diagnozowanych w Polsce i na świecie. Jest uważane za jeden z najbardziej istotnych czynników ryzyka schorzeń układu sercowo-naczyniowego. W niniejszej pracy opisano udowodnione naukowo hipotensyjne działanie stosowania wybranych ziół. Fitoterapia NT powinna opierać się na wprowadzeniu do diety między innymi: hibiskusa, herbaty chińskiej, czosnku, miłorzębu, głogu, lipy, serdecznika, rauwolfii żmijowej, siemienia lnianego, karczocha, morwy białej oraz aronii.

1. Wstęp

Na świecie rośnie zainteresowanie stosowaniem ziół w prewencji i leczeniu różnych jednostek chorobowych takich jak: cukrzyca, zespół metaboliczny, zespół policystycznych jajników. Dotychczasowe badania pokazują korzystny wpływ stosowania niektórych ziół i przypraw także w terapii nadciśnienia tętniczego (Aldisi 2016). W niniejszej pracy dokonano przeglądu najczęściej stosowanych ziół o udowodnionym naukowo działaniu hipotensyjnym.

2. Opis schorzenia

Nadciśnienie tętnicze stanowi jedną z najczęstszych chorób przewlekłych diagnozowanych w Polsce i na świecie, będącą jednocześnie istotnym czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych (Kawecka- Jaszcz i in. 2007). Na podstawie badania NATPOL 2011 częstość schorzenia wśród dorosłych Polaków w wieku 18-79 lat wynosi 32% (9 milionów osób).

Podstawą rozpoznania schorzenia jest gabinetowy pomiar ciśnienia tętniczego krwi (BP, blood pressure) wykonywany w ściśle określonych warunkach (przynajmniej 2 podwyższone pomiary ciśnienia dokonane podczas każdej z co najmniej 2 lub 3 wizyt). Wartości progowe ciśnienia tętniczego zdefiniowano jako SBP (skurczowe ciśnienie krwi) ≥ 140 mmHg i/lub DBP (rozkurczowe ciśnienie krwi) ≥ 90 mmHg (Zalecenia PTNT 2015). Tabela 1 przedstawia zalecaną klasyfikację ciśnienia tętniczego według wytycznych ESH/ESC. z 2013 r.:

Tab.1. Klasyfikacja ciśnienia tętniczego w warunkach klinicznych na podstawie wytycznych ESH/ESC. 2013.

Kategoria	Ciśnienie skurczowe [mmHg]	Ciśnienie rozkurczowe [mmHg]
Ciśnienie optymalne	< 120	i < 80
Ciśnienie prawidłowe	120-129	i/lub 80-84
Ciśnienie wysokie prawidłowe	130-139	i/lub 85-89
Nadciśnienie 1. Stopnia	140-159	i/lub 90-99
Nadciśnienie 2. Stopnia	160-179	i/lub 100-109
Nadciśnienie 3. Stopnia	≥ 180	i/lub ≥ 110
Izolowane nadciśnienie skurczowe	≥ 140	i < 90

3. Przegląd literatury

Najczęściej stosowanymi ziołami w obniżaniu ciśnienia tętniczego wymienianymi w literaturze naukowej są: hibiskus, herbata chińska, czosnek, miłorząb, głóg, lipa, serdecznik, rauwolfia żmijowa, siemię lniane, karczoch i aronia. Rola bioaktywnych składników wymienionych roślin w obniżaniu ciśnienia tętniczego krwi polega przede wszystkim na wpływie na wytwarzanie tlenu azotu (NO), rozszerzającego naczynia krwionośne, co skutkuje obniżeniem ciśnienia tętniczego (Kawecka- Jaszcz i in. 2007).

Herbata z kwiatów *Hibiscus Sabdariffa* L. (HS) jest powszechnie stosowana w wielu państwach jako forma leczenia nadciśnienia tętniczego. Uważa się, że związkami odpowiedzialnymi za działanie przeciwnadciśnieniowe naparu są głównie antocyjany zawarte w kwiatach i kielichach HS (Hopkins 2013). Również kwas hibiskusowy wykazuje działanie obniżające ciśnienie krwi i poziom cholesterolu. W różnych badaniach populacyjnych nad działaniem HS porównywano jego wpływ na nadciśnienie tętnicze u chorych w zestawieniu do stosowania czarnej herbaty, leków obniżających ciśnienie lub naparu będącego placebo. W większości badań zaobserwowano istotne obniżenie ciśnienia skurczowego i rozkurczowego przy stosowaniu naparu z HS. Stosowana w badaniach ilość hibiskusa w jednej porcji wahała się od 1,25g do 10g. Przy czym niższe dawki były podawane do 3 razy dziennie, a wyższe tylko raz. Czas badań wynosił najczęściej 4 tygodnie (Hopkins 2013). Zawarte w *Hibiscus sabdariffa* polifenole odgrywają korzystną rolę w nadciśnieniu tętniczym, jednak ich działanie było widoczne jedynie przy przyjmowaniu wysokich dawek tych składników. Według danych opierających się na składzie fitochemicznym ekstraktu z HS dawka skuteczna powinna wynosić około 70 mg/kg masy ciała. Niestety ilość bioaktywnych związków w dostępnych na rynku herbatach ziołowych jest stosunkowo niska. Dostępne na rynku herbaty zazwyczaj stanowią mieszanekę HS z innymi substancjami, stosowanymi zwyczajowo do produkcji herbat ziołowych. Ponadto producenci rzadko dostarczają informacji o rzeczywistym pochodzeniu HS, jego składzie fitochemicznym, a także dawce jaką otrzymamy w przyrządzonym napoju (S.Fernández-Arroyo et.al. 2014).

Herbata chińska (*Camellia sinensis*), napary z niej sporządzane są, po wodzie, najczęściej spożywanym napojem na świecie. Wykazuje ona różnorakie działania: przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciw cukrzycowe, a także przeciwnadciśnieniowe. Dane te nie są jednak jednoznaczne (Aldisi 2016). Kilka badań wykazało, że herbata (zarówno zielona jak i czarna) wpływa na obniżenie ciśnienia tętniczego. W randomizowanym badaniu w którym wzięło udział 95 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (w wieku 35-75 lat), grupa badana spożywała 3 filiżanki dziennie naparu z liści czarnej herbaty zawierającej 429 mg polifenoli + 96 mg kofeiny. Po 6 miesiącach obserwacji zanotowano obniżenie ciśnienia w 24-godzinnym holterowym pomiarze ciśnienia tętniczego o 2,7 -/ - 2,3 mmHg u konsumentów herbaty w porównaniu z grupą placebo. W analizie 11 randomizowanych badań (7 z użyciem zielonej herbaty i 4 z herbaty czarnej) po okresie 6 miesięcy zielona herbata obniżyła ciśnienie krwi odpowiednio o 3,18 -/ - 3,42 mmHg, natomiast czarna o 1,85-/- 1,27 mmHg (Chrysant 2017). Wśród substancji zawartych w naparze z *camellia sinensis*, mogących mieć znaczenie hipotensyjne są flawonoidy, które stymulują wytwarzanie NO. NO ma działanie rozszerzające naczynia krwionośne co przekłada się na obniżenie ciśnienia krwi. Dodatkowo flawonoidy wraz z kofeiną zawartą w zielonej i czarnej herbacie mogą wpływać na zmniejszenie masy ciała poprzez redukcję tłuszczu brzuszego i w ten sposób pośrednio wpływać na obniżenie ciśnienia tętniczego (Chrysant 2017). Zielona i czarna odmiana herbaty są w przybliżeniu podobne pod względem całkowitej zawartości flawonoidów, jednak mają one różne struktury chemiczne. W zielonej herbacie flawonoidy zwykle występują w postaci katechin, a w czarnej herbacie w największej ilości występują teaflawiny (Yarmolinsky 2015).

Metaanaliza wszystkich istotnych badań opublikowanych od 1946 r. do 27 września 2013 r. na temat hipotensyjnych właściwości herbaty chińskiej wykazały istotne statystycznie wyniki w obniżeniu skurczowego ciśnienia krwi (średnia różnica- 2,36 mmHg, 95% CI 4,20 do 0,52) i rozkurczowego ciśnienia krwi (średnia różnica- 1,77 mmHg, 95% CI 0,52 do 3,03) (Yarmolinsky, 2015). Obliczono, że mediana dawki flawonoidów, wykazująca skuteczność zarówno dla obniżenia ciśnienia skurczowego jak i rozkurczowego u osób, u których ciśnienie krwi mieściło

się w przedziale nadciśnieniowym i przednadcisnieniowym, wynosiła 456 mg flawonoidów co jest równoznaczne z wypiciem około 2 filiżanek (po 200 ml) czarnej lub zielonej herbaty dziennie przez minimum 3 miesiące (Yarmolinsky 2015).

Inną rośliną, której aktualnie przypisuje się korzystny wpływ na leczenie nadciśnienia tętniczego jest czosnek (*Allium sativum*). Udowodniono, że suplementacja czosnku ma znaczenie w obniżaniu ciśnienia krwi jednak jego stosowanie może wywołać łagodne skutki uboczne związane z zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi (Ried2016). Metaanalizy sugerują, że stosowanie suplementów czosnku powoduje średnie obniżenie skurczowego ciśnienia krwi o $5,1 \pm 2,2$ mmHg ($P < 0,001$; $n = 19$) i rozkurczowego ciśnienia krwi o $2,6 \pm 1,6$ mmHg ($P < 0,001$; $n = 20$) (Ried 2016). Związki bioaktywne zawarte w czosnku, o działaniu hipotensyjnym to między innymi allicyna, S-allilocysteina (SAC), disiarczki diallilu (DADS), trisiarczki diallilu (DATS) i tiosulfonian metylu. Suplementy czosnku są wysoce tolerowane i mogą być uważane za uzupełniającą opcję leczenia nadciśnienia tętniczego, nieznacznie podwyższonego poziomu cholesterolu i stymulacji odporności. Analiza suplementacji czosnku przez osoby z nadciśnieniem wykazała obniżenie wartości ciśnienia skurczowego o $8,7 \pm 2,2$ mm Hg ($P < 0,001$; $n = 10$) i ciśnienia rozkurczowego o $6,1 \pm 1,3$ mmHg ($P < 0,001$; $n = 6$) (Karin Ried, 2016).

Za działanie hipotensyjne czosnku odpowiedzialne są tiosulfoniany (alliina), glutamyllopeptydy, trójterpeny, flawonoidy i fruktany. Czosnek wykazuje udowodnioną skuteczność w usuwaniu wolnych rodników, hamowaniu peroksydacji tłuszczów oraz hamowaniu agregacji płytek krwi. Związki występujące w cebuli czosnku poprawiają stan naczyń żylnych, ponieważ usuwają z ich ścian zbędne produkty przemiany materii, a także poprawiają przepływ krwi (G. Nowak 2009)

Światowa organizacja zdrowia- WHO aprobuje leczenie łagodnych i średnich stanów nadciśnienia preparatami z cebuli czosnku (ESCOP Monographs,2003). W chorobach układu krwionośnego u dorosłych zalecana jest ilość jednego średniego ząbka czosnku (4 g) dziennie, 0,5 – 1,0 g suchego proszku lub 1 dawkę dziennie preparatu zawierającą 6–10 mg alliiny na dzień (ESCOP Monographs, 2003).

Wyciąg z miłorzębu dwuklapowego (*Ginkgo biloba*) to substancja tradycyjnie znajdująca zastosowanie w leczeniu nadciśnienia tętniczego. Stosowany jest w formie czystego ekstraktu lub tabletki z liści miłorzębu (Xiong 2014). Dwa badania przeglądowe oceniające skuteczność wyciągu z miłorzębu wykazały zmniejszenie ciśnienia krwi u osób ze stwierdzoną hipertensją. Te same badania sugerują jednak wzrost ciśnienia skurczowego u osób z ciśnieniem prawidłowym i brak wpływu wyciągu w stanie poprzedzającym nadciśnienie tętnicze (Chrysant 2016). Aktualnie nie ma podstaw do wyciągania jednoznacznych wniosków co do jego wpływu na leczenie nadciśnienia (Xiong 2014).

Roślinami o udowodnionym działaniu hipotensyjnym są głóg jednoszyjkowy i głóg dwuszyjkowy (*Crataegus monogyna*, *C. oxyacantha*). W badaniach wykazano, że picie ekstraktu z surowców z liści, kwiatów i owoców głogu prowadziło do zmniejszenia oporu naczyń krwionośnych na obwodzie, co skutkowało zmniejszeniem ciśnienia nawet o ok. 20 mmHg. (Blumenthal M, 2000) W innym badaniu klinicznym zaobserwowano wpływ stosowania głogu na spadek ciśnienia skurczowego i rozkurczowego (o odpowiednio: 10 i 4 mmHg) oraz obniżenie tętna (z 89 do 79 uderzeń na minutę) (G. Nowak, 2009). Prawdopodobny mechanizm działania głogu polega na hamowaniu aktywności fosfodiesterazy cAMP, oraz na zmniejszeniu przepuszczalności błon komórkowych dla Na^+ , K^+ i ATP-azy. Takie działania wykazują zawarte w głogu epikatechina, 2''ramnozjd witeksyny, witeksyna, 7-glukozyd witeksyny (G. Nowak 2009).

Innym ziołem obniżającym wartość ciśnienia krwi jest kwiatostan lipy (*Tilia inflourescentia*), lipa drobnolistna (*Tilia cordata*) oraz lipa szerokolista- wielkolista (*Tilia platyphyllos*). Za efekt hipotensyjny prawdopodobnie odpowiadają związki terpenowe obecne w ekstraktach wodnych z kwiatostanów lipy. Zalecane jest spożywanie ok. 2g wysuszonych kwiatostanów na ok. 150 ml wody, 1–2 razy dziennie (G. Nowak 2009).

Według badaniach farmakologicznych właściwości obniżające ciśnienie krwi ma również ziele serdecznika (*Leonuri cardiacae herba*). Zalecana ilość to około 1,5 g suchego ziela na ok. 150 ml wody 3 razy dziennie (G. Nowak 2009).

Wymienianą w badaniach rośliną o właściwościach hipotensyjnych jest rauwolfia zmijowa (łac. *Rauwolfia serpentina*). Stosowana od lat w ziołolecznictwie głównie ze względu na obecność cennych alkaloidów takich jak m.in.: rezerpina, rescynamina i dezerpidyna. Dowiedziono, że zawarta w jej korzeniu rezerpina, działając na ośrodkowy układ nerwowy obniża znacząco skurczowe ciśnienie krwi (średnia ważona różnica (WMD) -7,92, 95% przedział ufności (CI) -14,05 do -1,78). Efekt ten jest podobny do działania popularnych leków obniżających ciśnienie. Taki wynik był możliwy do uzyskania przy dawce rezerpiny 0,5 mg/dobę lub większej. Kolejne badania kliniczne potwierdzały skuteczne działanie alkaloidów zawartych w Rauwolfii Ż. W jednym z nich Indyjski lekarz i pionier w zastosowaniu fitoterapii przy nadciśnieniu Rustom Jal Vakil leczył 50 pacjentów z początkowym ciśnieniem krwi wyższym niż 160/95 mm Hg. W badaniu uwzględniono 30 mężczyzn i 20 kobiet w wieku od 39 do 76 lat. 39 z 48 pacjentów, którzy ukończyli badanie wykazało spadek ciśnienia skurczowego i rozkurczowego już tydzień po podaniu suplementu. Po 4 tygodniach przyjmowania skurczowe ciśnienie krwi obniżyło się od 2 do 54 mm Hg. Warto zaznaczyć, że hipotensyjne działanie Rauwolfia Ż. jest tylko jednym z wielu możliwych zastosowań tej azjatyckiej rośliny. Jak wykazują badania jest efektywna m.in. w leczeniu zaburzeń psychicznych o charakterze lękowym oraz skutecznie zmniejsza migrenowe bóle głowy, co skutkuje zauważalną poprawą jakości życia.

Opublikowana w 2019 roku metaanaliza przedstawiła dowody na to, że stosowanie całych ziaren siemienia lnianego przez okres > 12 tygodni wiąże się bezpośrednio z obniżeniem ciśnienia skurczowego (o 1,77 mm Hg) i rozkurczowego (o 1,16 mm Hg). Choć efekt ten wydaje się znikomy, jednak zmniejszenie SBP o 2 mm Hg może ograniczyć pojawienie się udaru o 10% i zmniejszyć śmiertelność z powodu choroby niedokrwiennej choroby serca o 7 % (Cook NR, 1995). Nasiona siemienia lnianego są bardzo cennym źródłem kwasu alfa-linolenowego (ALA), fitoestrogenów i błonnika pokarmowego. Organizm ludzki potrafi przekształcić ALA w EPA (20:5n-3) i DHA (22:6n-3), które wykazują działanie protekcyjne na układ sercowo-naczyniowy i mogą poprawić ciśnienie krwi. Mechanizmy leżące u podstaw przeciw nadciśnieniowych właściwości siemienia lnianego nie są do końca wyjaśnione. Jednak nie ulega wątpliwości iż poziom ALA we krwi wpływa na wartości SBP i DBP. Prawdopodobnie kwas alfa-linolenowy zmniejsza aktywność enzymu hydrolazy epoksydowej, która obecnie jest celem leczenia przeciw nadciśnieniowego. Jak wykazały badania, ziarna siemienia lnianego zawierają także ligniny o właściwościach antyoksydacyjnych. Warto zwrócić uwagę na dużą zawartość argininy, która w śródbłonku naczyniowym przekształcana jest do tlenku azotu. NO po miejscowym wydzieleniu przez śródbłonek rozszerza naczynie i zmniejsza ciśnienie. Podsumowując, każdy z wymienionych wyżej składników siemienia lnianego (ALA, lignany, arginina) składa się na jego obniżające ciśnienie właściwości (Caligiuri 2014).

Inną rośliną, która może stanowić element wsparcia w leczeniu nadciśnienia jest Karczoch Zwyczajny (łac. *Cynara scolymus*). Po 12 tygodniach spożywania soku z liści Karczocha w postaci kapsułek zaobserwowano znaczące zmniejszenie ciśnienia rozkurczowego (o 0,2 do 3,02 mmHg) u osób niepalących, ze świeżo rozpoznany, łagodnym nadciśnieniem tętniczym. Jak wykazano, wyciąg z liści karczocha zwiększa ekspresję genów śródbłonkowej syntezy tlenku azotu i wytwarzanie NO (Caligiuri 2014).

Morwa biała to roślina tradycyjnie uprawiana w Chinach, Korei oraz Japonii. Bogata jest w związki flawonoidowe, przede wszystkim w kwercyinę, antocyjany, flawonoidy i kwas askorbinowy. Choć znana jest przed wszystkim z redukcji poziomu cukru we krwi, ma również właściwości obniżające poziom LDL, podnoszące poziom HDL w surowicy krwi, a także obniża ciśnienie krwi. Substancje zawarte w morwie białej zmniejszają ryzyko zapadalności na choroby sercowo-naczyniowe ponieważ wykazują dużą aktywność antyoksydacyjną, normalizują wartości markerów stresu oksydacyjnego. Do przygotowania naparu z morwy należy użyć 1g wysuszonych liści, zalać 100ml wody i wypić po zaparzeniu wynoszącym około 5 minut. Dobroczynny wpływ morwy białej zaobserwowano po przyjmowaniu około 70ml naparu dziennie (Grześkowiak 2017).

Aronia czarnoowocowa (*Aronia melanocarpa*) to krzew liściasty należący do rodziny Rosaceae. Pochodzi ze wschodniej części Ameryki Północnej. Tak jak Morwa Biała, aronia jest bogatym źródłem polifenoli, antocyjanów, flawonoli, kwercyiny, kemferolu, a także glikozydów i cyjanidynów. W porównaniu do innych owoców, zawiera największe stężenie polifenoli

wynoszących 2080 mg do nawet 8000mg/100g produktu, w zależności od zbiorów. Dla porównania czarna porzeczka zawiera 560 mg/100g produktu, truskawki 225mg/100g, jabłka 252-357mg/100g (Białek 2012). Polifenole chelatuja jony metali ciężkich, reagują z wolnymi rodnikami, poprzez stabilizację i delokalizację niesparowanych elektronów. Polifenole mają zdolność do ochrony i regeneracji komórek śródbłonna. Związki polifenolowe wykazują hipotensyjne działanie, ponieważ posiadają zdolność do hamowania konwertazy angiotensyny, a co za tym idzie – obniżania poziomu angiotensyny II, co finalnie prowadzi do obniżenia skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi. W badaniach eksperymentalnych spożycie 1 szklanki soku z aronii dziennie przez 6 tygodni przyczyniło się do zmniejszenia stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL oraz triacylogliceroli, oraz zwiększenia frakcji HDL we krwi (Białek 2012).

4. Podsumowanie

Biorąc pod uwagę rosnące wśród społeczeństwa zainteresowanie naturalnymi metodami leczniczymi, w tym ziołolecznictwem, warto pamiętać o hipotensyjnym działaniu ziół mogących wspomagać farmakoterapię lub stanowić element prewencji nadciśnienia tętniczego. Wiele ziół wykazuje działanie obniżające ciśnienie tętnicze przede wszystkim w mechanizmie stymulacji wydzielania NO i rozszerzania naczyń krwionośnych. Najczęściej wymienianymi w literaturze naukowej są: hibiskus, herbata chińska, czosnek, miłorząb, głóg, lipa, serdecznik, rauwolfia żmijowa, siemię lniane, karczoch, morwa biała oraz aronia.

5. Piśmiennictwo

- Białek M, Rutkowska J, Hallmann E (2012) Aronia czarnoowocowa (aronia melanocarpa) jako potencjalny składnik żywności funkcjonalnej. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość.* 6 (85): 21 – 30.
- Blumenthal M, Goldberg A, Brinckann J (2000) Herbal Medicine. Expanded Commission E Monographs. Hawthorn. 1st ed. American Botanical Council. Newton: 182-92.
- Caligiuri, SP, Edel B, Aliani M et al. (2014) Flaxseed for Hypertension: Implications for Blood Pressure Regulation. *Current Hypertension Reports.*
- Chrysant SG (2016) The clinical significance and costs of herbs and food supplements used by complementary and alternative medicine for the treatment of cardiovascular diseases and hypertension.
- Chrysant SG (2017) Herbs Used for the Treatment of Hypertension and their Mechanism of Action.
- Disi SS, Anwar MA, Eid AH (2016) Anti-hypertensive Herbs and their Mechanisms of Action: Part I. *Front. Pharmacol.*
- Douglas L (2015) Rauwolfia in the Treatment of Hypertension, Review Article. *Integr Med (Encinitas).* 14(3): 40–46.
- ESCOP Monographs: European Scientific Cooperative On Phytotherapy. *Arnicae flos.* 2nd ed. Thieme. Norfolk. 2003: 43-7.
- Farshad RD, Kamkha AF (2009) Artichoke Leaf Juice Contains Antihypertensive Effect in Patients With Mild Hypertension. *Journal of Dietary Supplements:* 6 (4): 328-341.
- Fernández-Arroyo S, Camps J, Menendez JA et al. (2015) Managing Hypertension by Polyphenols. *Planta Med.* 81(08): 624-629.
- Grześkowiak J, Łochyńska M (2017) Związki biologicznie aktywne morwy białej (*Morus alba* L.) i ich działanie lecznicze *Post Fitoter.* 18(1): 31-35.
- Hopkins AL, Lamm MG, Funk JL et al. (2013) Hibiscus sabdariffa L. in the treatment of hypertension and hyperlipidemia: A comprehensive review of animal and human studies. *Fitoterapia.* 85: 84-94.
- Nowak G (2009) Surowce roślinne stosowane w chorobach układu krążenia i serca, *Herba Polonica* 55: 100-120.
- Ried K (2016) Garlic Lowers Blood Pressure in Hypertensive Individuals, Regulates Serum Cholesterol, and Stimulates Immunity: An Updated Meta-analysis and Review. *The Journal of Nutrition.* 146, (2): 389–396.

- Khalesi S, Irwin C, Schubert M (2015) Flaxseed Consumption May Reduce Blood Pressure: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *The Journal of Nutrition*. 145 (4): 758–765.
- Shamon SD, Perez MI (2016) Blood pressure-lowering efficacy of reserpine for primary hypertension. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Tabassum N, Ahmad F (2011) Role of natural herbs in the treatment of hypertension. *Pharmacogn Rev*. 5(9): 30–40.
- Xiang XJ, Liu W, Yang XC et al. (2014) Ginkgo biloba extract for essential hypertension: A systemic review. *Phytomedicine*. 21 (10): 1131-1136.
- Yarmolinsky J, Gon P (2015) Edwards Effect of tea on blood pressure for secondary prevention of cardiovascular disease: A systematic review and metanalysis of randomized controlled trials. *Nutrition Reviews*. 73 (4): 236–246.

6. Potencjalne zastosowanie pochodnych inozytolu w leczeniu chorób człowieka

Potentially using of derivatives of phosphoinositol in treatment of human diseases

Gonkowski Ignacy

Katedra Patofizjologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn
Opiekun naukowy: dr hab. n.med. Joanna Wojtkiewicz, prof. UWM

Gonkowski Ignacy: gon.ign@wp.pl

Słowa kluczowe: myo-inozytol, D-chiro-inozytol, insulinooporność, PCOS

Streszczenie

Fosfoinozytol jest naturalnym składnikiem błony komórkowej komórek organizmu ludzkiego. Po przekształceniu służy także jako przekaźnik drugiego rzędu biorący udział w transmisji wielu sygnałów wewnątrzkomórkowych. Pomimo, że związek ten jest syntetyzowany przez ludzki organizm, ostatnie badania wykazały, że jego suplementacja wspomaga leczenie wielu przewlekłych stanów chorobowych przy jednoczesnej niewielkiej liczbie skutków ubocznych i stosunkowo łatwej i taniej produkcji. W cukrzycy pochodne inozytolu wykazują działanie zmniejszające insulinooporność. Dodatkowo regulują gospodarkę lipidową wykazując działanie wazoprotektywne. Natomiast stosowanie inozytolu w zespole policystycznych jajników (PCOS) powodowało większy odsetek udanych implantacji u pacjentek, a także zmniejszało ryzyko powstania zespołu hiperstymulacji jajników. Z kolei doświadczenia na tkance mózgowej wykazały, że pochodne inozytolu mogą pełnić funkcję prewencyjną i spowalniającą przebieg chorób spowodowanych gromadzeniem się amyloidu w komórkach nerwowych, takich jak choroba Alzheimera. Natomiast badania na myszach laboratoryjnych i tkankach płuc wykazały profilaktyczne działanie pochodnych inozytolu względem metaplazji i transformacji nowotworowej nabłonka płuc wywoływanych dymem tytoniowym. W niniejszej pracy przedstawiono najnowsze informacje dotyczące mechanizmu działania inozytoli w wybranych stanach patologicznych, a także znaczenie pochodnych inozytolu we współczesnej medycynie.

1. Wstęp

Inozytol jest węglowodanem o 6 grupach hydroksylowych i pierścieniowej budowie cząsteczki. W zależności od ułożenia grup hydroksylowych wyróżniamy 9 izomerów inozytolu: myo-inozytol (pierwszy odkryty izomer inozytolu o najszerszym zastosowaniu oraz scyllo-, muco-, epi-, neo-, allo-, cis-, D-chiro- i L-chiro-inozytol (Bizzari i in. 2016). Głównym źródłem inozytolu w diecie są pokarmy roślinne, a jego głównym prekursorem jest kwas fitynowy, który następnie jest rozkładany przez enzymy mikroflory jelitowej do myo-inozytolu i fosforu. Następnie myo-inozytol wchłaniany jest przez enterocyty za pomocą dyfuzji prostej, a także drogą transportu aktywnego przez kanały Na^+ zależne (Bizzari i in. 2016"). Przez długi czas po odkryciu inozytolu był on zaliczany do witamin z grupy B, jednakże odkrycie endogennego szlaku syntezy inozytolu z glukozy, oraz brak wyraźnych objawów niedoboru wykluczyły inozytol z grupy witamin (Genazzani 2016). Co ciekawe podwyższone stężenie glukozy we krwi wyraźnie redukuje zarówno pobieranie inozytolu przez komórki organizmu, jak i jego resorpcję z moczu pierwotnego, co sugeruje istnienie wspólnych nośników błonowych dla glukozy i inozytolu (Bizzari i in. 2016). Nerki są jedynym narządem zaangażowanym w usuwanie inozytolu z organizmu.

Wewnątrz komórki myo-inozytol może być przekształcany za pomocą procesów fosforylacji i izomeryzacji w inne pochodne. Myo-inozytol jest najpopularniejszą pochodną inozytolu spotykaną w fosfolipidach błony komórkowej komórek organizmu ludzkiego. Może on zostać w nie wbudowany na dwa sposoby. Pierwszy sposób to wielokrotna fosforylacja i połączenie z di-acyloglicerolem, drugi to wymiana wolnej pochodnej inozytolu na tą zawartą w już zsyntetyzowanym fosfolipidzie (Bizzari

i in. 2016). W przypadku pobudzenia komórki przez bodźce zewnętrzne zostaje aktywowana fosfolipaza C, która rozkłada fosfolipidy zawierające inozytol na trifosfoinozytol (IP3) i diacyloglicerol (DAG). Oba wymienione związki są wewnątrzkomórkowymi przekaźnikami drugiego rzędu. Głównym mechanizmem ich działania jest uwalnianie jonów Ca^{2+} z siateczki endoplazmatycznej komórek, co powoduje aktywację docelowych białek i skutkuje prawidłową reakcją komórki na bodziec. Po wykonaniu swojej funkcji trifosfoinozytol jest metabolizowany na dwa sposoby: poprzez defosforylację do inozytolu lub poprzez dalszą fosforylację do tetra-, penta- a nawet heksafosfoinozytolu (Bizzari i in. 2016). Opisany wyżej mechanizm działania pochodnych inozytolu odpowiada za większość reakcji komórki na bodźce zewnątrzkomórkowe. Pochodne inozytolu wchodzi również w skład fosfoglikanów, które biorą udział w przekazywaniu sygnałów wywołanych przez insulinę, stymulując procesy rozkładu glukozy i zwiększając wrażliwość komórek na ten hormon (Bizzari i in. 2016). Biorąc pod uwagę powyższe mechanizmy należy stwierdzić, że pochodne inozytolu odgrywają kluczową rolę w regulacji metabolizmu wewnątrzkomórkowego, z czego z kolei wynika wszechstronność tej substancji w terapii różnorodnych zaburzeń metabolicznych.

2. Opis zagadnienia

Dotychczasowe badania wykazały, iż pochodne inozytolu mogą być stosowane jako środki lecznicze w przebiegu wielu schorzeń. Jednym z nich są nowotwory. Między innymi wykazano, że podanie inozytolu lub myo-inozytolu (w badaniach *in vitro*) powoduje zmniejszenie transformacji nowotworowej komórek i ich proliferacji (Bizzari i in. 2016; Kassie i in. 2010). Z kolei badania *in vivo* wykazały, iż inozytole stabilizują cykl komórkowy i zapobiegają przerzutom nowotworowym (Bizzari i in. 2016) i działają synergistycznie z innymi chemioterapeutykami pozwalając na obniżenie tych leków i zmniejszenie skutków ubocznych leków terapii antynowotworowej (Kassie i in. 2010). Ponadto wiadomo, że myo-inozytol zmniejsza ryzyko wystąpienia nowotworu płuc pod wpływem dymu tytoniowego (Kassie i in. 2010), a nawet może odwracać niektóre procesy wewnątrzkomórkowe prowadzące do powstania nowotworów (Bizzari i in. 2016). Najprawdopodobniej mechanizm anty-nowotworowego działania pochodnych inozytolu związany jest ze stabilizacją cyklu komórkowego poprzez modulację szlaków PI3K/ATK i Wnt/ β -katenina. Szczególne znaczenie ma inhibicja szlaku PI3K, który odgrywa kluczową rolę w początkowej fazie procesu transformacji nowotworowej w płucu (Bizzari i in. 2016). Poprzez stymulację wytwarzania E-kadheryny, łączącej komórki z istotą zewnątrzkomórkową i hamowanie wydzielania metaloproteinazy-9, która rozkłada włókna istoty pozakomórkowej i umożliwia ruch komórkom, myo-inozytol zmniejsza ryzyko powstawania przerzutów nowotworowych, a przez stymulację szlaku p53 pochodne inozytolu wspomagają apoptozę komórek zmienionych nowotworowo (Bizzari i in. 2016).

Kolejnym zaburzeniem metabolicznym, w przebiegu którego stosowane są pochodne inozytolu jest insulinooporność, której najczęstszymi przyczynami są otyłość i ciąża. Stan insulinooporności wymaga wydzielania coraz większych dawek insuliny przez trzustkę, który to hormon ma za zadanie utrzymanie równowagi stężeń glukozy. Z czasem tkanki stają się na tyle odporne na działanie insuliny, że niemożliwe jest utrzymanie prawidłowych poziomów glukozy w osoczu, co doprowadza do powstania cukrzycy. Cukrzyca indukowana otyłością nazywana jest cukrzycą typu II, natomiast cukrzyca powstała w czasie ciąży i ustępująca po porodzie - cukrzycą ciążową. Podawanie myo-inozytolu pacjentom z wyżej wymienionymi zaburzeniami powoduje spadek insulinooporności tkanek, redukcję nadmiernego pobudzenia trzustki (ochrona komórek trzustki przed apoptozą) i unormowanie glikemii (Celentano i in. 2016). W mechanizmie wyżej wymienionych procesów najprawdopodobniej kluczową rolę odgrywają fosfoglikany tworzone z myo-inozytolu, które stanowią prekursor dla wewnątrzkomórkowych przekaźników insuliny (Bizzari i in. 2016). Zwiększona ilość prekursorów przekaźnika powoduje zwiększone jego uwalnianie pod wpływem niezmiennego sygnału pierwotnego (stałe stężenie insuliny), co skutkuje zwiększoną reakcją tkanki na dany sygnał i niweluje insulinooporność, doprowadzając do unormowania poziomu glukozy we krwi. Dodatkowym pozytywnym skutkiem stosowania inozytolu

w przebiegu insulinooporności jest jego wpływ na gospodarkę lipidową, który redukuje ryzyko sercowo-naczyniowe u pacjentów z cukrzycą (Bizzari i in. 2016).

Pochodne inozytolu znalazły również zastosowanie w przebiegu niektórych zaburzeń neurologicznych. Myo-inozytol wykazuje stałe, wysokie stężenie w płynie mózgowo-rdzeniowym, które nie jest zależne od podaży pochodnych inozytolu z pożywieniem. Zaburzenia stężenia lub rozkładu stężeń inozytolu prowadzą do chorób otepiennych związanych z akumulacją w neuronach patologicznego białka β -amyloidu (Bizzari i in. 2016). Badania in vitro na komórkach nerwowych i pełnej tkance mózgowej wykazały hamujący wpływ pochodnych inozytolu na toksyczność niektórych rodzajów β -amyloidu (McLaurin i in. 2000). Prawdopodobnie pochodne inozytolu stabilizują β -amyloid w postaci niewielkich kompleksów i hamują wnikanie tych kompleksów do neuronów zapobiegając akumulacji β -amyloidu w neuronach i przeciwdziałając procesom neurotoksycznym (McLaurin i in. 2000). Wiadomo, że niewielkie kompleksy β -amyloidu mogą być łatwiej usuwane z płynu mózgowo-rdzeniowego przez komórki mikrogleju i astrocyty.

Kolejnym schorzeniem, podczas którego pochodne inozytolu mogą być stosowane jako środki lecznicze jest zespół policystycznych jajników (PCOS), będący jedną z najbardziej powszechnych przyczyn kobiecej niepłodności (Papaleo i in. 2009). Zespół ten wiąże się z licznymi zaburzeniami gospodarki hormonalnej. Zaburzenia obejmują nie tylko poziomy hormonów płciowych co uniemożliwia zajście w ciążę, ale często również innych hormonów, co z kolei powoduje otyłość i insulinooporność. (Genazzani 2016). Jedyną możliwością zajścia w ciążę dla pacjentek cierpiących na PCOS by jest sztuczne wywołanie owulacji i zastosowanie metody zapłodnienia in vitro. Badania wykazały, że suplementacja diety pochodnymi inozytolu poprawia jakość otrzymywanych oocytów i pozwala na zmniejszenie dawek stosowanych hormonów, zapobiegając niebezpiecznym powikłaniom, takim jak zespół hiperstymulacji jajników (Papaleo i in. 2009). Dodatkowo inkubacja oocytów i zarodków przed wszczepieniem do macicy w medium zawierającym myo-inozytol zwiększa liczbę pomyślnych implantacji zarodków (Bizzari i in. 2016). Mechanizm działa pochodnych inozytolu w przebiegu zespołu policystycznych jajników jest dwojaki. Po pierwsze, u pacjentek z PCOS wykazano zmniejszenie stężenia inozytolu w organizmie i zwiększone jego wydalanie z moczem (Genazzani 2016), a więc proste uzupełnienie brakującego prekursora przekazników drugiego rzędu powoduje zwiększoną czułość tkanek (w tym przypadku jajników) na czynnik zewnętrzny (hormony płciowe), co przyczynia się do zmniejszenia dawek hormonów stosowanych w trakcie leczenia (Papaleo i in. 2009). Drugim mechanizmem działania jest, opisane powyżej, zmniejszenie wydzielania insuliny przez trzustkę poprzez zmniejszenie insulinooporności tkanek. Insulina wydzielana w dużych dawkach stymuluje wydzielanie androgenów, dodatkowo hamując w wątrobie wytwarzanie globuliny wiążącej hormony płciowe. Insulina powoduje też zwiększenie stężenia biologicznie czynnych androgenów we krwi (Genazzani 2016). Oba te czynniki są hamowane poprzez redukcję wydzielania insuliny, dzięki zwiększeniu czułości tkanek na jej działanie. Interesującym faktem jest, że myo-inozytol wykazuje najbardziej widoczne pozytywne działanie na czynność jajników u pacjentek z PCOS, podczas D-chiro-inozytol, zwłaszcza u pacjentek z hiperinsulinemią ma znacznie mniejszy wpływ na jajniki, a w niektórych przypadkach może nawet pogorszyć ich funkcjonowanie (Genazzani 2016). Fenomen ten wiąże się najprawdopodobniej z działaniem jajnikowej izomerazy, która przekształca myo-inozytol w D-chiro-inozytol, a działanie tego enzymu jest stymulowane przez insulinę (Genazzani 2016). Z tego też względu w warunkach hiperinsulinemii w jajnikach następuje zwiększone przekształcenie myo-inozytolu w D-chiro-inozytol, co powoduje nadmierne stężenie tego drugiego związku. Z tego powodu dodatkowe podanie pacjentkom D-chiro-inozytolu, mimo pozytywnych efektów w innych tkankach, nie wpływa pozytywnie na czynność jajników, a nawet może ją pogarszać (Bizzari i in. 2016).

Poza wyżej wymienionymi schorzeniami i zaburzeniami metabolicznymi, pochodne inozytolu mogą być stosowane także w terapii wielu innych przypadkach. Dotychczasowe badania wykazały duże stężenie inozytolu w drogach nasiennych mężczyzn, a także wpływ pochodnych inozytolu w diecie na jakość nasienia. Stwierdzono mianowicie, iż substancje te mogą zwiększać liczbę, ruchliwość i zdolność plemników do zapłodnienia (Bizzari i in. 2016). Wiadomo również, że zarówno myo-inozytol, jak i d-chiro-inozytol zapobiegają powstawaniu wad cewy nerwowej

u płodów (Bizzari i in. 2016). Dodatkowo związki te wpływają korzystnie na rozwój płuc oraz właściwy rozwój i fizjologiczne przemiany tkanki kostnej. Myo-inozytol wykazuje także wpływ na surfaktant zmieniając jego skład i usprawniając jego działanie (Bizzari i in. 2016). Te właściwości omawianych substancji może zostać wykorzystane u wcześniaków z zespołem błon szklistych (RDS), czyli niewydolności oddechowej spowodowanej niedoborem surfaktantu, co powoduje zapadanie się pęcherzyków płucnych. Poprawa jakości i działania surfaktantu spowodowana przez myo-inozytol pozwala skrócić czas sztucznej wentylacji noworodka za pomocą respiratora, co może spowodować ograniczenie występowania powikłań sztucznej wentylacji, takich jak dysplazja oskrzelowo-płucna czy retinopatia wcześniacza (Bizzari i in. 2016). Innym interesującym faktem jest to, że pochodne inozytoli mogą zwiększać wydajność hormonów tarczycy (Genazzani 2016), a podawanie tych substancji mogłoby ewentualnie zastąpić hormonoterapię z udziałem hormonów tarczycy w przebiegu schorzeń związanych z niedoczynnością tego gruczołu.

Warto zaznaczyć, że pomimo tak szerokiego wpływu pochodnych inozytoli na metabolizm organizmu, podawanie tych związków jest stosunkowo bezpieczne i w większości nie wiąże się z występowaniem skutków ubocznych. Jedynie niewielka liczba pacjentów przyjmująca tego typu substancje w dawce 12g dziennie zgłaszała nudności i/lub biegunkę (Bizzari i in. 2016). Ponadto sporadycznie może wystąpić lekki dyskomfort psychiczny, objawiający się bezsennością z jednoczesnym poczuciem senności i zmęczenia oraz bólami i zawrotami głowy (Bizzari i in. 2016).

3. Przegląd literatury

Wielokierunkowy wpływ pochodnych inozytoli na mechanizmy wewnątrzkomórkowe i związana z tym szansa wykorzystywania takich związków chemicznych jako potencjalnych środków leczniczych spowodowały, iż oddziaływanie inozytoli i jego pochodnych na organizm żywy stało się tematem wielu badań naukowych. Dotychczas ukazało się kilkadziesiąt publikacji opisujących różne aspekty wykorzystania inozytoli i jego pochodnych jako leków.

Spośród tych publikacji jednymi z ważniejszych są doniesienia na temat możliwości zastosowania inozytoli w leczeniu insulinooporności i cukrzycy pojawiającej się w przebiegu ciąży (Dell'Edera i in. 2017). W badaniach wykazano, iż u kobiet, które od 24 tygodnia życia przyjmowały dziennie 1,75g myo-inozytoli, 250mg D-chiro-inozytoli, 12,5mg pidolanu cynku, 100mg metylosulfonometylanu, 120mg witaminy C i 400mg kwasu foliowego rzadziej dochodziło do wystąpienia cukrzycy. Kobiety otrzymujące pochodne inozytoli miały niższy średni wskaźnik masy ciała (ang. body mass index – BMI) oraz niższe stężenie hemoglobiny glikowanej i glukozy we krwi obwodowej. Ponadto stwierdzono, iż w grupie kobiet, które nie otrzymywały pochodnych inozytoli występowała większa liczba porodów przedwczesnych (7 w stosunku do 4 w grupie badawczej), a także częściej pojawiała się makrosomia płodu jako bezpośredni skutek hiperinsulinemii matczynej (4 do 0 w grupie badawczej). Badania te udowodniły, że pochodne inozytoli wyraźnie redukują oporność tkanek na insulinę i działają prewencyjnie w zapobieganiu cukrzycy ciężarnych kobiet i jej powikłań.

Kolejną grupą publikacji są prace dotyczące anty-nowotworowego działania inozytoli i jego pochodnych (Kassie i in. 2010). W badaniach tych (przeprowadzonych in vitro na liniach komórkowych uzyskanych od myszy) wykazano, iż podawanie myo-inozytoli wraz z innymi substancjami (takimi jak izotiocyjanian fenyloetylu połączony z N-acetylo-cysteina -PEITC-NAC, indolo-3-karbinol - I3C lub 3,3'-diindolilometan - DIM) powodowało nie tylko zmniejszanie ryzyka wystąpienia zmian nowotworowych nawet o ponad 70%, ale w wypadku pojawienia się zmian chorobowych zmniejszało również proliferację nacieków nowotworowych. Należy jednak podkreślić, iż działanie pochodnych inozytoli w przebiegu chorób nowotworowych jest dyskusyjne, gdyż we wspomnianych wyżej doświadczeniach podawanie wyłącznie myo-inozytoli nie dało statystycznie istotnych różnic w częstości występowania i rozprzestrzeniania się zmian nowotworowych pomiędzy grupą kontrolną i badaną.

W dotychczasowych publikacjach szeroko dyskutowana jest użyteczność inozytoli i jego pochodnych w chorobach neurodegeneracyjnych. Niektóre badania (McLaurin i in. 2000) wykazały wpływ różnych pochodnych inozytoli (myo-, epi-, scyllo-, i chiro-inozytoli) na toksyczność peptydów amyloidu β (A β 40 i A β 42) wobec neuronów płodowych lub pełnej tkanki mózgowej płodu.

W badaniach nad czystymi komórkami nerwowymi myo-inozytol wykazał znaczne zmniejszenie toksyczności A β 42 i nie wykazał znacznego działania na toksyczność A β 40. Natomiast epi- i scyllo-inozytol wykazały redukcję toksyczności obu peptydów amyloidowych. W przeciwieństwie do innych substancji chiro-inozytol nie wywarł znaczącego działania na żaden z tych peptydów. W badaniach na tkance mózgowej wykazano znaczną redukcję toksyczności A β 42 pod wpływem działania myo-, epi- i scyllo-inozytolu, ale nie zaobserwowano skutecznego działania powyższych związków na toksyczność A β 40.

Ważnym zagadnieniem z punktu widzenia współczesnej medycyny jest również możliwość zastosowania inozytolu i jego pochodnych jako środków wspomagających terapię pacjentek cierpiących na zespół policystycznych jajników (PCOS). Dotychczasowe badania (Papaleo i in. 2009) jasno wykazały, że podawanie myo-inozytolu ma dodatni wpływ na jakość oocytów i częstość powodzenia zapłodnienia *in vitro* u pacjentek z PCOS. Stwierdzono, iż pacjentki otrzymujące myo-inozytol wykazywały mniejsze zapotrzebowanie na rekombinowany FSH, a także wymagały mniej czasu do przeprowadzenia udanej stymulacji procesu owulacji. Dodatkowo w grupie kobiet otrzymujących myo-inozytol stwierdzono podczas owulacji mniejszy szczyt wyrzutu E₂ i mniejsze zapotrzebowanie na hCG. Co prawda nie wykazano różnicy w liczbie uzyskiwanych oocytów od pacjentek otrzymujących lub nie otrzymujących pochodnych inozytolu, ale u tych pierwszych zaobserwowano znacząco zredukowaną liczbę oocytów nie nadających się do zapłodnienia.

4. Wnioski

Pochodne inozytolu są związkami z grupy węglowodanów. Pomimo, że głównym źródłem inozytolu są pokarmy roślinne, to może on być również produkowany przez organizm człowieka, a niedobory tego związku nie dają żadnych objawów klinicznych. Pochodne inozytolu są prekursorami wewnątrzkomórkowych przekaźników drugiego rzędu, które biorą udział w wielu procesach metabolicznych organizmu, a także wchodzą w skład fosfolipidów i fosfoglikanów błony komórkowej. Najbardziej rozpowszechnionymi w organizmie człowieka pochodnymi inozytolu są myo-inozytol i D-chiro-inozytol. W świetle dotychczasowych badań należy stwierdzić, że pochodne inozytolu mogą być wykorzystywane jako środki lecznicze w szerokiej gamie schorzeń i zaburzeń metabolicznych. Doświadczenia laboratoryjne *in vitro* oraz badania *in vivo* wykazały, iż omawiane związki mają duże znaczenie w mechanizmach procesów zachodzących między innymi podczas takich schorzeń jak: cukrzyca ciążowa i cukrzyca typu II, nowotwory, zespół policystycznych jajników i choroby otępienne, w przebiegu których dochodzi do gromadzenia się amyloidu w strukturach nerwowych. Należy zaznaczyć fakt, że skutki uboczne stosowania pochodnych inozytolu są niewielkie, a koszty uzyskania preparatów leczniczych są stosunkowo niskie. Fakty te dodatkowo zachęcają do dalszych badań nad terapeutycznym zastosowaniem pochodnych inozytolu oraz do intensywnych prac do wprowadzenia tego rodzaju leków na rynek farmaceutyczny. Podsumowując, inozytole to potencjalne nowe leki w terapii wielu chorób organizmu ludzkiego, charakteryzujące się minimalną toksycznością i niską ceną. Jednakże powszechne użycie tego typu leków wymaga dalszych dokładnych badań nad mechanizmami ich działania.

5. Literatura

- Bizzarri M, Fusco A, Dinicola S et al. (2016) Pharmacodynamics and pharmacokinetics of inositol(s) in health and disease. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 12 (10): 1181-1196.
- Celentano C, Matarrelli B, Mattei PA et al. (2016) „Myo-Inositol Supplementation to Prevent Gestational Diabetes Mellitus. *Current Diabetes Reports* 16(3):30.
- Dell'Edera D, Sarlo F, Allegretti A et al. (2017) Prevention of neural tube defects and maternal gestational diabetes through the inositol supplementation: preliminary results. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 21: 3305-3311.
- Genazzani AD (2016) Inositol as putative integrative treatment for PCOS. *Reproductive BioMedicine Online* 33(6):770-780.

- Kassie F, Melkamu T, Endalew A et al.(2010) Inhibition of lung carcinogenesis and critical cancer-related signaling pathways by N-acetyl-S-(N-2-phenethylthiocarbamoyl)-l-cysteine, indole-3-carbinol and myo-inositol, alone and in combination. *Carcinogenesis* 31 (9):1634–1641.
- McLaurin J, Golom R, Jurewicz A et al. (2000) Inositol stereoisomers stabilize an oligomeric aggregate of Alzheimer amyloid b peptide and inhibit Ab-induced toxicity. *The Journal of Biological Chemistry* 275(24): 18495–18502.
- Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP et al. (2009) Myo-inositol may improve oocyte quality in intracytoplasmic sperm injection cycles. A prospective, controlled, randomized trial. *Fertility and Sterility* 91(5):1750-1754.

7. Szkodliwe działanie erytrozyny

Adverse effects of erythrosine

Gonkowski Ignacy

Katedra Patofizjologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Opiekun naukowy: dr hab. n.med. Joanna Wojtkiewicz, prof. nadzw. UWM

Gonkowski Ignacy: gon.ign@wp.pl

Słowa kluczowe: barwniki spożywcze, dodatki do żywności, oddziaływanie toksyczne

Streszczenie

W obecnych czasach chemiczne dodatki do żywności są powszechnie używane. Mają one na celu podniesienie walorów smakowych pokarmu, wydłużenie czasu przydatności do spożycia, a także podniesienie atrakcyjności wizualnej produktów spożywczych. Niestety substancje chemiczne stosowane jako dodatki do żywności niejednokrotnie mają negatywny wpływ na organizmy żywe i przyczyniają się do zaburzeń w funkcjonowaniu narządów wewnętrznych. Jednym z takich związków chemicznych jest erytrozyna należąca do grupy barwników smołowych. Substancja ta o barwie wiśniowo-czerwonej stosowana jest powszechnie jako barwnik między innymi przy produkcji owoców kandyzowanych, słodczy, galaretek, ciast w proszku i osłonek wędlin. Ponadto wchodzi w skład past do zębów, kolorowych kosmetyków (np. tusze do powiek), klejów, żywic i niektórych medykamentów. Dotychczasowe badania wykazały, że erytrozyna wykazuje działanie mutagenne i wpływa negatywnie na funkcjonowanie wielu narządów i układów wewnętrznych, a mianowicie wątroby, serca, gruczołów dokrewnych, układu rozrodczego, układu nerwowego czy przewodu pokarmowego. Potwierdzono również udział erytrozyny w procesach nowotworowych, szczególnie w obrębie tarczycy. W wyniku tych badań stosowanie erytrozyny w niektórych krajach zostało zakazane. Należy jednak podkreślić, iż wiedza na temat szkodliwego działania erytrozyny nie jest pełna. Wątpliwości dotyczą między innymi potencjalnego działania rakotwórczego erytrozyny. Dlatego też niniejsza praca jest próbą przedstawienia wyników dotychczasowych badań dotyczących negatywnego wpływu tego barwnika na organizmy żywe.

1. Wstęp

Używanie syntetycznych substancji chemicznych jako dodatków produktów żywnościowych przeznaczonych dla ludzi oraz karm dla zwierząt domowych jest w dzisiejszych czasach bardzo powszechna. Substancje takie można podzielić na kilka grup, a mianowicie związki mające na celu poprawienie walorów smakowych produktów spożywczych, substancje konserwujące, które znacznie wydłużają termin przydatności do spożycia oraz związki podwyższające atrakcyjność wizualną produktów spożywczych. Do ostatniej z wymienionych tu grup substancji należą przede wszystkim różnego rodzaju barwniki spożywcze.

Obecnie barwniki spożywcze można podzielić na trzy podstawowe grupy, a mianowicie barwniki naturalne, barwniki identyczne z naturalnymi wytwarzane metodami biotechnologicznymi oraz barwniki syntetyczne (Gasik i Mitek 2007; Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Barwniki naturalne, stosowane w produkcji środków żywnościowych od czasów starożytnego Egiptu, są pochodzenia roślinnego lub (w mniejszym stopniu) zwierzęcego (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Obecnie uzyskuje się je najczęściej drogą ekstrakcji, zagęszczenia i izolacji (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Mimo powszechnej opinii o tym, iż barwniki naturalne są całkowicie bezpieczne, badania naukowe wykazały, że niektóre substancje z tej grupy spożywane w nadmiernej ilości, mogą wpływać negatywnie na organizm żywy. Przykładem może być koszelina otrzymana z panczerzyków owadów o nazwie czerwiec kaktusowy, która wykazuje silne działanie alergizujące, a nawet może powodować wstrząs anafilaktyczny (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Barwniki identyczne z naturalnymi otrzymuje się poprzez syntezę chemiczną substancji występujących w roślinach oraz poprzez

biosyntezę lub biotransformację (Krzyśko-Łupicka i in. 2016), a barwniki syntetyczne poprzez syntezę związków, które naturalnie w organizmach roślin i zwierząt nie występują.

Porównując barwniki naturalne i syntetyczne należy podkreślić, iż barwniki syntetyczne są wydajniejsze od naturalnych dzięki znacznie wyższej koncentracji substancji barwiących, co znacznie obniża koszt cyklu produkcyjnego produktów spożywczych. Związki syntetyczne odznaczają się również większą intensywnością barwy i stwarzają większe możliwości kolorystyczne w barwieniu żywności, przez co artykuły barwione tymi substancjami stają się bardziej atrakcyjne dla konsumentów (Gasik i Mitek, 2007). Ponadto niektóre z badań wykazują, iż barwniki syntetyczne są stabilniejsze od naturalnych i barwione nimi produkty dłużej zachowują intensywne kolory. Powyższe fakty powodują, iż barwniki syntetyczne są chętniej stosowane przez producentów żywności niż barwniki naturalne.

Obecnie w przemyśle spożywczym stosuje się kilka grup barwników syntetycznych, których klasyfikację oparto o budowę chemiczną substancji barwiącej, a ściślej mówiąc o rodzaj grupy chromoforowej czyli grupy atomów absorbujących promieniowanie w zakresie światła widzialnego – powodujących zabarwienie substancji.

Do barwników syntetycznych zalicza się (Gasik i Mitek 2007):

- barwniki azowe, gdzie grupą chemiczną powodującą zabarwienie jest grupa azowa. W zależności od ilości grup azowych w cząsteczce wyróżnić można barwniki monoazowe, bisazowe, triazowe i polifazowe;

- barwniki triarylometanowe, w których grupą chromoforową jest grupa chinoidowa lub iminochinoidowa.

- barwniki ksantenowe czyli substancje pochodne ksantenu

- barwniki indygooidowe, do których należy niebieski barwnik indygotyna będąca disulfonową pochodną naturalnego barwnika indygo

- barwniki chinolinowe, wśród których do barwienia produktów żywnościowych stosuje się żółcień chinolinową o barwie zielonożółtej,

Dotychczasowe badania wykazały, iż barwniki syntetyczne dodawane do żywności mogą wykazywać negatywny wpływ na organizmy żywe (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Przede wszystkim polega on na wywoływaniu reakcji alergicznych. Jednakże w przypadku niektórych barwników syntetycznych stwierdzono również działanie cytotoksyczne (szczególnie na komórki wątroby), wpływ na układ nerwowy, a także potencjalne działanie rakotwórcze (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Niektóre z wyżej wymienionych substancji (szczególnie barwniki azowe) są rozpuszczalne w tłuszczach, a przez to mogą odkładać się w komórkach narządów wewnętrznych prowadząc do ich uszkodzenia (Saratale i in. 2011). działanie takie opisano między innymi w przypadku tartazyny, która oprócz właściwości cytotoksycznych może powodować egzemy, migrenę i zaburzenia skupienia uwagi (Amin i in. 2010; Lok i in. 2011).

Z tego też względu stosowanie barwników syntetycznych w produkcji produktów spożywczych jest regulowane szeregiem norm i przepisów prawnych. Jest to tym bardziej konieczne, iż intensywnie zabarwione produkty żywnościowe niejednokrotnie przeznaczone są dla dzieci, których organizmy (w porównaniu z osobami dorosłymi) są bardziej wrażliwe na działanie substancji chemicznych. Na terytorium Polski do barwienia żywności dopuszczono piętnaście substancji (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Jedną z nich jest erytrozyna.

2. Opis zagadnienia

Erytrozyna (inne nazwy to: czerwień FD&C 3, czerwień kwasowa 51, jodoeczyna, sól sodowa tetrajodofluoresceiny i erytrozyna B) oznaczana w składzie produktów spożywczych numerem E127 lub CI 45430 jest smołowym barwnikiem syntetycznym, który jako jedyny z grupy barwników ksantenowych może być dodawany do produktów żywnościowych (Gasik i Mitek 2007). Erytrozyna służy do barwienia na czerwono wiśni koktajlowych, przy czym wnikać do barwionego owocu, nie wypłukuje się z niego i nie barwi innych produktów żywnościowych stykających się bezpośrednio z wiśnią. Ponadto erytrozynę dodaje się do wielu produktów przeznaczonych głównie dla dzieci, a mianowicie do cukierków, galaretek, napojów, żelków i ciastek (Słomka i Trawińska 2018) Kolejnymi produktami spożywczymi, do barwienia których stosuje się erytrozynę są ciasta w

proszku i osłonki wędlin (Słomka i Trawińska 2018) Oprócz produktów spożywczych, erytrozyna wykorzystywana jest do nadawania intensywnych barw pastom do zębów, kosmetykom (takim jak cienie do powiek czy róże do policzków) i drinkom. Jest również składnikiem farb czy różnego rodzaju klejów i lakierów.

Obecnie wiadomo, że substancje chemiczne dodawane do żywności (w tym barwniki syntetyczne) mogą oddziaływać negatywnie na organizmy żywe powodują głównie reakcje alergiczne (Krzyśko-Łupicka i in. 2016, Słomka i Trawińska 2018). Działania negatywne wykazuje również erytrozyna, a pierwsze badania dotyczące jej szkodliwego wpływu na organizm człowieka były przeprowadzane już w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych XX wieku (Mikkelesen i in. 1978). Obecnie istnieje wiele badań wykazujących negatywne oddziaływanie erytrozyny na funkcjonowanie wielu układów i narządów wewnętrznych, w tym na układ nerwowy, rozrodczy czy hormonalny (Słomka i Trawińska 2018). Zagadnienia te zostaną szerzej przedstawione w następnym rozdziale niniejszej pracy.

W związku ze szkodliwym działaniem dodatków do żywności (w tym także erytrozyny), ich stosowanie jest regulowane przez akty prawne. Należy podkreślić, iż wyznacznikiem bezpieczeństwa użycia każdej substancji dodatkowej zawartej w środkach spożywczych jest ustalenie jej maksymalnego dopuszczalnego dziennego pobrania (ang. acceptable daily intake – ADI) (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). W Polsce stosowanie barwników spożywczych jest regulowane przez Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego z 2008 roku w sprawie dodatków do żywności oraz przez Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Krzyśko-Łupicka i in. 2016) określające zarówno substancje, których używanie w przemyśle spożywczym jest zabronione, jak również te związki, które są dopuszczone do produkcji produktów spożywczych. Należy podkreślić, iż lista takich produktów jest wciąż uaktualniana, a dawka ADI weryfikowana na podstawie najnowszych badań toksykologicznych i biologicznych przez Komisję Ekspertów do spraw Dodatków do Żywności (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Barwniki dopuszczone do stosowania w przemyśle spożywczym obecnie określane są symbolami od E100 do E199. W Polsce jako barwniki produktów spożywczych dopuszczono 15 związków z grupy barwników syntetycznych, przy czym niektóre z nich (w tym erytrozynę) można stosować jedynie w ograniczonym zakresie przy produkcji wybranych produktów obejmujących jadalne skórki serów, wędzonych ryb, osłonek do wędlin i owoców koktajlowych i kandyzowanych (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). W przypadku erytrozyny dopuszczalne dziennie spożycie substancji wynosi 0,1 mg na 1kg masy ciała, a nawet niewielkie przekroczenie tej dawki w świetle eksperymentów na zwierzętach doświadczalnych jest niebezpieczne dla zdrowia i powoduje zaburzenia w funkcjonowaniu organizmu (Słomka i Trawińska 2018).

3. Przegląd literatury

W świetle dotychczasowych badań stwierdzono, iż erytrozyna może wpływać negatywnie na funkcjonowanie wielu narządów i układów. Jednym z poważniejszych skutków stosowania tego barwnika w produkcji żywności jest z pewnością jego oddziaływanie na układ nerwowy. Erytrozyna, podobnie jak inne pochodne fluoresceiny, ma zdolność przenikania przez barierę krew-mózg (Hirohashi i in. 1997). W obrębie układu nerwowego wpływa na stopień przenikania jonów wapniowych przez błony komórek nerwowych, hamuje aktywność ATP-azy w perikarionach oraz wpływa na syntezę i uwalnianie niektórych neuroprzekaźników i/lub neuromodulatorów, a w szczególności dopaminy, kwasu gamma-aminomasłowego, serotoniny acetylocholino i norepinefryny (Dalal i Poddar 2010). Ponadto wiadomo, iż nadmierna ekspozycja organizmu na erytrozyna skutkuje zmniejszoną absorpcją dopaminy przez tkankę mózgową (Dalal i Poddar 2010). Takie działanie erytrozyny na komórki nerwowe objawia się zaburzeniami w funkcjonowaniu układu nerwowego, obserwowanymi zarówno u ludzi, jak i u zwierząt eksperymentalnych poddanych działaniu tego barwnika. Do zaburzeń tych zalicza się nadpobudliwość (występującą głównie u dzieci i młodych zwierząt), światłowstręt, dekoncentrację, trudności w nauce i zaburzenia pamięci, które mogą wystąpić nawet po stosunkowo krótkim podawaniu erytrozyny (Dalal i Poddar 2009; Dalal i Poddar 2010). Ponadto niektóre badania (McCann i in. 2007) wskazują długotrwałe spożycie syntetycznych barwników spożywczych (w tym erytrozyny) jako jedną z przyczyn zespołu

nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ang. attention-deficit hyperactivity disorder – ADHD) u dzieci. Wykazano także, iż podawanie erytrozyny ciężarnym samicom myszy laboratoryjnych powoduje zaburzenia w obrębie układu nerwowego u potomstwa (Doguc i in. 2015)

Kolejnym układem, na który oddziałuje erytrozyna jest układ rozrodczy. Dotychczasowe badania wykazały, negatywny wpływ erytrozyny szczególnie na układ rozrodczy samców. Mianowicie stwierdzono, iż barwnik ten zaburza procesy spermatogenezy powodując zarówno zmniejszanie liczebności plemników, jak również ich zmiany morfologiczne (szczególnie widoczne w obrębie główki), co prowadzi do zmniejszenia płodności (Abdel Aziz i in. 1997). W przeciwieństwie do samców, w żeńskim układzie rozrodczym nie udowodniono estrogenowego wpływu erytrozyny na budowę i funkcje macicy, a także nie stwierdzono wyraźnego wpływu teratogennego na rozwój płodu (Tanaka 2001), mimo, iż istnieją publikacje potwierdzające zaburzenia w obrębie układu nerwowego u potomstwa matek poddanych działaniu tego barwnika (Doguc i in. 2015).

Erytrozyna działa również negatywnie na gruczoły układu hormonalnego, a zwłaszcza na funkcjonowanie tarczycy. Wykazano bowiem, iż opisywany barwnik zaburza oś regulacyjną przysadka - tarczyca, zwiększa produkcję hormonu tyrotropowego (TSH) i prowadzi do nadmiernego pobudzenia tarczycy (Jennings i in. 1990). W wyniku tego pobudzenia dochodzi do podwyższenia poziomu T4- tyroksyny i T3 – trójjodotyroniny we krwi obwodowej oraz rozrostu komórek gruczolowych tarczycy. Gdy nadmierna ekspozycja na erytrozynę jest długotrwała nadmierne pobudzenie tarczycy i zaburzenia w gospodarce jodowej mogą prowadzić do rozwoju nowotworów tego gruczołu (Jennings i in. 1990).

Inne opracowania naukowe wykazują cytotoksyczne i hepatotoksyczne oddziaływanie erytrozyny, jej wpływ na hamowanie niektórych enzymów metabolizujących leki oraz zaburzenia w interakcji pomiędzy białkami należącymi do rodziny czynników martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor – TNF) (Ganesan i in. 2011; Chequer i in. 2012). Znane jest również genotoksyczne i mutagenne działanie erytrozyny. Stwierdzono mianowicie, iż barwnik ten znacząco zmniejsza ekspresję dwóch genów (FEN1 i REV1) związanych z naprawą zasad wchodzących w skład łańcucha DNA (Chequer i in. 2017). Te obserwacje sugerują, że mutagenne działanie erytrozyny polega właśnie na modulacji genów związanych z systemem naprawy DNA i cyklem komórkowym.

Znany jest również niekorzystny wpływ erytrozyny na funkcjonowanie serca, nerek i żołądka, a także udział tego barwnika w procesach inicjujących pokrzywkę, astmę i inne reakcje o charakterze alergicznym (Kolly i in. 1989; Słomka i Trawińska 2018). Ponadto, mimo, iż erytrozyna nie jest klasyfikowana przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem, IARC (od ang. International Agency for Research on Cancer) jako substancja potencjalnie rakotwórcza, niektóre badania wykazały, iż może on uczestniczyć w procesach prowadzących do powstawania nowotworów (Poulsen 1993).

4. Podsumowanie

Dotychczasowe badania jasno wskazują, iż erytrozyna może wpływać negatywnie na organizmy żywe wywołując zmiany w morfologii i funkcjonowaniu wielu narządów wewnętrznych. Do najpoważniejszych skutków ubocznych stosowania erytrozyny zaliczyć można jej wpływ na układ nerwowy i rozrodczy, a także zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu tarczycy oraz właściwości mutagenne. Szczególnie groźny wydaje się wpływ erytrozyny na organizmy młode objawiający się nadmierną pobudliwością, trudnościami w nauce i zapamiętywaniu oraz reakcjami alergicznymi. Jest to tym bardziej niepokojące, iż erytrozyna może znajdować się w wielu intensywnie zabarwionych produktach przeznaczonych dla dzieci (takich jak żelki, galaretki czy słodycze). Duże obawy mogą budzić również badania przedstawiające udział erytrozyny w procesach związanych z formowaniem się nowotworów. W pełni uzasadnione jest więc ograniczenie użycia erytrozyny jako barwnika produktów spożywczych. Należy podkreślić, że niektóre kraje (np. Stany Zjednoczone czy Norwegia) zakazały dodawania tej substancji do żywności. W Polsce erytrozynę można stosować jedynie w produkcji wybranych produktów żywnościowych, a maksymalne dopuszczalne dzienne pobranie ustalono na poziomie 0,1 mg na 1kg masy ciała. Należy jednak podkreślić, iż do nadmiernej

ekspozycji organizmu na erytrozynę może dojść nie tylko w przypadku przekroczenia norm przy produkcji żywności, ale także przy spożyciu nadmiernej ilości produktów zawierających erytrozynę co wiąże się z niezbilansowaną dietą i niewłaściwym sposobem odżywiania się (Krzyśko-Łupicka i in. 2016). Ponadto należy mieć świadomość, iż barwnik ten wchodzi również w skład powszechnie stosowanych kolorowych kosmetyków (takich jak cienie do powiek czy róże do policzków) i pasty do zębów. Dlatego też wyeliminowanie erytrozyny z produkcji środków żywnościowych nie wyeliminuje całkowicie ryzyka związanego z niekorzystnym oddziaływaniem tego barwnika na organizm człowieka.

5. Literatura

- Abdel Aziz AH, Shouman SA, Attia AS et al. (1997) A study on the reproductive toxicity of erythrosine in male mice. *Pharmacological Research* 35:457-462.
- Amin KA, Abdel HH, Abd EAH (2010) Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology* 48: 2994-2999.
- Chequer FM, Venâncio VP, Bianchi ML et al. (2012) Genotoxic and mutagenic effects of erythrosine B, a xanthene food dye, on HepG2 cells. *Food and Chemical Toxicology* 50:3447-4451.
- Chequer FM, Venancio VP, Almeida MR et al. (2017) Erythrosine B and quinoline yellow dyes regulate DNA repair gene expression in human HepG2 cells. *Toxicology and Industrial Health* 33:765-774.
- Dalal A, Poddar MK (2009) Short-term erythrosine B-induced inhibition of the brain regional serotonergic activity suppresses motor activity (exploratory behavior) of young adult mammals. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 92:574-582.
- Dalal A, Poddar MK (2010) Involvement of high plasma corticosterone status and activation of brain regional serotonin metabolism in long-term erythrosine-induced rearing motor hyper activity in young adult male rats. *Toxicology Mechanisms and Methods* 20:287-297.
- Doguc DK, Aylak F, Ilhan I et al. (2015) Are there any remarkable effects of prenatal exposure to food colourings on neurobehaviour and learning process in rat offspring? *Nutritional Neuroscience* 18:12-21.
- Ganesan L, Margolles-Clark E, Song Y et al. (2011) The food colorant erythrosine is a promiscuous protein-protein interaction inhibitor. *Biochemical Pharmacology* 81:810-818.
- Gasik A, Mitek M (2007) Syntetyczne barwniki organiczne w technologii żywności. *Przemysł spożywczy* 61:48-53.
- Hirohashi T, Terasaki T, Shigetoshi M et al. (1997) In vivo and in vitro evidence for nonrestricted transport of 2',7'-bis(2-carboxyethyl)-5(6)-carboxyfluorescein tetraacetoxymethyl ester at the blood-brain barrier. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 280:813-819.
- Jennings AS, Schwartz SL, Balter NJ et al. (1990) Effects of oral erythrosine (2',4',5',7'-tetraiodofluorescein) on the pituitary-thyroid axis in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 103:549-556.
- Kolly M, Pécoud A, Frei PC (1989) Additives contained in drug formulations most frequently prescribed in Switzerland. *Annals of Allergy* 62:21-25.
- Krzyśko-Łupicka T, Kręcidło M, Kręcidło Ł (2016) Barwniki w żywności a zdrowie konsumentów. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych* 65:543-552.
- Lok KYW, Chung YW, Benzie IFF et al. (2011) Synthetic colourings of some snack foods consumed by primary school children aged 8-9 years in Hong Kong. *Food Additives & Contaminants, Part B* 4: 162-167.
- McCann D, Barrett A, Cooper A et al. (2007) Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet* 370:1560-1567.
- Mikkelsen H, Larsen JC, Tarding F (1978) Hypersensitivity reactions to food colours with special reference to the natural colour annatto extract (butter colour). *Archives of Toxicology. Supplement* 1:141-143.

- Poulsen E (1993) Case study: erythrosine. *Food Additives and Contaminants* 10: 315-323.
- Saratale RG, Saratale GD, Chang JS et al. (2011) Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: a review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 42:138-157.
- Słomka M, Trawińska J (2018) Dodatki do żywności. Czy powinniśmy o nich pamiętać? *Współczesna Dietetyka* 15:56-58.
- Tanaka T (2001) Reproductive and neurobehavioural toxicity study of erythrosine administered to mice in the diet. *Food and Chemical Toxicology* 39:447-454.

8. Suplementy diety stosowane w prewencji i leczeniu cukrzycy oraz osteoporozy

Dietary supplements used in prevention and treatment diabetes and osteoporosis

Sylwia Jopek⁽¹⁾, Aleksandra Białek⁽¹⁾, Anna Lisowska⁽¹⁾, Izabela Pałka⁽¹⁾, Bartłomiej Matejko⁽²⁾

⁽¹⁾ Koło Naukowe Dietetyki przy Klinice Chorób Metabolicznych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

⁽²⁾ Katedra Chorób Metabolicznych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

Sylwia Jopek: sylwia.jopek@onet.pl

Słowa kluczowe: masa kostna, hemoglobina glikowana, choroby metaboliczne, prewencja

Streszczenie

Suplementy diety są coraz częściej stosowane w terapiach wspomagających leczenie cukrzycy oraz osteoporozy. Często wynika to z faktu, iż są to preparaty tańsze oraz łatwiej dostępne niż produkty lecznicze, ponadto są uważane, za bardziej naturalne. Suplementy stosowane w cukrzycy mogą obniżyć poziom glukozy oraz lipidów we krwi. Ich mechanizm często opiera się na zmniejszeniu wychwytu glukozy, regulacji dróg sygnałowych insuliny jak również translokacji receptora GLUT-4. Przykładowo preparaty na bazie kozieradki oraz preparaty zawierające chrom czy magnez mogą prowadzić do spadku wartości hemoglobiny glikowanej oraz glikemii na czczo, podczas gdy kwas alfa lipoonowy, ze względu na swoje właściwości antyoksydacyjne, może redukować częstość występowania powikłań cukrzycowych o podłożu zapalnym. W osteoporozie zastosowanie znalazły takie składniki żywienia jak: wapń, witamina D oraz witamina K. Ich suplementacja może zmniejszać częstość złamań osteoporotycznych poprzez zmniejszenie tempa utraty masy kostnej. Zgodnie z zaleceniami obowiązującymi w Polsce przyjmuje się iż osoby z grupy ryzyka powinny suplementować około 1200 mg wapnia oraz minimum 800 j.m. witaminy D dziennie. Uważa się, iż stosowanie skojarzonej suplementacji tych dwóch składników może wspomagać lecznicze działanie bisfosfonianów stosowanych w osteoporozie.

1. Wstęp

Zarówno cukrzyca jak i osteoporoza stanowią istotny problem zdrowotny w obecnych czasach. Z przeprowadzonych analiz wynika, iż na cukrzycę, głównie typu 2, choruje około 387 milionów osób, czyli ponad 5% światowej populacji (Zaccardi i in. 2015). Przewiduje się, że do 2035 roku liczba ta wzrośnie do 592 milionów, szczególnie na skutek zachorowań w krajach mało i średnio zamożnych. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) do 2030 roku cukrzyca stanie się siódmą, najczęstszą przyczyną zgonów (Zaccardi i in. 2015; El Dib R 2015). Osteoporoza natomiast jest najczęstszą osteopatią. Szacuje się, iż choruje na nią około 75 milionów osób, zamieszkujących USA, Japonię oraz kraje europejskie, a jej rozpowszechnienie jest najmniejsze wśród mieszkańców Afryki. Dotyka ona 30% kobiet oraz 8% mężczyzn powyżej 50. roku życia. Na zachorowanie jest narażona co druga kobieta, która ukończyła 70. rok życia oraz co czwarta kobieta po 60. roku życia (Janiszewska i in. 2015).

W związku z ciągle wzrastającą zachorowalnością na powyższe jednostki chorobowe, zwiększa się również częstość oraz różnorodność stosowanych suplementów, których celem jest wspomaganie ich leczenia. Według danych opublikowanych przez Najwyższą Izbę Kontroli (NIK) liczba suplementów dostępnych na polskim rynku, w latach 1997 – 2005 wzrosła o 219%, co stanowi najwyższy wzrost wśród wszystkich krajów Unii Europejskiej. Szacuje się również, że w latach 2017 – 2020 tempo rozwoju polskiego rynku suplementów będzie wynosić 8% rocznie (NIK 2016).

2. Opis zagadnienia

Cukrzyca jest grupą chorób metabolicznych. Klinicznie cechuje się hiperglikemią wynikającą z upośledzenia wydzielania insuliny lub zaburzenia jej działania. Może być również wynikiem obu tych procesów. Choroba ta związana jest nie tylko z zaburzeniami metabolizmu węglowodanów, ale również białek i tłuszczów (El Dib i in. 2015). Przewlekłe podwyższony poziom glukozy we krwi prowadzi do uszkodzenia i niewydolności różnych narządów, w szczególności oczu, nerek, nerwów, serca oraz naczyń (Ota i Ulrih 2017). Cukrzyca (szczególnie typu 2) związana jest z około dwa razy większym ryzykiem wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, w tym choroby wieńcowej i zawału serca (Zaccardi i in. 2016).

Stres oksydacyjny odgrywa ważną rolę w patogenezie cukrzycy i jej powikłań. Istnieje kilka mechanizmów, za których sprawą hiperglikemia przyczynia się do rozwoju powikłań cukrzycy. Są to: nieenzymatyczna glikacja białek i tłuszczów; aktywacja kinazy białkowej C; aktywacja szlaku polioliowego; autooksydacja glukozy (Ota i Ulrih 2017). Stres oksydacyjny oraz inne jego rodzaje spowodowane nadmiernym żywieniem (stres retikulum endoplazmatycznego, stres lipemiczny i stres karbonylowy) wywołują reakcję zapalną, która odgrywa ważną rolę w patogenezie cukrzycy typu 2 (Ota i Ulrih 2017).

Cukrzyca typu 1 (T1DM), wcześniej znana jako insulinozależna lub wieku dziecięcego, jest chorobą autoimmunologiczną. Jest ona spowodowana uszkodzeniem komórek β trzustki, odpowiedzialnych za wydzielanie insuliny (Zaccardi i in. 2016; Ota i Ulrih 2017). T1DM dzieli się na typ A (stanowiący aż do 90% wszystkich przypadków), charakteryzujący się wykrywalną autoimmunologiczną odpowiedzią serologiczną, oraz typ B (idiopatyczny), w którym nie wykazuje się humoralnego wytwarzania przeciwciał przeciw własnym antygenom (Zaccardi i in. 2016).

Cukrzyca typu 2 (T2DM) jest jednak najczęstszym typem tej choroby. U wielu osób przebiega bezobjawowo oraz pozostaje niezdiagnozowana przez wiele lat. T2DM dotyczy zarówno dorosłych, jak i dzieci (El Dib i in. 2015). Większość ludzi, która rozwija T2DM, cierpi na insulinooporność. Jest to stan, w którym trzustka produkuje insulinę, ale komórki ciała stają się coraz bardziej odporne na jej działanie, co skutkuje hiperglikemią. Badania wykazują związek między insulinoopornością a miażdżycą naczyń krwionośnych, dyslipidemią, hiperurykemią oraz zespołem policystycznych jajników. Czynniki ryzyka tej choroby są: czynniki genetyczne (np. występowanie w rodzinie), otyłość, niewłaściwa dieta, mała aktywność fizyczna, podeszły wiek, pochodzenie etniczne, nadciśnienie oraz dyslipidemia (Ota i Ulrih 2017; Zaccardi i in. 2016).

Osteoporoza jest powszechnym, ogólnoustrojowym schorzeniem układu kostnego, które charakteryzuje się niską masą kości i ich pogarszającym się stanem mikroarchitektury. Skutkuje ona kruchością kości i zwiększoną podatnością na złamania (Tkaczuk-Włach i in. 2010). Choroba ta może przez długi czas przebiegać bezobjawowo, dlatego wielu chorych nie jest jej nawet świadomych. Jedną z najczęstszych oznak jej obecności jest złamanie osteoporotyczne, inaczej zwane niskoenergetycznym (Tkaczuk-Włach i in. 2010). Jest to uraz, którego siłą wywołująca jest niewspółmierna do uszkodzenia. Przykładem może być pęknięcie, które wystąpiło po upadku z wysokości własnego ciała (Tkaczuk-Włach i in. 2010). Dodatkowo bardzo często zmiażdżenie kręgów nie sprawia bólu i dopiero po wieloletniej chorobie dochodzi do wyraźnych, niepokojących zmian fizykalnych pacjenta, takich jak obniżenie wzrostu czy pogłębienie kifozy piersiowej wraz z pochyleniem głowy do przodu. Takie złamania bardzo często skutkują niepełnosprawnością, a nawet śmiercią. Szczególnie dotyczy to uszkodzenia kości w obrębie biodra (Tkaczuk-Włach i in. 2010).

Wyróżnia się osteoporozę pierwotną oraz wtórną. Pierwotna występuje znacznie częściej, dotyczy głównie kobiet w okresie pomenopauzalnym i mężczyzn w podeszłym wieku. Natomiast osteoporoza wtórna jest powikłaniem innych chorób (np. cukrzycy typu 1, nadczynności tarczycy) lub wynikiem stosowania leków (Tkaczuk-Włach i in. 2010). Do czynników ryzyka zalicza się: podeszły wiek, płeć żeńską, czynniki genetyczne, zmniejszoną ilość estrogenów, białą i żółtą rasę, palenie papierosów i małą masę ciała ($BMI < 20 \text{ kg/m}^2$). Nawyki żywieniowe również odgrywają ważną rolę w rozwoju osteoporozy. Na przykład niedobór wapnia, witaminy D oraz nadmierne picie kawy niekorzystnie wpływają na masę kostną (Tkaczuk-Włach i in. 2010).

3. Przegląd literatury

Zalecenia dietetyczne dotyczące postępowania w przypadku osób chorych na cukrzycę nie rekomendują suplementacji substancji odżywczych bez stwierdzonych niedoborów. Pomimo tego, prowadzone są badania z wykorzystaniem tego typu produktów, mówiące o korzystnym efekcie na insulinowrażliwość tkanek. Nierzadko, stosowanie suplementacji wynika częściowo z niższych kosztów, produkty te są bardziej „naturalne” oraz cechują się większą dostępnością w porównaniu do przepisanych leków. Na uwagę zasługuje kilka preparatów, wykazujących działanie hipoglikemiczne i obniżające poziom lipidów, co w przypadku cukrzycy typu 2, otyłości i dyslipidemii - kluczowych elementów zespołu metabolicznego, stanowi pulę potencjalnie skutecznych i bezpiecznych środków leczniczych. Ich mechanizm działania opiera się głównie na regulacji dróg sygnałowych insuliny, translokacji receptora GLUT-4 oraz działaniu przeciwzapalnym i immunomodulującym (Diab. Klin. 2018; Ota A i in. 2017).

Kozieradka stanowi jeden z atrakcyjniejszych suplementów. W wyniku przeprowadzonej metaanalizy stwierdzono, iż jest ona w stanie obniżyć poziom FBG, 2hBG, HbA1c i TC u pacjentów z cukrzycą typu 2 oraz ze stanem przedcukrzycowym. W 3-letnim randomizowanym badaniu przeprowadzonym przez Gaddam i in. odnotowano spadek występowania częstości cukrzycy w grupie osób, spożywających 10 g kozieradki dziennie w porównaniu do grupy kontrolnej. W pierwszej grupie (suplementującej kozieradkę) odnotowano zmniejszenie stężenia glukozy w osoczu na czczo (FPG), poposilkowego stężenia glukozy w osoczu (PPPG) i cholesterolu frakcji lipoprotein o niskiej gęstości (LDLc), podczas gdy insulina w surowicy znacznie wzrosła. Zaobserwowano również, że grupa kontrolna miała 4,2 razy większą szansę na rozwój cukrzycy. W kolejnej metaanalizie prowadzonej przez Neelakantan i in. wzięto pod uwagę 10 badań klinicznych. W grupie osób spożywających kozieradkę, odnotowano znaczne zmniejszenie wartości HbA1c, stężenia glukozy we krwi na czczo oraz w teście obciążenia glukozą. Jednocześnie zauważono różnice w zmniejszeniu parametrów glukozy w zależności od dawki. Znaczący wpływ na glikemię stwierdzono tylko w badaniach, w których podawano średnie lub wysokie dawki kozieradki (zakres: 5–25 g) u osób z cukrzycą. Ponadto, kozieradka zawiera dużą ilość błonnika pokarmowego (50-65 g błonnika/100 g nasion), a w szczególności frakcji rozpuszczalnej (tj. Galaktomannanu) co pomaga kontrolować glikemię (Ota i in. 2017; Gong i in. 2016; Gaddam i in. 2015).

Stres oksydacyjny stanowi jeden z mechanizmów chorobotwórczych w rozwoju i postępie cukrzycy oraz jej powikłań na skutek zwiększonej produkcji wolnych rodników tlenowych (ROS) i azotowych (RNS), a także w wyniku osłabionej obrony antyoksydacyjnej (Ota i in. 2017; Rochette i in. 2014). Cukrzyca upośledza aktywność śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS), zwiększając wytwarzanie ROS, co skutkuje zmniejszoną biodostępnością NO i zwiększonym stresem oksydacyjnym.

Kwas alfa-liponowy, zwany również kwasem liponowym LA charakteryzuje się silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi. Dawki terapeutyczne wahają się od 200 do 1800 mg/dobę. LA często określany jest jako „środek insulinomimetyczny”. Stwierdzono, że stymuluje on wychwyt glukozy, a wzrostowi wychwytu glukozy towarzyszyła szybka translokacja transporterów glukozy GLUT-4 z wewnętrznej frakcji błonowej do błony komórkowej. LA odgrywa również zasadniczą rolę w mitochondrialnych reakcjach bioenergetycznych, często wykorzystywany jest jako przeciwutleniacz w leczeniu powikłań cukrzycowych, takich jak retinopatia, neuropatia i inne choroby naczyniowe (Rochette i in. 2014).

Kolejnym kandydatem uzupełniającym postępowania farmakologicznego u pacjentów z cukrzycą typu 2 może być chrom, który jest niezbędny w metabolizmie glukozy i w utrzymaniu homeostazy lipidów. Szczególnie korzystny efekt zaobserwowano u osób przyjmujących chrom w postaci chlorków chromu (suplementacja 400 µg/dzień) i pikolinianu chromu (suplementacja 600-1000 µg/dzień). Po przeprowadzeniu zbiorczej analizy randomizowanych badań kontrolowanych oceniających wpływ chromu, stwierdzono, że jest on w stanie zmniejszyć poziom glukozy na czczo w osoczu, poziom hemoglobiny A1c, a także triglicerydów. Dawka chromu stosowana w analizowanych badaniach wahała się od 1,28 do 3000 µg/dzień. Przyjmowany chrom wpłynął również na poziom cholesterolu lipoprotein o dużej gęstości (HDL). Włączenie chromu do leczenia

cukrzyca typu 2, wydaje się słuszne ze względu na poprawę stanu wielu klinicznie istotnych biomarkerów cukrzycowych (takich jak zmniejszenie poziomu FBG, HbA1c, TG i wzrost poziomów HDL-C (Huang i in. 2018).

Korzystny wpływ na parametry glukozy u osób z cukrzycą, a także parametry wrażliwości na insulinę u osób z grupy podwyższonego ryzyka wykazuje suplementacja magnezem. W metaanalizie obejmującej 18 randomizowanych badań kontrolowanych - 12 z nich, objęło pacjentów z cukrzycą, leczonych magnezem oraz grupę placebo przez średni okres 12 tygodni (zakres: 4–48 tygodnie). Odnotowano zmniejszenie stężenia FPG oraz istotnie niższą wartość glukozy w osoczu po 2-godzinym doustnym teście tolerancji glukozy u osób z cukrzycą w porównaniu do grupy placebo. Pozostałe 6 badań odnosiło się do osób z grupy wysokiego ryzyka zapadalności na cukrzycę, w tym przypadku również zaobserwowano znaczącą poprawę poziomu glukozy w osoczu po 2 godzinach OGTT, a także obniżenie poziomu HOMA-IR (homeostatyczny model oceny insulinooporności). Suplementacja we włączonych badaniach różniła się formą i dawką, a poprawę parametrów glukozy i wrażliwości na insulinę zaobserwowano tylko wtedy, gdy stężenie magnezu w surowicy lub w osoczu było odpowiednio podwyższone. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że suplementacja magnezem była dobrze tolerowana i nie wykazywała znaczących, niekorzystnych skutków zdrowotnych. Powyższe wyniki sugerują pozytywną rolę suplementacji magnezem w metabolizmie glukozy, zarówno w leczeniu jak i profilaktyce cukrzyca u osób z grupy podwyższonego ryzyka (Veronese N i in. 2016).

Aktualne zalecenia postępowania diagnostycznego i leczniczego w osteoporozie w Polsce podkreślają istotną rolę wapnia oraz witaminy D. Jako optymalne spożycie tych składników odżywczych podają kolejno ok. 1200 mg/dobę dla wapnia oraz minimum 800 j.m./dobę dla witaminy D. Odpowiednie stężenie tych składników we krwi i właściwa gospodarka wapniowo-fosforanowa umożliwiają skuteczne działanie leków z grupy bisfosfonianów stosowanych w osteoporozie (Lorenc i in. 2017). Jedną z metaanaliz zaleca stosowanie suplementów wapnia oraz witaminy D u osób słabych w podszłym wieku (Bolland i in. 2015). Zalecenia opracowane w stosunku do populacji polskiej w artykule Lorenc i in. wskazują suplementację preparatami z witaminą D oraz wapniem jako część leczenia uzupełniającego, podkreślając większą istotność suplementacji witaminą D. Zaznaczony jest fakt uzupełnienia codziennej diety suplementami z dużymi dawkami powyższych składników, w przypadku niedoborów, w celu ich uzupełnienia (w przypadku witaminy D jest to 7000-10000 UI/dobę lub 50000 UI/tydzień). Natomiast u osób ze schorzeniami, przyczyniającymi się do rozwoju osteoporozy (np. cukrzyca typu 2) zaleca się stosowanie suplementów wapnia i witaminy D, zgodnie z przyjętymi normami (co najmniej 1200 mg/dobę dla wapnia i 800 UI/dobę dla witaminy D) (Lorenc i in. 2017). W metaanalizach Weaver'a oraz Bolland'a wykazano niedostateczne spożycie wapnia oraz witaminy D m.in. w populacji Amerykanów i Francuzów.

W przypadku wapnia, należy dbać, aby jego bilans w organizmie był dodatni (następuje przyrost kości) lub neutralny (zachowana jest obecna masa kostna). W badaniu przeglądowym (Ströhle i in. 2015) zauważono, iż podawanie suplementów wapnia (500-2000 mg/dobę) wpływa na zmniejszenie ryzyka utraty BMD (Bone Mineral Density), ale ważne jest aby suplementacja oraz podaż z dietą były minimum równe RDA dla wapnia (1000-1300 mg/dobę). Stwierdzono, iż skuteczność suplementacji jest największa gdy podaż wapnia z dietą była niska (<700 mg/dobę) oraz w przypadku stosowania suplementów u osób, wykazujących duże ryzyko złamań (Ströhle i in. 2015). Przewiduje się, że wzrost BMD o 1–2%, do którego przyczyniają się suplementy wapnia, zmniejsza ryzyko złamań o 5–10%. W metaanalizie, biorącej pod uwagę suplementację wapniem z lub bez witaminy D, zaznaczono, iż największy wzrost BMD można zauważyć w pierwszym roku suplementacji, później wzrost BMD jest już mniej znaczny (Bolland i in. 2015).

W przypadku badań skupiających się na monoterapii wapniem istnieją doniesienia, iż zbyt duża podaż wapnia może przyczyniać się do zwiększenia ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, zapań, ostrych objawów żołądkowo-jelitowych, kamieni nerkowych, zawału mięśnia sercowego, hiperkalcemii oraz zwiększenie się ryzyka złamań. (Ströhle i in. 2015; Bolland i in. 2015)

Zauważono, iż wapń jedynie przy równoczesnym podawaniu z witaminą D wspomaga kościec (efekt ochronny). Wykazano, że najskuteczniejsza jest podaż ≥ 1200 mg wapnia i ≥ 800 UI witaminy D dziennie (Ströhle i in. 2015). Współdziałanie synergistyczne wapnia i witaminy D

potwierdza metaanaliza Weaver'a. Suplementowanie wapnia wraz z witaminą D, zmniejsza o 14-15% całkowite ryzyko złamań i o 30% ryzyko złamań szyjki kości udowej u osób z osteoporozą.

Witamina D suplementowana samotnie na poziomie 400 UI/dobę, według metaanalizy Weaver'a nie wpływa znacząco na obniżenie ryzyka złamań, ponieważ może być to dawka niewystarczająca (Weaver i in. 2016). Witamina D suplementowana bez połączenia z wapniem nie ma wpływu, na obniżenie ryzyka złamań osteoporotycznych (Weaver i in. 2016; Bolland i in. 2015).

W obecnym stuleciu zaczęto badać funkcje witaminy K pod kątem wpływu na wzmocnienie kośćca. W pracy pogładowej Kucharz i in. można zauważyć, iż znajdujemy badania, udowadniające związek pomiędzy niskim stężeniem witaminy K1, K2 MK-4, K2 MK-7 a wystąpieniem złamań niskoenergetycznych lub osteoporozy. Małe spożycie witaminy K1 może przyczyniać się do zwiększenia o 30% ryzyka złamań kości udowej. Jak wykazano, małe stężenie witaminy K w osoczu koreluje z niskim BMD (u nasady kości udowej lub w trzonach kręgów lędźwiowych) (Kucharz i in. 2018). Wykazano, iż witamina K1 w dawce 5 mg/dobę nie ma działania ochronnego przeciwko spadkowi BMD, ale przyczynia się do obniżenia ryzyka złamań u kobiet po menopauzie z osteopenią (Iwamoto i in. 2016). Metaanaliza badająca wpływ witaminy K2 na BMD, podkreśla jej udział w zmianie BMD w odcinku lędźwiowym kręgosłupa oraz kości przedramienia u osób z osteoporozą (Huang i in. 2014). Nie zauważono wpływu na BMD w odcinku lędźwiowym kręgosłupa, kości biodra (przy czym występowała poprawa wytrzymałości) oraz kości przedramienia u osób bez osteoporozy. Metaanaliza Huang'a przedstawia dane wskazujące wpływ witaminy K2 na spadek częstotliwości złamań (Huang i in. 2014). Podobne wyniki zaprezentowano w badaniu przeglądowym Iwamoto'a i in.. Potwierdzono tam wpływ K2 MK-4 na BMD i częstość występowania złamań (głównie kręgów) u kobiet po menopauzie z osteoporozą (Iwamoto i in. 2016).

W metaanalizie Huang'a oraz pracy przeglądowej Iwamoto'a zauważono wpływ K2 MK-4 na spadek stężenia uc-OC (*ang. undercarboxylated osteocalcin*, dekarboksylowana osteokalcyna) oraz na zwiększenie stężenia OC (*ang. osteocalcin*, osteokalcyna) (Huang i In. 2014; Iwamoto i in. 2016). Związany z suplementacją spadek uc-OC może wiązać się ze zmniejszeniem ryzyka złamania kości udowej, przy czym spadek uc-OC w grupie z suplementacją K2 MK-4 był o 52,8% większy (Huang i in. 2014). Inne dane, pokazują, iż K2 MK-4 wpływa na wzrost OC (Huang i in. 2014).

Potwierdzony jest pozytywny wpływ witaminy K2 MK-4 w dawce 45 mg/dobę, taka dawka jest potrzebna do wywołania efektu klinicznego. Sugeruje się, iż leczenie osteoporozy bisfosfonianem w połączeniu z suplementacją witaminą K2 MK-4, może przynosić lepsze efekty (Iwamoto i in. 2016).

4. Podsumowanie i wnioski

Stosowanie suplementów diety zarówno w cukrzycy jak i osteoporozie jest bardzo powszechne. Dotychczas przeprowadzono wiele badań, które oceniały wpływ suplementacji na przebieg tych jednostek chorobowych. Analizy oceniające wpływ na cukrzycę, dały obiecujące wyniki, jednak pomimo, iż często były to rzetelne badania (przeprowadzone na dużej populacji, mające charakter badań interwencyjnych) to wyniki były niejednokrotnie sprzeczne, dlatego suplementy nie znalazły się w oficjalnych zaleceniach Towarzystw Diabetologicznych. W osteoporozie natomiast, zarówno Polskie Towarzystwo Reumatologiczne jak też inne Światowe Organizacje są zgodne i zalecają, aby osoby z grupy ryzyka suplementowały około 1200 mg wapnia oraz minimum 800 j.m. witaminy D dziennie.

5. Literatura

- Bolland MJ, Grey A, Reid IR (2015) Should we prescribe calcium or vitamin D supplements to treat or prevent osteoporosis? *Cilmacteric* 2: 22-31.
- El Dib R, Gameiro OL, Ogata MS i in. (2015) Zinc supplementation for the prevention of type 2 diabetes mellitus in adults with insulin resistance. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 28(5).
- Gaddam A, Galla C, Thummisetti S i in. (2015) Role of Fenugreek in the prevention of type 2 diabetes mellitus in prediabetes. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders* 14(74).

- Gong J, Fang K, Dong H i in. (2016) Effect of fenugreek on hyperglycaemia and hyperlipidemia in diabetes and prediabetes: A meta-analysis. *Journal of Ethnopharmacology* 194: 260-268.
- Gumprecht J, Młynarski W, Strojek K i in. (2018) Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2018. *Diabetologia Praktyczna* 1(4): 15-17.
- Huang H, Chen G, Dong Y i in. (2018) Chromium supplementation for adjuvant treatment of type 2 diabetes mellitus: results from a pooled analysis. *Molecular Nutrition & Food Research* 62(1): 1-9.
- Huang Z, Wan S, Lu Y i in. (2015) Does vitamin K2 play a role in the prevention and treatment of osteoporosis for postmenopausal women: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoporosis International* 26(3): 1175-1186.
- Iwamoto J (2014) Vitamin K2 therapy for postmenopausal osteoporosis. *Nutrients* 6: 1971-1980.
- Janiszewska M, Kulik T, Dziedzic M i in. (2015) Osteoporoza jako problem społeczny – patogeneza, objawy i czynniki ryzyka osteoporozy pomenopauzalnej. *Problemy Higieny i Epidemiologii* 96(1): 106-114.
- Kucharz EJ, Stajszczyk M, Kotulska A, in. (2018) Rola witaminy K2 w metabolizmie kości i innych procesach patofizjologicznych-znaczenie profilaktyczne i terapeutyczne. *Forum Reumatologiczne* 2(4): 71–86.
- Lorenc R, Głuszko P, Franek E i in. (2017) Zalecenia postępowania diagnostycznego i leczniczego w osteoporozie w Polsce. Aktualizacja 2017. *Endokrynologia Polska* 68: 1-18.
- Najwyższa Izba Kontroli (2016) Suplementy diety. Raport. 33,55.
- Ota A, Ulrich N (2017) An Overview of Herbal Products and Secondary Metabolites Used for Management of Type Two Diabetes. *Frontiers in Pharmacology* 436(8).
- Rochette L, Ghibu S, Muresan A i in. (2014) Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 93(12): 1021-1027.
- Ströhle A, Hadji P, Hahn A (2015) Calcium and bone health - Goodbye, calcium supplements? *Climacteric* 18(5): 702-714.
- Tkaczuk-Włach J, Sobstyl M, Jakiel G (2010) Osteoporoza - Obraz kliniczny, czynniki ryzyka i diagnostyka. *Przegląd Menopauzalny* 2: 113–117.
- Veronese N, Watutantrige SF, Luchini C i in. (2016) Effect of magnesium supplementation on glucose metabolism in people with or at risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis of double-blind randomized controlled trials. *European Journal of Clinical Nutrition* 70(12): 1354-1359.
- Weaver C, Alexander D, Boushey C (2016) Calcium plus vitamin D supplementation and risk of fractures: an updated meta-analysis from the National Osteoporosis Foundation. *Osteoporosis International* 27: 367– 376.
- Zaccardi F, Webb D, Yates T i in. (2016) Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: A 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal* 1084(92): 1-7.

9. Medyczne wykorzystanie kwasu hialuronowego

Medical use of hyaluronic acid

Ładniak Agata

Katedra Chemii Fizycznej, Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Opiekun naukowy: dr hab. Agnieszka Ewa Wiącek, prof. UMCS

Ładniak Agata: agata.gozdecka@poczta.umcs.lublin.pl

Słowa Kluczowe: biopolimer, hialuronian, medycyna, zastosowanie, przegląd

Streszczenie

Naturalny polimer jakim jest kwas hialuronowy (HA) jest od wielu lat jest przedmiotem zainteresowania wielu naukowców. Posiada on bardzo obiecujące właściwości (biokompatybilność, biodegradowalność i łatwość modyfikacji), dzięki czemu może być wykorzystany do wielu zastosowań klinicznych, np. inżynierii tkankowej, chirurgia oka, gojenia ran i dostarczania leków. To sprawiło, że firmy kosmetyczne i farmaceutyczne rywalizują w opracowywaniu coraz to nowszych produktów łączących kwas hialuronowy z innymi składnikami aktywnymi o równie ciekawych właściwościach. W związku z tym, że HA ma krótki okres półtrwania w skórze (ok. 12 godzin), jego aplikacja podskórna prowadzi do jego bardzo szybkiej degradacji. Jednakże istnieją metody wydłużenia działania kwasu hialuronowego, które polegają na zastosowaniu modyfikacji chemicznej bądź sieciowania. Poniższy artykuł przedstawia najnowsze doniesienia literaturowe dotyczące wykorzystania kwasu hialuronowego jako nośnika substancji biologicznie aktywnych, wstrzykiwalnych wypełniaczy, czy też substancji przyspieszających regenerację tkanek miękkich.

1. Wstęp

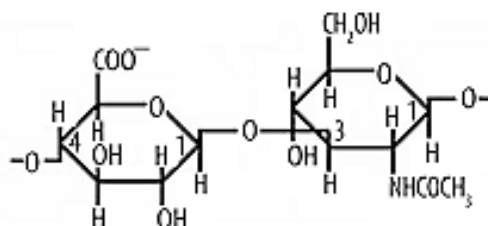
Polimery są substancjami, którymi wysoce zainteresowane jest środowisko medyczne szczególnie ze względu na jedną z właściwości fizykochemicznych jaka jest trwałość. Polimery syntetyczne pochodzą z syntezy chemicznej wykonywanej w warunkach laboratoryjnych, są jednak niechętnie wykorzystywane w tej dziedzinie życia ze względu na możliwość występowania zanieczyszczeń pochodzących od rozpuszczalników. Większym powodzeniem cieszą się polimery naturalne, które są jednym z podstawowych budulców organizmów żywych i są przez nie wytwarzane w 100 %. Ostatnio, dość popularnym i szeroko wykorzystywanym jest kwas hialuronowy (HA). Produkty zawierające kwas hialuronowy występują w wielu formach farmaceutycznych i stosowane są jako produkty lecznicze, wyroby medyczne oraz kosmetyki.

Pierwsze doniesienia literaturowe o HA pojawiły się w latach 30-tych ubiegłego wieku po tym, jak Meyer i Palmer w Nowym Jorku na Uniwersytecie Columbia po raz pierwszy wyizolowali jego cząsteczkę z ciała szklistego oka wołu (Stankiewicz i in. 2006). Jednakże jego struktura została opisana przez Meyer i Bernarda Wsissmana dopiero po wyizolowaniu go z pępowiny człowieka (Głowacki i in. 1995) i określona jako polisacharyd o nieskomplikowanej budowie złożony z dużych cząsteczek. Ponadto wywnioskowano, iż występuje on niemalże we wszystkich tkankach i płynach ustrojowych kręgowców. Natomiast jego pierwsza synteza *in vitro* miała miejsce w roku 1964 (Price i in. 2007).

Kwas hialuronowy występuje w postaci prostoliniowej makrocząsteczki złożonej z ok. 30 000 powtarzających się jednostek disacharydowych kwasu D-glukuronowego i N-acetylo-D-glukozaminy w stosunku 1:1 (Głowacki i in. 1995; Jackson i in. 1991), które są połączone wiązaniami glikozydowymi 1-3 i 1-4 ułożonymi naprzemiennie. W organizmie ludzkim najobficiej występuje w skórze – a dokładniej w macierzy międzykomórkowej skóry właściwej, gdzie wypełnia przestrzeń międzykomórkową oraz spełnia funkcję regulującą uwodnienie tkanek oraz ich nawilżenia, dzięki dużej aktywności osmotycznej, pozwalającej na wiązanie cząsteczek wody w ilościach znacznie przekraczających jego masę. Ponadto bierze udział w aktywności komórek układu

immunologicznego skóry, wspomagając proliferację i regenerację uszkodzonych komórek skóry (a tym samym gojenie się ran), a także działanie antyoksydacyjne.

W medycynie, kosmetologii i farmacji kwas hialuronowy dość często spotykany jest pod postacią polianionu, czyli hialuronianu sodu lub potasu (Rys. 1.) Jego struktura cząsteczkowa jest bardzo zbliżona pomiędzy gatunkami (Price i in. 2007). Hialuronian występujący w ustroju, różni się wielkością cząsteczek, która uwarunkowana jest długością łańcucha, a ta z kolei zależy od stężenia i miejsca występowania (Taylor i in. 2004)



Rys. 1. Wzór strukturalny hialuronianu (Olczyk i in. 2008).

Wykorzystanie kwasu hialuronowego w medycynie zapoczątkowano w 1961 roku podczas operacji odklejającej się siatkówki, gdzie stanowił on substytut ciała szklanego (Galus i in. 2006). Jednakże HA znajduje zastosowanie w wielu innych dziedzinach medycyny, m. in.: w dermatologii, reumatologii, stomatologii, laryngologii i chirurgii. Znany jest głównie jako składniki aktywny wielu kosmetyków o działaniu nawilżającym, ochronnym i przeciwstarzeniowym, w których występuje w czystej postaci, bądź pochodnych takich jak hialuronian sodu lub hialuronianu potasu. Przede wszystkim znaleźć go można w preparatach do pielęgnacji skóry, twarzy, szyi, skóry wokół oczu regulując elastyczność głównie poprzez odpowiednie nawilżenie, a także w kosmetykach do pielęgnacji ciała mających na celu redukcję cellulitu i rozstępów. Ponadto może być również wykorzystywany jako marker chorób reumatycznych, schorzeń wątroby oraz namnażania komórek nowotworowych. Poza tym stosowany jest w farmacji, gdzie przedłuża działanie leków o krótkim okresie półtrwania, oraz medycynie jako produkt wypełniający oraz regenerujący tkanki miękkie.

2. Opis zagadnienia

Naturalne polimery są bardzo cenne dla zastosowań medycznych, kosmetycznych czy farmaceutycznych. Jednakże, właściwości fizykochemiczne polimerów są złożonym zjawiskiem zależnym od oddziaływania wielu czynników. Głównymi parametrami wpływającymi na zachowanie polimerów jest rozmiar i kształt makrocząsteczki, jego masa cząsteczkowa (*MW*), lepkość, obecność i rodzaju sieciowania. Dlatego też, dość często wykorzystuje się naturalne polimery, ale sztucznie modyfikowane, w celu zmiany ich właściwości użytkowych, przy jednoczesnym zachowaniu pożądanej biokompatybilności substancji wyjściowej. Najczęściej wykorzystywaną metodą modyfikacji kwasu hialuronowego jest sieciowanie za pomocą epoksydów, aldehydów, sulfonów dwuwinylowych, co wpływa na zwiększenie lepkości i utrzymanie efektu wypełnienia tkanki do momentu całkowitej degradacji HA.

HA jest szeroko stosowany w dziedzinie kosmetologii, inżynierii tkankowej, a także w dostarczaniu leków. Dlatego też, naukowcy z zainteresowaniem poszukują i opracowują nowe systemy dostarczania HA dla różnych zastosowań. Ostatnim trendem jest opracowywanie produktów mających na uwadze aspekt nieinwazyjności ich stosowania jak najbardziej korzystnego dla pacjentów. W głównej mierze bierze się pod uwagę bezbolesność, przyjazność dla pacjenta i niskie koszty. Wśród nieinwazyjnych metod dostarczania substancji leczniczych możemy wyróżnić podawanie doustne, skórne i śluzówkowe. Poniższy przegląd literatury miał na celu przybliżenie ostatnich doniesień dotyczących wykorzystania kwasu hialuronowego jako substancji wypełniających i regenerujących tkanki miękkie, jak też nośników substancji biologicznie aktywnych.

3. Przegląd literatury

3.1 Wstrzykiwalne wypełniacze

Naturalnie hialuronian ma postać spirali o przypadkowych skrętach. Natomiast w roztworze wodnym, jako, że jest polielektrolitem - przyjmuje postać podwójnej, lewoskrętnej, sztywnej, stabilizowanej przez mostki wodorowe helisy, podczas gdy w środowisku zasolonym przesiewane ładunki przybierają postać rozszerzonej, losowej cewki. Struktura makrocząsteczki ma bardzo istotne znaczenie przy wytwarzaniu wstrzykiwalnych wypełniaczy zawierających nanocząstki lub biocząsteczki, ponieważ wpływa ona na właściwości lepkość-prężyste polimerów. Dlatego, też (Dodero i in. 2019) dokonali szczegółowej charakterystyki hydrodynamicznej i reologicznej roztworów HA w soli fizjologicznej, dla których badano zarówno masę cząsteczkową (*MW*), jak i zależność stężenia (*c*). Do badań wykorzystano hialuronian sodu o średniej masie cząsteczkowej 90 kDa, 1100 kDa, 1800 kDa i 4000 kDa otrzymany w wyniku fermentacji bakteryjnej. Weryfikację rzeczywistej konformacji przyjętej przez łańcuchy HA w płynie fizjologicznym oparli o pomiary dynamicznego rozpraszania światła (DLS). Ta popularna nieniszcząca technika optyczna szeroko stosowana do analizy rozkładu wielkości różnych systemów, pokazała że: (I) łańcuchy HA zachowują się jak losowe zwoje w soli fizjologicznej, co wywołane jest przesiewaniem ujemnych ładunków obecnych w szkieletcie polimerowym przez jony w roztworze, oraz (II) większe cewki zaczynają się nakładać na siebie przy niższym stężeniu polimeru. Natomiast badania mikroreologii DLS i tradycyjnej reometrii wykazały, że roztwory HA charakteryzują się zachowaniem podobnym do cieczy przy niskich częstotliwościach i zachowaniem podobnym do żelu przy wysokich częstotliwościach. Wraz ze wzrostem *MW* i *c* wykazywały one wyższe moduły i złożoną lepkość, w połączeniu z wyraźnym zachowaniem zmniejszania parametru ścinania. Potwierdza to początkowe założenia badaczy, iż nawet przy wysokiej *MW* i *c* możliwe jest skuteczne stosowanie tych systemów jako wstrzykiwalnych wypełniaczy.

Z kolei (Jooybar i in. 2019) wykazali, że połączenie korzystnych właściwości lizatu płytek krwi (PL) z hydrożelami koniugatu tyraminowego kwasu hialuronowego (HA-TA) *in situ* przez enzymatyczne sieciowanie może dać w efekcie cenne wstrzykiwalne hydrożele, które zwiększają regenerację tkanek poprzez wspomaganie aktywności komórkowej i indukcję chondrogenyzy. Przeanalizowano koniugaty HA-TA o stopniu podstawienia 20 ugrupowań TA na 100 jednostek disacharydowych i sieciowano w obecności peroksydazy chrzanowej i niskich stężeń nadtlenu wodoru, który z powodzeniem może być stosowany jako system dostarczania komórek do regeneracji chrząstki. Dowiedziono bowiem, że hydrożele HA-TA obciążone ludzkimi mezenchymalnymi komórkami macierzystymi powodowały wytwarzanie chrząstki, analogicznej jak w efekcie odkładania macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) *in vitro*. Równocześnie z pojawianiem się nowej ECM degradacji ulega żel, co ostatecznie prowadzi do utworzenia twardej gęstej matrycy.

Pozytywny wpływ na regenerację chrząstki stawowej odnotowali również (Wang i in. 2019), którzy skonstruowali rusztowanie kompozytowe fibroiny jedwabiu/kolagenu/kwasu hialuronowego (SF/COL/HA) o porowatej mikrostrukturze zawierającej mikrosfery polipeptydów poroża jeleni (PAP), poprzez domieszanie, sieciowanie i procesy liofilizacji. W wyniku przeprowadzonych badań wybrali odpowiedni stosunek masowy składników 3SF/6.5COL /0,5HA jako mający optymalne właściwości fizykochemiczne. Zarówno model zwierzęcy wad chrząstki stawowej rzepkowo-udowej królika, jak i analiza histologiczna pozwoliła na stwierdzenie, iż grupa PAP-3SF/6.5COL /0,5HA tworzyła grubsze nowe tkanki podobne do otaczającej normalnej tkanki chrzęstnej w obszarze ubytku - pojawiała się dobrze rozwinięta i zregenerowana chrząstka szklista charakteryzująca się regularną, gładką i prawidłowo upakowaną powierzchnią.

3.2 Regeneracja tkanek miękkich

(Asparuhova i in. 2019) zbadali efekt *in vitro* dwóch dostępnych w handlu preparatów HA pochodzenia niezwierzęcego (a) HA1 - natywny nieusieciowany HA o *MW* 2500 kDa; i (b) HA2, preparat zawierający kompleksy eteru diglicydylowego butanodiolu (BDDE), wiązane krzyżowo monomery 1000 kDa-HA i powyższą postać nieusieciowaną w stosunku 8:1, jako potencjalnych preparatów do zastosowania w chirurgii rekonstrukcyjnej przyzębia. Analiza została oparta

o zdolności proliferacyjne i migracyjne pierwotnych ludzkich podniebiennych i dziąsłowych fibroblastów, jako głównych typów komórek zaangażowanych w regenerację tkanek miękkich w jamie ustnej po leczeniu HA. Stwierdzono, że zarówno HA1, jak i HA2 stymulowały zwiększoną regulację czynników wzrostu związanych z gojeniem ran i cytokin w pierwotnych fibroblastach doustnych, z bardziej umiarkowanym wpływem na ekspresję cytokin prozapalnych w dziąsłach w porównaniu z fibroblastami podniebiennymi. Jednakże, nie zaobserwowano wyraźnej tendencji do różnicy skuteczności pomiędzy dwoma preparatami HA.

Z kolei (Li i in. 2019) ocenili skuteczność nowego usieciowanego żelu hialuronowego (NCH) w zmniejszaniu tworzenia zrostów wewnątrzmacicznych (IUA) po rozszerzeniu i łyżeczkowaniu endometrium (D&C). Do badania zakwalifikowano 300 pacjentek, z czego połowa stanowiła grupę kontrolną. Zastosowane w jamie macicy żele zapewniły mechaniczne rozluźnienie gojenia się tkanki w trakcie odrastania endometrium, oraz promowały gojenie bez blizn dzięki unikalnym właściwościom hialuronianu.

3.3 Nośniki dostarczania leków

Głównym aspektem badań (Laffleur i in. 2019) było otrzymanie wysokowydajnych systemów dostarczania leków opartych na hydrożelach z przeznaczeniem do dostarczania na śluzówkę. W tym celu naukowcy podjęli się chemicznej modyfikacji kwasu hialuronowego przy pomocy ligandu sulfhydrylowego estrem etylowym cysteiny (C), aby unieruchomić grupy sulfhydrylowe na polimerowym łańcuchu głównym. Wykonano szereg badań, m.in. test kolorymetryczny oparty na aktywności mitochondrialnej (MTT), który pozwolił na wykluczenie toksyczności związku. Z kolei, aby zbadać mukoadhezyjność przeprowadzono test reologiczny, który wykazał 2,2-krotny wzrost właściwości żelujących w przypadku HAC w porównaniu z HA. Zwiększona lepkość jest bardzo istotna dla wydłużonego dostarczania na błony śluzowe, zapewniając nie tylko kontakt warstwą śluzówki, ale także dłuższy czas przebywania w miejscu działania. Ponadto dokonano badania degradacji polimerów z wykorzystaniem enzymów takich, jak amylaza i lizozym, będących przedstawicielami płynów ustrojowych, w których wykazano, że HA był lepiej rozkładany niż HAC (11,5-krotnie przez amylazę i z 67,97 % przez lizozym).

Z kolei (Ramachandran i in. 2019) przeprowadzili badania immobilizacji kwasu hialuronowego z *Lactococcus lactis* (HAL) na politereftalanie etylenu (PET) pozwalające na poprawę biokompatybilności i uwalniania leku. W celu uzyskania stabilnej matrycy, unieruchomiono kowalencyjnie HAL na powierzchni zhydrolizowanej (hPET) przy zastosowaniu środka sieciującego powszechnie stosowanego do wytwarzania hydrożelu HA, tj. eteru diglicydylowego 1,4-butanodiolu (BDDE). Tak przygotowany układ wykorzystano do załadowania i dostarczenia leku. Jako modelowe leki do badań kinetyki obciążenia i uwalniania wykorzystano aspirynę i błękit metylenowy. Badania cytotoksyczności oparte o wpływ stężenia HAL na żywotność fibroblastów i komórek śródbłonna wykazały, że roztwory te są nietoksyczne dla obu linii komórkowych w badanych stężeniach (1,25 mg ml⁻¹, 2,5 mg ml⁻¹, 5 mg ml⁻¹). Po analizie danych profilometrii optycznej i z testów rozciągania, stwierdzono drastyczny wzrost chropowatości pokrytych powierzchni przy jednoczesnym zachowaniu właściwości mechanicznych. Zwiększona chropowatość, obecność hydroksylowych grup funkcyjnych a także pożądana hydrofilowość spowodowała także zwiększone przyleganie komórek śródbłonna do hPET. Jednakże, pomimo 52-krotnie większej chropowatości powierzchnie hPET-HAL wykazywały zbliżony poziom przylączenia komórek. Może to być wynikiem tworzenia się warstwy hydratacyjnej na tak wyraźnie hydrofilowych powierzchniach, która powoduje odpychanie przylegania komórek a naturalna właściwość kwasu hialuronowego będącego ligandem dla receptorów CD44 (receptor transbłonowy) pomaga w adhezji komórek śródbłonna. Ponadto przeprowadzono badania pęcznienia oraz degradacji matrycy, które są nieodzowne przy konstruowaniu tego typu materiałów. Folie HAL i hPET-HAL namoczone w soli fizjologicznej wykazywały odpowiednio 3,3 i 2-krotny wzrost masy w ciągu 1 godziny. Natomiast obrazy SEM potwierdziły stabilność macierzy HAL i zasugerowały, że większość HAL przylączonego na powierzchni hPET była kowalencyjnie usieciowana. Pęcznienie żelu HAL zgromadzonego na zmodyfikowanej powierzchni PET spowodowało uwolnienie obu leków modelowych, przy czym

nasylenie zostało osiągnięte po około 6 godzinach, natomiast całkowite uwolnienie aspiryny i błękitu metylenowego miało miejsce po upływie około 18 godzin.

Innym przykładem wykorzystania kwasu hialuronowego w systemach dostarczania są usieciowane mikrożele kwasu hialuronowego przeznaczone głównie dla rozpuszczalnych cząsteczek takich, jak peptydy (np. poli-L-lizyna (PLL)) oraz nie wykazujących żadnego powinowactwa do matrycy (insulina, Dextran) (Labie i in. 2019). W ramach eksperymentu skonstruowano układ zawierający PLL o dużej masie cząsteczkowej uwięziony w mikrożelu o wystarczająco małym rozmiarze oczek, aby zablokować jakąkolwiek wymianę molekularną między rdzeniem wewnętrznym a ośrodkiem zewnętrznym. Uwolnienie substancji następowało poprzez selektywną degradację enzymatyczną polipeptydu uszczelniającego, prezentując tym samym możliwość uwolnienia cząsteczek na żądanie. Koncepcja ta stanowi ogólną strategię blokowania leków hydrofilowych wewnątrz hydrofilowej matrycy biokompatybilnej.

4. Podsumowanie

Porównyując skład wchodzących na rynek produktów medycznych, kosmetycznych czy farmaceutycznych, zauważalnym trendem jest stosowanie naturalnych substancji. Najczęściej wykorzystywaną grupą materiałów są biopolimery, które nie tylko wchodzą w skład komórek, ale są także budulcem w obszarach międzykomórkowych. Ponadto substancje te zazwyczaj posiadają wiele grup funkcyjnych, dzięki czemu możliwa jest ich modyfikacja pozwalająca na maksymalne wykorzystanie ich cennych właściwości.

Dostępne w literaturze badania wykazują wysoki potencjał użyteczności naturalnych polimerów. Istnieje mnóstwo preparatów na bazie kwasu hialuronowego, które różnią się właściwościami zastosowanej substancji czynnej, takimi jak stężenie użytego hialuronianu sodu, jego masa cząsteczkowa, stopień lepkości i elastyczności, rodzaj usieciowania oraz objętość. Nieustanne badania nad właściwościami kwasu hialuronowego HA i jego różnymi modyfikacjami dowodzą o jego bezdyskusyjnym udziale w rozwoju nowoczesnej technologii dostarczania leków, inżynierii tkankowej, czy w preparatach, w których spełnia funkcję wypełniacza. Przeprowadzane są modyfikacje, które pozwalają na uzyskiwanie produktów spełniających większość wymagań stawianych w/w systemom takich jak ulepszona stabilność i wysoce pożądanymi swoistymi właściwościami produktów m.in. wysoką biokompatybilnością, biodegradowalnością, nieimmunogennością i wysokim potencjałem celowania.

5. Literatura

- Asparuhova MB, Kiryak D, Eliezer M i in. (2019) Activity of two hyaluronan preparations on primary human oral fibroblasts. *Journal of Periodontal Research* 54: 33–45.
- Dodero A, Williams R, Gagliardi S i in. (2019) A micro-rheological and rheological study of biopolymers solutions: Hyaluronic. *Carbohydrate Polymers* 203, 1: 349–355.
- Galus R, Antyszko M, Włodarski P (2006) Zastosowanie kwasu hialuronowego w medycynie klinicznej. *Polski Merkurusz Lekarski* 20(119): 606–608.
- Głowacki A, Koźma E, Olczyk K. i in. (1995) Glikozaminoglikany – struktura i funkcja. *Postępy Biochemii* 42 (2): 139–148.
- Jackson RL, Busch SJ, Cardin AD (1991) Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. *Physiological Reviews* 71 (2): 481–539.
- Jooybar E, Abbdekhodaie MJ, Alvi M i in. (2019) An injectable platelet lysate-hyaluronic acid hydrogel supports cellular activities and induces chondrogenesis of encapsulated mesenchymal stem cells. *Acta Biomaterialia* 83: 233–244.
- Labie H, Perro A, Lapeyre V i in. (2019) Sealing hyaluronic acid microgels with oppositely-charged polypeptides: A simple strategy for packaging hydrophilic drugs with on-demand release. *Journal of Colloid and Interface Science* 535: 16–27.
- Laffleur F, Netsomboon K, Erman L i in. (2019) Evaluation of modified hyaluronic acid in terms of rheology, enzymatic degradation and mucoadhesion. *International Journal of Biological Macromolecules* 123: 1204–1210.

- Li X, Wu L, Zhou Y i in. (2019) New Crosslinked Hyaluronan Gel for the Prevention of Intrauterine Adhesions after Dilation and Curettage in Patients with Delayed Miscarriage: A Prospective, Multicenter, Randomized, Controlled Trial. *Journal of Minimally Invasive Gynecology* 26(1): 94–99.
- Olczyk P., Komosińska-Vassev K, Winsz-Szczotka K i in. (2008) Hialuronian – struktura, metabolizm, funkcje i rola w procesach gojenia ran. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 62: 651–659.
- Price RD, Berry MG, Nasavaria HA (2007) Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* 60 (10): 1110–1119.
- Ramachandran B, Chakraborty S, Kannan R i in. (2019) Immobilization of hyaluronic acid from *Lactococcus lactis* on polyethylene terephthalate for improved biocompatibility and drug release. *Carbohydrate Polymers* 206: 132–140.
- Stankiewicz A, Wójcik E (2006) Zastosowanie pochodnych kwasu hialuronowego w okulistyce. *Ordynator leków* 6(1): 3–7.
- Taylor KR, Trowbridge JM, Rudisill JA et al. (2004) Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR4. *The Journal of Biological Chemistry* 279: 17079–17084.
- Wang J, Sun X, Zhang Z i in. (2019) Silk fibroin/collagen/hyaluronic acid scaffold incorporating pilose antler polypeptides microspheres for cartilage tissue engineering. *Materials Science & Engineering C* 94: 35–44.

10. Chitozan i ditlenek tytanu - obiecujące połączenie w kompozycie sztucznej skóry

Chitosan and titanium dioxide - a promising combination in artificial skin composite

Ładniak Agata

Katedra Chemii Fizycznej, Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Opiekun naukowy: dr hab. Agnieszka Ewa Wiącek, prof. UMCS

Ładniak Agata: agata.gozdecka@poczta.umcs.lublin.pl

Słowa Kluczowe: polisacharyd, tlenek, medycyna, biomateriały

Streszczenie

W ostatnich latach Rusztowania nanokompozytowe na bazie chitozanu zyskały szersze zastosowanie w medycynie w dziedzinie dostarczania leków, inżynierii tkankowej i procesach gojenia ran. Matryca chitozanowa zawierająca składniki nanometaliczne ma ogromny potencjał w dziedzinie opatrunków na rany ze względu na swoje właściwości przeciwbakteryjne. Chitozan otrzymuje się z deacetylacji grup aminowych w chitynie, która jest składnikiem egzoszkieletu morskich skorupiaków i niektórych grzybów. Produkty degradacji chityny i chitozanu mogą pomóc w regeneracji zranionego obszaru poprzez proliferację fibroblastów – komórek, będących najliczniejszymi komórkami tkanki łącznej właściwej. Chitozan i jego różne modyfikacje wykazują wrodzoną aktywność przeciwdrobnoustrojową ze względu na obecność specyficznych grup funkcyjnych, które można dodatkowo wzmocnić przez dodanie nanocząstek metalicznych. Ponadto jego specyficzna budowa kreuje łatwość modyfikacji, prowadząc do otrzymania folii, hydrożeli czy też rusztowań bez użycia toksycznych substancji chemicznych. Dodatkowo, wykazano możliwość jego działania synergistycznego z substancjami nieorganicznymi (w tym także z tlenkiem tytanu(IV)). Wiadomo, że nanocząstki TiO_2 nie przenikają poza warstwę rogową naskórka na nienaruszonej skórze, ale w uszkodzonej skórze penetracja znacznie zwiększa toksyczność układową, zatem byłoby korzystne dostarczanie nanocząstek w powłokach lub kapsułkowanie w rusztowaniach, co może przyczynić się do rozwoju produktów wykorzystujących cenne właściwości ditlenku tytanu.

1. Wstęp

Biomateriały mające zastosowanie w implantologii można podzielić na materiały polimerowe, metale, materiały ceramiczne oraz materiały kompozytowe. Ta klasyfikacja została stworzona w oparciu o rodzaj materiału, jego pochodzenie, właściwości fizykochemiczne i strukturalne. Ponadto powinny one wykazywać pewne cechy biologiczne decydujące o ich biokompatybilności, jak brak toksyczności oraz właściwości antygennych. O wykorzystaniu poszczególnych związków jako biomateriałów decydują ich właściwości mechaniczne, przede wszystkim stabilność kształtu, odporność mechaniczna i nieprzepuszczalność dla promieniowania. Właściwości fizykochemiczne materiału, takie jak chropowatość, mają szczególne znaczenie w pierwotnej fazie wszczepienia materiału co związane jest z interakcją płynów biologicznych z powierzchnią implantu, która wpływa a przebieg adsorpcji protein na wszczepionym materiale (Bigerelle i in. 2005). Natomiast siły jonowe oraz siły Van der Waalsa (Mayer i in. 2005) są istotne w kolejnej fazie, gdzie dochodzi do przyłączania zewnątrzkomórkowych białek macierzy, białek cytoszkieletu i błony komórkowej. Czyli wpływają na późniejszą odpowiedź komórkową, a tym samym regulują przebieg procesu migracji i różnicowania komórek, a dalej na adhezję i proliferację komórek.

Wszczep oddziałuje na otaczające tkanki poprzez swoją powierzchnię. Dlatego też, tak istotne jest określenie właściwości powierzchni biomateriałów, zarówno fizycznych, jak i chemicznych. Do tych pierwszych zaliczono chropowatość powierzchni, jej energię

powierzchniową oraz zwilżalność. Natomiast te drugie wiążą się ze składem chemicznym. Właściwości powierzchni wpływają również na zorientowanie komórek i ich ułożenie na powierzchni materiału. Przy czym dowiedziono, że preferują powierzchnię o stosunkowo nieuporządkowanej topografii (Hamilton i in. 2007).

Różnice w kompozycji materiałów determinują również takie parametry jak energia powierzchniowa, polarność, zwilżalność oraz potencjał zeta. Adhezja komórek zdecydowanie łatwiej przebiega na powierzchniach mających ładunek dodatni. Związane jest to z faktem, że molekule ulegające temu procesowi posiadają ładunek ujemny. Dodatnio naładowane grupy aminowe NH_4^+ sprzyjają więc adhezji komórek. Takie ugrupowanie można znaleźć m.in. w polisacharydach.

Ostatnio obiecującym związkiem w zastosowaniach biomedycznych wydaje się być chitozan, będący naturalnym biopolimerem. Posiada strukturę liniową składającą się z β (1,4) 2-amino-dezoksy-D-glukopiranozy. Charakteryzuje się obecnością ugrupowania aminowego zlokalizowanego na drugim atomie węgla w łańcuchu polisacharydowym oraz pierwszo- i drugorzędowymi grupami hydroksylowymi umiejscowionymi na atomach C3 i C6. To sprawiło, że chitozan w łatwy sposób może być modyfikowany, łączony z innymi monomerami, a także tworzyć nanokompozyty z nanometalami.

Przykładem substancji nieorganicznej, z którą chitozan może tworzyć stabilny kompozyt, oraz wykazywać z nim synergizm poszczególnych właściwości może być ditlenek tytanu (TiO_2). Cząstki dwutlenku tytanu TiO_2 , mają znaczącą aktywność przeciwbakteryjną i działają jako związek wzmacniający, potęgując wytrzymałość mechaniczną rusztowań w celu wspierania wzrostu komórek (Karthikeyan i in 2017). Jednakże, wykorzystanie nanocząstek metalicznych stwarza konieczność szczegółowej oceny cytotoksyczności z uwagi na obawy dotyczące możliwego wpływu na środowisko i zdrowie człowieka. Toksyczność nanocząstek wzrasta wraz ze zmniejszaniem ich wielkości ze względu na zwiększenie stosunku powierzchni do objętości, to z kolei promuje oddziaływanie atomów powierzchniowych lub cząsteczek ze środowiskiem zewnętrznym. Z drugiej strony cytotoksyczność nanokompozytów na bazie metalu może być zmniejszona przez wprowadzenie do odpowiednich biodegradowalnych matryc, jak na przykład wspomniany chitozan (Mohandas i in 2018).

2. Opis zagadnienia

Pomimo dostępności do szerokiej gamy biokompatybilnych polimerów i substancji nieorganicznych, najbardziej interesującym połączeniem do zastosowań biomedycznych wydaje się być kompozyt chitozan- TiO_2 . Z punktu widzenia chemicznego system ten może być interesujący do wykorzystania w inżynierii tkankowej. Zauważyło to wielu badaczy, którzy następnie podjęli się badań w celu jego dokładnej charakterystyki. Poniższy przegląd przedstawia doniesienia literaturowe dotyczące analizy w/w substancji jako potencjalnych kandydatów do zastosowania w substytutach sztucznej skóry.

3. Przegląd literatury

3.1 Właściwości chitozanu i ditlenku tytanu sprzyjające procesom biologicznym

Jak już wcześniej wspomniano topografia powierzchni wpływa na odpowiedź komórkową a w szczególności na adhezję komórek, ma wpływ na ułożenie komórek, proliferację, rozprzestrzenianie, ich żywotność, morfologię i różnicowanie. Ponadto odpowiednie połączenie porów wewnątrz materiału umożliwia efektywną wymianę substancji odżywczych z otaczającymi tkankami.

Właściwości strukturalne i morfologia

Behera i in. (Behera i in. 2017) scharakteryzowali właściwości powierzchniowe kompozytów chitozanu (Ch) z różną zawartością cząstek TiO_2 . Do przygotowania membran wykorzystali chitozan o masie cząsteczkowej (MW) 246 000 i stopniu deacetylacji (DD) 85% oraz komercyjnie dostępny proszek TiO_2 (0,25%, 0,50% i 0,75%, w/w). Do oceny morfologii zastosowali skaningowy mikroskop elektronowy (SEM). Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że

(i) cząstki TiO_2 z powodzeniem zostały wprowadzone do błon chitozanowych, (ii) ich rozmieszczenie było uzależnione od stężenia, (iii) otrzymane błony kompozytowe wykazywały strukturę porowatą, prowadząc do zwiększonej adhezji komórek. Ponadto chropowatość materiałów, która idzie w parze z wysoką porowatością, stwarza możliwość promowania procesu wrastania regenerowanej tkanki. Identyczne wnioski zostały wysunięte przez badaczy Peng i in. (Peng i in. 2008), przy czym do badań wykorzystali oni polimer różniący się parametrami, MW = 250 000 i DD = 93,5%, a także inne stężenie TiO_2 – 2%.

Obecność cząstek ditlenku tytanu w macierzy polisacharydowej potwierdziła także analiza strukturalna przeprowadzona w oparciu o spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) (Behera i in. 2017). Stwierdzono, że chitozan z TiO_2 oddziałuje za pomocą wiązań wodorowych, co w efekcie prowadzi do zwiększenia elastyczności kompozytów.

Z kolei Kumar (Kumar 2018) skonstruował rusztowania, do przygotowania których wykorzystano chitozan o niskiej masie cząsteczkowej i DD w zakresie 75-85%. Wykonane przez nich analizy, dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego (XRD) oraz FTIR, również potwierdzają obecność nanocząstek (ok. 4,5 nm) TiO_2 w sieci polimerowej. Natomiast obrazy z transmisyjnego mikroskopu elektronowego sugerowały, iż połączenie Ch i TiO_2 prowadzi do otrzymania stabilnego kompozytu, który utrzymywany jest poprzez oddziaływania elektrostatyczne i efekty steryczne. Z drugiej strony analiza SEM wykazała połączone, niejednorodne mikrostruktury porów (od 8 do 38 μm) w rusztowaniu próbki, których istnienie może być spowodowane tworzeniem się wiązań wodorowych między polimerem i nanocząstkami. Z racji, iż wielkość porów mięśni i skóry waha się w zakresie od 20 do 300 μm , wytworzone kompozyty mogą być bardzo istotne dla inżynierii tkankowej. Ponadto odnotował zwiększoną porowatość rusztowania po wprowadzeniu TiO_2 oraz wyznaczył doświadczalnie gęstość rusztowania Ch/ TiO_2 , która wynosiła 1,287 g cm^{-1} , co jest bardzo zbliżone do zakresu charakteryzującego tkanki miękkie: 1,01 – 1,06 g cm^{-1} .

Kolejnym ciekawym doniesieniem są badania wykonane przez Montaser'a i in. (Montaser i in. 2019), którzy usieciowali średniocząsteczkowy chitozan (MW = 152 000) przy pomocy aldehydu salicylowego (AS) (o różnych stosunkach objętościowych), po czym do układu wprowadzili różne naważki TiO_2 : 0,5, 0,1 i 1,5 g. Przyjmując założenia, że grupa aminowa chitozanu i grupa aldehydowa reagowały przez atak nukleofilowy tworząc grupę amidową, podczas gdy grupa hydroksylowa AS może reagować z inną grupą aminową innego łańcucha chitozanu poprzez oddziaływanie elektrostatyczne; oraz, że w obecności TiO_2 pojawia się tendencja do reagowania z nanocząsteczkami poprzez tworzenie kompleksu metalu, w wyniku wytworzenia wiązania koordynacyjnego. W ten sposób potwierdzono konformację strukturalną membran nanokompozytowych na podstawie charakterystycznych pików transmitancji widma w podczerwieni a także w analizie ATR, poprzez obserwację obniżenia intensywności pików pochodzących od grup acetylowych chitozanu, po wprowadzeniu cząstek TiO_2 . Otrzymanie takich wyników powiązano z kompleksowaniem jonów tytanu poprzez wiązanie koordynacyjne z grupą –OH z pierścienia glikozydowego.

Właściwości mechaniczne

Wiadomo, że odpowiednia elastyczność materiału jest istotna w okresie wzrostu komórek fibroblastów. Nie powinien on zbyt szybko ulegać rozerwaniu, ale też nie powinien być za sztywny, gdyż mógłby ulec pęknięciu bądź złamaniu. Najbardziej popularnym badaniem mającym na celu określenie właściwości mechanicznych matryc jest analiza polegająca na pomiarze wytrzymałości na rozciąganie oraz wydłużenie przy zerwaniu. Pomocne przy tego typu badaniach jest także określenie modułu sprężystości. Wymienione metody wykorzystali (Behera i in. 2017), co pozwoliło na stwierdzenie, iż włączenie cząstek ditlenku tytanu do matrycy chitozanowej prowadzi do wzrostu powyższych parametrów w porównaniu z kontrolą, a więc działa jak wzmocnienie mechaniczne wytworzonych kompozytów, przy jednoczesnym zachowaniu odpowiedniej dla tego typu materiałów, elastyczności. Bardzo podobne wnioski na podstawie przeprowadzonych badań wyciągnęli Montaser i in. (Montaser i in. 2019).

Biodegradacja

Biodegradowalność materiałów wykorzystywanych do wytwarzania kompozytów sztucznej skóry, również odgrywa bardzo ważną rolę, gdyż odpowiedni poziom degradacji pozwala uniknąć

odpowiedzi immunologicznej ze strony organizmu ludzkiego, umożliwiając jedynie narastanie nowej tkanki i usuwanie się w odpowiednim czasie. Z drugiej strony poprzez odpowiedni dobór stosunku składników można kontrolować szybkość biodegradowalności i dzięki temu znacząco wpływać na leczeniu *in situ*. M.in. powyższej analizie kompozytu chitozanowo-tlenkowego dokonali Peng i in. (Peng i in. 2008), którzy stwierdzili, że właściwości biodegradacji uległy poprawie po połączeniu TiO_2 (cząstki o wymiarze 20 - 60 nm) z chitozaniem (masa cząsteczkowa – 250 000, stopień deacetylacji 93,5%). Procent degradacji określono poprzez inkubację kompozytu z lizozymem ($1 \times 10^4 \text{ U mL}^{-1}$) w mieszaninie buforów: fosforanowego i cytrynowego (PCB) o stężeniu 0,09%, który wynosił ok. 3% po 3 dniach. Natomiast przy zastosowaniu takich samych warunków środowiskowych Kumar (Kumar 2018) otrzymał degradację na poziomie 12,24% po 7 dniach i 14,80% po 14 dniach.

Właściwości antybakteryjne

Patogeny najczęściej występujące i/lub zagrażające w przypadku wystąpienia ran skórnych *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*. Behera i in. (Behera i in. 2017) skupili się przede wszystkim na określeniu właściwości antybakteryjnych przeciwko *S. aureus*. Zastosowana metoda przesiewowa, pozwoliła na stwierdzenie, iż właściwości te są ściśle uzależnione od stężenia nanocząstek w matrycy chitozanowej – w miarę wzrostu ich stężenia, zwiększał się obszar inhibicji, prawdopodobnie przez występowanie efektu synergistycznego. Powszechnie wiadomo, że możliwość działania antybakteryjnego jest uzależniona od parametrów chitozanu takich jak: MW, DD jak też rodzaju patogenu. Z drugiej strony parametry te determinują równocześnie mechanizm jego działania. Zbyt duża masa cząsteczkowa powoduje adsorpcję polisacharydu na błonach komórkowych bakterii utrudniając tym samym dostęp do metabolitów, z kolei niskocząsteczkowy wiąże się z jej składnikami genetycznymi. Ponadto składniki membran bakteryjnych mogą oddziaływać elektrostatycznie z grupami aminowymi chitozanu, prowadząc tym samym do zaburzeń w integralności lub nawet do ich niekontrolowanej śmierci. Natomiast działanie tlenu polega głównie na produkcji reaktywnych form tlenu jak OH^- i O_2^{2-} , które niszczą błonę komórkową, lub wpływają na procesy biologiczne zachodzące wewnątrz.

Z drugiej strony Peng i in. (Peng i in. 2008) w swoich badaniach zauważyli efekt ekranowania działania antybakteryjnego TiO_2 procesu fotokatalizowanego przy zastosowaniu jego zbyt dużej dawki, dlatego też jako optymalny układ dla swoich badań wybrali ten charakteryzujący się stężeniem nanocząstek 0,2%, natomiast plateau wystąpiło przy 0,4%.

Z kolei Montaser i in. (Montaser i in. 2019) określili aktywność przeciwbakteryjną w odniesieniu do *Staphylococcus aureus* oraz *Pseudomonas aeruginosa* bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, które powszechnie występują na skórze i w zakażeniu rany. Do badań wykorzystali metodę CFU – powszechnie stosowaną do oceny jego aktywności przeciwbakteryjnej w porównaniu z bakteryjnym wzrostem kultur w tych samych warunkach. Wyniki wykazały całkowitą eliminację dwóch rodzajów bakterii. Po wnikliwej analizie otrzymanych danych, badacze zaproponowali trzy możliwe mechanizmy działania antybakteryjnego. Po pierwsze, może zachodzić oddziaływanie powierzchni jonowej powodujące wyciek komórek ściany. Po drugie przypuszczalnie dochodzi do hamowania syntezy mRNA i białka jako wynik przenikania chitozanu do jąder mikroorganizmów. Po trzecie, w wyniku adsorpcji materiału kompozytowego na powierzchni błony bakteryjnej tworzy się zewnętrzna bariera, występuje chelatowanie metali i blokowanie transportu składników odżywczych niezbędnych do wzrostu drobnoustrojów.

3.2 Badania potwierdzające skuteczność kompozytu Ch/ TiO_2 w układach biologicznych Analiza hodowli komórkowej z komórkami L929

W celu określenia oraz zbadania następujących procesów: proliferacji, stresu oksydacyjnego, a także cyklu komórkowego i apoptozy w mysich fibroblastach hodowanych na błonach kompozytowych z chitozanu i tlenku tytanu(IV), przeprowadzono badania hodowli komórkowej z komórkami L929. Na podstawie wykonanych analiz z wykorzystaniem różnorodnych metod udało się sformułować wiele cennych wniosków. Behera i in. (Behera i in. 2017) wykorzystali dość popularny w tego typu badaniach test MTT (oznaczenie punktu końcowego 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ilo)-2,5-difenyloctetrazolium) do potwierdzenia proliferacji i żywotności komórek L929 wysianych na błonach kompozytowych. W teście MTT ilość wytworzonego kryształu

formazanu jest proporcjonalna do liczby żywych komórek. Natomiast metodę cytometrii przepływowej zastosowali do analizy cyklu komórkowego i oceny apoptycznej śmierci komórek w fibroblastach L929.

Przygotowane błony wspierały szybką proliferację komórek L929, przy czym była ona ściśle zależna od stężenia TiO_2 . Zaobserwowano również, że proliferacja i żywotność komórek L929 wysianych na błonie Ch/TiO_2 (0,25%) była najwyższa wśród wszystkich przygotowanych błon kompozytowych. Wyższa proliferacja i żywotność komórek fibroblastów na błonach kompozytowych Ch/TiO_2 była prawdopodobnie spowodowana dostępnością większej powierzchni w porównaniu z pozostałymi układami.

U zwierząt w trakcie cyklu komórkowego komórka, która zakończyła fazę G1, zamiast wejść w fazę syntezy DNA (faza S - faza syntezy), może przejść w fazę spoczynku, czyli fazę G0. W tej ostatniej komórki przeprowadzają wszystkie reakcje metaboliczne, jednakże nie mogą ulegać podziałom. Ponadto charakteryzują się wówczas obniżonym tempem metabolizmu, mniejszą aktywnością transkrypcyjną. Przejście komórki do fazy spoczynku jest efektem niedostarczenia odpowiedniej ilości składników odżywczych, zakończenia procesu różnicowania komórki albo wykrycia rozległych uszkodzeń materiału genetycznego. Co ciekawe, faza G0/G1 została znacznie skrócona w przypadku komórek hodowanych na powierzchni membrany chitozanowej zawierającej 0,25% nanocząstek TiO_2 , wykazując najlepsze parametry spośród wszystkich przygotowanych błon (Behera i in. 2017). Ponadto najwyraźniej zwiększają się komórki fazy S, co sugeruje jej korzystny wpływ na progresję cyklu komórkowego komórek L929. Błona bez obecności nanometalu wyraźnie pozostawała w stanie spoczynku. Natomiast dodatek TiO_2 spowodował przełączenie cyklu komórkowego w celu zainicjowania postępu cyklu komórkowego i ostatecznie proliferacji komórek L929. Ponadto kompozyt ten wykazywał minimalne zmiany apoptotyczne w komórkach L929 (8,99%) wśród wszystkich badanych błon kompozytowych. Rozważania te doprowadziły do sformułowania ostatecznie wniosku ogólnego, że membrany kompozytowe chitozan/ TiO_2 są cytokompatybilne i nietoksyczne oraz promują proliferację i przeżycie komórek fibroblastów.

Analiza transkrypcji genów i badania cytotoksyczności

Behera i in. (Behera i in. 2017) porównali transkrypcyjną ekspresję genów markerowych związanych z fibroblastami (transformujący czynnik wzrostu beta ($\text{TGF-}\beta$), czynnik wzrostu fibroblastów-2 (FGF-2), kolagen typu I (COL1), homolog podobny do delta 1 (DLK1) i antygen jądrowy komórek proliferujących (PCNA)). Dane z reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR) wykazały, że ekspresja genów markerowych była na najwyższym poziomie w komórkach hodowanych na błonie chitozanowej zawierającej 0,25% TiO_2 , podczas gdy ekspresja tych genów markerowych była na najniższym poziomie w komórkach hodowanych na błonie nie zawierającej nanocząstek. Jednocześnie komórki L929 hodowane z czystym TiO_2 znacząco obniżały ekspresję genów markerowych fibroblastów. Co sugeruje, że włączenie obecności tlenu sprzyja szybkiej proliferacji fibroblastów i przyczynia się do skutecznego tworzenia macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM).

Z kolei badania cytotoksyczności przeprowadzone przez Kumara (Kumar 2018) potwierdziły biokompatybilność kompozytu, wykazując całkowitą nietoksyczność dla szeregu linii komórkowych fibroblastów. Komórki fibroblastów z powodzeniem hodowano na powierzchni rusztowań chitozan/ TiO_2 . Włączenie TiO_2 do biodegradowalnych rusztowań może zwiększyć wysiew komórek, a tym samym późniejszy wzrost tkanki.

Absorpcja wody i przepuszczalność tlenu

Procent pęcznienia odzwierciedla zdolność membrany do zatrzymywania cząsteczki wody w jej sieci. Peng i in. (Peng i in. 2008) wykazali, że wytworzone przez nich matryce chitozanolitkowe absorbują wodę na poziomie odpowiednim do zastosowań biomedycznych. Zdolność do pochłaniania cieczy uzależniona jest przede wszystkim od porowatości złożonej matrycy, im bardziej jest rozwinięta powierzchnia pod względem ilości porów, tym więcej płynów może „pochłonać”. Natomiast w przeprowadzonych badaniach przepuszczalność tlenu osiągnęła wartość $(8,64 \pm 1,44) \times 10^{-3} \text{ ml m}^{-2} \text{ dzień}^{-1}$, wskazując raczej na dobrą przepuszczalność sztucznej skóry. Jest to niezmiernie ważny parametr w przypadku klinicznych zastosowań sztucznej skóry.

4. Wnioski

Naturalne pochodzenie, biokompatybilny charakter oraz potencjalne właściwości powierzchniowe chitozanu i tlenku tytanu(IV) wspierają przyleganie, proliferację oraz poprawiają inżynierię tkankową, a także przypisuje się tym substancjom wpływ na poszczególne etapy gojenia ran. Tlenek tytanu ma charakter obojętny, więc połączenie chitozanu/TiO₂ może być dobrym substytutem dla inżynierii tkankowej. Ponadto wykazano, że membrana kompozytowa chitozan – TiO₂ indukuje ponowne tworzenie się nabłonka i sprzyja gojeniu się ran. Dodatkowo włączenie metalicznych nanocząstek do matrycy opartej na chitozanie pomaga w uzyskaniu trwałej aktywności przeciwdrobnoustrojowej proporcjonalnie do degradacji macierzy bez wpływu na żywotność normalnych komórek oraz działa jako układ wzmacniający, aby zapewnić wykrywalną wytrzymałość mechaniczną rusztowań w celu wspierania wzrostu komórek. Opisane w niniejszym przeglądzie badania podstawowe dowiodły, że membrany, kompozyty czy też rusztowania na bazie chitozanu i TiO₂ kwalifikują się do stosowania jako układy antybakteryjne, zwłaszcza w aplikacjach na podłoża i opatrunki na rany, które dodatkowo są ekonomiczne i wydajne. Jednakże, badania te muszą być nadal kontynuowane, aby zoptymalizować wielorakie parametry fizykochemiczne niezbędne w pełnej charakterystyce rusztowań jednocześnie bez uszczerbku dla biodegradowalności i toksyczności. Dlatego też bardzo pożądane jest wielodyscyplinarne podejście do wytwarzania nowych rusztowań o ulepszonych właściwościach.

5. Literatura

- Behera SS, Das U, Kumar i in. (2017) *International Journal of Biological Macromolecules* 98: 329–340
- Bigerelle M, Anselme K (2005) *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 72A: 36–46.
- Hamilton DW, Chehroudi B, Brunette DM (2007) *Biomaterials* 28: 2281–2293.
- Karthikeyan T, Nithya A., Jothivenkatachalam K (2017) *International Journal of Biological Kumar P* (2018) *International Journal of Biomaterials*, Article ID 6576157.
- Macromolecules* 104: 1762–1773.
- Meyer U, Büchter A, Wiesmann HP, Joos U, Jones DB (2005) *European Cell and Materials* 9: 39–49.
- Mohandas A, Deepthi S, Biswas R, Jayakumar R (2018) *Bioactive Materials* 3: 267–277
- Montaser AS, Wassel AR, Al-Shaye'a ON (2019) *International Journal of Biological Macromolecule* 124: 802-809.
- Peng CC, Yang MH, Chiu WT i in. (2008) *Macromolecular Bioscience* 8 316–327.

11. Nowe perspektywy zastosowania inhibitorów dipeptydylopeptydazy-IV w medycynie

New perspectives on the use of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in medicine

Łupina Małgorzata ⁽¹⁾, Filarowska Joanna ⁽¹⁾, Bielecka-Papierz Gabriela ⁽²⁾, Łopatyńska-Mazurek Małgorzata ⁽¹⁾, Grochecki Paweł ⁽¹⁾, Listos Joanna ⁽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

Promotor: dr hab. n. farm. Joanna Listos

Łupina Małgorzata: malgorzata.lupina@umlub.pl

Słowa kluczowe: hormony inkretynowe, cukrzyca, substancje uzależniające, choroby neurodegeneracyjne, diagnostyka

Streszczenie

Jedną z niedawno odkrytych grup są inhibitory dipeptydylopeptydazy-4 (DPP-4), tzw. gliptyny. Leki te hamując aktywność enzymu DPP-4 zwiększają stężenie endogennych inkretyn, tj. glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1), który odpowiada m.in. za poposiłkową stymulację produkcji insuliny. Obecnie, gliptyny mają zastosowanie kliniczne w leczeniu cukrzycy typu 2. Jednakże peptyd GLP-1 może wywierać inne, korzystne efekty farmakologiczne w ustroju. Dane literaturowe donoszą, że peptyd GLP-1 reguluje gospodarkę lipidową oraz wapniową, jest zaangażowany w procesy immunologiczne oraz zapalne. Ponadto wiadomo, że peptyd GLP-1 odpowiada za regulację apetytu, a także działanie nagradzające jedzenia. Ze względu na obecność receptorów dla GLP-1 w mózgu, dane literaturowe wskazują na działanie neuroprotektoryjne wspomnianych hormonów inkretynowych. Inhibitory DPP-4, jako modulatory peptydu GLP-1, są obiektem rosnącego zainteresowania ze względu na szerokie perspektywy wykorzystania ich w farmakoterapii różnych chorób. Plejotropowe właściwości GLP-1 sugerują, że inhibitory DPP-4 mogą być w przyszłości stosowane w farmakoterapii miażdżycy, osteoporozy przy współtowarzyszącej cukrzycy typu 2, dysfunkcji układu odpornościowego. Działanie farmakologiczne peptydu GLP-1 w obrębie ośrodkowego układu nerwowego wskazuje na potencjalne zastosowanie gliptyn w uzależnieniu, chorobie Alzheimera czy chorobie Parkinsona.

Niniejsza praca będzie stanowić omówienie potencjalnego wykorzystania wszechstronnego działania inhibitorów DPP-4 w wielu dziedzinach farmakoterapii.

1. Wstęp

Inkretyny są to tzw. hormony przewodu pokarmowego, do których zaliczane są glukozależny peptyd insulinotropowy (GIP) oraz glukagonopodobny peptyd-1 (GLP-1). Hormony te są produkowane w błonie śluzowej jelita cienkiego, pierwszy z nich w komórkach enteroendokrynnych typu K, drugi, silniej działający i bardziej znaczący, w komórkach enteroendokrynnych typu L. Stężenie hormonów inkretynowych wzrasta w organizmie w odpowiedzi na spożycie posiłku. Ciekawy jest fakt, że stężenie GLP-1 zwiększa się na długo przed pojawieniem się tego pokarmu w jelicie, co oznacza, że aktywacja komórek L następuje poprzez sygnał nerwowy. Hormony inkretynowe odpowiadają za korzystny wpływ na poziom glukozy we krwi poprzez oddziaływanie hormonów inkretynowych na receptory β wysp trzustkowych, a w konsekwencji prowadząc do poposiłkowej stymulacji produkcji insuliny. Endogenne inkretyny obniżają poziom syntezy glukagonu poprzez komórki α wysp trzustkowych, w ten sposób przyczyniając się także do normalizacji poziomu glikemii na czczo jak również do glikemii poposiłkowej. Ponadto wiadomo jest, że GLP-1 odpowiada także za stymulację namnażania i różnicowania β -komórek, hamowanie

ich apoptozy, a także warunkuje opóźnianie opróżnienia żołądka i redukcję spożywanego pokarmu (Karaca i in. 2009). Uważa się, że poposiłkowa produkcja insuliny od 50 do 70% zależna jest od działania GLP-1 i GIP. Niestety, wywierany efekt farmakologiczny hormonów przewodu pokarmowego jest krótki, mianowicie 1-2 min, ponieważ ulegają szybkiej inaktywacji przez enzym dipeptydylopeptydazę-4 (DPP-IV). Z tego względu GLP-1 i GIP nie mają zastosowania w medycynie. Wydłużenie działania farmakologicznego GLP-1 uzyskano poprzez zsyntetyzowanie jego analogów, które są odporne na działanie enzymu rozkładającego hormony inkretynowe, a także inhibitorów wspomnianego enzymu, czyli inhibitorów DPP-IV. Obie grupy leków wykorzystują fizjologiczny efekt hipoglikemizujący endogennych inkretyn i są obecnie stosowane w leczeniu cukrzycy typu 2. Pierwszym lekiem dopuszczonym do obrotu w 2005 roku wśród agonistów receptora dla GLP-1 był eksenatyd. Pozostałe leki należące do tej grupy to: liksysenatyd, liraglutyd, dulaglutyd, albiglutyd, taspoglutyd, semaglutyd. Najpowszechniejszym działaniem niepożądanym tych leków są zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego, tj.: nudności, wymioty, zaburzenia w wypróżnianiu. Dolegliwości te pojawiają się w początkowym okresie farmakoterapii, z czasem ich intensywność ulega osłabieniu. Poważniejszym działaniem niepożądanym jest ostre zapalenie trzustki. Ponadto niewątpliwą wadą analogów GLP-1 są bardzo wysokie koszty produkcji oraz konieczność ich podawania w postaci iniekcji podskórnych. Fakt ten był bodźcem do poszukiwania lepszej alternatywy tych leków, a w konsekwencji do otrzymania selektywnych inhibitorów enzymu DPP-IV w celu zahamowania degradacji endogennego peptydu GLP-1. Do inhibitorów DPP-IV należą: sitagliptyna, saksagliptyna, wildagliptyna, alogliptyna, linagliptyna. Niezwykle korzystną cechą inhibitorów DPP-IV jest wydzielanie insuliny w zależności od poziomu glukozy we krwi. Działanie to zmniejsza ryzyko wystąpienia hipoglikemii. Ponadto w porównaniu do starszych doustnych leków przeciwcukrzycowych, inhibitory DPP-IV powodują mniej działań niepożądanych ze strony przewodu pokarmowego, a także nie prowadzą do zwiększenia masy ciała. Najczęstsze działania niepożądane z tej grupy leków dotyczą bóli i zawrotów głowy, podniesionego ryzyka infekcji górnych dróg oddechowych. Są również doniesienia o wzroście liczby przypadków ostrego zapalenia trzustki a także incydentów sercowo-naczyniowych. Większość inhibitorów DPP-IV wydalane są z moczem, za wyjątkiem linagliptyny, która usuwana jest z organizmu wraz z żółcią oraz saksagliptyny, która jest eliminowana obiema drogami.

2. Opis zagadnienia

Plejotropowe działanie endogennych inkretyn oraz różnorodne rozmieszczenie receptorów dla GLP-1 sugeruje potencjalnie różnokierunkowe wykorzystanie inhibitorów DPP-IV w medycynie. Mianowicie, receptory dla GLP-1 ulegają ekspresji nie tylko w trzustce, ale także w nerkach, sercu, płucach, przewodzie pokarmowym, a także w komórkach mięśni gładkich naczyń, komórkach śródbłonna, makrofagach, ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), a także obwodowym układzie nerwowym. W mózgu receptory dla GLP-1 występują tylko na neuronach, nie zanotowano ich obecności na komórkach gębowych. Wszechstronne rozmieszczenie receptorów dla GLP-1 to wyjaśnienie dla pojawiających się doniesień naukowych wskazujących, że GLP-1, oprócz regulacji poziomu glukozy we krwi, może indukować działania farmakologiczne w innych narządach, także w obrębie struktur OUN. Jego obecność wykazano w tyłomózgowiu, głównie w neuronach jądra pasma samotnego, które dają projekcje do innych struktur mózgowia, m.in. podwzgórza (Larsen i in. 1997) stanowiąc jeden z kluczowych szlaków zaangażowanych w regulację pobierania pokarmów w OUN (Schick i in. 2003). Eksperymentalnie potwierdzono, że pobudzenie receptorów dla GLP-1 zmniejsza ilość pobieranego pokarmu, a także osłabia działanie nagradzające pokarmu (Dickson i in. 2012), co ściśle jest związane z obecnością receptorów dla GLP-1 w strukturach układu mezolimbicznego, tj. w jądrze półleżącym (NAc) i w obszarze brzusznej nakrywki (VTA). Jak wiadomo, układ mezolimbiczny stanowi neuroanatomiczne podłoże układu nagrody związanego z zachowaniami motywacyjnymi i pobieraniem pokarmu oraz ma istotny wpływ na działanie substancji uzależniających.

3. Przegląd literatury

Uzależnienie lekowe jest przewlekłą chorobą charakteryzującą się niekontrolowanym poszukiwaniem, przyjmowaniem substancji uzależniającej. Wskutek długotrwałego podawania substancji uzależniających (np. morfiny) rozwija się uzależnienie fizyczne, związane z powstawaniem zmian neuroadaptacyjnych na poziomie molekularnym i komórkowym w OUN. Pobudzenie struktur układu mezolimbicznego stymuluje wzrost stężenia dopaminy (DA) w NAc, co warunkuje odczuwanie przyjemności po podaniu substancji. Przeciwnie, pojawienie się objawów odstawiennych związanych ze spadkiem stężenia DA w NAc, manifestuje się jako anhedonia (za Listos i in. 2016). Dane literaturowe potwierdzają, że hormony inkretynowe są zaangażowane w działanie substancji uzależniających. Przykładowo aktywacja receptorów dla GLP-1 w układzie mezolimbicznym hamowała działanie nagradzające kokainy u myszy i amfetaminy u szczurów (Egecioglu i in. 2013). Natomiast myszy knock-out pozbawione receptorów dla GLP-1 wykazują nasilone działanie nagradzające oraz samopodawanie nikotyny (Tuesta i in. 2017). Doświadczalnie potwierdzono także, że analog GLP-1, eksenatyd, zmniejsza konsumpcję etanolu przez szczury preferujące alkohol (Davis i in. 2012). Udowodnione zaangażowanie analogów GLP-1 w działanie uzależniające różnych substancji oraz przeprowadzone przez nas doświadczenia (jeszcze nieopublikowane) sugerują, iż inhibitory enzymu DPP-4 również mogą odgrywać kluczową rolę w farmakoterapii uzależnień.

Poza zaangażowaniem inhibitorów enzymu DPP-IV w działanie substancji uzależniających, dowiedziono, iż wykazują one także działanie neuroprotektcyjne. Niedawno odkryto, że zaburzenie sygnalizacji insuliny w mózgu współwystępuje z chorobą neurodegeneracyjną, zwłaszcza z chorobą Alzheimera. Choroba Alzheimera przede wszystkim jako choroba otępienna charakteryzuje się zaburzeniami pamięci. Pacjent cierpiący na to zaburzenie nie jest zdolny do odtwarzania znanych informacji ani do przyswajania nowych wiadomości. Ponadto człowiek cierpiący na chorobę Alzheimera cierpi na zaburzenia mowy, słuchu, widzenia, a także ma trudność w wykonywaniu zamierzonych, wyuczonych czynności. Podłożem tej choroby jest duża ilość m.in. β -amyloidu w mózgu, który działa neurotoksycznie przyczyniając się do zaburzeń poznawczych u chorego. Dane literaturowe potwierdzają, że inhibitory enzymu DPP-IV, chronią komórki OUN przed uszkodzającym działaniem β -amyloidu oraz normalizują zaburzoną sygnalizację insuliny w mózgu (Chang i in. 2015). Działanie neuroprotektcyjne inhibitorów DPP-IV może mieć potencjalne zastosowanie w leczeniu choroby Parkinsona. Choroba Parkinsona rozwija się powoli i zazwyczaj pierwszym objawem jest drżenie jednej ręki. W miarę postępu procesu chorobotwórczego pojawia się niezgrabność ruchów wraz z osłabieniem ich koordynacji. Kolejno pojawiają się powolne ruchy oraz maskowata twarz. Molekularnym podłożem choroby Parkinsona są ubytki neuronów komórek dopaminergicznych w istocie czarnej śródmózgowia oraz obecność ciał Lewy'ego w sąsiadujących neuronach. Potwierdzono, że wspomniane zmiany w mózgu są poprzedzone apoptozą komórek i przewlekłą mikroglejozą, co sugeruje, że stan zapalny może przyczyniać się do rozwoju choroby Parkinsona. Jako, że istnieją doniesienia literaturowe o działaniu przeciwzapalnym mimetyków GLP-1 oraz o ich redukującej aktywności na stres oksydacyjny, oczekuje się, że stymulacja GLP-1 może poprawiać funkcje, które uległy zaburzeniu w chorobie Parkinsona. Przeprowadzone doświadczenia potwierdzają, że inhibitory DPP-IV poprawiają przekąźnictwo dopaminergiczne, co wskazuje na ich potencjalne zastosowanie w chorobie Parkinsona (Al-Badri i in. 2018). Farmakologiczne działanie przeciwzapalne inhibitorów DPP-IV może warunkować wykorzystanie tych leków w leczeniu stwardnienia rozsianego. Stwardnienie rozsiane objawia się wieloma zaburzeniami, m.in. są to zaburzenia czucia, widzenia, równowagi i koordynacji ruchu, a także objawia się niedowładem kończy, zaburzeniami emocjonalnymi czy zawrotami głowy. Stwardnienie rozsiane jest chorobą autoimmunologiczną. Za jej podłoże uważa się przewlekły stan zapalny istoty białej, który prowadzi do demielinizacji, a w konsekwencji do neurodegeneracji. Sugeruje się, że w stwardnieniu rozsianym uczestniczą głównie komórki TH1/Th17, które prowadzą do demielinizacji, a ich proliferacja jest hamowana przez inhibitory DPP-IV. Dodatkowo wykazano, że zahamowanie aktywności enzymu DPP-IV może hamować stan zapalny współwystępujący w stwardnieniu rozsianym (Al-Badri i in. 2018).

Jak widać, sugeruje się, że inhibitory DPP-IV mogą w przyszłości być stosowane w leczeniu chorób o podłożu zapalnym w ośrodkowym układzie nerwowym. Niemniej jednak są przesłanki, że mogą one być również stosowane w chorobach obwodowych indukowanych stanem zapalnym. Przykładem takiej choroby jest miażdżyca. Literatura donosi, że inhibitory DPP-IV wykazują działanie ochronne w miażdżycy poprzez zmniejszenie nacieku makrofagów w zmianach miażdżycowych, a także hamowanie ekspresji cząsteczek zapalnych (Lee i Jun 2016).

Jak już wspomniano, enzym DPP-IV bierze udział w aktywacji komórek T układu odpornościowego w chorobach autoimmunologicznych organizmu. Zaobserwowano, iż u pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi, tj. reumatoidalne zapalenie stawów czy przy odrzuceniu przeszczepu, enzym DPP-IV jest aktywny w obrębie zaognionych tkanek. Sugeruje to, zastosowanie inhibitorów DPP-IV w obwodowych chorobach o podłożu autoimmunologicznym (Ohnuma i in. 2008).

Dane literaturowe potwierdzają, że enzym DPP-IV ulega silnej ekspresji po aktywacji limfocytów T w drogach oskrzelowych. Sugeruje to, że DPP-IV ma udział w chorobach zapalnych dróg oddechowych. Eksperymenty przeprowadzone na zwierzętach potwierdzają, że inhibitory DPP-IV mają korzystny wpływ na zapobieganiu przebudowy dróg oddechowych w przebiegu astmy oskrzelowej oraz zapobiegają stanom zapalnym dróg oddechowych u astmatyków (Nader 2015).

Inhibitory DPP-IV ze względu na swoje przeciwzapalne działanie mogą być potencjalnymi lekami w farmakoterapii łuszczycy, która jest skórna chorobą przewlekłą i nawracającą, o podłożu zapalnym. Enzym DPP-IV ulega ekspresji na keratynocytach, a jego zwiększona aktywność obserwowana jest w przebiegu łuszczycy. Dane literaturowe potwierdzają, że inhibitory DPP-IV zmniejszają objawy kliniczne łuszczycy, a także zmniejszają poziom białka C-reaktywnego (CRP), które jest układowym markerem zapalenia (Lynch i in. 2016).

Przeciwzapalne działanie inhibitorów DPP-IV było badane pod kątem ich potencjalnego zastosowania w posocznicy. Wykazano, że inhibitory DPP-IV zmniejszają markery zapalne, tj. cyklooksygenazę, indukowaną syntazę NO oraz cząsteczkę adhezji komórkowej naczyń I (Steven 2015).

Ze względu na szeroką ekspresję enzymu DPP-IV istnieją przesłanki, że inhibitory DPP-IV mogłyby być stosowane w celach diagnostycznych, np. w zaburzeniach neuropsychiatrycznych i chorobach nowotworowych. Przykładowo, w przeprowadzonych doświadczeniach u osób z głęboką depresją zanotowano niski poziom enzymu DPP-IV w surowicy krwi. Fakt ten tłumaczony jest, że w odpowiedzi na stres psychiczny rozwija się stan zapalny, który prowadzi do zaburzeń układu immunologicznego (Maes i in. 1997). Natomiast zwiększoną aktywność enzymu rozkładającego endogenne inkretyny potwierdzono u osób cierpiących na zaburzenia odżywiania o podłożu psychicznym, takie jak anoreksja czy bulimia. Ciekawe jest, że pomimo niedożywienia, organizm pacjenta pozostawał immunokompetentny, a podwyższoną aktywność DPP-IV podaje się jako możliwe wyjaśnienie tego zjawiska (Hildebrandt i in. 1999). Wyniki te sugerują rozważenie DPP-IV jako potencjalnego markera diagnostycznego i/lub prognostycznego dla różnych zaburzeń neuropsychiatrycznych.

Z kolei w niektórych typach chorób nowotworowych zaobserwowano całkowitą utratę lub brak ekspresji DPP-IV w sąsiadujących komórkach względem komórek nowotworowych. Ponadto zaobserwowano mocne zaangażowanie DPP-IV w oddziaływaniach komórek nowotworowych z pozakomórkowymi składnikami macierzy. Interakcje te prowadzą do nasilenia procesów proliferacji i inwazji komórek nowotworowych stercza. Te wyniki sugerują, że enzym DPP-IV może pełnić funkcję biomarkera postępu choroby nowotworowej – w badaniach przesiewowych, w celu oceny skuteczności leczenia, w celu określenia stopnia zezłośliwienia (Jackiewicz i Katarzyńska, 2018).

Istnieją przesłanki, że inhibitory enzymu DPP-IV mają działanie kardioprotekcyjne, które mogłoby być wykorzystane w prewencji wtórnej zawału serca. Mianowicie, po zawale serca, metabolizm lipidów zmienia się w utlenianie węglowodanów. Początkowo ta zmiana ma charakter adaptacyjny, jednak ostatecznie prowadzi do rozwoju oporności na insulinę, co jest szkodliwe dla mięśnia sercowego. Pobudzenie receptorów dla GLP-1 poprawia insulinowrażliwość oraz wywołuje efekt kardioprotekcyjny poprzez ograniczenie rozprzestrzenienia się zawału, a także poprawienie

funkcji rozkurczowej lewej komory. Ponadto hormony inkretynowe pobudzając receptory dla peptydu GLP-1 pobudzają czynność skurczową mięśnia sercowego, co również może mieć korzystne efekty w niwelowaniu objawów niewydolności serca u osób cierpiących na cukrzycę typu II (Gupta 2012).

Kolejnym udokumentowanym działaniem inhibitorów enzymu DPP-IV jest działanie nefroprotekcjne. Przeprowadzone eksperymenty naukowe wykazały, że gliptyny poprawiają mikrokrażenie w nerkach, redukują albuminurię, a także zmniejszają zwłóknienia cewkowo-śródmiąższowe. Wspomniane działania inhibitorów dla DPP-IV sugeruje, że mogą być one korzystne w profilaktyce niewydolności nerek wywołanej przewlekłymi chorobami serca (Xu i in. 2018).

4. Podsumowanie

Jak przedstawiono powyżej, hormony inkretynowe charakteryzują się pleiotropowym działaniem ze względu na wszechstronne rozmieszczenie receptorów w organizmie człowieka. Jednak fakt, że wywierają krótkie działania farmakologiczne, sprawia, że hormony inkretynowe nie są stosowane w medycynie. Przyczyniło się to do zsyntetyzowania nowych związków, które oddziałują na układ inkretynowy, tj. analogów receptora dla GLP-1 oraz inhibitorów enzymu DPP-IV. Obecnie wspomniane leki są zarejestrowane jedynie do leczenia cukrzycy typu 2, jednak przywołane dane literaturowe wskazują na potencjalne zastosowanie inhibitorów enzymu DPP-IV nie tylko w celu normalizacji glikemii, ale również w wielu innych chorobach, m.in. w chorobach neurodegeneracyjnych, miażdżycy, łuszczycy czy astmie. W celu zarejestrowania wspomnianych farmaceutyków do leczenia innych jednostek chorobowych niż cukrzyca, konieczne jest przeprowadzenie dalszych doświadczeń oceniających skuteczność i bezpieczeństwo inhibitorów enzymu DPP-4 w danych zaburzeniach.

5. Literatura

- Al-Badri IG, Leggio GM, Musumeci G i in. (2018) Tackling dipeptidyl peptidase IV in neurological disorders. *Neural Regeneration Research* 13(1): 26-34.
- Davis JF, Schurdak JD, Magrisso IJ i in. (2012) Gastric bypass surgery attenuates ethanol consumption in ethanol-preferring rats. *Biological Psychiatry* 72: 354–360.
- Dickson SL, Shirazi RH, Hansson C i in. (2012). The glucagon-like peptide 1 (GLP-1) analogue, exendin-4, decreases the rewarding value of food: a new role for mesolimbic GLP-1 receptors. *The journal of Neuroscience: the official journal of the society of Neuroscience* 32(14): 4812-4820.
- Egecioglu E, Engel JA, Jerlhag E (2013) The Glucagon-Like Peptide 1 Analogue Exendin-4 Attenuates the Nicotine-Induced Locomotor Stimulation, Accumbal Dopamine Release, Conditioned Place Preference as well as the Expression of Locomotor Sensitization in Mice. *PLoS One* 8(7):e69010.
- Gupta V (2012) Pleiotropic effects of incretins. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* 16(1): S47-S56.
- Hildebrandt M, Rose M, Mayr C i in. (1999) Alterations in expression and in serum activity of dipeptidyl peptidase IV (DPP IV, CD26) in patients with hyporectic eating disorders. *Scandinavian Journal of Immunology* 50: 536-541.
- Jackiewicz A, Katarzyńska J (2018) Dipeptydylopeptydaza IV – atrakcyjny cel do opracowywania skutecznych strategii terapeutycznych i diagnostycznych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 72: 417-441.
- Karaca M, Magnan C, Kargar C (2009) Functional pancreatic beta-cell mass: involvement in type 2 diabetes and therapeutic intervention. *Diabetes & Metabolism* 35(2): 77–84.
- Kornelius E, Lin CL, Chang HH i in. (2015) DPP-4 Inhibitor Linagliptin Attenuates A β -induced Cytotoxicity through Activation of AMPK in Neuronal Cells. *CNS Neuroscience & therapeutics* 21(7): 549-557.

- Larsen PJ, Tang-Christensen M, Holst JJ (1997) Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neuroscience* 77: 257–270.
- Lee YS, Jun HS (2016) Anti-Inflammatory Effects of GLP-1-Based Therapies beyond Glucose Control. *Mediators of Inflammation* 2016: 3094642.
- Listos J, Baranowska-Bosiacka I, Wąsik A (2016) The adenosinergic system is involved in sensitization to morphine withdrawal signs in rats—neurochemical and molecular basis in dopaminergic system. *Psychopharmacology (Berl)* 233: 2383–2397.
- Lynch M, Ahern TB, Timoney I i in. (2016) Dipeptidyl eptidase-4 inhibition and narrow-band ultraviolet-B light in psoriasis (DINUP): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 17: 29.
- Maes M, De Meester I, Verkerk R i in. (1997) Lower serum dipeptidyl peptidase IV activity in treatment resistant major depression: Relationships with immune-inflammatory markers. *Psychoneuroendocrinology* 22: 65-78.
- Nader MA (2015) Inhibition of airway inflammation and remodeling by sitagliptin in murine chronic asthma. *International Immunopharmacology* 29(2): 761-769.
- Ohnuma K, Dang NH, Morimoto C. (2008) Revisiting an old acquaintance: CD26 and its molecular mechanisms in T cell function. *Trends in Immunology* 29: 295-301.
- Schick RR, Zimmermann JP, vorm Walde T i in. (2003) Peptides that regulate food intake: glucagon-like peptide 1-(7-36) amide acts at lateral and medial hypothalamic sites to suppress feeding in rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 284: R1427–R1435.
- Steven S, Hausding M, Kröller-Schön S (2015) Gliptin and GLP–1 analog treatment improves survival and vascular inflammation/dysfunction in animals with lipopolysaccharide– induced endotoxemia. *Basic Research in Cardiology* 110(2): 6.
- Tuesta LM, Chen Z, Duncan A i in. (2017) GLP-1 acts on habenular avoidance circuits to control nicotine intake. *Nature Neuroscience*. 20(5): 708-716.
- Xu J, Wang J, Cheng Y i in. (2018) Glucagon-like peptide-1 mediates the protective effect of the dipeptidyl peptidase IV Inhibitor on renal fibrosis via reducing the phenotypic conversion of renal microvascular cells in monocrotaline-treated rats. *BioMed Research International* 2018: 1864107.

12. Przegląd testów behawioralnych wykorzystywanych w farmakologii doświadczalnej

Review of behavioral tests used in experimental pharmacology

Łupina Małgorzata ⁽¹⁾, Filarowska Joanna ⁽¹⁾, Bielecka-Papierz Gabriela ⁽²⁾, Łopatyńska-Mazurek Małgorzata ⁽¹⁾, Grochecki Paweł ⁽¹⁾, Listos Joanna ⁽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

Promotor: dr hab. n. farm. Joanna Listos

Łupina Małgorzata: malgorzata.lupina@umlub.pl

Słowa kluczowe: farmakologia doświadczalna, testy behawioralne, zaburzenia depresyjne, zaburzenia pamięci, uzależnienia

Streszczenie

Farmakologia doświadczalna jest to dyscyplina naukowa zajmująca się opisem działania farmakologicznego leków, które zostało zbadane na modelach zwierzęcych. Obecnie eksperymenty przeprowadzane z użyciem zwierząt doświadczalnych realizowane są na całym świecie na różnych modelach badawczych. Odpowiednim modelem badawczym są zwierzęta szybko dojrzewające, o dużej płodności, tj. ryby Zebrafish (larwy oraz dorosłe osobniki), myszy (białe i czarne), chomiki syryjskie, szczury, króliki, świnki morskie, psy, koty. Badania naukowe są również wykonywane na bardziej zaawansowanych ewolucyjnie zwierzętach, m.in. na małpach. Przeprowadzenie doświadczeń z użyciem zwierząt umożliwia poszerzenie wiedzy m.in. w zakresie fizjologii, biochemii, neuropsychologii, embriologii organizmów żywych, co może mieć przełożenie na farmakoterapię ludzi. Wiele eksperymentów naukowych jest realizowanych w celu obserwacji wpływu różnorodnych substancji albo ich wzajemnej interakcji na zachowania zwierząt. Służą do tego testy behawioralne, w których można oceniać np. zachowanie lękowe, zaburzenia depresyjne, pamięć, działanie nagradzające wybranych substancji. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie różnorodnych testów behawioralnych stosowanych w neuropsychofarmakologii.

1. Wstęp

Farmakologia doświadczalna jest to dyscyplina naukowa zajmująca się badaniem działania farmakologicznego leków na zwierzętach. Stanowią one pierwszy etap badań mających na celu wprowadzenie leku na rynek, ponieważ modele zwierzęce stosunkowo precyzyjnie odzwierciedlają zaburzenia i choroby człowieka.

2. Opis zagadnienia

Obecnie eksperymenty przeprowadzane z użyciem zwierząt doświadczalnych realizowane są na całym świecie na różnych modelach badawczych. Odpowiednim modelem badawczym są zwierzęta szybko dojrzewające, o dużej płodności, tj. ryby Zebrafish (larwy oraz dorosłe osobniki), myszy (białe i czarne), chomiki syryjskie, szczury, króliki, świnki morskie, psy. Badania naukowe są również wykonywane na bardziej zaawansowanych ewolucyjnie zwierzętach, m.in. na małpach. Eksperymenty naukowe z farmakologii doświadczalnej są przeprowadzane w celu poszukiwania mechanizmów działania różnych substancji, badania ich wzajemnej interakcji oraz wpływu na zachowania zwierząt. Służą do tego liczne testy behawioralne, a jego wybór zależy od celu badań naukowych. We wspomnianych testach można oceniać różne zachowania (np. lękowe, depresyjne) będące reakcją na sygnały docierające z wnętrza organizmu lub ze środowiska

zewnętrznego. Testy behawioralne pozwalają nam oceniać również funkcje poznawcze tj. proces uczenia się i pamięci.

3. Przegląd literatury

Ze względu na rozpowszechnianie się zaburzeń depresyjnych wśród ludzi, zjawisko to często podlega ocenie w eksperymentach na zwierzętach. Określa się czy dane substancje farmakologiczne wywołują, nasilają bądź niwelują zachowania depresyjne. Najczęściej stosowanym testem behawioralnym, jest test wymuszonego pływania (ang. Forced Swim test). Doświadczenie polega na umieszczeniu zwierzęcia w zlewce z ciepłą wodą oraz obserwowaniu zachowania zwierzęcia przez ściśle określony czas, w sytuacji gdy zwierzę nie ma możliwości ucieczki. Początkowo, zwierzę wykonuje energiczne ruchy, a potem rezygnuje z dalszych prób, co odzwierciedla ludzkie poczucie rozpacz. Po określonym czasie, mierzony jest czas bezruchu (ang. immobility time), który jest miarą zachowań depresyjnych, w przeciwieństwie do aktywnego pływania zwierzęcia. Bezruch przyjęto za zachowanie, gdy zwierzę wykonuje tylko niezbędne ruchy do utrzymania głowy nad wodą (Porsolt i in. 1977). Test zawieszenia za ogon (ang. Tail Suspension test) jest oparty na tej samej zasadzie, co test wymuszonego pływania. Zasadniczą różnicą jest wyeliminowanie środowiska wodnego, które może zakłócać wyniki przeprowadzonych doświadczeń. Założeniem doświadczenia jest to, że zwierzę będzie próbowało uciec przed stresującą sytuacją. Gryzoń jest zawieszany za ogon 50 cm nad podłogą. Po upływie określonego czasu mierzony jest czas bezruchu myszy, kiedy biernie wisi, czyniąc tylko małe ruchy niezbędne do oddychania. Dłuższe fazy unieruchomienia są oznaką zachowania depresyjnego (Steru i in. 1985).

Niejednokrotnie, równoległe z zaburzeniami depresyjnymi badane są również zachowania lękowe zwierząt w kontekście wywoływania tych zaburzeń bądź ich leczenia różnymi substancjami farmakologicznymi. Wiele testów behawioralnych oceniających zachowania lękowe wykorzystuje konflikt pomiędzy preferencją zwierząt do ciemnych zamkniętych pomieszczeń aniżeli do otwartych, oświetlonych przestrzeni, a silnym pragnieniem eksploracji nowych miejsc. Są to m.in. test otwartego pola (ang. Open Field test), test podniesionego labiryntu (ang. Elevated Plus Maze test). Test otwartego pola przeprowadzany jest w boksach, których podłoga jest podzielona na 25 identycznych kwadratów. Podczas doświadczenia trwającego 20 minut oceniane jest wspinanie się zwierzęcia, jego aktywność eksploracyjna, mycie się, czas znieuchomienia, mikcja oraz defekacja (Hall i Ballachey i 1932). Kolejnym testem służącym do oceny zachowań lękowych jest test podniesionego labiryntu krzyżowego. Labirynt ten składa się z 4 prostopadłych względem siebie ramion z centralną strefą środkową (2 ramiona otwarte, 2 ramiona zamknięte). Aparatura znajduje się mniej więcej 50 cm nad podłogą. Zwierzę umieszczane jest w strefie centralnej, a następnie jest mierzona liczba wejść na ramiona otwarte oraz czas przebywania zwierzęcia na ramionach otwartych (Carobrez i in. 2005). Często stosowanym testem o prostych procedurach oceniającym zachowania lękowe jest test jasne/ciemne pudełko (Light/Dark Box test). Aparaturę stanowi pudełko składające się z dwóch komór (jasnej i ciemnej) między którymi jest przejście. Zwierzę jest umieszczane na otwartej przestrzeni. Badacz mierzy ile czasu zwierzę spędzi w każdym pomieszczeniu oraz liczbę przejść pomiędzy kompartmentami (Crawley i Goodwin, 1980). Następny test behawioralny badający zachowania lękowe o nieco odmiennym charakterze jest test hipertermii wywołanej stresem (Stress-Induced Hyperthermia test). Test ten wykorzystuje fakt, iż gryzonie w wyniku czynnika stresogennego, reagują podwyższoną temperaturą ciała. Doświadczenie polega na dwóch pomiarach temperatury w odbyticy w ciągu 10 minut, przed i po czynniku stresogennym. Z tym, że w niektórych doświadczeniach, naukowcy wykorzystują pierwszy pomiar w odbyticy jako czynnik stresogenny. Wzrost temperatury świadczy o reakcji lękowej na czynnik stresogenny (Borsini i in. 1989).

Poza oceną zachowań depresyjnych i lękowych, badanie funkcji poznawczych, które odpowiadają za zdolność danej osoby do przetwarzania myśli jest częstym tematem doświadczeń w farmakologii. Określenie funkcje poznawcze odnosi się głównie do takich obszarów związanych z myśleniem jak pamięć, zdolność do uczenia się nowych informacji, mowy, czytania ze zrozumieniem i komunikacji. Szlak przetwarzania informacji obejmuje: percepcję bodźca, selektywną uwagę, pamięć operacyjną oraz funkcje wykonawcze. Starzenie się, urazy czy niektóre

choroby, mogą spowodować utratę pamięci, niezdolność do przyswajania nowych pojęć i informacji, zmniejszenie zdolności komunikacyjnych z powodu zubożonej płynności słownej czy możliwości wykonania zaplanowanych działań. W naszej codziennej praktyce często spotykamy się z objawami z zakresu dysfunkcji poznawczych, które znacząco pogarszają funkcjonowanie chorego. Pamięć jest wciąż nie do końca poznaną funkcją poznawczą ludzkiego umysłu, która umożliwia zachowywanie i ponowne odtwarzanie informacji, doświadczeń, wrażeń zmysłowych czy skojarzeń (Sadowski 2012). Pamięć powstaje w wyniku procesu uczenia się. Uczenie się zwykle postrzegane jest jako zmiana zachowania, którego podstawą neuroanatomiczną są zmiany w obwodowym układzie nerwowym. Jest to możliwe dzięki zdolności tkanek nerwowych do tworzenia nowych połączeń, zjawisko to nazywa się plastyczność neuronalna. Poprzez naukę powstają zmiany w mózgu, czyli ślady pamięciowe, zwane engramami. Pamięć, jako funkcja poznawcza, w chorobach neurodegeneracyjnych ulega zaburzeniu, dlatego jest oceniana m.in. u pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera. Powszechnie wykorzystywanych jest wiele testów behawioralnych, które umożliwiają analizowanie różnych rodzajów pamięci na rozmaitych zwierzętach, m.in. w modelach neurodegeneracyjnych. Do najczęściej wybieranych testów behawioralnych w celu oceny pamięci zalicza się labirynt ramion promienistych (ang. Radial Arm Maze), labirynt Barnes'a (ang. Barnes maze), labirynt wodny Morrisa (ang. Morris Water maze) oraz labirynt Hebb-Williams (ang. Hebb-Williams maze). Jest również jeszcze kilka, mniej znanych testów oceniających pamięć, tj. test biernego unikania (ang. Passive Avoidance test), labirynt Y-kształtny (ang. Y-maze), test nowego obiektu (ang. Novel Object Recognition test). Powyższe testy behawioralne najczęściej przeprowadzane są na myszach i szczurach. Jako, że problematyka zaburzeń pamięci jest powszechna, a także niezwykle interesująca, wiele ośrodków naukowych przeprowadza wspomniane testy behawioralne w celu oceny wpływu różnych substancji chemicznych na procesy uczenia się i zapamiętywania zarówno w kontekście ich poprawiania jak i zaburzenia. Jednym z najpowszechniej stosowanych testów behawioralnych oceniających przestrzenną pamięć to labirynt wodny Morrisa. Doświadczenie przeprowadzane jest w basenie wypełnionym ciepłą wodą, której temperatura nie stanowi niedogodności dla zwierząt. Istotą eksperymentu jest hipoteza, że zwierzę przebywające w środowisku wodnym będzie szukał ucieczki, aktywnie pływając. Gryzonie umieszczone są w otwartym, okrągłym basenie i mają na celu odnalezienie ukrytej platformy ewakuacyjnej. Zwierzęta podczas treningów zapamiętują jej lokalizację wykorzystując przestrzenne wskazówki. Każdy kolejny pomiar, który ma tendencją spadkową w długości czasu poszukiwania platformy ewakuacyjnej, świadczy o prawidłowym funkcjonowaniu pamięci przestrzennej zwierzęcia (Morris 1984). Pamięć przestrzenna oceniana jest również w teście Barnes'a. Labirynt Barnes'a stanowi lepszą alternatywę labiryntu wodnego Morrisa, ponieważ jest wolny od zaburzeń związanych z wpływem umiejętności pływania i zachowań wodnych zwierząt na wyniki eksperymentu. Labirynt Barnes'a zbudowany jest z podwyższonej, okrągłej platformy składającej się z 19 (dla szczurów) lub 40 (dla myszy) otworów na obwodzie. Pod jednym z otworów znajduje się tunel ucieczkowy, pozostałe otwory są zaślepione. Bodźce dźwiękowo-światłowe oraz otwarta przestrzeń są sygnałami motywującymi do ucieczki. Podobnie jak w przypadku labiryntu Morrisa, w teście Barnes'a oceniany jest czas odnalezienia ucieczki. Oczekuje się, że przy prawidłowym uczeniu się i zapamiętywaniu, czas ucieczki zwierząt z każdą próbą będzie co raz krótszy ze względu na uczenie się i zapamiętywanie docelowego miejsca, jakim jest tunel ucieczki. Zapamiętywanie lokalizacji otworu ucieczki jest wspomagane przez wizualne wskazówki rozmieszczone wokół platformy (Barnes 1979). Labirynt ramion promienistych jest kolejnym testem behawioralnym, w którym oceniana jest przestrzenna pamięć roboczą. Labirynt zbudowany jest z ośmiu ramion, które odchodzą promieniście od centralnego miejsca. W jednym lub kilku ramionach labiryntu umieszczany jest pokarm, który stanowi nagrodę dla zwierzęcia pozbawionego jedzenia na określony czas przed eksperymentem. Zadaniem badanego zwierzęcia jest jak najszybsze odnalezienie pokarmu. Poprawne przeprowadzenie eksperymentu prowadzi do skrócenia czasu potrzebnego do odnalezienia pokarmu w wyniku prawidłowego funkcjonowania pamięci przestrzennej (Vorhess i Williams 2014). W wyniku połączenia dwóch wspomnianych powyżej testów, tj. labiryntu wodnego Morrisa i labiryntu ramion promienistych, powstał kolejny, trudniejszy test dla zwierząt oceniający pamięć przestrzenną, tj. wodny labirynt ramion promienistych. Labirynt jest ośmioramienny wypełniony

ciepłą wodą. W jednym z ramion umieszcza się platformę ucieczkową, która jest celem zwierzęcia. W doświadczeniu ocenia się czas poszukiwania platformy ucieczkowej. Z każdą kolejną próbą czas jej zlokalizowania powinien być co raz krótszy. Bodźcem motywującym zwierzę do działania jest środowisko wodne (Penley 2013). Stosunkowo rzadziej wykorzystywanym testem behawioralnym do badania pamięci przestrzennej jest labirynt Hebb-Williams'a. Aparatura wykorzystywana w tym teście stanowi labirynt o różnych stopniach trudności. U jego wejścia jest oznaczone miejsce startu (pudełko startowe), a na końcu labiryntu jest nagroda (pudełko docelowe). Oba pudełka znajdują się na przeciwnych końcach labiryntu. Na wewnętrznych ścianach labiryntu są umieszczone wizualne wskazówki. Zwierzę ma na celu zapamiętanie różnych konfiguracji labiryntu i jak najszybsze dotarcie do nagrody. Mierzona jest ilość błędów pełnionych podczas poszukiwania odpowiedniej drogi do miejsca docelowego oraz mierzony jest czas pokonania drogi od miejsca startowego do docelowego (Galsworthy i in. 2005). Różnorodność testów behawioralnych pozwala na ocenie również pamięci długotrwałej. Może być to m.in. test biernego unikania. Aparatura niezbędna do przeprowadzenia tego testu składa się z dwóch pomieszczeń, między którymi zwierzę ma swobodną możliwość eksploracji obu pomieszczeń, oraz z stymulatora elektronicznego, który stanowi źródło prądu. Jedno pomieszczenie (zaciemnione) ma podłogę z prądem elektrycznym, drugie pomieszczenie (oświetlone) ma podłogę nie dającą bodźców elektrycznych. Zwierzęta preferują zaciemnione miejsce, jednak w teście zwierzę uczy się unikania porażenia prądem elektrycznym (bodziec awersyjny) w zaciemnionym pomieszczeniu, wybierając strefę oświetloną. Podczas eksperymentu, zwierzę umieszczane jest w oświetlonym pomieszczeniu. W celu oceny rozwoju pamięci mierzony jest czas po jakim zwierzę przejdzie do zaciemnionego pomieszczenia, w którym doświadcza bodźców bólowych. W przypadku zaburzeń pamięci długotrwałej zwierzę szybciej przechodzi do zaciemnionej strefy w porównaniu do zwierząt z prawidłowo funkcjonującą pamięcią długotrwałą (Puzzo i in. 2014). Test Labirynt Y-kształtny oraz test rozpoznania nowego obiektu wykorzystują wrodzoną ciekawość zwierząt do interesowania się nowymi miejscami/przedmiotami. Test rozpoznania nowego obiektu jest często stosowanym testem behawioralnym badającym pamięć poznawczą ze względu na jego duże podobieństwo względem testów pamięciowych przeprowadzanych u ludzi. Zwierzę umieszczane jest w przezroczystym pudełku z dwoma podobnymi przedmiotami w celu zapoznania się z nimi. W kolejnej próbie jeden z znanych obiektów jest zastąpiony przez nowy. Mierząc czas interesowania się gryzonia nowym i starym obiektem, określa się wskaźnik rozpoznania w celu oceny pamięci zwierzęcia (Wang i in. 2017). Labirynt Y umożliwia zbadanie pamięci operacyjnej u zwierząt. Labirynt ten zbudowany jest z trzech identycznych ramion z wysokimi ścianami. W początkowej próbie, jedno ramie jest zamknięte, więc zwierzę eksploruje pozostałą część labiryntu. W kolejnej próbie wszystkie ramiona są otwarte i mierzona jest ilość wejść do znanego i nieznanego dla gryzonia ramiona oraz czas przebywania zwierząt w każdym z ramion (Conrad i in. 1997).

Ze względu na powszechny problem uzależnień w dzisiejszych czasach, niezwykle ważne jest też badanie działania nagradzającego różnych substancji farmakologicznych, co umożliwia nam przeprowadzenie testu warunkowej preferencji miejsca (ang. Conditioned Place Preference test). Aparatura składa się z trzech pomieszczeń. Na pomieszczenie środkowe składa się szara podłoga i ściany, jest oddzielone od pozostałych dwóch pomieszczeń za pomocą gilotynowych drzwi. Wygląd pozostałych dwóch pomieszczeń jest zmienny, ogólnie przyjęto zasadę, iż jedno z pomieszczeń ma ciemne ściany, a drugie białe ściany. Na początku eksperymentu bada się pierwotną preferencję zwierząt, do jednego z dwóch pomieszczeń (białego i czarnego). Zwierzęta, które nie wykazywały żadnej preferencji, czyli czas przebywania w obu pomieszczeniach był porównywalny, brane są do dalszego etapu doświadczenia. Następnie zwierzęta przy użyciu substancji o (potencjalnym) działaniu nagradzającym są warunkowane względem jednego z dwóch pomieszczeń, czyli zwierzę po otrzymaniu badanej substancji są umieszczane w jednym z dwóch pomieszczeń bez możliwości przejścia do innego kompartentu. Po kilku dniach warunkowania zwierzę jest wkładane do aparatury do środkowego pomieszczenia, ma możliwość swobodnej eksploracji całej aparatury i mierzony jest czas przebywania zwierzęcia w białym i czarnym pomieszczeniu (Nentwig i in. 2017).

Są znane także testy behawioralne przeprowadzane w celu oceny działania nocyceptywnego różnych substancji farmakologicznych, są to m.in. test gorącej płytki (ang. Hot Plate test), test

zanurzenia ogona (ang. Tail Immersion test). Test gorącej płytki polega na umieszczeniu zwierzęcia na metalowej płytce o temperaturze 55°C. Następnie oceniany jest czas pobytu myszy na ogrzewanej powierzchni do pierwszego polizania łap lub wysokoju (maksymalnie 60 s) (O'Callaghan i Holtzman 1975). Test zanurzenia ogona polega na umieszczeniu ogonów zwierząt w łaźni wodnej ogrzanej do 52°C. Mierzony jest czas po jakim zwierzę odruchowo wycofuje dystalną połowę ogona po zanurzeniu w wodzie (Janssen i in. 1963).

Spośród testów behawioralnych w farmakologii doświadczalnej powszechnie wykorzystywany jest również test aktywność lokomotoryczna (ang. Locomotor Activity test). Jest to jeden z nielicznych testów, który może oceniać wiele aspektów. Na przykład swobodna eksploracja klatek służących do pomiaru aktywności lokomotorycznej może świadczyć o działaniu pobudzającym różnych substancji farmakologicznych, a także o działaniu przeciwlękowym umożliwiającym zwierzętom intensywne badanie nowego terenu. Nasiloną aktywność lokomotoryczną może również wskazywać na rozwój uzależnienia, która jest odzwierciedleniem dla zachowań poszukiwawczych substancji uzależniającej. Aparatura, która służy do przeprowadzenia testu aktywności lokomotorycznej, to kwadratowe klatki wyposażone w czułe fotokomórki, które umożliwiają zliczenie ruchów zwierząt podczas eksperymentu. Ruchy mogą być horyzontalne, wertykalne oraz ambulatoryjne. Niezwykle ważne jest przeprowadzanie tego testu o stałej porze dnia, ponieważ przykładowo poranna aktywność lokomotoryczna może różnić się od wieczornej (Ruzza i in. 2015). Szereg doświadczeń behawioralnych przeprowadzanych jest w celu oceny zaburzenia koordynacji ruchowej zwierząt w teście pręta obrotowego (ang. Rota-rod test) czy w teście kominu (ang. Chimney test). W pierwszym z wspomnianych testów, aparaturę stanowi pręt, który ma różną średnicę i obraca się z różną prędkością, np. 6, 18 lub 24 obroty/min. Wskazane parametry różnią się w zależności od użytych zwierząt w doświadczeniu. Są również rozmaite metodyki do przeprowadzenia tego testu. Jedną z nich polega na tym, że zwierzę umieszczane jest na pręcie na okres 3 min. Jeśli zwierzę spadnie z pręta, jest ono na nim ponownie umieszczane. W innej, zwierzę jest umieszczane na pręcie i obserwowane do pierwszego upadku. Krótki czas przebywania zwierzęcia na pręcie świadczy o zaburzeniach koordynacji ruchowej (Vogel i Vogel, 1997). Z kolei test kominu służy nie tylko do oceny zaburzeń koordynacyjnych, ale także działania miorelaksacyjnego leków. Komin stanowi plastikowa rurka o długości i średnicy wewnętrznej różnej, w zależności od użytego modelu zwierzęcego. Zwierzę ma na celu wspiąć się do tyłu po rurce. Upośledzenie ruchowe oceniano poprzez pomiar długości czasu spędzonego w kominie, jednak nie dłużej niż 60 sekund (Boisser i in. 1960).

4. Podsumowanie

Przedstawione powyżej testy behawioralne umożliwiają zbadanie szeregu substancji farmakologicznych, w tym ocenę ich działań niepożądanych, interakcji z innymi przyjmowanymi lekami czy skuteczności w konkretnych schorzeniach organizmu. Przeprowadzanie eksperymentów naukowych na modelach zwierzęcych odgrywa kluczową rolę w poszerzaniu i doskonaleniu wiedzy medycznej w zakresie mechanizmu działania różnych substancji, wywieranego przez nich działania farmakologicznego oraz działań niepożądanych a także interakcji z innymi lekami.

5. Literatura

- Barnes CA (1979) Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of comparative and physiological psychology*. 93(1): 74-104.
- Boisser JR, Tardy J, Diverres JC (1960) Une nouvelle simple methode pour explorer l'action "tranquillisante": le test de la cheminée. *Medicina experimentalis : International journal of experimental medicine* 3: 81-84.
- Borsini F, Lecci A, Volterra G i in. (1989) A model to measure anticipatory anxiety in mice? *Psychopharmacology (Berl)*. 98: 207-211.
- Carobrez AP, Bertoglio LJ (2005) Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 29(8): 1193-1205.

- Conrad CD, Lupien SJ, Thanasoulis LC i in. (1997) The effects of type I and type II corticosteroid receptor agonists on exploratory behavior and spatial memory in the Y-maze. *Brain Research* 759(1): 76–83.
- Crawley J, Goodwin FK (1980) Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 13: 167–170.
- Galsworthy MJ, Paya-Cano JL, Liu L i in. (2005) Assessing reliability, heritability and general cognitive ability in a battery of cognitive tasks for laboratory mice. *Behavior Genetics* 35(5): 675-692.
- Hall C, Ballachey EL (1932) A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology. *University of California Publications in Psychology* 6: 1–12.
- Janssen PA, Niemegeers CJ, Dony JG (1963) The inhibitory effect of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawal reflex in rats. *Arzneimittelforschung* 13: 502-507.
- Morris R (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods*. 11: 47-60.
- Nentwig TB, Myers KP, Grisel JE (2017) Initial subjective reward to alcohol in Sprague-Dawley rats. *Alcohol* 58: 19-22.
- O'Callaghan JP, Holtzman SG (1975) Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 192(3): 497-505.
- Penley S, Gaudet C, Threlkeld S (2013) Use of an Eight-arm Radial Water Maze to Assess Working and Reference Memory Following Neonatal Brain Injury. *Journal of Visualized Experiments* (82): 50940.
- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfare M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266: 730–732.
- Puzzo D, Lee L, Palmeri A (2014) Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: practical considerations and guidelines. *Biochemical Pharmacology* 88(4): 450-467.
- Ruzza C, Rizzi A, Malfacini D (2015) In vitro and in vivo pharmacological characterization of a neuropeptide S tetrabranch derivative. *Pharmacology research and perspectives* 3(1): 1-10.
- Sadowski B (2012) *Biologiczne mechanizmy zachowania się ludzi i zwierząt*. Polskie Wydawnictwo Naukowe. Warszawa.
- Steru L, Chermat R, Thierry B i in. (1985) The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology* 85: 367–370.
- Vogel HG, Vogel WH (1997) Psychotropic and neurotropic activity. In: *Drug discovery and evaluation. Pharmacological assays*. Ed. Vogel HG, Vogel WH. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 204–213.
- Vorhess C, Williams M (2014) Assessing Spatial Learning and Memory in Rodents. *Institute of Laboratory Animal Resources Journal* 55(2): 310-332.
- Wang K, Lu JM, Xing ZH i in. (2017) Effect of 1.8 GHz radiofrequency electromagnetic radiation on novel object associative recognition memory in mice. *Scientific Reports* 7: 44521.

13. Fukoidyna – lecznicze panaceum z głębi oceanu

Fucoidan – panacea from the depths of the ocean

Matusiak Jakub

Zakład Radiochemii i Chemii Koloidów, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Opiekun naukowy: dr hab. Elżbieta Grządka

Matusiak Jakub: jcb.matusiak@gmail.com

Słowa Kluczowe: glony, polisacharydy, leki, suplementy

Streszczenie

Fukoidyna to naturalnie występujący polisacharyd pozyskiwany głównie z brązowych glonów morskich. Posiada ona szereg niezwykłych właściwości leczniczych, do których zalicza się m.in. właściwości przeciwzapalne, przeciwwirusowe, antyoksydacyjne, przeciwzakrzepowe oraz antynowotworowe. Ponadto, fukoidyna jest powszechnie stosowana w inżynierii tkankowej do produkcji biomateriałów mających zastosowanie w leczeniu ubytków kostnych w organizmie człowieka. Celem niniejszego opracowania jest przedstawienie bioaktywnych właściwości fukoidyny oraz możliwości ich potencjalnego zastosowania w medycynie i farmacji.

1. Wstęp

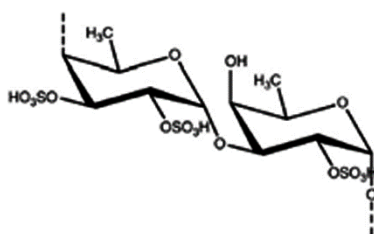
Obserwowany na przestrzeni ostatnich lat rozwój nauki i różnorodnych technik badawczych umożliwił poszukiwanie coraz to nowych substancji o potencjalnie leczniczych właściwościach. Pomimo faktu, że wielka część tych substancji była znana ludzkości od dawna, bardzo często nie istniały odpowiednie techniki ich izolacji np. z surowców roślinnych. Widomym jest, że rośliny w dalszym ciągu pozostają naturalnym rezerwuarem substancji bioaktywnych. Bardzo cenną grupą organizmów stanowiącą znakomite źródło naturalnie występujących substancji o właściwościach leczniczych są glony morskie. Dostarczają one człowiekowi nie tylko wspomnianych substancji aktywnych, ale są również bogate w mikro i makroelementy oraz substancje żelujące powszechnie wykorzystywane w przemyśle spożywczym, kosmetycznym i farmaceutycznym.

2. Opis zagadnienia i przegląd literaturowy

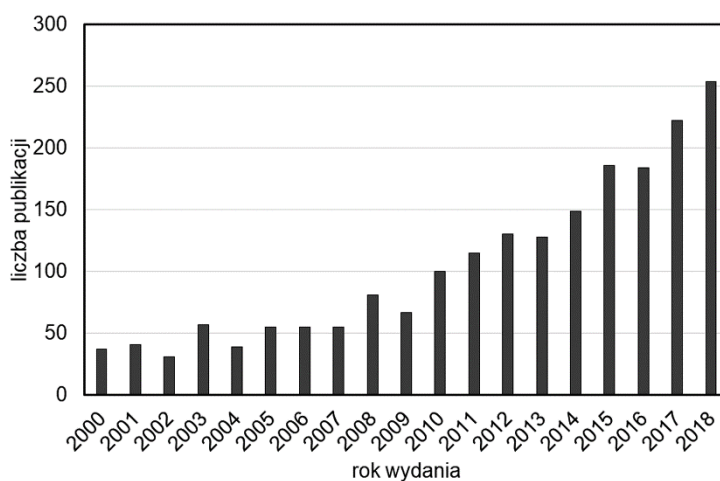
Celem niniejszego opracowania jest przedstawienie jednej z coraz bardziej popularnych substancji pochodzenia naturalnego – fukoidyny – pod względem jej właściwości oraz zastosowania w różnych dziedzinach nauki i przemysłu. Fukoidyna należy do grupy fukanów, czyli naturalnych sulfonowanych polisacharydów pozyskiwanych głównie z glonów morskich, jeżowców czy szkarłupni. Najlepiej poznanym źródłem fukoidyny są zdecydowanie brązowe algi np. morskocyn pęcherzykowaty, listownica japońska czy undaria pierzastodzielna. W swojej strukturze fukoidyna zawiera podjednostki fukozy bogate w grupy SO_3^- podstawione zazwyczaj w pozycji C-2, C-3 lub 4 (Rys. 1).

Po raz pierwszy fukoidyna została opisana w 1913 roku przez szwedzkiego profesora Johana Haraldra Kylina (Ale i in. 2011). W zależności od źródła pochodzenia w skład łańcucha fukoidyny mogą wchodzić również inne cukry, takie jak mannoza, galaktoza, glukoza czy ksyloza. Z tego właśnie powodu fukoidyna zaliczana jest do grupy heteropolisacharydów (Li i in. 2008). Ze względu na budowę łańcucha polimerowego wyróżnia się jej dwa rodzaje: F oraz U. F-fukoidyna to najczęściej występująca forma tego polisacharydu zbudowana z sulfonowanych estrów L-fukozy. Zdecydowanie rzadziej występująca formą jest U-fukoidyna. Jej struktura jest podobna do formy F, natomiast wyróżnia ją zawartość ok. 20% kwasu glukuronowego (Morya i in. 2012). Nieregularność budowy tego polisacharydu nastęrcza pewnych problemów związanych z jego właściwościami leczniczymi. Ze względu na fakt, że czynniki takie jak źródło pozyskania substancji czy okres i warunki wegetacji

glonów mają ogromny wpływ na właściwości bioaktywne fukoidyny od czasu jej wynalezienia prowadzone są intensywne badania mające na celu zbadanie ich wpływu na potencjał leczniczy tej substancji. Opierając się na najnowszych danych bazy Web of Science, od roku 2000 obserwuje się ciągły wzrost liczby publikacji dotyczących fukoidyny (Rys. 2).



Rys.1. Struktura łańcucha fukoidyny (Senthilkumar i in. 2017).



Rys. 2. Liczba publikacji dotyczących fukoidyny w latach 2000-2018; opracowanie własne na podstawie bazy Web of Science, lipiec 2019 r.

Rosnące zainteresowanie fukoidyna zawdzięcza swoim niezwykłym właściwościom. Są to m.in. właściwości przeciwzakrzepowe, przeciwwirusowe, antynowotworowe, antyoksydacyjne, przeciwhiperlipidemiczne i przeciwzapalne (Li i in. 2008). Ze względu na swoje naturalne pochodzenie oraz biogodność fukoidyna może znajdować zastosowanie w wielu dziedzinach nauki i przemysłu. Jedną z najbardziej obiecujących gałęzi jest przemysł medyczny i farmaceutyczny.

2.1 Inżynieria tkankowa

Podstawowym założeniem inżynierii tkankowej jest wykorzystanie wiedzy medycznej do wytwarzania materiałów mogących z powodzeniem zastąpić uszkodzone tkanki organizmu człowieka. Prowadzone badania wskazują, że fukoidyna może być z powodzeniem stosowana w materiał regeneracyjny oraz zwiększający biogodność materiałów stosowanych m.in. jako syntetyczny substytut kości (Senthilkumar i in. 2017). Niskocząsteczkowa fukoidyna stanowi naturalny odpowiednik proteoglikanów oraz glikoprotein będących składnikami macierzy komórkowej kości. Ponadto, hydrożele polimerowe na bazie fukoidyny mogą zostać wykorzystane w hodowli komórek śródbłonna do celów medycznych (Senthilkumar i in. 2017). Dostępne są również doniesienia literaturowe opisujące wytwarzanie kompozytów fukoidyny m.in. z hydroksyapatytem oraz kwasem hialuronowym. Substancje te są naturalnymi składnikami kości dlatego też prowadzone badania posiadają ogromne znaczenie w zakresie regeneracji tkanek (Senthilkumar i in. 2017). Kolejną pożądaną w inżynierii tkankowej cechą fukoidyny jest jej zdolność do hamowania różnicowania osteoklastów, czyli komórek zdolnych do rozkładu tkanki kostnej. Dlatego też, tworzone na bazie fukoidyny rusztowania stanowiące podporę dla nowopowstających tkanek są trwałe i nie ulegają naturalnej degradacji (Fitton i in. 2015). Co więcej, w połączeniu z innymi składnikami takimi jak np. polikaprolakton fukoidyna może brać bezpośredni udział w procesie mineralizacji. Kolejnym ciekawym zastosowaniem fukoidyny w procesie wytwarzania tkanek jest wytworzenie rusztowania wspierającego różnicujące się komórki mięśnia sercowego (Hamidi i in. 2014).

2.2 Właściwości przeciwzakrzepowe

Pierwsze prace dotyczące właściwości przeciwzakrzepowych fukoidyny pojawiły się w latach 50 XX wieku (Ale i in. 2011). Prowadzone na przestrzeni lat badania potwierdziły, że fukoidyna faktycznie posiada właściwości przeciwzakrzepowe. Jednakże, mechanizm jej działania nie został dokładnie wyjaśniony. Postulowano, że to liczba grup sulfonowych oraz skład podjednostek monosacharydów w łańcuchu polimerowym mają wpływ na właściwości fukoidyny (Ale i in. 2011). Dowiedziono, że mechanizm działania fukoidyny jako leku przeciwzakrzepowego może opierać się na inhibicji trombiny oraz czynnika X w procesie krzepnięcia krwi (Wang i in. 2019).

2.3 Właściwości przeciwwirusowe

Prowadzone na przestrzeni lat badania potwierdziły właściwości przeciwwirusowe fukoidyny oraz innych polisacharydów zawierające grupy bogate w siarkę. Należy podkreślić, że fukoidyna nie posiada bezpośrednich właściwości wirusobójczych, a raczej zapobiega ona infekcjom poprzez blokowanie odpowiednich receptorów oraz udział w procesie replikacji wirusa (Fitton 2011). Badania in-vitro prowadzone przez meksykańskich naukowców wykazały działanie przeciwwirusowe fukoidyny przeciwko wirusowi NDV (rzekomy pomór drobiu). Zaobserwowano 48% spadek zarażenia zdrowych komórek wirusem NDV (Elizondo-Gonzalez i in. 2012). Otrzymane wyniki badań wskazują na możliwość wykorzystania fukoidyny jako nietoksycznego leku przeciwwirusowego. Ponadto, prowadzone badania wskazują na właściwości antywirusowe przeciwko wirusowi polio, adenowirusom, koksakiwirusom oraz wirusowi opryszczki (Li i in. 2008). Kolejnym ciekawym przypadkiem właściwości antywirusowych fukoidyny jest hamowanie wirusa dengi. Wirus ten przenoszony przez komary staje się coraz niebezpieczniejszy ze względu na globalne ocieplenie klimatu. Powodowana przez niego choroba – denga – charakteryzuje się objawami typowymi dla gorączek krwotocznych. Obecnie nie istnieje lekarstwo przeciwko tej chorobie. Stosuje się głównie leczenie objawowe. Wyniki badań przeprowadzonych przez japońskich naukowców pokazały hamujące działanie fukoidyny pozyskiwanej z *Cladosiphon okamuranus* wobec wirusa dengi typu 2 (DEN2) (Hidari i in. 2008). Niskocząsteczkowa fukoidyna pozyskana z undarii

pierzastodzielnej posłużyła do przeprowadzenia badań dotyczących wpływu fukoidyny na przebieg zakażenia wirusem grypy typu H1N1 u myszy. Uzyskane przez autorów wyniki badań wskazują, że stan zakażonego zwierzęcia po doustnym podawaniu fukoidyny polepszył się, a ilość produkowanych przez organizm przeciwciał przeciw wirusowi grypy zwiększyła się (Hayashi i in. 2013).

2.4 Właściwości przeciwzapalne

Fukoidyna wykazuje również właściwości przeciwzapalne. Jego działanie przeciwzapalne skupia się głównie na hamowaniu wydzielania tlenku azotu(II) (NO). NO obecny jest podczas procesu zapalnego, a jego ilość zależy od odpowiedzi organizmu na dany czynnik zapalny. Fukoidyna pełni rolę ligandu receptorów A makrofagów, odpowiedzialnych za produkcję NO. Kolejnym mechanizmem działania przeciwzapalnego fukoidyny jest blokowanie przemieszczania się leukocytów do tkanek objętych stanem zapalnym, co wpływa bezpośrednio na jego zmniejszenie (Wang i in. 2019). Fukoidyna może być również stosowana w leczeniu nieswoistego zapalenia jelit (IBD). Do tej grupy chorób zaliczane są m.in. choroba Leśniowskiego-Crohna oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Leczenie stanów zapalnych przewodu pokarmowego jest szczególnie skomplikowane ze względu na obecność flory bakteryjnej. Zaobserwowano, że obecność fukoidyny wpływa na przeciwdziałanie oksydacyjnemu uszkodzeniu komórek nabłonkowych jelit oraz korzystnie na przepuszczalność nabłonka jelit (Wang i in. 2019). Przeciwzapalne właściwości fukoidyny mogą również zastosowanie w leczeniu wrzodów żołądka. Przeprowadzone badania wskazują, że fukoidyna hamuje wydzielanie interleukiny-10 i promuje wydzielanie interleukiny-6 oraz gamma-interferonu, co jest szczególnie ważne w leczeniu wrzodów żołądka wywołanych przez kwas acetylosalicylowy. Ponadto, blokuje ona również adhezję *Helicobacter pylori* względem komórek żołądka (Wang i in. 2019). Bardzo ciekawym zastosowaniem dermatologicznym fukoidyny jest jej wykorzystanie w leczeniu atopowego zapalenia skóry (AZS). W przebiegu tej choroby na skutek procesów patologicznych w organizmie dochodzi do wytworzenia przeciwciał IgE, które są następnie prezentowane limfocytom. Prowadzi to do wydzielania cytokin stanu zapalnego, a w efekcie pogorszeniu stanu skóry. Przeprowadzone przez japońskich naukowców badania na komórkach pobranych od osób chorych na AZS (oraz zdrowych w trakcie próby kontrolnej) wskazują, że podanie fukoidyny zmniejsza ilość wydzielanych przeciwciał IgE, co w konsekwencji może zmniejszyć negatywną odpowiedź organizmu na alergen oraz złagodzić przebieg choroby (Iwamoto i in. 2011).

2.5 Właściwości antyoksydacyjne

Do reaktywnych form tlenu (RFT) zalicza się anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik wodorotlenowy, rodnik hydroksylowy, tlen singletowy oraz nadtlenek azotu (Wang i in. 2019). Wysoki poziom RFT prowadzi do zaburzenia homeostazy komórek prowadząc do uszkodzenia jej składników. Antyoksydanty to substancje chroniące przed zbyt wysoką zawartością RFT w organizmie (Wang i in. 2019). Prowadzone badania *in vitro* wskazują na znaczące właściwości antyoksydacyjne fukoidyny. Właściwości te są bezpośrednio powiązane z masą cząsteczkową i zawartością grup sulfonowych w łańcuchu polimerowym. Obserwuje się większe właściwości przeciwutleniające fukoidyny o mniejszej masie cząsteczkowej. Przeprowadzone badania wskazują, że fukoidyna pozyskiwana z listownicy japońskiej zmniejsza ilość produktów peroksydacji lipidów w osoczu, wątrobie i śledzionie myszy chorych na cukrzycę (Li i in. 2008). Ponadto, zaobserwowano silne właściwości antyoksydacyjne chroniące przed powstaniem rodników O_2^- . Z kolei nie zaobserwowano znaczącego wpływu na powstawanie rodnika hydroksylowego (Li i in. 2008). Fukoidyna pozyskana z undarii pierzastodzielnej charakteryzowała się znaczącymi właściwościami antyutleniającymi (Wang i in. 2019). Ze względu na swoje właściwości fukoidyna może być z powodzeniem stosowana jako składnik kosmetyków zapewniający odpowiednią ochronę przed RFT.

2.6 Właściwości antynowotworowe

Nowotwory to grupa wieloczynnikowych chorób wywołanych przez nadmierny i niekontrolowany rozrost komórek. Ze względu na bardzo często obserwowany szybko postęp choroby konieczne jest stosowanie agresywnych form leczenia nowotworów złośliwych. Oprócz

swojej niezaprzeczalnej zalety jaką jest skuteczność wobec nieprawidłowych komórek nowotworowych posiadają szereg wad do których należą m.in. wyniszczający wpływ na zdrowe komórki organizmu, wysoka toksyczność, czy liczne skutki uboczne. Dlatego też obserwuje się trend prowadzący do wynalezienia mniej agresywnych, a jednocześnie skutecznych form terapii przeciwnowotworowej. Fukoidyna posiada szereg właściwości antynowotworowych. Może ona stanowić doskonale uzupełnienie konwencjonalnej terapii leczenia nowotworów. Właściwości antynowotworowe fukoidyny zostały potwierdzone w licznych testach in vitro oraz in vivo (Atashrazm i in. 2015). Działanie fukoidyny w procesie leczenia nowotworów nie jest do końca wyjaśnione (Kwak 2014). Ze względu na kompleksowość przebiegu chorób nowotworowych oraz przytłaczającą liczbę mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój nowotworu w niniejszym opracowaniu przedstawiono jedynie wpływ fukoidyny na trzy z wielu procesów związanych z tworzeniem nowotworów (Rys. 3).



Rys. 3. Wpływ fukoidyny na niektóre procesy przebiegające w obrębie choroby nowotworowej.

Apoptoza inaczej nazywana programowaną śmiercią komórek jest procesem niezbędnym do poprawnego działania organizmu wielokomórkowego. Składa się na nią szereg mechanizmów biochemicznych (Senthilkumar i in. 2013). Zaburzenie procesu apoptozy prowadzi do nadmiernej proliferacji komórek oraz gromadzenia się komórek nieprawidłowych w organizmie, co w konsekwencji prowadzi do nowotworzenia (kancerogenezy). Przeprowadzone badania wskazują, że zastosowanie fukoidyny prowadzi do zmniejszenia proliferacji komórek, zahamowania cyklu komórkowego nowotworu oraz promowania apoptozy nieprawidłowych komórek (Senthilkumar i in. 2013). Indukowana przez fukoidynę apoptoza komórek nowotworowych polega na regulowaniu wielu szlaków biochemicznych (Kwak 2014). Przeprowadzone badania in vitro potwierdzają, że fukoidyna ma wpływ na apoptozę komórek nowotworowych m.in. komórek białaczki (HL-60), raka piersi (MCF-7), gruczolakoraka żołądka (AGS), raka płuc (A549) i raka prostaty (PC-3) (Kwak 2014). Metastaza, inaczej rozsiew nowotworu lub przerzut nowotworowy, jest powodem przeważającej ilości śmierci osób chorych na nowotwory (Senthilkumar i in. 2013). Na przebieg rozsiewu nowotworu składa się szereg procesów takich jak oderwanie komórek nowotworowych od

pierwotnego miejsca jego rozwoju oraz ich transportu i ataku na zdrowe komórki i tkanki organizmu (Senthilkumar i in. 2013). W procesie transportu komórek nowotworowych kluczową rolę odgrywają metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMP). Niszczenie macierzy pozakomórkowej jest jednym z etapów inwazji przerzutujących komórek nowotworowych. Działanie fukoidyny w procesie metastazy polega na hamowaniu metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP-2) oraz zmniejszeniu wydzielania czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego (VEGF). Ponadto, zaobserwowano wpływ fukoidyny na białka powierzchniowe odpowiedzialne za migrację i adhezję komórek (Senthilkumar i in. 2013). Angiogeneza to proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych zarówno w procesach fizjologicznych, jak również patologicznych. Jest ona procesem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jednakże, niekontrolowana i ciągła angiogeneza bardzo często występuje w procesie nowotworzenia. Komórki nowotworowe potrzebują składników odżywczych oraz tlenu do ciągłego wzrostu. Dlatego też, terapia mająca na celu zatrzymanie nadmiernej angiogenezy jest efektywna w procesie hamowania rozwoju nowotworu. Fukoidyna może zostać zastosowana jako czynnik antyangiogeny. Mechanizm jej działania polega na hamowaniu VEGF będącego czynnikiem indukującym proces angiogenezy (Senthilkumar i in. 2013).

3. Podsumowanie

Przedstawione powyżej właściwości wskazują na możliwość zastosowania fukoidyny jako potencjalnego leku lub suplementu na wiele schorzeń. Problemem związanym z jej wykorzystaniem jest ogromna złożoność struktury fukoidyny pozyskiwanej z różnych organizmów. Prowadzone badania wskazują, że czynniki takie jak masa cząsteczkowa, struktura łańcucha polimerowego, czy stopień podstawienia grupami sulfonowymi mogą mieć wpływ na właściwości bioaktywne tej substancji. Następcza to problemów związanych ze standaryzacją substancji, co z kolei uniemożliwia jej powszechne zastosowanie w medycynie i przemyśle farmaceutycznym. Dlatego też konieczne są dalsze badania, które pozwolą przetransportować uzyskaną w laboratoriach wiedzę na grunt przemysłowy. W celu spełnienia przepisów regulacyjnych dotyczących środków leczniczych muszą być przeprowadzone kompleksowe badania biodostępności, farmakokinetyki oraz dystrybucji w organizmie. Wiąże się to z kolei z ogromnymi nakładami finansowymi. Rosnące zainteresowanie fukoidyną jako substancją o potwierdzonym potencjale leczniczym może korzystnie wpłynąć na przyszłość tego polisacharydu w wielu dziedzinach przemysłu.

4. Literatura

- Ale MT, Mikkelsen JD, Meyer AS (2011) Important Determinants for Fucoidan Bioactivity: A critical Review of Structure-Function Relations and Extraction Methods for Fucose-Containing Sulfated Polysaccharides from Brown Seaweeds. *Marine Drugs* 9: 2106-2130.
- Atashrazm F, Lowenthal RM, Woods GM et al. (2015) Fucoidan and Cancer: A Multifunctional Molecule with Anti-Tumor Potential. *Marine Drugs* 13: 2327-2346.
- Elizondo-Gonzalez R, Cruz-Suarez E, Ricque-Marie D et al. (2012) In vitro characterization of the antiviral activity of fucoidan from *Cladosiphon okamuranus* against Newcastle Disease Virus. *Virology Journal* 9: 307.
- Fitton JH (2011) Therapies from Fucoidan; Multifunctional Marine Polymers. *Marine Drugs* 9: 1731-1760.
- Fitton JH, Stringer DN, Karpiniec SS (2015) Therapies from Fucoidan: An Update. *Marine Drugs* 13: 5920-5946.
- Hamidi S, Letourneur D, Aid-Launais R et al. (2014) Fucoidan Promotes Early Step of Cardiac Differentiation from Human Embryonic Stem Cells and Long-Term Maintenance of Beating Areas. *Tissue Engineering: Part A* 20: 1285-1294.
- Hayashi K, Lee J-B, Nakano T et al. (2013) Anti-influenza A virus characteristics of a fucoidan from sporophyll of *Undaria pinnatifida* in mice with normal and compromised immunity. *Microbes and Infection* 15: 302-309.

- Hidari KIPJ, Takahashi N, Arihara M et al. (2008) Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 376: 91-95.
- Iwamoto K, Hiragun T, Takahagi S et al. (2011) Fucoidan suppresses IgE production in peripheral blood mononuclear cells from patients with atopic dermatitis. *Archives of Dermatological Research* 303: 425-431.
- Kwak J-Y (2014) Fucoidan as a Marine Anticancer Agent in Preclinical Development. *Marine Drugs* 12: 851-870.
- Li B, Wei X, Zhao R (2008) Fucoidan: Structure and Bioactivity. *Molecules* 13: 1671-1695.
- Morya VK, Kim J, Kim E-K (2012) Algal fucoidan: structural and size-dependent bioactivities and their perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93: 71-82.
- Senthilkumar K, Manivasagan P, Venkatesan J et al. (2013) Brown seaweed fucoidan: Biological activity and apoptosis, growth signalling mechanism in cancer. *International Journal of Biological Macromolecules* 60: 366-374.
- Senthilkumar K, Ramajayam G, Venkatesan J et al. (2017) Chapter 14 - Biomedical Applications of Fucoidan. *Seaweed Polysaccharides. Isolation, Biological and Biomedical Applications*, Elsevier.
- Wang Y, Xing M, Cao Q et al. (2019) Biological Activities of Fucoidan and the Factors Mediating Its Therapeutic Effects: A Review of Recent Studies. *Marine Drugs* 17: 183.

14. Nanocząstki srebra jako alternatywa dla antybiotyków

Silver nanoparticles as an alternative to antibiotic

Matuśkiewicz Weronika, Banasiewicz Joanna

Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Opiekun naukowy: dr hab. Tomasz Stępkowski

Weronika Matuśkiewicz: weronika.matuskiewicz@gmail.com

Słowa kluczowe: nanosrebro, antybiotykooporność, działanie antibakteryjne

Streszczenie

Wzrastająca liczba szczepów opornych na obecnie stosowane antybiotyki, w tym antybiotyki ostatniej szansy, wymusiła konieczność poszukiwania alternatywnych sposobów umożliwiających zwalczanie patogenów. Dzięki swoim małym rozmiarom nanocząstki srebra (AgNPs) charakteryzują się wysoką aktywnością antibakteryjną, antygrzybiczną oraz antywirusową. Hamują one rozwój wieloopornych szczepów bakteryjnych, powstawanie biofilmów oraz syntezę mykotoksyn przez grzyby. Ponadto wzmacniają one działanie klasycznych antybiotyków. Synteza nanometali może zachodzić z wykorzystaniem metod chemicznych, fizycznych, fizyko-chemicznych oraz biologicznych. W biosyntezie, zwanej inaczej zieloną syntezą, zastosowanie znajdują peptydy, rośliny, bakterie oraz grzyby. Nanocząstki srebra wykazują działanie toksyczne względem komórek organizmów żywych, jednakże działaniem bakteriobójczym charakteryzują się nawet niskie stężenia, które nie wywierają negatywnego wpływu na komórki zwierzęce.

1. Wstęp

W wyniku nieodpowiedniego stosowania chemioterapeutyków i antybiotyków, mikroorganizmy wykształciły szereg mechanizmów oporności, które przyczyniają się do wydłużania czasu trwania leczenia, podniesienia jego kosztów oraz zwiększają ryzyko niepowodzenia i powikłań. Istnieją dwa główne źródła nabywania antybiotykooporności: mutacje lub rekombinacje w obrębie chromosomowego DNA oraz horyzontalny transfer genów, dzięki któremu komórka uzyskuje obcy materiał genetyczny. Wyróżnia się trzy grupy szczepów opornych na antybiotyki: wielolekooporne MDR (ang. *multidrug-resistant*), o wyjątkowej oporności XDR (ang. *extensively drug-resistant*), a także szczepy odporne na wszystkie dostępne antybiotyki PDR (ang. *pandrug-resistant*). Pojawienie się superbakterii, opornych nawet na antybiotyki ostatniej szansy, wymusiło wzmocnienie badań nad alternatywnymi sposobami walki z chorobotwórczymi drobnoustrojami. Antibakteryjne działanie srebra było znane już w starożytności, używano go do leczenia oparzeń oraz konserwacji żywności. Srebro w formie nanocząstek (AgNPs), ze względu na swoje małe rozmiary, charakteryzuje się zwiększoną aktywnością bójczą (Salomoni i in. 2017). Nanocząstki srebra są obecnie powszechnie używane w przemyśle medycznym do tworzenia opatrunków przyspieszających gojenie się ran, w diagnostyce chorób, jako substancja pokrywająca narzędzia oraz sprzęty medyczne oraz pełnią funkcję nośników dostarczających leki w miejsce docelowe w organizmie (Ge i in. 2014).

2. Opis zagadnienia

Mianem nanometalu określa się cząsteczki o wymiarach od 1 do 100 nm. Wszystkie nanocząstki charakteryzują się dużym stosunkiem powierzchni do objętości, dzięki czemu możliwe jest zwiększenie obszaru oddziaływania pomiędzy nanosrebrem a komórką bakteryjną. Ponadto dzięki małym rozmiarom łatwiej przenikają one do wnętrza komórki, powodując przy tym uszkodzenia osłon bakteryjnych. Aktywność biologiczna nanosrebra zależy od jego rozmiaru, kształtu oraz właściwości powierzchniowych. Powszechnie przyjmuje się, że im mniejsze nanocząstki tym większa aktywność biobójcza (Salomoni i in. 2017; Wolska i in. 2017). Natomiast

cząstki o wydłużonym kształcie działają słabiej w porównaniu z trójkątnymi. Co więcej w przypadku biologicznej syntezy nanosrebra końcowa siła oddziaływania na patogeny zależy od sposobu uzyskania produktu, czyli ważne jest czy do zielonej syntezy zostaną wykorzystane rośliny, bakterie, grzyby czy peptydy (Muthukrishnan i in. 2019; Akter i in. 2018). Nanosrebro stanowi potencjalną alternatywę dla stosowanych obecnie antybiotyków ponieważ charakteryzuje się ono szerokim spektrum działania biobójczego poprzez oddziaływanie z różnymi miejscami (celami) w komórce patogenu. Różnorodność mechanizmów, za pomocą których nanocząstki wpływają na komórkę, utrudnia bakterii wytworzenie lub nabycie oporności na ten nanometal, chociaż w przyrodzie istnieją szczepy naturalnie odporne na jego wysokie stężenia. Pomimo prowadzonych badań, nadal nie poznano wszystkich szczegółów dotyczących mechanizmów działania nanocząstek srebra.

3. Przegląd literatury

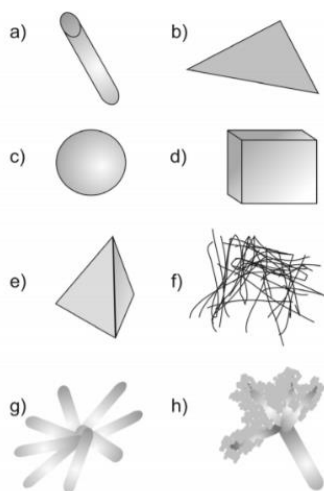
3.1 3.1. Synteza nanocząstek

Nanosrebro można pozyskać za pomocą metod chemicznych, fizycznych, fizykochemicznych oraz biologicznych. W syntezie chemicznej nanocząstki powstają w wyniku redukcji soli azotu, najczęściej azotanu srebra. W metodzie tej stosowany jest czynnik redukujący, będący źródłem elektronów oraz stabilizator. Funkcją związku stabilizującego jest zwiększenie trwałości otrzymanego produktu, poprzez zapobieganie powstawaniu agregatów. Poprzez manipulowanie warunkami reakcji takimi jak: temperatura, pH, czas syntezy oraz mieszanie, możliwe jest kontrolowanie kształtu oraz wielkości nanocząstek (Malina i in. 2010). Obecnie coraz większą wagę zyskuje „*green chemistry*”, dlatego jako reduktory stosuje się substancje łatwo degradowalne, bezpieczne dla środowiska np. β -D-glukozę (Cui i in. 2018). W produkcji nanosrebra powszechnie wykorzystywane są również metody biologiczne. Biosynteza jest tania, szybka oraz bezpieczna dla środowiska. Procedury te opierają się na wykorzystaniu bakterii, grzybów, roślin oraz peptydów. Bakteriami biorącymi udział w produkcji AgNPs są m.in. *Pseudomonas stutzeri*, *Morganella* sp., *Bacillus subtilis*. Synteza nanocząstek przez bakterie jest zewnątrzkomórkowa, a powierzchnia nowopowstałego nanometalu zostaje pokryta białkiem zapewniającym mu stabilność. Przypuszcza się, że w redukcję jonów srebra, a następnie tworzenie nanocząstek, zaangażowane są przenośniki elektronów (NADH) oraz reduktaza azotanowa. Enzym ten w obecności jonów azotanowych redukuje jony srebra do postaci metalicznej. Grzyby również posiadają zdolność biosyntezy nanosrebra - w przypadku *Trichoderma asperellum* uczestniczą w niej przekazańniki chinonowe oraz NADH-zależna reduktaza azotanowa. Podobnie jak w przypadku syntezy bakteryjnej, powstałe AgNPs jest stabilizowane przez białko (Wolska i in. 2017). Nanosrebro otrzymuje się również podczas biosyntezy z wykorzystaniem ekstraktu z liści roślin takich jak: *Croton sparsiflorus morong*, *Azadirachta indica*, *Caesalpinia coriaria*, *Juniperus chinensis* (Al-Dhafri i in. 2019; Kathiravan i in. 2014). Wadami biosyntezy są: możliwość adsorpcji nanosrebra do komórek oraz mniejsza kontrola nad kształtem i wielkością nanocząstek. W wyniku syntezy chemicznej otrzymuje się najczęściej sferyczne nanocząstki, natomiast produktem biosyntezy jest nanosrebro w kształcie sferycznym, owalnym, wydłużonym oraz kwiatów (Ryc.1.) (Akter i in. 2018).

3.2 Antybakteryjne, antygrzybiczne i antywirusowe działanie nanosrebra

Liczne badania wykazały działanie bójcze srebra w stosunku do 650 patogenów, w tym szczepów opornych na stosowane obecnie antybiotyki. Jedną z głównych przyczyn zakażeń szpitalnych jest *Pseudomonas aeruginosa*, bakteria ta charakteryzuje się zdolnością do przetrwania w niesprzyjających warunkach środowiska oraz podatnością na modyfikacje genetyczne, prowadzące do uzyskania oporności na antybiotyki. Nanocząstki srebra hamują wzrost zarówno referencyjnych szczepów *P. aeruginosa* pochodzących z kolekcji, jak i wieloopornych szczepów izolowanych z zakażeń klinicznych (Salomoni i in. 2017). Mikroorganizmy uważane są również za jeden z najważniejszych czynników powodujących trudności w gojeniu się ran. *Staphylococcus aureus* jest bakterią często infekującą rany. W badaniach *in vivo* przeprowadzonych na myszach zaobserwowano przyspieszenie zablizniania się ran w przypadku zastosowania nanosrebra (Liu i in. 2017). Dzięki szerokiemu spektrum działania bójczego nanosrebro może być stosowane w zwalczaniu zakażeń powodowanych przez bakterie gram-ujemne oraz gram-dodatnie. Jednakże, w 2019 roku

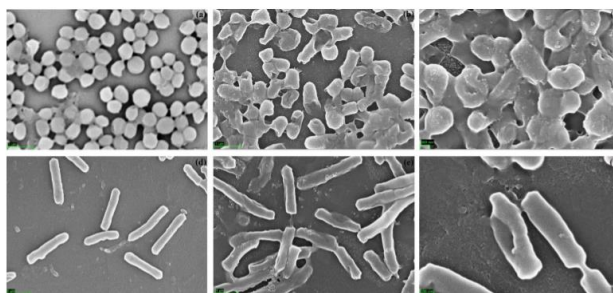
i Muthukrishnan i in. wykazali większą aktywność bakteriobójczą nanosrebra w stosunku do bakterii gramujemnych.



Rys.1. Schemat przedstawiający możliwe kształty nanocząstek. Są to kształty a) pręta, b) trójkąta, c) kuli, d) kostki, e) ostrosłupa, f) drutów, g) kwiatu, h) kwiatu. (wg Wolska i in. 2017).

Cząstki nanosrebra mogą oddziaływać na komórkę bakteryjną poprzez bezpośrednią interakcję z osłonami komórkowymi. Zwiększają one ich przepuszczalność, umożliwiając wnikanie do wnętrza substancji bakteriobójczych. Badania prowadzone na *Escherichia coli* wykazały pojawienie się otworów w osłonach bakteryjnych, ponieważ opłaszczając komórki bakteryjne, nanocząstki srebra modyfikują ich potencjał elektrostatyczny. Prawdopodobnie nanometal może zostać pobrany przez komórki m.in. na drodze dyfuzji, fagocytozy lub egzocytozy (Aktek i in. 2018). Ponadto nanosrebro reaguje z grupami tiolowymi enzymów i białek biorących udział w oddychaniu oraz transporcie przez błony. Skutkuje to zaburzeniem syntezy ATP i większą podatnością białek na denaturację. Ekspozycja komórek na działanie nanosrebra, może doprowadzić do stresu oksydacyjnego. Poprzez inhibicję końcowej oksydazy w łańcuchu oddechowym przez AgNPs, wzrasta ilość generowanych reaktywnych form tlenu (ROS), co skutkuje śmiercią komórki. Po dostaniu się nanocząstek do środka komórki, mogą one działać genotoksycznie poprzez łączenie się z fosforem budującym DNA. Powoduje to uszkodzenie kwasu nukleinowego i zahamowanie procesu replikacji (Lok i in. 2007). W przypadku *Klebsiella pneumoniae* oraz *Staphylococcus aureus* uszkodzenie DNA było widoczne po 6h ekspozycji tych bakterii na działania nanosrebra, natomiast po 12h kontaktu nastąpiła jego całkowita degradacja (Muthukrishnan i in. 2019). Dodatkowo pod wpływem ekspozycji na działanie AgNPs wstrzymywany jest system komunikowania się bakterii, oparty na zdolności do wyczuwania liczebności (QS), zapobiegając tym samym tworzeniu i rozwijaniu się biofilmów. Przypuszcza się, że oporność na antybiotyki bakterii występujących w formie biofilmu może wzrosnąć nawet tysiącrotnie. Stwierdzono, że zastosowanie nanocząstek srebra ogranicza wzrost biofilmów *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* oraz *Mycobacterium tuberculosis* (Wolska i in. 2017). Ponadto, zastosowanie nanocząstek srebra w połączeniu z fibroiną, białkiem budulcowym wchodzącym w skład pajęczyny oraz jedwabiu, doprowadziło do redukcji biomasy biofilmu *Staphylococcus aureus*, występującego podczas zapalenia zatok u królika (Jia i in. 2017) Nanosrebro wykazuje synergizm z amoksycyliną, tetracykliną oraz wankomycyną w zwalczaniu *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* oraz *Proteus mirabilis* (Muthukrishnan i in. 2019).

W komórkach bakteryjnych traktowanych roztworem nanosrebra można zaobserwować zmiany morfologiczne. Komórki te charakteryzują się mniejszymi rozmiarami w stosunku do komórek na które nie działano nanocząstkami, pojawiają się liczne zagłębienia oraz następuje zmiana kształtu komórki (Rys.2.) (Muthukrishnan i in. 2019).



Rys.2. Wpływ nanosrebra na komórki *Staphylococcus aureus* (na górze) oraz *Klebsiella pneumoniae* (na dole). Na zdjęciach widoczne są kolejno a) komórki *S. aureus* nietraktowane nanosrebrem, stanowiące próbę kontrolną, b) i c) komórki *S. aureus* traktowane nanosrebrem z wyraźnie widocznymi uszkodzeniami osłon bakteryjnych, d) Komórki *K. pneumoniae* stanowiące próbę kontrolną, e) i f) komórki *K. pneumoniae* traktowane nanosrebrem z wyraźnie widocznymi zmianami w morfologii komórek (wg . Muthukrishnan i in. 2019).

Nanocząstki srebra wykazują aktywność antygrzybiczą przeciwko *Mucor* sp, *Trichoderma* sp., *Aspergillus niger*, *Candida glabrata*, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* oraz *Trichophyton mentagrophytes* (Kathiravan i in. 2014; Kim i in. 2008). Prawdopodobnym jest, że nanocząstki srebra mają zdolność do inhibicji procesu rozmnażania bezpłciowego (pączkowania) u grzybów należących do workowców (Nasrollahi i in. 2011). Oprócz tego pełnią one funkcję inhibitorów w szlaku biosyntezy wtórnych metabolitów, w tym mykotoksyn. Pobranie przez *Aspergillus parasiticus* nanosrebra skutkuje obniżeniem optymalnego stężenia ROS w komórce, co wpływa na hamowanie syntezy aflatoksyny na poziomie ekspresji genów (Mitra i in. 2017). W 2015 roku Pietrzak i in. również wykazali, że zastosowanie nanosrebra powoduje spadek biosyntezy mykotoksyn, przez grzyby należące do rodzaju *Aspergillus*. Ponadto, zabieg ten skutkowało obniżeniem cytotoksyczności badanych pleśni w stosunku do komórek ssaków.

W przeciwieństwie do antybiotyków, nanosrebro wykazuje działanie antywirusowe. Nanocząstki srebra hamują cykl rozwojowy HIV-1 (Sun i in. 2005). Oprócz tego wykazano, że można wykorzystać je w zwalczaniu m.in. wirusa zapalenia wątroby typu B, wirusa opryszczki pospolitej, wirusa ospy małej oraz syncytialnego wirusa oddechowego. (Ge i in. 2014; Baram-Pinto i in. 2009; Lu i in. 2008).

Istotnym elementem badań nad działaniem nanosrebra jest jego wpływ na środowisko. Nanocząstki po przedostaniu się do gleby lub wody, mogą negatywnie wpływać na rozwój wielu mikroorganizmów m.in. bakterii odpowiedzialnych za obieg pierwiastków w przyrodzie. Dlatego konieczne jest monitorowanie mobilności oraz akumulacji nanometali w ekosystemach (Wolska i in. 2017).

3.3 Toksyczność nanocząstek względem komórek organizmów wyższych

Zagrożeniem wynikającym ze stosowania nanosrebra może być ich toksyczność w stosunku do komórek organizmów wyższych. W literaturze znajduje się wiele doniesień o ich szkodliwym wpływie na komórki ssaków m.in. na ludzkie makrofagi. Ponadto badania prowadzone in vitro na liniach komórkowych HepG2, MCF-7, A549, SGC-7901 wykazały, że ich ekspozycja na działanie nanosrebra powodowała: osłabienie integracji osłon, zmianę morfologii komórek, zwiększoną produkcję ROS, a w nielicznych przypadkach nawet śmierć. (Arora i in. 2008). Jednakże, liczne badania wykazały, że dawki nanosrebra, które charakteryzują się wysoką aktywnością bakteriobójczą

w kierunku patogenów, w warunkach *in vitro* nie wykazują działania cytotoksycznego na linie komórkowe HeLa, HepG2, (Muthukrishnan i in. 2019; Liu i in. 2017; Salomoni i in. 2017). Dlatego ważne jest, aby określić maksymalne stężenie nanosrebra nie wykazujące działania cytotoksycznego, a następnie nie przekraczanie wskazanych dawek podczas leczenia.

4. Podsumowanie

Nanocząstki srebra mogą stanowić alternatywę dla antybiotyków, ponieważ charakteryzują się one szerokim spektrum aktywności biobójczej. Nanosrebro działa hamująco na wzrost bakterii, w tym wieloopornych szczepów izolowanych z zakażeń klinicznych. Ponadto, zastosowanie nanosrebra ogranicza tworzenie się biofilmu oraz wykazuje synergizm w działaniu z klasycznymi antybiotykami. Oprócz tego ma ono właściwości antygrzybiczne oraz antywirusowe. Nanocząstki oddziałują na liczne cele w komórce patogenu oraz posiadają różnorodne mechanizmy działania, dzięki czemu utrudnione jest wytworzenie oporności bakteryjnej. Najbezpieczniejszą dla środowiska metodą syntezy nanometali jest biosynteza, podczas której wykorzystuje się bakterie, grzyby, rośliny oraz peptydy. Problemem w stosowaniu nanosrebra jest jego toksyczność względem komórek organizmów wyższych oraz brak specyficzności działania. Należy pamiętać, że aktywność bójcza nanocząstek zależy od ich wielkości, kształtu oraz właściwości powierzchniowych. Konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań na temat wpływu stężeń nanosrebra, wykazujących działanie antybakteryjne, antygrzybiczne oraz antywirusowe na komórki ludzkie.

5. Spis literatury

- Akter M, Sikder T, Rahman M i in. (2018) A systematic review on silver nanoparticles-induced cytotoxicity: Physicochemical properties and perspectives. *Journal of Advanced Research* 9: 1-16.
- Al-Dhafri K, Ching CL, Philip K (2019) Phyto-synthesis of silver nanoparticles and its bioactivity response towards nosocomial bacterial pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 18: 101076
- Arora S, Jain J, Rajwade J i in. (2008) Cellular responses induced by silver nanoparticles: *In vitro* studies. *Toxicol. Lett.* 179: 93-100.
- Baram-Pinto D, Shukla S, Perkas N i in. (2009) Inhibition of herpes simplex virus type 1 infection by silver nanoparticles capped with mercaptoethane sulfonate. *Bioconjug Chem.* 20(8):1497–1502.
- Cui Y, Xing Z, Yan J i in. (2018) Thermosensitive Behavior and Super-Antibacterial Properties of Cotton Fabrics Modified with a Sercin-NIPAAm-AgNPs Interpenetrating Polymer Network Hydrogel. *Polymers* 10(8): 818-822.
- Ge L, Li Q, Wang M i in. (2014) Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *International Journal of Nanomedicine* 9(1): 2399-2407.
- Jia M, Chen Z, Guo Y i in. (2017) Efficacy of silk fibroin–nano silver against *Staphylococcus aureus* biofilms in a rabbit model of sinusitis. *International Journal of Nanomedicine* 12: 2933-2939.
- Kathiravan V, Ravi S, Ashokkumar S i in. (2014) Green synthesis of silver nanoparticles using *Croton sparsiflorus* morong leaf extract and their antibacterial and antifungal activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.*
- Kim KJ, Sung WS, Moon SK, i in. (2008) Antifungal effect of silver nanoparticles on dermatophytes. *J Microbiol Biotechnol.* 18(8):1482–1484.
- Liu M, Luo G, Wang Y i in. (2017) Optimization and integration of nanosilver on polycaprolactone nanofibrus mesh for bacterial inhibition and wound healing *in vitro* and *in vivo*. *International Journal of Nanomedicine* 12: 6827-6840.
- Lok CN, Ho CM, Chen R i in. (2007) Silver nanoparticles: partial oxidation and antimicrobial activities. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* 12: 527-534.
- Lu L, Sun RW, Chen R i in. (2008) Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antivir Ther.* 13(2):253–262.

- Malina D, Sobczak-Kupiec A, Kowalski Z (2010) Nanocząstki srebra-przegląd chemicznych metod syntezy. *Czasopismo Techniczne. Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej* 107:10.
- Mitra C, Gummadidala PM, Afshinnia K i in. (2017) Citrate-coated silver nanoparticles growth-independently inhibit aflatoxin synthesis in *Aspergillus parasiticus*. *Environ Sci Technol* 51(14):8085–8093.
- Muthukrishnan L, Muralidharan C, Nanda A (2019) Bio-engineering and cellular imaging of silver nanoparticles as weaponry against multidrug resistant human pathogens. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 194: 119-127.
- Nasrollahi A, Pourshamsian Kh, Mansourkiaee P. (2011) Antifungal activity of silver nanoparticles on some of fungi. *International Journal of Nano Dimension*. 1(3):233–239.
- Pietrzak K, Twaruzek M, Czyzowska A i in (2015) Influence of silver nanoparticles on metabolism and toxicity of moulds. *Acta Biochim Pol* 62(4):851–857.
- Salomoni R, Leo P, Montemor AF i in. (2017) Antibacterial effect of silver nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nanotechnology, Science and Applications* 10: 115-121.
- Sun RW, Chen R, Chung NP. i in. (2005) Silver nanoparticles fabricated in Hepes buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV-1 infected cells. *Chem Commun (Camb)*. (40):5059–5061.
- Wolska KI, Markowska K, Wypij M i in. (2017) Nanocząstki srebra, synteza i biologiczna aktywność. *Kosmos* 66(1): 125-138.

15. Lekooporność bakterii

Drug resistance of bacteria

Matuśkiewicz Weronika, Katarzyna Bąk, Banasiewicz Joanna

Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Opiekun naukowy: dr hab. Tomasz Stępkowski

Weronika Matuśkiewicz: weronika.matuskiewicz@gmail.com

Katarzyna Bąk: kasb@onet.pl

Słowa kluczowe: ruchome elementy genetyczne, horyzontalny transfer genów, geny główne, penicylina, wielooporność

Streszczenie

Nierozważne stosowanie środków przeciwbakteryjnych spowodowało powstanie szczepów wieloopornych, ciężkich do zwalczania. Jest to związane z selekcyjną presją z jaką muszą zmagać się drobnoustroje. Wykształciły one natomiast umiejętność radzenia sobie w tych warunkach. Oporność jest przekazywana przez horyzontalny transfer genów (HGT), pozwalający na wymianę materiału genetycznego pomiędzy bakteriami tego samego gatunku, jak i różnych. Dużą rolę w tym procesie pełnią ruchome elementy genetyczne, takie jak plazmidy - pozachromosomalne kuliste cząsteczki DNA, niosące cechy przystosowawcze do konkretnej niszy ekologicznej.

Dodatkowo w niesieniu oporności biorą udział transpozony, integrony jak i bakteriofagi - wirusy infekujące komórki bakterii.

Naukowcy starają się szukać nowych antybiotyków pomagających w walce z drobnoustrojami. Prognozy nie są jednak pozytywne, a obecność bakterii opornych na wszystkie grupy środków przeciwbakteryjnych jest bardzo realna.

1. Wstęp

Antybiotyki są to substancje pochodzenia naturalnego, a ich odkrycie było wielkim zdarzeniem w historii medycyny jak i ludzkości. Pierwszym poznanym przez człowieka antybiotykiem, była penicylina, odkryta w 1928 r. przez Alexandra Fleminga. Zauważył on bowiem zahamowanie wzrostu kolonii bakterii *Staphylococcus* po wcześniejszym niechcianym zanieczyszczeniu podłoża grzybem *Penicillium notatum*.

Ten moment pozwolił lekarzom na skuteczną walkę z chorobami bakteryjnymi. Wiele lat stosowania antybiotyków spowodowało nieodwracalny problem, jakim jest lekooporność bakterii (Bartoszewicz i in. 2014). Jest to skutek tak wielkiej powszechności antybiotyków - są one wykorzystywane w medycynie (leki przepisywane na receptę, jak i suplementy diety), nawozach (pestycydy) oraz paszach dla zwierząt gospodarskich (Zalewska i in. 2017). Antybiotyki są często spotykane w wodach gruntowych i powierzchniowych, a ich obecność w zbiornikach jest spowodowana ściekami spływającymi z zakładów produkcyjnych oraz szpitali (Wanot 2017).

Ekspozycja bakterii na wiele antybiotyków prowadzi do wyodrębnienia się szczepów wieloopornych, niewrażliwych na kilka grup terapeutycznych. W naturze mogą występować szczepy posiadające wrodzoną oporność na antybiotyki jak również, takie które niewrażliwość nabyły od innych bakterii (Łebkowska 2009). Powszechna obecność szczepów wykazujących antybiotykooporność, jest wynikiem ewolucyjnego przystosowania mikroorganizmów do substancji o działaniu bójczym naturalnie występujących w środowisku (Śliżewska 2006). Oporność nabywana jest najczęściej poprzez mutację w sekwencji DNA chromosomalnego lub poprzez plazmidy, bakteriofagi oraz transpozony. Plazmidy są nazywane czynnikami R, ponieważ zawierają geny odpowiedzialne za oporność na antybiotyki, a ich zdolność do samoreplikacji powoduje duży

problem, gdyż wraz z koniugacją wymieniane są odcinki odpowiedzialne za oporność na wielką liczbę medykamentów.

2. Opis zagadnienia

Odkrycie penicyliny – pierwszego antybiotyku przez Flaminga, pozwoliło na znaczne ograniczenie śmiertelności w wyniku chorób i zakażeń bakteryjnych. Jednakże, już przed wprowadzeniem tego antybiotyku do masowego użycia, wyizolowano szczep *Staphylococcus aureus*, który wykazywał oporność na jego działanie. Nieodpowiednie stosowanie antybiotyków jak również ich nadużywanie w rolnictwie, chowie zwierząt oraz weterynarii doprowadziło do pojawienia się patogenów, które wykazują szereg mechanizmów oporności na stosowane antybiotyki. Obecnie w stadach liczących kilkaset sztuk, antybiotyki podaje się wszystkim osobnikom w momencie gdy pierwsze objawy pojawiają się u pojedynczych zwierząt. Ma to na celu zahamowanie rozprzestrzeniania się choroby i nosi nazwę działania metafilaktycznego. W chowie zwierząt powszechne jest również profilaktyczne podawanie antybiotyków, których zadaniem jest ograniczenie prawdopodobieństwa wystąpienia chorób w momentach kluczowych np. podczas mieszania osobników pochodzących z różnych stad (Śliżewska 2006). Znaczna część farmaceutyków nie podlega degradacji (np. tetracyklina), właściwość ta skutkuje nagromadzeniem znacznych ilości antybiotyków w środowisku (Łebkowska 2009). Powszechna obecność antybiotyków w otoczeniu mobilizuje szczepy bakteryjne do wydatkowania dużych ilości energii na syntezę białek zaangażowanych w poszczególne mechanizmy oporności na farmaceutyki (Popowska 2017). Już w 2009 roku Liu i Pop donosili o istnieniu ponad 20 tys. genów odpowiedzialnych za wystąpienie zjawiska antybiotykooporności wśród bakterii. Obecnie możemy wyróżnić trzy grupy bakterii opornych na antybiotyki. Pierwszą z nich (PDR) stanowią szczepy odporne na wszystkie stosowane współcześnie leki przeciwbakteryjne. Drugą grupę stanowią patogeny ekstremalnie odporne (XDR), natomiast ostatnią grupą są szczepy wielooporne (MDR).

3. Przegląd literatury

3.1 Działanie antybiotyków na przykładzie penicyliny i wankomycyny

Antybiotyki można podzielić ze względu na ich mechanizm działania. Istnieją 4 główne mechanizmy:

- 1) ingerencja w syntezę ściany komórkowej bakterii,
- 2) hamowanie syntezy biologicznej białek,
- 3) ingerencja w syntezę kwasów nukleinowych,
- 4) hamowanie szlaku metabolicznego.

Środki przeciwbakteryjne najczęściej hamują syntezę ściany komórkowej, np. antybiotyki β -laktamowe (penicylina), zakłócają działanie enzymów odpowiedzialnych za syntezę peptydoglikanów będących budulcem ściany, natomiast wankomycyna i teikoplanina wiążą się z resztami D-alaniny powstającego łańcucha peptydoglikanu przeciwdziałając etapowi sieciowania (Tenover 2006).

Dokładny mechanizm działania penicyliny polega na przyłączeniu się jej do enzymu - transglikozylazy, która przedłuża cukier przez włączenie nowych jednostek. Enzym ten jest bifunkcyjny, posiada zarówno domenę transpeptydazy jak i domeny transglikozylaz, a jego miejsce aktywne (także określane jako białka wiążące penicylinę lub PBP), wiąże penicylinę jako pseudosubstrat przez obecność w niej β -laktamu.

Miejsce aktywne enzymu zajęte przez antybiotyk zapobiega sieciowaniu łańcucha w peptydoglikanie, przez co ściana komórkowa staje się mechanicznie słaba i podatna na zmiany ciśnienia osmotycznego (Walsh 2000).

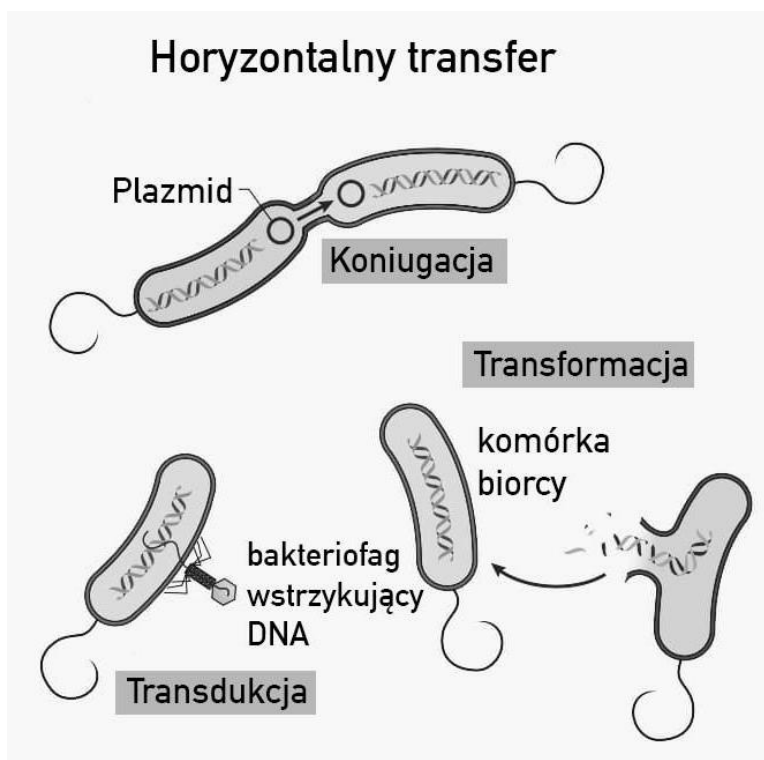
Wankomycyny również działają na warstwy peptydoglikanu w ścianie komórkowej, jednak wiążą się one z substratem peptydowym i nie dopuszczają do jego reakcji z enzymem. Efekt działania antybiotyku jest ten sam - brak usieciowienia peptydoglikanów prowadzi do osłabienia ściany. Wankomycyna przyłącza się do ściany poprzez wiązania wodorowe z D-alaniną na końcu każdego

łańcucha bocznego nieusieciowanego peptydoglikanu. Penicylina i wankomycyna wykazują synergię, gdy są stosowane razem (Walsh 2000).

3.2 Mechanizmy przenoszenia genów lekooporności

Genom bakterii składa się z genów głównych (chromosom główny) oraz genów pomocniczych takich jak np. plazmidy. Chromosom zawiera wszystkie geny potrzebne bakterii do przeżycia, czyli geny metabolizmu podstawowego, odpowiadające za syntezę DNA, RNA oraz replikację. Dodatkowa pula genów odpowiada za przystosowanie bakterii w różnych niszach ekologicznych (np. oporność na antybiotyki). Geny pomocnicze często różnią się zawartością guaniny i cytozyny, ponieważ mogą być uzyskiwane z innych gatunków bakterii.

Presja selektywna ze strony środowiska, wyróżnia konkretne geny, dające siłę i przetrwanie. Przykładem takiej presji są antybiotyki i ich powszechność (Malachowa i DeLeo 2010). Nabywanie przez bakterie genów oporności na antybiotyki i rozprzestrzenianie ich w populacji jest związane z horyzontalnym transferem genów (HGT), który potencjalnie tworzy jeden wspólny zasób genów w biosferze drobnoustrojów. Mikroorganizmy mogą czerpać z owego zasobu, który za pomocą HGT może przenosić użyteczne geny na odległość fizyczną i filogenetyczną (Stokes i Gillings 2011). Geny oporności mogą być przekazywane pomiędzy bakteriami należącymi do różnych rodzajów (Łebkowska 2009). Geny oporności są ulokowane na plazmidach, natomiast te, są replikowane niezależnie w obrębie genomu. Powielone odcinki mogą zostać dalej przekazane między komórkami bakteryjnymi, ale też mogą być wymieniane międzygatunkowo. Pojedyncza komórka bakteryjna jest w stanie przyjąć kilka różnych plazmidów.



Rys. 1. Schemat przedstawia możliwe drogi horyzontalnego transferu genów. (wg. Sommer i in. 2017)

Mobilne elementy genetyczne (MGE) są zaangażowane w poziomy transfer u bakterii środowiskowych. Przy użyciu sekwencji insercyjnych, transpozony często przeskakują w przypadkowy sposób na genomie i plazmidzie, co jest związane z przeniesieniem genów oporności (Gogarten i in. 2002). Dodatkowo integrony mogą pobierać, włączać i wyrażać kasetę genów

oporności na swoim regionie zmiennym, co ułatwia przenoszenie genów oporności poprzez transpozony lub plazmidy koniugacyjne (Zhang i in. 2011).

Możliwe jest również przeniesienie materiału genetycznego przez bakteriofagi, które są wirusami infekującymi przez transdukcję. Bakteriofagi mogą przenosić odcinki DNA odpowiedzialne za oporność na antybiotyki, zawartą w ich własnych genach oraz pochodzących z transpozonów lub chromosomów bakterii wcześniej zainfekowanych. Obecność różnych genów oporności na tych samych ruchomych elementach genetycznych skutkuje pojawianiem się szczepów wieloopornych (MDR), (Kasprzykowska i Sobieszkańska 2014).

3.3 Obrona bakterii przed antybiotykami

Efekt przekazania genów pomiędzy bakteriami może być różny, lekooporność jest manifestowana poprzez mechanizmy:

- 1) zmiana przepuszczalności otoczki np. zwiększenie poziomu pomp, które mają na celu usunąć lek z komórki;
- 2) niedopuszczenie do dostania się substancji do środka komórki np. zmniejszenie ilości kanałów białkowych na błonie zewnętrznej;
- 3) produkcja enzymów degradujących antybiotyków np. laktamazy, które niszczą środki przeciwbakteryjne zanim te zdążą mieć jakiś wpływ;
- 4) zmiana celu molekularnego dla leku np. zmiana ściany komórkowej bakterii, bez miejsca wiązania środka przeciwbakteryjnego;
- 5) wykształcenie mechanizmów zastępujących szlak zablokowany przez antybiotyk (Zalewska i in. 2017).

Oporność wrodzona powiązana jest najczęściej z mechanizmem enzymatycznej degradacji substancji antybiotycznych. Co więcej, szczepy te mogą posiadać zmniejszoną przepuszczalność ściany i błony komórkowej (Śliżewska 2006).

3.4 Wpływ lekooporności na człowieka

Obecnie notuje się stały wzrost liczby szczepów opornych na stosowane antybiotyki, co więcej pojawiają się doniesienia o wyizolowaniu superbakterii, czyli bakterii opornych na wszystkie znane obecnie antybiotyki, w tym również te ostatniej szansy. Zjawisko lekooporności stało się jednym z głównych niebezpieczeństw dla zdrowia publicznego. Początkowo szczepy oporne na antybiotyki izolowano głównie z zakażeń szpitalnych, jednak współcześnie obserwowane jest rosnące zagrożenie ze strony pozaszpitalnych patogenów np. zakażenia spowodowane przez dwóinką zapalenia płuc (*Streptococcus pneumoniae*), wykazującą oporność na penicylinę oraz cefalosporyny III generacji. Za szczepy alarmowe występujące poza środowiskiem szpitalnym uważa się również pałeczkę okrężnicy (*Escherichia coli*) oraz pałeczkę zapalenia płuc (*Klebsiella pneumoniae*). Są to bakterie z rodziny Enterobacteriaceae, które są zdolne do syntezy β -laktamaz o szerokim spektrum substratowym, dzięki czemu zyskują oporność na większość antybiotyków. Antybiotykooporne patogeny: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, *Enterococcus sp.* oraz *Campylobacter sp.* wywołujące zakażenia u ludzi, są pochodzenia zwierzęcego. Jednakże, transfer chorobotwórczych mikroorganizmów ze zwierząt na człowieka jest często bardzo trudny do udowodnienia (Śliżewska 2006).

Obecność lekoopornych bakterii zaobserwowano w ściekach, które zostały poddane oczyszczaniu biologicznemu, w wodach powierzchniowych oraz w wodzie, która przeznaczona była do spożycia. Obecność szczepów antybiotykoopornych w wodach przeznaczonych do oczyszczania, a następnie spożycia przez ludzi jest niewskazana. Ponadto bakterie oporne na antybiotyki charakteryzują się również zwiększoną niewrażliwością na substancje dezynfekujące, w tym związki chloru (Łebkowska 2009).

3.5 Możliwe alternatywy dla antybiotyków

Alternatywą dla antybiotyków produkowanych przez grzyby oraz promieniowce mogą być endogenne peptydowe antybiotyki pochodzenia zwierzęcego. Stanowią one ważny element układu

odpornościowego eukariontów. Mogą być one składnikami śliny lub występować na powierzchniach eksponowanych do środowiska zewnętrznego. Związkami pochodzenia zwierzęcego wykazującymi działanie bakteriobójcze w stosunku do szczepów referencyjnych *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli* są np. uperyna, citropina oraz pyloseptyna, które zostały wyizolowane z wydzieliny pochodzącej z powierzchni żab (Kamysz 2005). Bakteriobójcze lub bakteriostatyczne właściwości wykazują peptydy lub białka syntetyzowane przez owady, płazy oraz ssaki. Ponadto związki te posiadają aktywność cytotoksyczną w stosunku do grzybów i mykobakterii oraz niszczące działanie w stosunku do wirusów. Przykładem peptydu wykazującego działanie bakteriobójcze, który jest syntetyzowany przez ssaki są defensyny. Stanowią one element podstawowego systemu ochrony organizmu (Bagnicka i in. 2007).

Innym sposobem walki ze szczepami antybiotykoopornymi może być wykorzystanie nanocząstek metali, głównie nanosrebra i nanozłota. Nanometale charakteryzują się niewielkimi rozmiarami (poniżej 100 nm). Zazwyczaj przyjmuje się, że im mniejsze wymiary nanometalu tym charakteryzują się większą aktywnością przeciwbakteryjną. Nanocząstki oddziałują na różne miejsca na komórce bakteryjnej, dlatego patogenom trudniej wykształcić mechanizmy oporności na działanie tych związków. Nanosrebro wykazuje szerokie spektrum działania bójczego, może ono hamować wzrost ponad 650 patogenów, w tym bakterii opornych na antybiotyki.

Duży potencjał w leczeniu zakażeń bakteryjnych wykazuje również fagoterapia, inaczej terapia fagowa, która wykorzystuje bakteriofagi mające umiejętność namnażania się w określonym szczepie bakteryjnym, co powoduje jego późniejszą lizę. Uwolnione wiriony mogą zainfekować resztę komórek bakteryjnych i w ten sposób zniszczyć całą populację patogenów. Fagi wykazują dużą skuteczność w leczeniu infekcji, ze względu na to, że nie atakują naturalnej flory bakteryjnej organizmu i w łatwy sposób dostają się do krwi i narządów wewnętrznych. Idealną ich cechą jest to, że po zwalczeniu zakażenia bakteryjnego są usuwane z organizmu i dalej się nie namnażają, co jest spowodowane brakiem żywiciela. Pierwsze próby leczenia chorób z wykorzystaniem tej metody, odbyły się już w 1919 roku, gdy Felix d'Herelle wykorzystał bakteriofagi w leczeniu osób chorych na czerwonkę.

Aby skutecznie walczyć z antybiotykoopornością konieczne jest zaprzestanie stosowania antybiotyków jako stymulatorów wzrostu. Jest to możliwe poprzez wykorzystanie preparatów probiotycznych. Probiotyki mogą pełnić różnorakie funkcje w organizmach zwierzęcych. Są one zdolne do produkcji substancji o działaniu antibakteryjnym np. kwasów organicznych. Kwasy organiczne obniżają pH do wartości poniżej optymalnych dla rozwoju bakterii, natomiast niezdisocjowane cząsteczki kwasu powodują inhibicję biochemicznej aktywności mikroorganizmów. Ponadto, probiotyki charakteryzuje zdolność do adhezji do nabłonka jelit, stymulacji układu immunologicznego oraz produkują enzymy hydrolityczne, pozwalające na zwiększenie wykorzystania paszy (Śliżewska 2006).

4. Podsumowanie

Problem lekooporności jest coraz większy i będzie pogłębiał się wraz z czasem. Oprócz szczepów szpitalnych, wielooporne są również bakterie środowiskowe. Jest to związane z tak dużą powszechnością antybiotyków w środowisku. Bakterie przystosowują się do warunków w jakich żyją, dzięki przekazywaniu sobie odcinków DNA przez horyzontalny transfer genów. W walce z drobnoustrojami, antybiotyki są coraz mniej skuteczne. Potrzebne jest znalezienie alternatywy dla leczenia antybiotykowego. Naukowcy pracują nad nowymi metodami, które z czasem staną się dobrym zamiennikiem. Ciekawym pomysłem jest wykorzystanie bakteriofagów w terapii przeciwbakteryjnej, jak również zastosowanie nanocząstek metali.

Brak poszukiwań nowych rozwiązań mógłby skończyć się tragicznie dla populacji ludzkiej.

5. Spis literatury

Bagnicka E, Józwiak A, Strzałkowska N i in. (2007). Defensyny – alternatywa dla antybiotyków. *Medycyna Wet.* 63(7): 763-767.

- Bartoszewicz M, Michalska M, Cieszyńska M (2014). Antybiotykooporność bakterii heterotroficznych jako skutek zanieczyszczenia środowiska. *Medycyna Środowiskowa - Environmental Medicine* 17(4): 38-46.
- Gogarten JP, Doolittle WF, Lawrence JG (2002). Prokaryotic Evolution in Light of Gene Transfer. *Molecular Biology and Evolution* 19(12): 2226–2238.
- Kamysz W, Nadolski P (2005). Przeciwbakteryjna aktywność peptydów ze skóry płazów. *Ann. Acad. Med. Gedan* 35: 29-34.
- Kasprzykowska U, Sobieszkańska MB (2014) Plastyczność bakteryjnych genomów – międzykomórkowy transfer informacji genetycznej. *Postępy Mikrobiologii* 53(3): 165-171.
- Liu B, Pop M (2009). ARDB- Antibiotic Resistance Genes Database. *Nucleic Acids Res.* 37: 443-447.
- Łebkowska M (2009) Występowanie bakterii antybiotykoopornych w wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *Ochrona środowiska* 31(2): 11-15.
- Malachowa N, DeLeo FR (2010). Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cellular and Molecular Life Sciences* 67(18): 3057–3071.
- Popowska M (2017) Antybiotykooporność w środowisku naturalnym – przyczyny i konsekwencje. *Kosmos, problemy nauk biologicznych* 66(314): 81–91.
- Sommer MOA, Munck C, Toft-Kehler RV I in. (2017) Prediction of antibiotic resistance: time for a new preclinical paradigm? *Nature*
- Stokes HW, Gillings MR (2011). Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. *FEMS Microbiology Reviews* 35(5): 790–819.
- Śliżewska K, Biernasiak J, Libudzisz Z (2006) Probiotyki jako alternatywa dla antybiotyków. *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej* 984: 79-91.
- Walsh C (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature* 406.
- Wanot B (2017) Obecność antybiotyków w wodach jako jedna z przyczyn lekooporności. *Technologia Wody* 5(55): 14-19.
- Zalewska M, Kawecka E, Brodowska P i in. (2017) Skutki nadużycia antybiotyków w chowie zwierząt. *Przegląd Hodowlany* 6: 26-31.
- Zhang T, Zhang XX, Ye L (2011) Plasmid Metagenome Reveals High Levels of Antibiotic Resistance Genes and Mobile Genetic Elements in Activated Sludge.

16. Farmakologiczne i nefarmakologiczne metody leczenia osteoporozy pomenopauzalnej

Pharmacological and non-pharmacological treatment of postmenopausal osteoporosis

Orzeł Anna⁽¹⁾, Klatka Barbara⁽¹⁾, Janeczko Dominika⁽¹⁾, Neścior Małgorzata⁽¹⁾, Hołowczuk Magdalena⁽¹⁾, Piech Piotr⁽²⁾, Terpiłowski Michał⁽¹⁾

⁽¹⁾ Studenci Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

⁽²⁾ Zakład Anatomii Prawidłowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: dr n. med. Robert Węglowski

Małgorzata Neścior: malgorzata.nescior@gmail.com

Słowa Kluczowe: osteoporoza, leczenie, czynniki ryzyka osteoporozy, bisfosfoniany, witamina D

Streszczenie

Osteoporoza pomenopauzalna jest chorobą inwolucyjną charakteryzującą się upośledzoną wytrzymałością kości w wyniku obniżonego poziomu estrogenów. Ze względu na powikłania złamań oraz zaawansowany wiek pacjentek, jej rozwój zwiększa ryzyko przedwczesnego zgonu. Leczenie osteoporozy pomenopauzalnej polega na zmniejszeniu złamań osteoporotycznych, a także na wzmocnieniu kości pacjentki.

Celem pracy jest omówienie współcześnie stosowanych metod terapii osteoporozy pomenopauzalnej na podstawie najnowszych doniesień.

Autorzy poddali analizie aktualne wytyczne oraz artykuły badawcze i przeglądowe dotyczące tematyki osteoporozy pomenopauzalnej.

Podstawowymi założeniami leczenia osteoporozy pomenopauzalnej jest doustne stosowanie leków z grupy bisfosfonianów, szczególnie alendronianu i rizedronianu. W przypadku ich nietoleracji, zaleca się zmianę formy podania leku na dożylną lub rozpoczęcie terapii denosumabem, ludzkim przeciwciałem monoklinalnym przeciwko RANKL. Alternatywne możliwości leczenia obejmują włączenie hormonoterapii zastępczej lub raloksyfenu (selektywnego modulatora estrogeny), jednak wiążą się one z licznymi przeciwwskazaniami oraz działaniami niepożądanymi.

1. Wstęp

Według National Osteoporosis Foundation i National Institutes of Health (NOF/ NIH) osteoporozę definiuje się jako zaburzenie szkieletowe charakteryzujące się upośledzoną wytrzymałością kości, przez to predysponuje do zwiększonego ryzyka złamania struktur kostnych. Na ogólną kondycję kości wpływa przede wszystkim jej gęstość. Kluczowym terminem w zrozumieniu patogenezy osteoporozy jest szczytowa masa kostna, gdyż to jednym z czynników warunkujących wystąpienie osteoporozy w późniejszych latach życia (NIH Consensus Statement 2000).

Ze względu na etiologię osteoporozę dzielimy na osteoporozę pierwotną(80%) oraz wtórną(20%). Osteoporozy pierwotne dzielą się na idiopatyczne oraz inwolucyjne. Pierwszy wymieniony typ charakteryzuje się nieznaną etiologią oraz występującymi zaburzeniami wzrastania szkieletu w odniesieniu do norm wiekowych. Natomiast w osteoporozie inwolucyjnej defekty występujące w układzie kostnym mają podłoże metaboliczne, prowadzące do wystąpienia przyspieszonego procesu fizjologicznej osteopenii. Według definicji osteopenia jako długotrwały proces poprzedzający osteoporozę to zmniejszony stopień mineralizacji kości w stosunku do wartości normalnych oraz osiągnięcie zbyt niskiej szczytowej masy kostnej (Kwiatkowska 2005).

Wyróżniamy dwa typy osteoporozy inwolucyjnej – typ I pomenopauzalny oraz typ II starczy. Osteoporoza pomenopauzalna jest związana z niedoborem estrogenów w wyniku którego dochodzi do pobudzenia i nadmiernej aktywności osteoklastów. Dominuje utrata kości gąbczastej, w

mniejszym stopniu kości korowej. W osteoporozie typu II starczego przyczyną jest niedobór wapnia. Jest to związane z nieprawidłowym wchłanianiem z jelit, niedoborem witaminy D₃, a także wzmożonym wydzielaniem parathormonu przez przytarczyce. W odróżnieniu od typu I – w typie II ubytek kości dotyczy w równym stopniu kości gąbczastej jak i korowej. Osteoporoza wtórna jest rezultatem wpływu choroby współistniejącej (np. reumatoidalnego zapalenia stawów), stosowania kortykosteroidów, a także zaburzeń na tle endokrynologicznym.

1.1 Czynniki ryzyka osteoporozy pomenopauzalnej

Proces remodelingu kostnego – ciągłego działania dwóch przeciwstawnych struktur osteoblastów i osteoklastów jest uwarunkowany wieloma czynnikami. Do głównych czynników niemożliwych do wyeliminowania zalicza się wiek, płeć żeńską oraz rasę etniczną. Okres pomenopauzalny w życiu kobiety jest związany z zahamowaniem wydzielania endokrynnego jajników i obniżeniem poziomu estrogenów, co wiąże się z utratą masy kostnej i rozwojem osteoporozy. W ciągu życia kobiety ilość masy kostnej ulega zmniejszeniu nawet o 50%. Najbardziej obciążone ryzykiem zachorowania są Azjatki i kobiety rasy białej (Hogson 2007). Istotnym czynnikiem ryzyka zachorowania na osteoporozę są także obciążenia genetyczne i uwarunkowania rodzinne. Dowiedziono obecności 150 genów, które mogą być odpowiedzialne za stopień gęstości mineralnej tkanki kostnej i ryzyko złamań kości (Karczmarewicz 2010).

Kolejnym ważnym czynnikiem ryzyka osteoporozy pomenopauzalnej jest wczesna menopauza oraz długotrwały brak miesiączki, zważając dłuższy okres wyciszenia czynności jajników i obniżenie poziomu estrogenów. Budowa ciała także może mieć wpływ na rozwój choroby – u kobiet szczupłych ze skąpo rozwiniętą tkanką tłuszczową (BMI<18-20) i mniejszą szczytową masą kostną osteoporoza rozwija się znacznie częściej. Duży wpływ ma również obecność chorób współistniejących, które zaburzają metabolizm kostny i prowokują złamanie, a także długotrwałe stosowanie glikokortykosteroidów. Do innych czynników ryzyka zaliczamy brak aktywności fizycznej oraz długotrwałe unieruchomienie, a także palenie tytoniu i nadużywanie alkoholu.

1.2 Diagnostyka osteoporozy pomenopauzalnej

Diagnostyka w kierunku osteoporozy jest zalecana wszystkim kobietom po menopauzie oraz tym, u których wystąpiły niedobory hormonów płciowych o różnej etiologii. Złotym standardem w diagnostyce osteoporozy pomenopauzalnej jest densytometria – rodzaj badania rentgenowskiego, służącego do oceny gęstości mineralnej kości. O potrzebie diagnostyki decyduje w dużym stopniu ryzyko złamań kości obliczonego za pomocą kalkulatora FRAX. Podstawową metodą służącą do rozpoznawania osteoporozy jest także dwuwiązkowa absorpcjometria rentgenowska (DXA). Badania obrazowe, takie jak RTG i VFA również odgrywają dużą rolę w diagnostyce osteoporozy, gdyż pozwalają na uwidocznienie spadku gęstości kości, ścięczenia warstwy korowej kości długich, zaniku beleczkowania poziomowego oraz złamań kompresyjnych. Co więcej, w badaniu przedmiotowym kobiet po menopauzie warto monitorować wzrost. Bardzo prawdopodobne, że zmniejszenie wzrostu o ponad 3,8cm w porównaniu z takim, jaki pacjentka miała w wieku osiągnięcia szczytowej masy kostnej świadczy o złamaniu kręgow kostnych i należałoby posłużyć się dodatkową diagnostyką radiologiczną (Osieleniec i Czerwiński, 2010). Bardzo istotnym aspektem jest również monitorowanie poziomu witaminy D₃ oraz wapnia, które mają bezpośredni wpływ na kondycję kości.

2. Opis zagadnienia

Osteoporoza to podstępna choroba powodująca bezbolesne pogarszanie się stanu układu kostnego, polegające na postępującej destrukcji masy kostnej, zaś jej zauważalnym objawem jest zazwyczaj złamanie osteoporotyczne. Jest to złamanie niewspółmierne do sił je wywołujących, zwykle spowodowane upadkiem z wysokości własnej, świadczące o dużym zaawansowaniu choroby. (Hogson, 2007). Dla osteoporozy pomenopauzalnej najbardziej charakterystycznymi są złamania bliższego odcinka kości promieniowej typu Collesa oraz złamania kompresyjne kręgow (od Th4 do L5), najczęściej odcinka piersiowego i lędźwiowego. W zależności od ilości i rozległości uszkodzeń mogą występować objawy o różnym stopniu nasilenia, od niewielkiego dyskomfortu odczuwalnego w pozycji siedzącej i stojącej, aż do uporczywego bólu, prowadzącego do ograniczenia ruchomości

kręgosłupa oraz zmiany postawy ciała (Chwojnowska i Charzewska, 2008). Ze względu na powikłania złamań oraz zaawansowany wiek pacjentek z osteoporozą pomenopauzalną, jej rozwój zwiększa ryzyko przedwczesnego zgonu. Leczenie osteoporozy pomenopauzalnej polega na zmniejszeniu złamań osteoporotycznych, a także na wzmocnieniu kośćca pacjentki. Jest to możliwe dzięki terapii farmakologicznej, a także kontroli poziomu wapnia oraz witaminy D. Dostępność wielu ścieżek terapeutycznych umożliwia dostosowanie odpowiedniego leczenia do potrzeb i możliwości pacjentki.

3. Przegląd literatury

3.1 Styl życia i zalecenia w diecie

Obecnie zaleca się dzienną podaż wapnia o wartości 700-1200mg, najlepiej jeśli jest on dostarczany do organizmu wraz z dietą, ale możliwe jest także stosowanie odpowiednich suplementów. Pokarmy, które powinny znaleźć się w diecie, tak by zapewnić jak największą podaż wapnia to sardynki, mleko krowie, jogurty, sery (Herrero i in. 2016). Aktualnie na polskim rynku, najwięcej wapnia zawierają preparaty z węglanem wapnia. Suplementację należy prowadzić wraz ze spożyciem pokarmu, tak, by ułatwić ich wchłanianie w przewodzie pokarmowym. W trakcie stosowania mogą wystąpić problemy związane z przewodem pokarmowym, takie jak wzdęcia, zaparcia czy biegunki.

3.2 Ćwiczenia fizyczne

Udowodnione jest, że przy niedoborze wysiłku fizycznego, nie ma wystarczającego bodźca do wytworzenia tkanki kostnej i dochodzi do resorpcji kości. Dzieje się tak, ponieważ osteocyty, działają pod wpływem zmian ciśnienia, a w tym wypadku nieprawidłowo analizują siły grawitacyjne. Dlatego też tak ważne jest, by regularnie wykonywać ćwiczenia fizyczne (Herrero i in. 2016). Jednakże, po menopauzie, badania nie udowodniły, że istnieje korelacja pomiędzy zwiększonym wysiłkiem fizycznym, a zmniejszoną utratą masy kostnej, czy zwiększoną mineralizacją kości. Możliwe powody, to: ograniczenie pojemności szkieletowej, zmiany w gospodarce hormonalnej, niewystarczająca dostępność wapnia lub zbyt niska intensywność ćwiczeń fizycznych wykonywanych w trakcie przeprowadzania badań.

Ryzyko złamania kości jest znacznie większe, u osób, których masa ciała wynosi poniżej 50kg, jak również, u tych, których BMI wynosi <20kg/m². Dzieje się tak, ponieważ tkanka tłuszczowa dodatkowo chroni mechanicznie przed złamaniami, jak również stymuluje produkcję estrogenów. Udowodniono, że większa ilość tkanki tłuszczowej zapobiega złamaniom nadgarstka i biodra, ale zwiększa ryzyko złamania kostki piszczelowej i strzałkowej.

Należy wziąć pod uwagę także osoby cierpiące na anoreksję. Badanie przeprowadzone wśród 34 letnich Japońek, które cierpią na jadłowstręt psychiczny, wykazało, że poziom zmineralizowania kości jest ściśle związany z podażą pokarmu. U tych pacjentek dochodzi do zmniejszonego tworzenia kości i zwiększonej aktywacji osteoklastów, przez co ma miejsce zwiększona resorpcja kości (Hiramatsu R i in. 2013).

3.3 Bisfosfoniany

Zgodnie z najnowszymi wytycznymi National Osteoporosis Guidelines Group (NOGG), lekami pierwszego rzutu w terapii osteoporozy w grupie kobiet pomenopauzalnych są bisfosfoniany, głównie alendronian i rizendronian (Compston i in. 2017). Mechanizm działania tej grupy opiera się na selektywnej inhibicji aktywności osteoklastów, co zapobiega resorpcji tkanki kostnej. Z drugiej strony, nie hamują kościotworzenia i moduluje działanie osteoblastów, dzięki czemu możliwy jest znaczny przyrost masy kostnej. Bisfosfoniany wzmacniają kości i zapobiegają ich uszkodzeniom poprzez tworzenie trwałych kompleksów z kryształami hydroksyapatytu. Głównym wskazaniem do terapii tymi lekami jest osteoporoza pomenopauzalna, jednak ze względu na swoją skuteczność, są one stosowane również w innych chorobach takich jak szpiczak mnogi, choroba Pageta oraz przerzuty nowotworowe do kości (Sewerynek 2016). Preferowanym sposobem podawania jest droga doustna. Leki z grupy bisfosfonianów należy stosować na czczo, popijając wodą, nie mniej niż 2 godziny przed posiłkiem. Jest to spowodowane ich niską biodostępnością -z przewodu pokarmowego wchłania się

jedynie 0,7% substancji i wartość ta obniża się w przypadku podania pokarmu czy innego leku. Dodatkowo, zaleca się utrzymywanie pionowej pozycji ciała przez minimum 30 minut. Wychodząc na przeciw potrzebom pacjentów, obecnie istnieje możliwość dawkowania alendronianu i rizedronianu raz w tygodniu, co w znacznym stopniu zwiększa komfort terapii. Udowodnione zostało, że alendronian stosowany w dawce 70 mg raz w tygodniu posiada taki sam efekt terapeutyczny jak podczas dawkowania 10 mg raz dziennie (Schnitzer i in. 2000). Przed włączeniem leków, należy zadbać o odpowiedni poziom wapnia i witaminy D. Popularność bisfosfonianów wiąże się z obiecującymi efektami leczenia. Codzienne stosowanie alendronianu podczas trzyletniej terapii zmniejsza względne ryzyko złamań kręgow o 47%, bliższego końca kości udowej o 51% oraz pozakręgowych o 20%. Podobne wyniki uzyskano u innych przedstawicieli tej grupy (Drake et al. 2008). Ocena efektów terapii bisfosfonianami powinna nastąpić po upływie 5 lat. Według NOGG „w przypadku braku kontynuacji leczenia, należy przeprowadzić ocenę ryzyka po nowym złamaniu, niezależnie od czasu jego wystąpienia. Jeśli nie pojawi się żadne nowe złamanie, ponowna ocena ryzyka złamania powinna nastąpić w okresie między 18 miesięcy - 3 lata”. Grupy pacjentów, u których leczenie powinno być przedłużone, obejmują: osoby po 75 roku życia, osoby ze złamaniami osteosklerotycznymi, osoby, które doznały złamania podczas terapii oraz tych, którzy przyjmują glikokortykosterydy. Całkowity okres leczenia bisfosfonianami nie powinien przekroczyć 10 lat (Compston i in. 2017).. Doustne stosowanie leków z tej grupy niesie za sobą szereg działań niepożądanych, z których najistotniejszymi były dolegliwości dotyczące przewodu pokarmowego (zgaga, ból brzucha oraz biegunka). Często przyczyniały się one do zakończenia terapii. W takich wypadkach korzystnym rozwiązaniem była zmiana preparatu na inny z grupy bisfosfonianów doustnych o rzadszym dawkowaniu lub zmiana sposobu podaży leku na dożylny. W przypadku podania preparatów w sposób parenteralny, pacjenci częściej narażeni są na reakcje ostrej fazy o charakterze grypopodobnym (Drake et al. 2008). Inną możliwością jest zastosowanie denosumabu, będącego ludzkim przeciwciałem monoklinalnym przeciwko RANKL, jednak należy zaznaczyć, że jest to kosztowny sposób leczenia(Compston i in. 2017).

3.4 Teryparatyd i denosumab

Teryparatyd jest analogiem parathormonu o działaniu anabolicznym, wykorzystuje się go w terapii osteoporozy pomenopauzalnej, posteroïdowej oraz w przypadku osteoporozy u mężczyzn. Działanie metaboliczne tego leku, polega na stymulowaniu resorpcji zwrotnej wapnia w kanalikach nerkowych, wydalaniu fosforanów wraz z moczem, oraz zwiększaniu wchłaniania wapnia z przewodu pokarmowego. Pobudza on także kościotworzenie poprzez wzrost liczby i aktywności osteoblastów, nie wpływa natomiast na osteoklasty. Regularne stosowanie teryparatydu obniża ryzyko złamań w obrębie kręgow, jak i również złamań pozakręgowych. Nie wykazano natomiast wpływu na redukcję złamań w obrębie kości biodrowej (Shrader i in. 2005).

By okres leczenia był jak najbardziej bezpieczny i optymalny, w Europie zaleca się stosowanie teryparatydu przez 12-18 miesięcy, w dawce 2µg/dzień. Maksymalny czas terapii nie powinien przekraczać dwóch lat. Lek ten można stosować jako farmakoterapię drugiej linii w osteoporozie pomenopauzalnej i posteroïdowej (Leszczyński i in. 2015). Teryparatyd może być wykorzystany jako lek pierwszego rzutu, tylko w przypadku bardzo niskiej gęstości kości (T-score <- 3,5 SD), po dokonanych kolejnych złamaniach (Das i Crockett 2013).

Denosumab jest ludzkim przeciwciałem monoklinalnym (IgG2). Jego działanie polega na łączeniu się z białkiem RANKL, co zapobiega aktywacji receptorów na powierzchni osteoklastów i ich prekursorów. W ten sposób hamuje działanie, powstawanie i przeżywanie osteoklastów. Lek ten znajduje zastosowanie w leczeniu osteoporozy pomenopauzalnej, utraty masy kostnej w wyniku ablacji hormonalnej, u mężczyzn cierpiących na raka gruczołu krokowego ze zwiększonym ryzykiem złamań kości. Lek podawany jest podskórnym.

Badanie na temat stosowania jednocześnie teryparatydu i denosumabu wykazało, że stosowane razem, podwyższają gęstość mineralną kości w obrębie kręgosłupa, bioder oraz szyjki kości udowej wśród kobiet po menopauzie.

3.5 Selektywne modulatory receptorów estrogenowych

Spadek poziomu estrogenów po menopauzie, to główna przyczyna rozwoju osteoporozy u kobiet. Hormony te pomagają w regulacji procesów kościotworzenia, natomiast w okresie ich niedoboru dochodzi do przewagi resorpcji nad tworzeniem kości. Estrogeny stymulują powstawanie kalcytriolu, który zwiększa resorpcję wapnia w nerkach, ale także stymuluje wchłanianie wapnia w obrębie jelit. Hormony te zwiększają także syntezę kalcytoniny i hamują działanie parathormonu, który odpowiada za resorpcję wapnia z kości. Spadek poziomu estrogenów powoduje wzrost liczby i przedłużenie życia osteoklastów. Możliwa jest suplementacja estrogenów formie hormonalnej terapii zastępczej, ale alternatywą, lub kontynuacją dla niej są selektywne modulatory receptorów estrogenowych (SERM).

Do grupy SERM należą tamoksifen, raloksyfen i toremifen. Łączą się one z receptorami estrogenowymi i powodują zahamowanie niekorzystnych działań receptora, natomiast stymulują te pożądane. Ich działanie zmienia się w zależności od rodzaju tkanki, do której receptorów się przyłączają. Obecnie w Europie do leczenia osteoporozy pomenopauzalnej stosuje się dwa leki z tej grupy – bazedoksyfen i raloksyfen.

Raloksyfen, obecnie najczęściej stosowany lek z tej grupy, ma działanie agonistyczne w stosunku do kości oraz metabolizmu cholesterolu, natomiast kompetencyjnie blokuje receptory estrogenowe w sutku i endometrium. Lek ten, podawany w dawce 60mg/dobę, zmniejsza ryzyko złamania kręgu o około 55% u osób, które nie przeżyły wcześniej żadnego złamania, natomiast u osób po złamaniu w obrębie kręgosłupa, aż o ponad 33%. Niestety, badania nie dowiodły, że zmniejsza on ryzyko złamania w obrębie innych kości (Ettinger i in. 1999). Raloksyfen zmniejsza aktywność markerów obrotu kostnego, do poziomu sprzed menopauzy, chroni przed utratą masy kostnej, a także obniża stężenie LDL i cholesterolu w surowicy krwi, bez agonistycznego wpływu na endometrium. Lek ten, nie obniża zdolności intelektualnej stosujących go kobiet, wręcz przeciwnie – w porównaniu do grupy placebo, kobiety radzą sobie o wiele lepiej w testach uwagi i pamięci słownej. Terapia lekami z tej grupy zwiększa ryzyko zatorowości płucnej i zakrzepicy żyłnej, jednakże zdarza się to niezwykle rzadko.

SERM podajemy raz na dobę, niezależnie od posiłków i pory dnia. Leki te stosujemy w drugiej linii leczenia osteoporozy pomenopauzalnej, w przypadku nietolerancji terapii pierwszego rzutu. W przypadku długotrwałego unieruchomienia, należy zaniechać stosowania tych leków, podobnie przed planowaną operacją, leki odstawiamy na 3 dni przed zabiegiem. Ten rodzaj farmakoterapii jest szczególnie zalecany wśród kobiet w grupie wysokiego ryzyka zachorowania na raka piersi, z zaburzeniami lipidowymi, u pacjentek po menopauzie, z brakiem miesiączki od ponad roku (Pinkerton i Thomas 2014).

3.6 Hormonalna terapia zastępcza

Według najnowszych wytycznych National Osteoporosis Guideline Group, zastosowanie hormonalnej terapii zastępczej (HTZ) jest opcjonalnym sposobem leczenia osteoporozy pomenopauzalnej (Compston i in. 2017). Powinna być włączona przed ukończeniem przez pacjentkę 60 roku życia lub w trakcie pierwszych 10 lat trwania osteoporozy. W późniejszych okresach traktowana jest jako terapia drugiego rzutu. Wprowadzenie HTZ do leczenia ma przeciwdziałać wczesnym objawom menopauzy (terapia krótkotrwała), jak i profilaktykę schorzeń (terapia wielolekowa).

W kontekście układu kostno-szkieletowego, najistotniejszym celem terapii HTZ jest długoterminowa protekcja złamań osteoporotycznych. Dla kobiet w okresie menopauzalnym najgroźniejszym z nich jest złamanie szyjki kości udowej. Badania wskazują, że *24% kobiet, które doznały tego złamania po 50. roku życia, umiera w ciągu 12 miesięcy* (Suchecka- Rachoń, 2005). Profilaktyczne zastosowanie HTZ powoduje, że ryzyko wystąpienia złamania szyjki udowej maleje o 34%. Korzystne działanie estrogenów widoczne jest również w zapobieganiu osteoporotycznych złamań kręgow. W swojej pracy Torgerson podkreśla, że stosowanie hormonoterapii zastępczej sprzyja redukcji ryzyka złamań kręgow o 33% w odniesieniu do grupy kontrolnej (Torgerson i in. 2001). Satysfakcjonujące wyniki odnotowywane są również w przypadku zmniejszenia częstości złamań nadgarstka (o 40%). Dodatkowo badania dotyczące wpływu hormonalnej terapii zastępczej

na ogólną ocenę stanu zdrowia fizycznego i psychicznego wskazują, że kobiety w grupie powyżej 55 roku życia, stosujące HTZ posiadały mniej ograniczeń w zakresie czynności dnia codziennego. Mimo, że pozytywne aspekty stosowania HTZ uwidaczniają się już po 3 latach leczenia pacjentek w 6 dekadzie życia, sugerowana jest terapia długoterminowa. Przemawia za tym fakt, że odstawienie hormonoterapii zastępczej wiązało się z wysokim ryzykiem nawrotu dolegliwości w ciągu 12-15 miesięcy.

Bezwzględny przeciwwskazaniem do włączenia HTZ do leczenia są: ostra faza zakrzepicy żył głębokich, ostra niewydolność wątroby oraz występowanie raka gruczołu piersiowego lub raka błony śluzowej macicy. Ponadto, ze względu na liczne działania niepożądane, przed wdrożeniem HTZ należy rozważyć stosunek korzyści do ryzyka terapii. Najważniejszymi z nich są: podwyższone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, choroby zakrzepowo-zatorowej i kamicy pęcherzykowej. Wzrasta także zagrożenie rozwoju choroby nowotworowej, szczególnie raka sutka. Zmieniło się również stanowisko w przypadku profilaktyki niedokrwiennej udaru mózgu- kiedyś zalecana HTZ, obecnie uważana jest za jeden z czynników ryzyka TIA (Suchecka- Rachoń 2005).

3.7 Witamina D

Zastosowanie witaminy D odgrywa istotną rolę zarówno w profilaktyce, jak i w trakcie leczenia osteoporozy pomenopauzalnej. Normalizacja poziomu cholekalcyferolu sprzyja uzyskaniu równowagi gospodarki wapniowo-fosforanowej, która jest niezbędna do prowadzenia skutecznego leczenia choroby. Z uwagi na powszechny niedobór witaminy D oraz zmniejszoną skuteczność syntezy skórnej, osoby powyżej 65 roku życia powinny suplementować cholekalcyferol w dawce 800-2000 IU/dobę. W przypadku osób starszych, powyżej 75 roku, rekomendowana podaż wynosi 2000-4000 IU/dobę. Wynika to z obniżonych zdolności do absorpcji układu pokarmowego seniora (Rusińska i in. 2018). Głównym działaniem witaminy D w odniesieniu do układu kostnego jest jej udział w procesach wchłaniania wapnia i aktywacji osteoblastów. Ponadto, wzmacnia syntezę białka wiążącego wapń i wpływa na resorpcję fosforu (Dittfeld i in. 2014). Istotnym aspektem działania witaminy D jest powinowactwo jej aktywnego metabolitu do receptora VDR komórek mięśniowych, co stymuluje biosyntezę białek odpowiedzialnych za wzrost liczby tych komórek. Funkcja ta ma bezpośredni wpływ na zwiększenie siły mięśni antygrawitacyjnych, co przeciwdziała głównej przyczynie złamań osteosklerotycznych- upadkom. Ich następstwem są między innymi najgroźniejsze złamania, między innymi przedramienia, szyjki kości udowej oraz kręgosłupa.

Wśród dostępnych preparatów używanych w terapii osteoporozy pomenopauzalnej wyróżniamy między innymi: kalcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$), alfacalcidol ($1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$), kalcyfediol ($25(\text{OH})\text{D}$) oraz cholekalcyferol (witamina D_3). Główne różnice między tymi związkami to czas działania i cena.

4. Podsumowanie i wnioski

Osteoporoza pomenopauzalna jest chorobą o typie inwolucyjnym, związaną z niedoborem estrogenów, w wyniku czego następuje zwiększenie kościogubnej aktywności osteoklastów. Współczesna medycyna umożliwia pacjentkom kompleksową terapię złożoną z leków oraz metod nefarmakologicznych.

Podstawowymi założeniami leczenia osteoporozy pomenopauzalnej jest doustne stosowanie leków z grupy bisfosfonianów, szczególnie alendronianu i rizenadronianu. Właściwości preparatów umożliwiają przyjmowanie ich raz w tygodniu z zachowanym efektem terapeutycznym. Zapobiega to rozwojowi działań niepożądanych związanych z dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego.

W przypadku nietolerancji doustnych bisfosfonianów, zaleca się zmianę formy podania leku na dożylną lub rozpoczęcie terapii denosumabem, ludzkim przeciwciałem monoklinalnym przeciwko RANKL. Leczenie terapytatem także przynosi znaczne korzyści, szczególnie stosowane razem z denosumabem.

Alternatywne możliwości leczenia obejmują włączenie hormonoterapii zastępczej lub raloksyfenu (selektywnego modulatora estrogeny), jednak wiążą się one z licznymi przeciwwskazaniami oraz działaniami niepożądanymi.

Styl życia, aktywność fizyczna oraz odpowiedni poziom wapnia i witaminy D są istotnymi czynnikami wpływającymi zarówno na ryzyko rozwoju osteoporozy, jak również na sukces prowadzonej terapii. Należy podkreślić, że przed wdrożeniem danego leku, należy przeprowadzić skuteczną suplementację niedoborów.

5. Literatura

- Chwojnowska Z, Charzewska J (2008) Osteoporoza – aktualne wyzwanie. *Żywność Człowieka i Metabolizm* 35(2):151-184.
- Compston, J., Cooper, A., Cooper, C. et al. *Archives of Osteoporosis* (2017) 12: 43.
- Das S, Crockett J (2013) Osteoporosis — a current view of pharmacological prevention and treatment. *Drug Des. Devel. Ther.* 7: 435–448.
- Dittfeld A, Gwizdek K, Koszowska A i in. (2014) Wielokierunkowe działanie witaminy D. *Ann. Acad. Med. Siles.* 68(1): 47–52.
- Drake M, Clarke B, Khosla S (2008) Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice. *Mayo Clinic Proceeding* 83(9):1032-1045.
- Ettinger B, Black D, Mitlak B et al. (1999) Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* 282: 637–645.
- Herrero S, Pico Y (2016) Can a healthy life prevent us from post-menopausal osteoporosis? Myths and truths. *Pharma Nutrition* 4(2): 45-53.
- Hiramatsu R, Ubara Y, Suwabeet T et al. (2013) Bone histomorphometric analysis in a patient with anorexia nervosa. *Bone* 56: 77–82.
- Hogson S (2007) *Coradzi lekarz. Osteoporoza*. Świat Książki, Warszawa.
- Karczmarewicz E, Głuszko P, Lorenc R (2009) Osteoporoza – postępy 2009. *Medycyna Praktyczna* 2010,3:58-64.
- Kwiatkowska E (2005) Fitoestrogeny w zapobieganiu osteoporozie. *Przegląd Menopauzalny* 5:306-309.
- Leszczyński P, Korkosz M, Pawlak-Buś K i in. (2015) Diagnostyka i leczenie osteoporozy — zalecenia Polskiego Towarzystwa Reumatologicznego. *Forum Reumatologiczne* 1: 12–24.
- NIH Consensus Statement (2000) Osteoporosis prevention, diagnosis and therapy 17(1):1-45.
- Osieleniec J, Czerwiński E (2010) Postępowanie w osteoporozie pomenopauzalnej: zalecenia North American Menopause Society. *Medycyna po Dyplomie, Nowości w praktyce* 19(7):18-19.
- Pinkerton J, Thomas S (2014) Use of SERMs for treatment in postmenopausal women. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 142: 142–154.
- Schnitzer T, Bone HG, Crepaldi G, et al. (2000) Therapeutic equivalence of alendronate 70 mg once-weekly and alendronate 10 mg daily in the treatment of osteoporosis. *Aging (Milano)* 12: 1–12.
- Shrader S, Ragucci K (2005) Parathyroid hormone (1–84) and treatment of osteoporosis. *Ann. Pharmacother* 39: 1511–1516.
- Suchecka-Rachoń K, Rachoń D (2005) Rola hormonalnej terapii zastępczej (HTZ) u kobiet w okresie pomenopauzalnym. *Choroby Serca i Naczyń* 2(3): 115-124.
- Torgerson D, Bell-Syer S (2001) Hormone replacement therapy and prevention of vertebral fractures: a meta-analysis of randomised trials. *BMC Musculoskelet Disord* 2:7.
- Rusińska A, Płudowski P, Walczak M i in. (2018) Zasady suplementacji i leczenia witaminą D- nowelizacja 2018 r. *Postępy Neonatologii* 24(1): 1-20.

17. Farmakologiczna profilaktyka żylnych choroby zakrzepowo-zatorowej w codziennej praktyce klinicznej

Pharmacological prevention of venous thromboembolism in clinical practice

Neścior Małgorzata⁽¹⁾, Hołowczuk Magdalena⁽¹⁾, Terpiłowski Michał⁽¹⁾, Orzeł Anna⁽¹⁾, Janeczko Dominika⁽¹⁾, Piech Piotr⁽²⁾, Klatka Barbara⁽¹⁾

⁽¹⁾ Studenci Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

⁽²⁾ Zakład Anatomii Prawidłowej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: dr n. med. Robert Węglowski

Małgorzata Neścior: malgorzata.nescior@gmail.com

Słowa Kluczowe: profilaktyka przeciwwkrzepliwa, zatorowość płucna, zakrzepica żył głębokich

Streszczenie

Żylna choroba zakrzepowo-zatorowa jest trzecią najczęstszą chorobą układu krążenia i dotyka 100-250 osób na 100 000 rocznie. Szczególnym ryzykiem wystąpienia ŻChZZ objęci są pacjenci hospitalizowani, unieruchomieni, po operacjach lub rozległych urazach oraz pacjenci onkologicznych. Odpowiednio wcześniej wdrożona profilaktyka przeciwzakrzepowa może przyczynić się do zmniejszenia ryzyka wystąpienia choroby.

Na rynku dostępnych jest kilka leków stosowanych w profilaktyce zakrzepowo-zatorowej, takich jak: heparyna niefrakcjonowana i drobnocząsteczkowa, antagonisty witaminy K, inhibitory czynnika Xa i bezpośrednie inhibitory trombiny. Wybór preparatu powinien podyktowany być stanem zdrowia pacjenta, planowanym leczeniem oraz potencjalnymi przeciwwskazaniami dla innych metod profilaktyki.

Celem pracy jest przegląd i ocena zalecanych farmakologicznych metod profilaktyki zakrzepowo-zatorowej. Autorzy poddali analizie aktualne wytyczne i badania naukowe dotyczące omawianej tematyki, korzystając z najnowszych źródeł.

1. Wstęp

Żylna choroba zakrzepowo-zatorowa obejmuje dwie jednostki chorobowe: zakrzepicę żył głębokich (ZŻG) oraz zatorowość płucną (ZP).

ZŻG jest spowodowana powstaniem zakrzepu w układzie żył głębokich (pod powięzią głęboką) kończyn dolnych, rzadziej górnych. Często przebiega bezobjawowo lub skąpo objawowo. U chorego może wystąpić ból kończyny podczas chodzenia lub jej obrzęk. 70% przypadków obrzęku jednej kończyny dolnej jest skutkiem ZŻG. Dodatkowo może być obecna tkliwość i bolesność uciskowa oraz ocieplenie kończyny. Kończyna w zależności od stadium rozwoju zakrzepicy może być nadmiernie biała lub zasiniona albo pozostać bez zmian. Nierozpoznanie ZŻG oraz zaniechanie leczenia może prowadzić do amputacji kończyny.

Zatorowość płucna (ZP) jest spowodowana zwięzieniem lub zamknięciem przez materiał zakrzepowy tętnicy płucnej lub jej gałęzi. Materiał ten najczęściej pochodzi z głębokich żył kończyn dolnych lub miednicy mniejszej co zwraca uwagę na powiązanie ze sobą występowania zatorowości płucnej oraz zakrzepicy żył głębokich. Rzadszą przyczyną zatoru może być płyn owodniowy, powietrze, tkanka tłuszczowa lub masa guza nowotworowego. Zablokowanie tętnicy płucnej, które prowadzi do zaburzenia stosunku wentylacji do perfuzji oraz wzrostu oporu naczyń które przyczynia się do uszkodzeniem prawej komory. Zakłóca to obieg krwi i wymianę gazową co objawia się dusznością o nagłym początku, której towarzyszy ból w klatce piersiowej. U ponad połowy pacjentów występuje tachypnoe i tachykardia, a w późniejszym okresie hipotensja z objawami wstrząsu. Zagrożające życiu zmiany w zatorowości płucnej rozwijają się bardzo szybko, powodując nagłe pogorszenie stanu zdrowia pacjenta, dlatego konieczne jest szybkie zdiagnozowanie choroby i zastosowanie odpowiedniego leczenia.

Zbiorecze badania wskazują, że żylna choroba zakrzepowo-zatorowa jest trzecią najczęstszą chorobą układu krążenia i dotyka 100-200 osób na 100 000 rocznie (Heit i in. 2016). Niestety nie dysponujemy wiarygodnymi statystykami dotyczącymi rocznej zachorowalności na ŻChZZ i ZP w Polsce. Najsilniejszymi czynnikami wywołującymi ŻChZZ są rozległe urazy, złamania kończyn dolnych i choroby nowotworowe (Kozioł i In. 2018). U kobiet szczególnym czynnikiem ryzyka jest doustna antykoncepcja i ciąża - ryzyko zatorowości płucnej jest największe w trzecim trymestrze ciąży i do 6 tygodni po porodzie. Na wystąpienie ŻChZZ mają wpływ trzy czynniki (triada Virchowa): zwolnienie przepływu krwi (np. skutek unieruchomienia kończyny lub ucisku żyły), przewaga czynników prozakrzepowych nad inhibitorami krzepnięcia i czynnikami fibrynolitycznymi (trombofilie wrodzone i nabyte), uszkodzenie ściany naczyniowej (np. w wyniku urazu lub mikrourazów podczas operacji kończyny dolnej). Kluczowe znaczenie w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia ŻChZZ jest odpowiednia profilaktyka.

2. Opis zagadnienia

W profilaktyce oraz leczeniu żylnych chorób zakrzepowo-zatorowych dostępna jest szeroka gama leków przeciwkrzepliwych o odmiennych mechanizmach działania i właściwościach farmakokinetycznych. Do jednych z najczęściej stosowanych grup leków należą heparyny, czyli rodzina siarczanowych pochodnych glikozaminoglikanów. Heparyna wykazuje działanie przeciwkrzepliwie poprzez aktywację antytrombiny III, która hamuje głównie działanie trombiny, a w mniejszym stopniu również czynników krzepnięcia Xa, IXa, XIa, XIIa. Możliwe jest to dzięki wytworzeniu się wiązania pomiędzy specyficzną sekwencją pentasacharydową cząsteczki leku, a antytrombiną. Dodatkowo heparyna pobudza uwalnianie inhibitora drogi krzepnięcia zależnej od tromboplastyny tkankowej z komórek śródbłonna oraz może hamować uaktywnienie czynnika stabilizującego włóknik, czy też może modulować agregację płytek krwi. Heparyna dostępna jest dwóch postaciach: niefrakcjonowanej oraz drobnocząsteczkowej (Hemker 2016).

Grupą również często stosowaną w leczeniu przeciwkrzepliwym są antagoniści witaminy K (VKA), do których zalicza się warfarynę i acenokumarol. Leki te blokują działanie enzymu reduktazy witaminy K (VKORC1) przez co hamują one wytwarzanie czynników krzepnięcia II, VII, X i IX, których gamma-karboksylacja reszt kwasu glutaminowego zależy od zredukowanej witaminy K. Uniemożliwiają one ponadto powstanie endogennych białek przeciwkrzepliwych (białka C i S), przez co na początku leczenia dochodzić może do przemijającego zwiększenia krzepliwości.

Kolejnymi lekami stosowanymi w leczeniu i profilaktyce żylnych chorób zakrzepowo-zatorowych są leki o bezpośrednim działaniu przeciwkrzepliwym i stosowane w sposób doustny określa się mianem bezpośrednich doustnych antykoagulantów (DOAC- directoral anticoagulants). Wśród nich wymienia się preparaty apiksabanu, dabigatranu, edoksabanu i rywaroksabanu (Szymański 2017; Pruszczyk i in. 2017). Do tej grupy należą bezpośrednio inhibitory trombiny. Blokują one miejsce katalityczne lub miejsce rozpoznawania substratu na trombinie, a do swojego działania nie wymagają obecności żadnych kofaktorów. Do najczęściej stosowanych należy podawany doustnie dabigatran, natomiast rekombinowane hirudyny (lepirudyna, desirudyna) i syntetyczne analogi hirudyny (biwalirudyna, argatroban) dostępne są w formie dożylniej (Szymański 2017). Jedynymi z najnowszych leków przeciwkrzepliwych są inhibitory czynnika Xa. Hamują one jego działanie bezpośrednio, bez pośrednictwa antytrombiny III. Do leków z tej grupy zalicza się rywaroksaban i apiksaban. Rywaroksaban hamuje zarówno wewnątrzpochodną, jak i zewnątrzpochodną kaskadę krzepnięcia krwi, uniemożliwiając powstanie zakrzepu. Nie ma on wpływu na płytki krwi oraz aktywną trombinę. Apiksaban wykazuje podobne działanie. Pośrednio hamuje agregację płytek krwi zależną od trombiny, hamuje czynnik Xa zarówno wolny, jak i związany z zakrzepem oraz wstrzymuje aktywność protrombinazy. Dabigatran natomiast jako silny, kompetencyjny, odwracalny inhibitor trombiny ma wpływ zarówno na jej postać wolną, a także związaną z zakrzepem. Jego siła działania jest wprost proporcjonalna do stężenia.

Grupą często wykorzystywaną w profilaktyce są leki przeciwplatekcyjne. Do tego zespołu należą leki hamujące wytwarzanie (kwas acetylosalicylowy) lub aktywność (abcixymab, tirofiban, eptifibatyd) mediatorów agregacji płytek. Obecnie prowadzone są także badania nad lekami przeciwplatekcyjnymi o odmiennym mechanizmie działania. Są to antagoniści receptora trombinowego

(varopaksari, atopaksar) oraz inhibitory czynnika von Willebranda. Antagoniści receptora trombinowego blokują znajdujący się na trombocytach receptor PAR-1 dla trombiny, która jest jednym z najsilniejszych aktywatorów płytkowych (Karaźniewicz-Łada i in. 2017). Kwas acetylosalicylowy jest jednym z najczęściej stosowanych leków. Hamując działania cyklooksygenazy-1 płytek krwi i osłabiając trombinogenezę, wykazuje on właściwości antyagregacyjne. Hamuje on uwalnianie tromboksanu płytek krwi, Ponadto, stosowany w większych dawkach wykazuje antagonizm w stosunku do witaminy K i osiąga działanie przeciwzakrzepowe (Karaźniewicz-Łada i in. 2017). Prasugrel, klopidoogrel oraz tiklopidyna nieodwracalnie blokują receptory dla adenylozyny (P2Y) na powierzchni płytek krwi, przez co zapobiegają ich agregacji. Wśród tej grupy tiklopidyna jest rzadko stosowana, ponieważ wykazywała one częstsze działania niepożądane (Karaźniewicz-Łada i in. 2017). Antagonistami glikoproteiny IIb/IIIa są natomiast abciximab, tirofiban i eptifibatyd. Blokując receptor GP IIb/IIIa na powierzchni trombocytu, uniemożliwiają zwiążanie się z nimi fibrynogenu i wytworzenie wiązań krzyżowych pomiędzy płytkami, co skutkuje zahamowaniem agregacji płytek. Abciximab jest przeciwciałem monoklonalnym i stosowany jest jedynie w szczególnych przypadkach. Tirofiban i eptifibatyd są kompetencyjnymi, odwracalnymi inhibitorami receptora (Bochenek i in. 2009). Lekiem wykazującym również działanie przeciwpłytkowe jest epoprostenol. Jest on agonistą receptora prostanoidowego (IP), przez co wykazuje działanie wazodylatacyjne oraz hamuje agregację płytek krwi (Greig i in. 2014).

W terapii żylnych choroby zakrzepowo-zatorowej stosowane są także leki fibrynolityczne. Mają one za zadanie rozpuścić istniejący już skrzep na drodze nasilenia powstawania plazminy, z jej prekursora plazminogenu lub aktywując tkankowy plazminogen. Do tej grupy leków należy streptokinaza, czyli oczyszczone białko wytwarzane przez *Streptococcus haemolyticus* grupy C. Powoduje ona aktywację plazminogenu i przyspiesza jego konwersję do plazminy, która działa litycznie na skrzep oraz fibrynogen osocza. Alteplaza natomiast jest to rekombinowana pochodna tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA). Przekształca plazminogen w plazminę, po połączeniu z fibryną. Lekiem o podobnym mechanizmie działania jest tenekteplaza. Ma duże powinowactwo do fibryny i wyższą wytrzymałość na unieczynnienie przez endogenne inhibitory PAI-1 niż natywny t-PA.

Leki stosowane w profilaktyce i leczeniu żylnych choroby zakrzepowo-zatorowej cechują się dużą różnorodnością. Każda z grup stosowanych preparatów charakteryzuje się odmiennym mechanizmem działania, co powoduje różnice w trakcie terapii z ich użyciem. Wśród heparyn do najczęściej używanych należą postaci drobnocząsteczkowe, ze względu na ich zmniejszone wiązanie z białkami, większą biodostępność i klirens niezależny od dawki. Powoduje to, że są one bardziej przewidywalne w terapii i w jej skutkach, a także nie wymagają monitorowania APTT (czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji) w porównaniu z postaciami niefrakcjonowanymi. Skutkuje to, że drobnocząsteczkowe heparyny są jednymi z najczęściej stosowanymi lekami w profilaktyce przeciwzakrzepowej (Grodzicki i in. 2018). Spośród doustnych antykoagulantów głównie używane są antagoniści witaminy K oraz bezpośrednich doustnych antykoagulantów. W ostatnich latach większą rolę przypisuje się DOAC, ponieważ terapia VKA niesie za sobą wiele ograniczeń. W przypadku VKA efekt przeciwwkrzepliwy pojawia się dopiero po kilku dniach stosowania, ponieważ hamują one syntezę nowych czynników krzepnięcia. Dotychczas występujące muszą zostać zdegradowane, aby lek uzyskał efekt. Wymusza to często na początku terapii konieczność podawania leków z grupy heparyn. Ponadto leki te wymagają ciągłego monitorowania INR i dopasowania dawki do jego poziomu. Jednym z głównych trudności w terapii VKA jest duża liczba ewentualnych interakcji pomiędzy nimi, a lekami, a także produktami spożywczymi. Pacjenci w celu uzyskania stabilności leczenia muszą ściśle kontrolować swoją dietę pod kątem występowania w niej produktów bogatych w witaminę K (Grodzicki i in. 2018; Wojtukiewicz i in. 2016) W przypadku leków z grupy DOAC terapia niesie ze sobą mniej trudności. Mają porównywalną skuteczność i lepszy profil bezpieczeństwa w stosunku do VKA. Leczenie z ich użyciem wiąże się jednak ze wzmożonym ryzykiem powikłań krwotocznych. Wykazują one działanie przeciwwkrzepliwe już w pierwszych godzinach terapii. Kuracja nimi jest wygodniejsza zarówno dla pacjenta, jak i lekarza, ponieważ nie wymaga ona ciągłego monitorowania laboratoryjnego w celu ustalenia dawki zapewniającej

uzyskanie efektu terapeutycznego. Ocena skuteczności leczenia przeciwkrzepliwego jest pomocna u chorych, u których wystąpiło ciężkie krwawienie, a także u pacjentów przed zabiegami operacyjnymi. Dabigatran wydłuża czas trombinowy (TT), natomiast bezpośrednie inhibitory czynnika Xa nie wpływają na jego wynik. Rywaroksaban wydłuża czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) w najbardziej charakterystyczny sposób spośród dostępnych DOAC (Pruszczyk i in. 2017). Ponadto, dodatkową korzyścią w stosowaniu leków z grupy DOAC jest występowanie antidotum dla dabigatranu – idarucizumabu (Szymański i in. 2018). W przypadku chorych stosujących kwas acetylosalicylowy należy pamiętać, że efekty jego działania zależą od dawki, dlatego pacjenci powinni zostać dokładnie poinformowani o sposobie przyjmowania leku. Ponadto w związku z polimorfizmem genetycznym cyklooksygenazy 1 oraz innych enzymów biorących udział w biosyntezie tromboksanu, wśród pacjentów stosujących ASA może występować zmienność odpowiedzi (Karaźniewicz-Łada i in. 2013). W przypadku stosowania leków fibrynolitycznych, należy pamiętać, że streptokinaza może być zastosowana tylko raz, ponieważ po jej użyciu powstają przeciwciała, które przy ponownym jej zastosowaniu mogą zablokować jej działanie. Istotnymi powikłaniami w przypadku stosowania leków fibrynolitycznych są krwawienia, które wynikają ze zmian ogólnoustrojowych takich jak wyczerpanie czynników krzepnięcia, czy wytwarzanie nadmiernych ilości produktów degradacji fibryny (FDP), wywołanych ich działaniem (Kluft i in. 2017).

3. Przegląd literatury

Aktualne zalecenia dotyczące profilaktyki, diagnostyki i leczenia ŻChZZ oparte są na opublikowanym w 2017 roku Konsensusie Polskim (KP) opracowanym na podstawie analizy danych z ogólnodostępnej literatury oraz międzynarodowych wytycznych, w szczególności zaleceniach American College of Chest Physicians (ACCP) (Tomkowski i in. 2017). U pacjentów poddawanych zabiegom z zakresu chirurgii ogólnej istotnym modelem stratyfikacji pacjenta jest model oceny ryzyka ŻChZZ według Capriniego (tab. 1). Skala ta została opracowana w końcu lat 80-tych, a następnie zmodyfikowana w 2005 i 2009. Obejmuje ona 40 czynników ryzyka sklasyfikowanych zgodnie z 5-cio punktową klasyfikacją w zależności od znaczenia (Chmielewski i in. 2014). Pacjentów w zależności od ilości uzyskanych punktów klasyfikuje się w odpowiednich grupach ryzyka (tab. 2).

Tab 1. Skala Capriniego.

1 pkt	2 pkt	3 pkt	pkt
<ul style="list-style-type: none"> - Wiek 41–60 lat - Mały zabieg operacyjny - BMI > 25 kg/m² - Obrzęk kończyn dolnych - Żylaki kończyn dolnych - Cięża lub okres połogu - Przebyte niewyjaśnione lub nawykowe poronienia - Doustna antykoncepcja lub hormonalna terapia zastępcza - Sepsa (< 1 miesiąc) - Poważna choroba płuc, w tym zapalenie płuc (< 1 miesiąc) - Zaburzenia czynności płuc - Świeży zawał serca - Zaostrzenie lub rozpoznanie niewydolności serca (< 1 miesiąc) - Choroba zapalna jelit w wywiadzie - Chory leczony zachowawczo, pozostający w łóżku 	<ul style="list-style-type: none"> - Wiek 61–74 lat - Zabieg artroskopowy - Duży zabieg chirurgiczny (> 45 min) - Zabieg laparoskopowy (> 45 min) - Nowotwór złośliwy - Pozostawanie w łóżku (> 72 godziny) - Unieruchomienie gipsowe - Cewnik w żyłę centralnej 	<ul style="list-style-type: none"> - Wiek ≥ 75 lat - Przebyta ŻChZZ w wywiadzie rodzinnym - Czynniki V Leiden - Mutacja G20210A genu protrombiny - Lek przeciwzakrzepowy toczniowy - Przeciwciała antykardiolipinowe - Przeciwciała anti-β₂-GPI - Zwiększone stężenie homocysteiny w surowicy - Małopłytkowość poheparynowa (HIT) - Inna wrodzona lub nabyta trombofilia 	<ul style="list-style-type: none"> - Udar mózgu (< 1 miesiąc) - Planowa alloplastyka stawu - Złamanie kości miednicy, kości udowej lub kości podudzia - Uszkodzenie rdzenia kręgowego (< 1 miesiąc)

Tab 2. Ocena ryzyka ŻChZZ po zsumowaniu punktów

0 pkt	1-2 pkt	3-4 pkt	≥5 pkt
Bardzo małe ryzyko	Małe ryzyko	Umiarkowane ryzyko	Duże ryzyko

U pacjentów małego ryzyka (1-2 pkt w skali Capriniego) należy rozważyć stosunek ryzyka do korzyści. Zaleca się szybkie pozabiegowe uruchamia i mechaniczne metody profilaktyki. W grupie o umiarkowanym ryzyku (3-4 pkt w Skali Capriniego) zaleca się stosowanie heparyny drobnocząsteczkowej (HDCz) lub podawanie heparyny niefrakcjonowanej (HNF) w dawce 5000 jm. 2 lub 3 razy dziennie rozpoczynając terapię przed zabiegiem operacyjnym. W przypadku krwawień lub dużego ich ryzyka zaleca się wykorzystanie mechanicznych metod profilaktyki. Pacjenci z dużym ryzykiem ŻChZZ (≥5 pkt) preferowane jest stosowanie HDCz przed operacją w porównaniu do podawania HNF pierwszy raz 2 godziny przed zabiegiem, potem 3 razy dziennie w dawce 5000 jm. W celu zwiększenia skuteczności profilaktyki zasadne jest zastosowanie mechanicznych metod profilaktyki. Z uwagi na zwiększone ryzyko ŻChZZ u pacjentów po rozległych zabiegach chirurgicznych jamy brzusznej i miednicy zaleca się przedłużenie profilaktyki przeciwzakrzepowej do 28 dni. U chorych poddawanych zabiegom z zakresu chirurgii naczyniowej mimo śródoperacyjnego podawania HNF istnieje zasadność indywidualnej oceny ryzyka ŻChZZ i powikłań krwotocznych biorąc pod uwagę okres unieruchomienia, postęp rehabilitacji pooperacyjnej czy rozległość zabiegu. U pacjentów poddawanych diagnostycznym i terapeutycznym zabiegom nie zaleca się rutynowej farmakologicznej profilaktyki. W przypadku operacji rekonstrukcji naczyniowej sugeruje się stosowanie profilaktyki przeciwzakrzepowej w postaci HDCz czy HNF. U chorych poddawanych onkologicznym zabiegom urologicznym sugeruje się indywidualną ocenę ryzyka ŻChZZ i powikłań w postaci krwotoków. U chorych poddawanych rozległym zabiegom urologicznym zaleca się stosowanie małych dawek HDCz. Natomiast u pozostałych chorych urologicznych z dużym i umiarkowanym ryzykiem ŻChZZ zaleca się również stosowanie HDCz czy HNF (dawki zgodne z zaleceniami producenta). Zasadne jest ponadto stosowanie mechanicznych metod profilaktycznych u pacjentów urologicznych z dużym i bardzo dużym ryzykiem ŻChZZ. Pacjenci poddawani zabiegom z zakresu chirurgii plastycznej obciążeni umiarkowanym i dużym ryzykiem ŻChZZ powinni być objęci farmakologiczną profilaktyką w postaci podawania HDCz lub HNF biorąc pod uwagę ryzyko powikłań krwotocznych. U pacjentów poddawanych zabiegom neurochirurgicznym zaleca się stosowanie mechanicznych metod profilaktyki, a pacjenci z dużym ryzykiem ŻChZZ powinni dodatkowo przyjmować małe dawki HNF lub HDCz w okresie pooperacyjnym. Zabiegi z zakresu torakochirurgii wiążą się z istotnym ryzykiem rozwoju powikłań zakrzepowo-zatorowych stąd zasadne jest stosowanie farmakologicznej profilaktyki u pacjentów z dużym ryzykiem ŻChZZ. Profilaktykę można uzupełnić o mechaniczne metody profilaktyki w przypadku istotnego prawdopodobieństwa powikłań krwotocznych. U pacjentek ginekologicznych z małej grupy ryzyka ŻChZZ stosuje się mechaniczne metody profilaktyczne, natomiast pacjentki z umiarkowanym i dużym ryzykiem ŻChZZ zaleca się profilaktykę stosując HDCz lub HNF. Należy pamiętać, że czas farmakologicznej profilaktyki powinien obejmować cały pobyt w szpitalu, a w szczególnych sytuacjach nawet do 4 tygodni po zakończeniu hospitalizacji. Chore z HIT lub alergią na HDCz powinny przyjmować fondaparynuks. Odmiennie postępowanie dotyczy kobiet w ciąży i zostało przedstawione oddzielnym podrozdziale „Konsensusu Polskiego” (Tomkowski i in. 2017). U pacjentów ortopedycznych sposób profilaktyki również powinien być ustalany indywidualnie w zależności od wykonywanego zabiegu i ryzyka ŻChZZ (Chmielewski i in. 2014). Zalecenia dotyczące pacjentów, u których wykonuje się protezoplastykę stawu biodrowego obejmują HDCz, apiksaban, dabigatran, fondaparynuks, rywaroksaban oraz mechaniczne metody profilaktyki. W zależności od wybranego leku i strategii leczenia profilaktyczne podawanie leku rozpoczyna się przed lub po zabiegu i powinno trwać przez 14 dni po operacji. Pacjenci operowani z powodu złamania szyjki kości udowej powinni przyjmować HDCz, małe dawki HNF lub fondaparynuks, a w przypadku przeciwwskazań do przyjmowania w/w leków zaleca się profilaktykę mechaniczną. W przypadku leczenia złamań okołoprotezowych stawu kolanowego zaleca się stosowanie HDCz lub fondaparynuksu (Piech i in. 2017). W zależności od czasu pozabiegowego unieruchomienia czas farmakologicznej profilaktyki może trwać do 3 miesięcy. Pacjenci z dużym ryzykiem ŻChZZ,

u których wykonuje się artroskopię, operacje kręgosłupa, pacjenci z urazami rdzenia kręgowego, po oparzeniach powinni przyjmować HDCz w dawkach zaleconych przez producenta. W trakcie leczenia pacjentów neurologicznych zapobieganie powikłaniom zakrzepowo-zatorowym jest istotnym elementem opieki. W przypadku pacjentów po udarze krwotocznym podawanie HDCz lub HNF może spowodować nasilenie krwawienia, jednak dopuszcza się stosowanie tych substancji po 2-4 dniach od początku udaru. U pacjentów po udarze niedokrwiennym istotne jest dążenie do szybkiego uruchomienie pacjentów, ponadto zaleca się podawanie HDCz lub HNF (w dawce 2 razy dziennie po 5000 j.m.). W przypadku pacjentów hospitalizowanych powodu ostrych chorób internistycznych, do których należą między innymi zastoinowa niewydolność serca, ostra niewydolność oddechowa, zaostrzenie przewlekłej niewydolności oddechowej, infekcje, choroby zapalne, zawał serca, choroby reumatologiczne zaleca się indywidualną ocenę ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych. W przypadku dużego ryzyka zaleca się stosowanie HDCz czy HNF w iniekcjach podskórnych 2-3 dziennie w trakcie hospitalizacji bez wydłużenia terapii po wypisaniu ze szpitala. Preferowanym lekiem w profilaktyce zakrzepowo-zatorowej u pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej opieki jest HDCz, ponieważ ryzyko wystąpienia HIT, a lek podaje się raz na dobę. Jeśli brak jest przeciwwskazań zasadne jest połączenie farmakologicznej i mechanicznej profilaktyki. U chorych na nowotwory (wszyscy pacjenci znajdują się w co najmniej w grupie umiarkowanego ryzyka) lekiem z wyboru w profilaktyce zakrzepowo-zatorowej jest HDCz. Należy podkreślić fakt, że dostępne badania naukowe nie potwierdzają zasadności stosowania leków przeciwzakrzepowych w celu wydłużenia przeżycia chorych nowotworowych (Wojtukiewicz i in. 2016).

4. Podsumowanie i wnioski

Żyłna choroba zakrzepowo-zatorowa jest wciąż istotnym problemem klinicznym, a jej występowanie stale rośnie wraz z długością życia populacji na świecie. W ostatnich latach farmakologiczna profilaktyka przeciwzakrzepowa oparta na antagonistach witaminy K oraz heparynie drobnocząsteczkowej zostaje stopniowo wyparta przez doustne antykoagulanty nowej generacji, których zaletą jest wysoka skuteczność, brak konieczności monitorowania działania. Niezbędne jest prowadzenie szeroko zakrojonych badań porównujących skuteczność działania nowych leków. Priorytetem w nadchodzących latach jest udoskonalenie schematów profilaktyki do ryzyka wystąpienia ŻChZZ u pacjenta, znalezienie optymalnego czasu trwania leczenia przeciwkrzepliwego oraz wprowadzenie nowego antykoagulantu z ograniczonym wpływem na hemostazę.

5. Literatura

- Bochenek T, Góral J, Knast K i in. (2009) Zastosowanie eptifibatydu jako pomostu w terapii antyagregacyjnej u chorych z ostrą zakrzepicą w stentach wymagających pilnej rewaskularyzacji chirurgicznej – opis dwóch przypadków. *Kardiologia Polska* 2009; 67: 1313-1316
- Chmielewski D, Górecki A, Kusz D i in. (2014). Zasady profilaktyki żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej w ortopedii i traumatologii narządu ruchu (aktualizacja z dnia 18.02. 2014). *Ortopedia i Traumatologia Rehabilitacja*, 16, 227-239.
- Greig SL, Scott LJ, Plosker GL. (2014) Epoprostenol (Veletri, Caripul): A Review of Its Use in Patients with Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Cardiovasc Drugs* 14:463–470.
- Grodzicki W, Flis P, Sławiński P i in. (2018) Advances in thromboprophylaxis in trauma patients, based on current guidelines and research *Med Og Nauk Zdr.* 24(3):158–161
- Heit JA, Spencer FA, White RH (2016) The epidemiology of venous thromboembolism. *J. Thromb. Thrombolysis* 41, 3–14.
- Hemker HC. A century of heparin: past, present and future. *J ThrombHaemost* 2016; 14: 2329–38.
- Karaźniewicz-Łada M, Danielak D, Głowska F. (2013) Leki przeciwplatekcyjne nowej generacji. *Farmacja Współczesna* 2013; 6: 1-5
- Kluft C, Sidelmann JJ, Gram JB (2017) Assessing Safety of Thrombolytic Therapy.; *SeminThrombHemost.* Apr;43(3):300-310.

- Kozioł M, Piech P, Obierzyński P i in. (2018) Selected studies in the diagnosis of pulmonary embolism – review. *J educ health sport* Vol 8, No 3.
- P, Tomaszuk-Kazberuk A, Słowik A i in. (2017) Management of bleeding or urgent interventions in patients treated with direct oral anticoagulants: recommendations for Poland. *Polish Archives of Internal Medicine*, 2017; 127: 343–351
- Piech P, Obierzyński P, Staśkiewicz P. i in. (2017) The analysis of selected morphotic parameters of blood as potential diagnostics factors in pulmonary embolisms. *Journal of Education, Health and Sport*;7(5):458-469.
- Szymański FM Non-vitamin K antagonist oral anticoagulant (NOAC) — what was new in 2017 (2017) *Kardiologia Polska*; 75, supl. VI: 65–70.
- Tomkowski W, Kuca P, Urbanek T i in. (2017). Żyłna choroba zakrzepowo-zatorowa—wytyczne profilaktyki, diagnostyki i terapii Konsensus Polski 2017. *Acta Angiologica*, 23(2), 73-113.
- Wojtukiewicz MZ, Sierko E, Tomkowski W i in. (2016) Guidelines for the prevention and treatment of venous thromboembolism in patients with cancers treated conservatively. *Oncol Clin Pract*; 12: 67–91.

18. Niesteroidowe leki przeciwzapalne – przegląd literaturowy

Non-steroidal anti-inflammatory drugs - literature review

Anna Ploch-Jankowska^(1,2), Danuta Pentak⁽¹⁾, Lidia Szymczak-Mazur⁽¹⁾, Małgorzata Maciążek-Jurczyk⁽¹⁾, Sławomir Wilczyński⁽²⁾

⁽¹⁾ Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

⁽²⁾ Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Biomedycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Kasztanowa 3, 41-200 Sosnowiec

Opiekun naukowy: dr n. chem. Danuta Pentak

Anna Ploch-Jankowska: aniaploch@op.pl

Słowa Kluczowe: podział niesteroidowych leków przeciwzapalnych, mechanizm działania NLPZ, skutki uboczne stosowania NLPZ

Streszczenie

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) należą do jednej z najpowszechniej stosowanych, zalecanych i sprzedawanych grup leków, które swoją popularność zyskały dzięki temu, iż są one dostępne zarówno bez jak i na receptę. Łatwy dostęp niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ można kupić zarówno w aptece, w sklepach oraz na stacjach benzynowych) oraz możliwość ich wykorzystania w leczeniu bardzo częstych i powszechnych dolegliwości przyczyniła się do tego, iż każdego dnia leki te zażywa ok. 30 mln osób na świecie (Singh i Triadafilopoulos 1999). Niesteroidowe leki przeciwzapalne najczęściej są wykorzystywane w terapii leczenia bólu. Jednak wykazują one również właściwości przeciwgorączkowe i przeciwzapalne, dlatego są tak chętnie wykorzystywane w leczeniu objawowym bólu, stanów zapalnych oraz gorączki. Zbyt częste stosowanie NLPZ, bądź zażywanie zbyt dużych dawek leków przyczynia się do poważnych konsekwencji zdrowotnych i rozwoju wielu chorób m.in. układu pokarmowego, czy też układu sercowo-naczyniowego.

1. Wstęp

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) to grupa związków organicznych wykazujących działanie przeciwbólowe, przeciwgorączkowe i przeciwzapalne. NLPZ to jedne z najczęściej stosowanych grup leków na świecie, wykorzystywanych w leczeniu często występujących dolegliwości. Swoją popularność zyskały ze względu na łatwy dostęp, ponieważ związki te można zakupić zarówno bez jak i na receptę nie tylko z półek aptecznych (Paulose-Ram i in. 2005).

Pomimo ich szerokiego zastosowania, niesteroidowe leki przeciwzapalne wykazują wiele działań niepożądanych zależnych i niezależnych od ich mechanizmu działania, tj. hamowania syntezy prostaglandyn (Filipowicz-Sosnowska 2008; Furst i in. 2008). Na skutek hamowania syntezy prostaglandyn NLPZ uszkadzają czynności przewodu pokarmowego, nerek i ośrodkowego układu nerwowego (o.u.n.). W obrębie przewodu pokarmowego mogą powodować powstawanie owrzodzeń żołądka, krwawień z przewodu pokarmowego, którą mogą nieść za sobą poważne konsekwencje zdrowotne. W nerkach mogą zmniejszać przepływ krwi powodując zatrzymanie sodu i wody w organizmie. W ośrodkowym układzie nerwowym powodują powstanie zaburzeń psychicznych o różnym stopniu nasilania. Niezależnie od hamowania syntezy prostaglandyn NLPZ mogą wywoływać ciężkie powikłania wynikające z: działania alergizującego, uszkodzenia układu krwiotwórczego, uszkodzenia wątroby i skóry. NLPZ wywołują również polekowe napady dychawicy oskrzelowej, należącej do chorób atopowych. Nasilenie działań niepożądanych NLPZ jest tym większe, im bardziej wydłuża się okres ich stosowania. Pomimo, iż leki przeciwzapalne zmniejszają objawy zapalenia stawów i poprawiają jakość życia chorych, nie wykazują niestety

korzystnego wpływu na postęp zmian choroby stawów i średnią długość życia chorych, a ich stosowanie może wiązać się z ryzykiem wystąpienia wielu poważnych powikłań zdrowotnych (Hrycaj 2005).

2. Zarys historyczny

Pierwsze wzmianki na temat związków naturalnych, wykorzystywanych obecnie w formie syntetycznej w produkcji niesteroidowych leków przeciwzapalnych szacuje się na XV wiek p.n.e. Wówczas w Egipcie wykorzystywano już właściwości lecznicze kory wierzby – właściwości przeciwzapalne oraz przeciwbólowe. Wywar z kory wierzby zalecany był i opisywany m.in. przez ojca medycyny Hipokratesa, czy też Dioskuridesa, Galena, Pliniusza Starszego i Aulusa Corneliusa Celsusa. Ponadto Egipcjanie wykorzystywali również wywar z suszonych liści mirtu jako środek przeciw bolesnym skurczom macicy. Natomiast Hipokrates zalecał również stosować sok z topoli i wierzby do leczenia odpowiednio przewlekłych chorób oka oraz w łagodzeniu bólów porodowych i obniżaniu gorączki (Międzybrodzki 2004).

Kolejne wzmianki na temat leczniczych właściwości wierzby zanotowano w 1763 roku kiedy to Stone po raz pierwszy opisał sposób leczenia zapalenia stawów z użyciem wyciągu z kory wierzby, aż w końcu w 1839 roku Leroux wyizolował z niej salicynę (Chłopicki i Gryglewski 2000).

Erę syntetycznych niesteroidowych leków przeciwzapalnych zapoczątkował w 1859 roku Kolbe otrzymując czysty kwas salicylowy (Międzybrodzki 2004; Świerkot 2005). Masowa synteza tego związku rozpoczęła się rok później w 1860 roku. Syntezowany kwas salicylowy powodował liczne skutki uboczne związane z jego zażywaniem, silnie drażniąc śluzówkę żołądka oraz powodując wymioty. Wówczas rozpoczęto badania nad nowym lekiem pozbawionym działań niepożądanych, charakterystycznych dla kwasu salicylowego. Tym sposobem w 1897 roku Felix Hoffman wraz z współpracownikami w firmie Friedrich Bayer & Co zsyntezowali pochodną kwasu salicylowego - kwas acetylosalicylowy (Patrono i Rocca 2009; Vonkeman 2010). Wydarzenie to zapoczątkowało poszukiwanie nowych niesteroidowych leków przeciwzapalnych o jeszcze silniejszym działaniu i mniejszej toksyczności.

3. Mechanizm działania niesteroidowych leków przeciwzapalnych

Mechanizm działania niesteroidowych leków przeciwzapalnych polega na hamowaniu aktywności enzymów biorących udział w przemianie kwasu arachidonowego – cyklooksygenazy (COX), która jest odpowiedzialna za syntezę prostanoidów z kwasu arachidonowego. Kwas arachidonowy uwalniany jest z fosfolipidów błon komórkowych za pomocą fosfolipazy A2 i w mniejszym stopniu lipooksygenazy. Odkrycie w latach dziewięćdziesiątych XX wieku mechanizmu działania NLPZ przez Johna Vane było ogromnym przełomem, zaś wydarzenie to zbiegło się z odkryciem dwóch izoform cyklooksygenazy (COX-1 i COX-2) przez Simmondsa (Świerkot 2005).

Wyodrębnione dwie postacie cyklooksygenazy COX-1, która zawsze występuje w organizmie odpowiedzialna jest za syntezę prostaglandyn w warunkach fizjologicznych, natomiast cyklooksygenaza COX-2 powstaje w odpowiedzi na bodziec zapalny i odpowiedzialna jest za syntezę prostaglandyn prozapalnych w konkretnym miejscu zapalenia (Międzybrodzki 2004). Hamowanie aktywności zarówno cyklooksygenazy COX-1 jak i COX-2 przyczynia się do zmniejszenia syntezy prostaglandyn, które nasilają proces zapalny, ale również prostaglandyn wykazujących działanie ochronne (Puszkiewicz 2003).

4. Podział niesteroidowych leków przeciwzapalnych

Niesteroidowe leki przeciwzapalne ze względu na zróżnicowaną budowę chemiczną można sklasyfikować zgodnie z danymi przedstawionymi w **Tab.1** (Danysz 2002).

Drugą metodą klasyfikacji niesteroidowych leków przeciwzapalnych jest ich podział w zależności od siły działania NLPZ na enzymy cyklooksygenazy (**Tab.2**) (Claria 2003).

Tab.1. Klasyfikacja niesteroidowych leków przeciwzapalnych na podstawie budowy chemicznej.

Klasyfikacja NLPZ	Przykłady
Pochodne p-aminofenolu	Fenacetyna Paracetamol
Pochodne pirazolonu	Fenylobutazon Propyfenazon Metamizol
Pochodne kwasu salicylowego	Kwas acetylosalicylowy Salicylamid Salicylan sodu Diflunisal
Pochodne kwasu arylooctanowego	Diklofenak Indometacyna Sulindak Etodolak Tolmetyna Fenbufen
Pochodne kwasu arylopropionowego	Ibuprofen Naproksen Ketoprofen Flurbiprofen
Pochodne kwasu antraniloctowego	Kwas mefenamowy Etofenamat
Pochodne kwasów enolowych	Pirazolony: fenylobutazon, oksyfenbutazon, klofezon, apazon Oksykamy: piroksydam, meloksydam, tenoksydam
Inne	Nabumenton Nimesulid Celekoksyb

Tab.2. Podział niesteroidowych leków przeciwzapalnych w zależności od działania na aktywność COX-1 i COX-2.

Klasyfikacja europejska	Klasyfikacja amerykańska	Przykład NLPZ
COX-1 selektywne	COX-1 specyficzne	kwas acetylosalicylowy
COX-1 nieselektywne	COX-1 niespecyficzne	ibuprofen, naproksen, indometacyna
COX-2 selektywne	COX-2 preferencyjne	diklofenak, nabumenton, meloksydam
COX-2 wysoce selektywne	COX-2 specyficzne	celekoksyb

5. Zastosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych

Niesteroidowe leki przeciwzapalne wykazują szerokie spektrum działania. Najczęściej wykorzystuje się ich podstawowy mechanizm działania związany z właściwościami przeciwbólowymi, przeciwzapalnymi i przeciwgorączkowymi.

Niesteroidowe leki przeciwzapalne jako środki przeciwbólowe stosowane są najczęściej w różnego rodzaju bólach przewlekłych, mięśniowych, pourazowych, nerwobólach, po zabiegach zarówno chirurgicznych jak i dentystrycznych, w przypadku wystąpienia kolki nerkowej, wątrobowej,

w trakcie migreny lub też bólach miesiączkowych (Zaremba i in. 2012). NLPZ typu ketoprofen oraz fenylobutazon, wykorzystując ich właściwości przeciwzapalne stosuje się bardzo często w terapii zmian urazowych, przeciążeniowych i zapalnych tkanek okołostawowych i ich mięśni oraz w leczeniu stanów zapalnych w obrębie jamy ustno-gardłowej (Zaremba i in. 2012).

NLPZ bardzo często wykorzystuje się w leczeniu chorób reumatoidalnych np. w leczeniu choroby zwyrodnieniowej stawów, zapalenia stawów, ostrego napadu dny moczanowej, gorączki reumatycznej, czy też zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa. W tego rodzaju schorzeniach wykorzystuje się głównie diklofenak, ibuprofen, naproksen, meloksykam, nabumeton oraz koksyby. Skuteczność działania po dobraniu odpowiedniej dawki wynosi 50-70% (Szechiński 2000).

Niesteroidowe leki przeciwzapalne z powodzeniem stosowane są w leczeniu słabych bólów nowotworowych (I poziom leczenia bólu według trójstopniowej drabiny analgetycznej). Najczęściej w celu złagodzenia bólu nowotworowego o niewielkim nasileniu stosuje się paracetamol. Wówczas maksymalna dawka leku nie może przekraczać 4g paracetamolu na dobę. Zażywanie leku powyżej dobowej dawki może przyczyniać się do licznych powikłań takich jak niewydolność wątroby. Pozostałe niesteroidowe leki przeciwzapalne z wyjątkiem kwasu acetylosalicylowego stosuje się w terapii skojarzeniowej z paracetamolem w celu opanowania bólu nowotworowego, który jest już oporny na działanie samego paracetamolu lub w zastępstwie za paracetamol, gdy nie jest już w ogóle skuteczny. Leki z grupy NLPZ wykazują bardzo często tzw. efekt pułapowy, który określa się jako cechę leku, gdzie coraz większe jego dawki nie zwiększają jego efektu terapeutycznego, a jedynie rośnie ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Leki te stosowane w łagodzeniu bólu nowotworowego uszkadzają błonę śluzową przewodu pokarmowego, a to wymaga wprowadzenia kolejnych leków osłonowych (Jarosz i Hilgier 1999).

Wykorzystując szerokie spektrum działania niesteroidowych leków przeciwzapalnych (właściwości przeciwbólowe, przeciwgorączkowe i przeciwzapalne) takich jak aspiryna salicylan choliny, paracetamol oraz propyfenazon stosuje się w leczeniu różnego rodzaju zakażeń dróg oddechowych, w przypadku wystąpienia bardzo wysokiej gorączki, która może prowadzić do porażenia ośrodkowego układu nerwowego lub przeciążenia mięśnia sercowego oraz w gorączkach przewlekłych i wyniszczających. NLPZ wykorzystuje się także w leczeniu przeziębienia organizmu (Międzybrodzki 2004). Aspiryna znalazła również zastosowanie w profilaktyce zawału mięśnia sercowego, niedokrwieniu i udaru mózgu, zakrzepicy zatorowej, zatorowości płucnej oraz w zakrzepicy żylny. Ponadto kwas acetylosalicylowy wykorzystuje się doraźnie w zawale serca oraz dusznicy bolesnej (Międzybrodzki 2004).

6. Działania niepożądane niesteroidowych leków przeciwzapalnych

Duża liczba niesteroidowych leków przeciwzapalnych na rynku sprawia, iż lekarz zalecając pacjentowi terapię musi dobrać taki lek, aby był on najskuteczniejszy w leczeniu danego zespołu bólowego. Wówczas bardzo ważnym aspektem jest przeprowadzenie starannego wywiadu z pacjentem na temat stosowanych już leków z grupy NLPZ, ich skuteczności, tolerancji, a przede wszystkim wystąpienia działań niepożądanych. W przeciwnym wypadku lekarz jest w stanie ocenić skuteczność danego farmaceutyku dopiero po jego podaniu pacjentowi.

Wzrost ryzyka wystąpienia działań niepożądanych wzrasta wraz z podaniem dwóch lub więcej niesteroidowych leków przeciwzapalnych jednocześnie w celu zwiększenia skuteczności terapeutycznej. W przypadku zbyt słabego działania przeciwbólowego, przeciwgorączkowego lub przeciwzapalnego należy stosować NLPZ w terapii skojarzeniowej wyłącznie z paracetamolem, metamizolem lub opioidem.

Do najczęściej występujących działań niepożądanych związanych z zażywaniem niesteroidowych leków przeciwzapalnych zalicza się upośledzenia układu pokarmowego, układu krążenia, wątroby, układu krwiotwórczego, oddechowego oraz uszkodzenie płodu.

Niesteroidowe leki przeciwzapalne ze względu na swoją budowę chemiczną mogą bezpośrednio uszkadzać błonę śluzową żołądka. NLPZ hamując produkcję prostaglandyn niszczą naturalną barierę ochronną żołądka uszkadzając tym samym podśluzówkowy przepływ krwi, w wyniku czego bardzo często prowadzi to do powstania nadżerek i owrzodzeń w błonie śluzowej żołądka oraz dwunastnicy. Ponadto niesteroidowe leki przeciwzapalne na skutek oddziaływania

z przewodem pokarmowym mogą przyczyniać się do enteropatii (stan zapalny w obrębie jelita cienkiego, w wyniku którego ulegają zmniejszeniu zdolności absorpcyjnej jelita i zwiększa się jego przepuszczalność), krwawienia z dolnego odcinka przewodu pokarmowego, dyspepcji (niestrawności), a także nudności i biegunek. Najgroźniejszym skutkiem ubocznym zażywania NLPZ, głównie tych, które hamują aktywność COX-1 (ketoprofen, indometacyna, acemetacyna, kwas acetylosalicylowy, piroksykam) jest krwawienie z górnego przewodu odcinka pokarmowego, który związany jest z wysokim odsetkiem umieralności (Mukherjee i in. 2001). Na tego rodzaju powikłania najbardziej narażeni są pacjenci powyżej 65 roku życia u których stwierdzono, bądź podejrzewa się chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy lub wystąpiło u nich wcześniej krwawienie z przewodu pokarmowego (Beaulieu i in. 2010). Szacuje się, iż u 30% pacjentów przyjmujących niesteroidowe leki przeciwzapalne wystąpiły powikłania ze strony przewodu pokarmowego, które są przyczyną ponad 20 tysięcy zgonów rocznie. Natomiast ryzyko wystąpienia powikłań z przewodu pokarmowego związane z zażywaniem NLPZ jest zbliżone do wartości prawdopodobieństwa rozwoju raka płuc u palaczy (Macintyre i in. 2010).

Niesteroidowe leki przeciwzapalne mogą także wykazywać działanie hepatotoksyczne. Związane jest ono z bezobjawowym wzrostem aktywności aminotransferaz. Najczęściej z wystąpieniem hepatotoksyczności wiąże się wysokie stężenie NLPZ w wątrobie i drogach żółciowych. W celu uniknięcia powikłań związanych z uszkodzeniem wątroby, przed rozpoczęciem terapii z użyciem NLPZ należy wyeliminować czynnik ryzyka wystąpienia hepatotoksyczności, jak również ograniczyć przyjmowanie innych leków hepatotoksycznych (Beaulieu i in. 2010).

Zażywanie NLPZ wpływa również negatywnie na układ krążenia. Przyjmowanie któregośkolwiek leku z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych z wyjątkiem kwasu acetylosalicylowego przyczynia się do wzrostu ryzyka powikłań związanych z układem sercowo-naczyniowym (ryzyko sercowo-naczyniowe). Wśród pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, którzy regularnie zażywali NLPZ, ryzyko wystąpienia zastoinowej niewydolności serca w ciągu kilku lat wzrasta wielokrotnie. Wówczas pacjentom z chorobami układu krążenia i w podeszłym wieku, jeśli zaistnieje taka konieczność podaje się NLPZ, które są stosunkowo bezpieczne (naproksen, meloksykam, nimezulid). Łączenie NLPZ z lekami np. moczopędnymi, które są pomocne w leczeniu nadciśnienia tętniczego lub niewydolności krążenia mogą zwiększyć ryzyko np. zaostrzenia niewydolności serca (Nurmohamed i in. 2002)

NLPZ działają również antyagregacyjnie na płytki krwi, osłabiając ich zdolność (trombocytów) do tworzenia skrzeplin. W przypadku zażywania kwasu acetylosalicylowego, działanie antyagregacyjne jest nieodwracalne. Natomiast pozostałe NLPZ hamują agregację płytek krwi odwracalnie. Zażywanie kwasu acetylosalicylowego, jak również pozostałych NLPZ zwiększa ryzyko wystąpienia krwawień i zwiększa ich czas trwania, przez co powodują różnego rodzaju powikłania hematologiczne. W związku z powyższym niesteroidowe leki przeciwzapalne nie mogą być stosowane u pacjentów u których stwierdzono zaburzenia hemostazy w okresie pooperacyjnym po zabiegach neurochirurgicznych (Macintyre i in. 2010).

W przypadku pacjentów ze zmniejszonym przepływem nerkowym, podawanie NLPZ zwiększa ryzyko upośledzenia czynności nerek. Natomiast największe ryzyko wystąpienia nefrotoksyczności związane jest ze stosowaniem niesteroidowe leki przeciwzapalne działają przede wszystkim na COX-1 (ketoprofen, indometacyna, acemetacyna, piroksykam, kwas acetylosalicylowy) (Macintyre i in. 2010).

Szacuje się, iż u 8-20% pacjentów przyjmujących niesteroidowe leki przeciwzapalne istnieje duże ryzyko wystąpienia napadów astmy oskrzelowej. Przyczyną tego rodzaju powikłań układu oddechowego jest hamowanie przez NLPZ aktywności COX przyczyniając się do wzrostu aktywności lipooksygenazy i zwiększenia produkcji leukotrienów, wywołując pseudoalergiczne reakcje na zażywane NLPZ (Macintyre i in. 2010).

Wszystkie niesteroidowe leki przeciwzapalne wpływają również niekorzystnie na płód. W I trymestrze ciąży zażywanie NLPZ zwiększa ryzyko poronienia. Leków z tej grupy nie należy również stosować w III trymestrze ciąży ze względu na niebezpieczeństwo indukowania przedwczesnego zamknięcia przewodu tętniczego u nienarodzonego dziecka (Beaulieu i in. 2010, Macintyre i in. 2010).

7. Podsumowanie

Leczenie pacjentów lekami z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych związane jest z koniecznością podejmowania trudnych i odpowiedzialnych decyzji. Wybór odpowiedniego leku musi być oparty na znajomości parametrów farmakokinetycznych i farmakodynamicznych NLPZ, a także przeprowadzeniu gruntownego wywiadu lekarskiego z pacjentem, aby zapewnić mu bezpieczeństwo leczenia. W celu zmniejszenia ryzyka powikłań głównie ze strony układu sercowo-naczyniowego oraz przewodu pokarmowego, należy stosować najmniej toksyczne i najniższe skuteczne dawki niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Odpowiedni dobór leków z grupy NLPZ zwiększa skuteczność działania terapeutycznego, a tym samym minimalizuje ryzyko wystąpienia działań niepożądanych.

8. Literatura

- Beaulieu P, Lussier D, Porecca F (2010) *Pharmacology of pain*. IASP PRESS, Seattle.
- Chłopicki S, Gryglewski RJ (2000) W poszukiwaniu lepszej aspiryny. *Medycyna po Dyplomie*, Wydanie specjalne: 4–12.
- Claria J (2003) Cyclooxygenase-2 Biology. *Current Pharmaceutical Design* 9: 2177–2190.
- Danysz A (2002) *Kompendium farmakologii i farmakoterapii dla lekarzy, farmaceutów i studentów*. Urban & Partner, Wrocław.
- Filipowicz-Sosnowska A (2008) Reumatoidalne zapalenie stawów. [W:], Zimmermann-Górska I., red. *Reumatologia kliniczna*. T. 2. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa.
- Furst DE, Keystone EC, So AK (2008) Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 67: 2–25.
- Hrycaj P (2005) Terapia wielolekowa w reumatologii – pomaga czy szkodzi? *Reumatologia* 43: 379–382.
- Jarosz J, Hilgier M (1999) Standardy postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w leczeniu bólów u chorych z zaawansowaną chorobą nowotworową. W: *Standardy leczenia systemowego nowotworów złośliwych u dorosłych w Polsce*, red. M. Krzakowski, P. Siedlecki. PTO Warszawa, 205–216.
- Macintyre PE, Scott DA, Schug SA (2010) *Acute Pain Management: Scientific Evidence*. Australian and New Zealand College of Anaesthetists.
- Międzybrodzki R (2004) Kierunki poszukiwań i zastosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych. *Postępy Hig Med Dośw* 58: 438–448.
- Mukherjee D, Nissen SE, Topol EJ (2001) Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *JAMA* 286: 954–959.
- Nurmohamed MT, van Halm VO, Dijkmans BAC (2002) Cardiovascular risk profile of antirheumatic agents in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Drugs* 62: 1599–1609.
- Patrono C, Rocca B (2009) Nonsteroidal antiinflammatory drugs: Past, present, future. *Pharmacological Research* 59: 258–289.
- Paulose-Ram R, Hirsch R, Dillon C (2005) Frequent monthly use of selected non-prescription and prescription non-narcotic analgesics among U.S. adults. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 14: 257–266.
- Puszkiewicz M (2003) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Przewodnik lekarza* 3: 32–38.
- Singh G, Triadafilopoulos G (1999) Epidemiology of NSAID induced gastrointestinal complications. *J Rheumatol Suppl* 56: 18–24.
- Szechiński J (2000) Niesteroidowe leki przeciwzapalne w reumatologii. *Medycyna po dyplomie*. Wydanie specjalne/ luty, 4–12.
- Świerkot J (2005) Czy można poprawić klasyczne niesteroidowe leki przeciwzapalne? *Reumatologia* 43(3): 171–176.
- Vonkeman HE (2010) Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Adverse Effects and Their Prevention. *Complications of Therapy* 39: 294–312.

Zaremba M, Staniszevska A, Niewada M (2012) Niesteroiowe leki przeciwszapalne - fakty, mity i kontrowersje dotyczuce ryzyka sercowo-naczyniowego oraz ryzyka powiklan ze strony przewodu pokarmowego. Choroby Serca i Naczyń 3:119-136.

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

19. Leki przeciwplateletowe i przeciwzakrzepowe

Antiplatelet and antithrombotic agents

Straszak Dominik⁽¹⁾, Drózd Monika⁽²⁾, Dymek Aleksandra⁽³⁾, Widelska Gabriela⁽⁴⁾, Tabin Mateusz⁽⁵⁾, Matosiuk Dariusz⁽¹⁾

⁽¹⁾Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Samodzielna Pracownia Radiofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾Katedra i Zakład Farmakognozji z Pracownią Roślin Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽⁴⁾Zakład Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽⁵⁾Oddział Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Metabolicznych 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką we Wrocławiu

Opiekun naukowy: prof. hab. n. farm. Dariusz Matosiuk

Dominik Straszak: dominik.straszak@gmail.com

Słowa klucze: heparyna, ASA, zakrzepica, zawał, udar

Streszczenie

Leki przeciwzakrzepowe takie jak antagoniści witaminy K (acenokumarol, warfaryna), heparyna i jej pochodne oraz bezpośrednie inhibitory czynników krzepnięcia (endoksan, hirudyna czy apiksaban) stanowią podstawę terapii wielu chorób układu krwionośnego min. zatorowości płucnej, zakrzepicy żył głębokich, chorób mięśnia sercowego. Natomiast leki przeciwplatetowe stosowane są zarówno w prewencji zawałów, udarów czy w leczeniu choroby niedokrwiennej serca, chromania przestankowego, migotaniu przedsionków. Co prawda terapia tymi grupami leków niesie ryzyko krwawień oraz wystąpienia innych działań niepożądanych jednak korzyść z ich zastosowania zdecydowanie przewyższa ryzyko. Szczególnie w dobie antykoagulantów nowej generacji takich jak riwaroksaban czy dabigatran które niezwykle rzadko wywołują interakcje z innymi lekami oraz skutki uboczne, dlatego są one obecnie podstawą leczenia pacjentów kardiologicznych.

1. Wstęp

Ogół procesów „utrzymania” krwi wewnątrz naczyń krwionośnych zapewniający prawidłowy przepływ nazywamy hemostazą. Składają się na nią dwa przeciwstawne zjawiska: krzepnięcie krwi oraz fibrynoliza. W procesie koagulacji krwi zasadniczą rolę pełnią trombocyty (ich aktywacja, adhezja, agregacja) oraz 13 osoczowych czynników krzepnięcia. Fibrynoliza natomiast jest to rozkładanie skrzepu przez plazminę i niektóre proteazy. Obecnie wśród zaburzeń krzepnięcia krwi najczęściej diagnozowanymi dolegliwościami są zakrzepice: żylna choroba zakrzepowo-zatorowa (zakrzepica żył głębokich oraz zatorowość płucna) czy zakrzepica żyły wrotnej (Orzechowska-Jużwenko 1997).

Wśród leków hamujących nadmierną krzepliwość krwi wyróżniamy dwie grupy: antykoagulanty (leki antyagregacyjne) oraz leki przeciwplatetowe.

2. Przegląd literaturowy

2.1 Leki przeciwplatetowe

Zmniejszając agregację trombocytów zapobiegając tym samym powstawaniu skrzepów. Wykorzystywane są w prewencji oraz leczeniu głównie w chorobach naczyń tętniczych oraz mięśnia sercowego.

- Kwas acetylosalicylowy (ASA)

Jest lekiem przeciwbólowym, przeciwzapalnym, przeciwgorączkowym i przeciwplatetowym. Efekt działania farmakologicznego kwasu acetylosalicylowego jest wynikiem

blokowania cyklooksygenazy. Obecnie jest najpowszechniej stosowanym lekiem antyagregacyjnym w prewencji zawałów mięśnia sercowego oraz udarów mózgu. Przeciwwskazaniami do terapii ASA są: ciąża (niebezpieczeństwo powstawania wad płodu), wiek poniżej 12 lat (zagrożenie zespołem Reya), astma (ryzyko astmy aspirynowej). Ze względu na brak selektywności w blokowaniu cyklooksygenazy ASA wykazuje działanie ulcerogenne oraz nefrotoksyczne dlatego podczas terapii u pacjentów mogą wystąpić wrzody żołądka oraz uszkodzenia nerek. Kwas acetylosalicylowy silnie wiąże się z białkami krwi i wypiera inne leki zwiększając ich aktywną frakcję we krwi (niebezpieczeństwo wystąpienia działań niepożądanych). Niewskazane jest również wspólne stosowanie ASA z innymi NLPZ, gdyż wzrasta wtedy ryzyko powstawania objawów gastrycznych, natomiast osłabiony zostaje efekt przeciwplatektonowy kwasu acetylosalicylowego (Campbell et al. 2007).

- Tiklopidyna

Lek jest pochodną tienopirydyny. Wykazuje działanie przeciwplatekowe hamując agregację, uwalnianie czynników krzepnięcia, zmniejszając lepkość krwi oraz ilość wolnych receptorów dla fibrynogenu. Tiklopidyna stosowana jest w prewencji udaru niedokrwienego mózgu, zawałów mięśnia sercowego. Wśród istotnych działań niepożądanych leku wymienić można min: zmiany w obrazie krwi (neutropenia, małopłytkowość, agranulocytoza, aplazja szpiku), zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego oraz krwawienia (najczęściej z nosa) (Maffrand 2012).

- Kłopidogrel

Podobnie jak tiklopidyna jest pochodna tienopirydyny, jest jednak lekiem nowej generacji o większej skuteczności, lepszym profilu bezpieczeństwa i długim czasem półtrwania (możliwość stosowania raz na dobę). Mechanizm działania przeciwplatekowego leku polega na nieodwracalnej modyfikacji struktury receptora P2Y₁₂ co skutkuje blokadą wiązania ADP i w konsekwencji aktywacją kompleksu glikoprotein GPIIb/IIIa. Kłopidogrel jest obecnie powszechnie stosowany w prewencji zakrzepów u pacjentów z miażdżycą po zawale, udarem niedokrwinnym, chorobami tętnic, zespole wieńcowym oraz u chorych ze stabilną chorobą niedokrwinną serca uczulonych na ASA. Lek jest zazwyczaj dobrze tolerowany przez pacjentów, w rzadkich przypadkach może wystąpić ciężka neutropenia, zakrzepowa plamica małopłytkowa oraz krwawienia (najczęściej z przewodu pokarmowego, nosa). Kłopidogrel nie wykazuje istotnych interakcji lekowych, należy ostrożnie łączyć go z diklofenakiem, ibuprofenem, nabumetonem, piroksykiem, naproksenem i sulindakiem gdyż wzrasta wtedy ryzyko wystąpienia działań ubocznych (wszystkie leki z kłopidogrelem włącznie metabolizowane są z udziałem izoenzymu CYP2C9), wypiera on również z połączeń z białkami krwi tolbutamid, stąd przy łącznym stosowaniu istnieje ryzyko wystąpienia hipoglikemii (Yusuf et al. 2001).

- Prasugrel

Jest najnowszym lekiem przeciwzakrzepowym stosowanym w farmakoterapii. Jego struktura oraz mechanizm działania jest zbliżony do kłopidogrelu. Prasugrel jest lekiem bardzo dobrze tolerowanym przez pacjentów i nie wykazuje w praktyce żadnych interakcji z innymi farmaceutykami (Baker, White 2009)

Leki przeciwzakrzepowe (antykoagulanty)

Jest to grupa leków hamujących krzepnięcie krwi, stosuje się je głównie w profilaktyce i leczeniu zakrzepic w krążeniu żylnym. Wśród antykoagulantów wyróżniamy bezpośrednie oraz pośrednie inhibitory czynników krzepnięcia.

Pośrednie inhibitory czynników krzepnięcia

- Heparyna niefrakcjonowana

Jest nierozgałęzionym polisacharydem o masie cząsteczkowej od 300 do 30000 daltonów. Heparyna składa się głównie z O-siarczanu i N-siarczanu glikozoaminoglikanu zbudowanego z kwasu L-iduronowego oraz D-glukozaminy. Jej aktywność przeciwzakrzepowa jest złożona i dotyczy blokowania wielu etapów krzepnięcia krwi, powoduje min. hamowanie przejścia protrombiny

trombinę (czynna postać czynnika II), aktywuje antytrombinę III zwiększając jej zdolność do hamowania działania czynnika IX, X, oprócz tego heparyna przylega do naczyń krwionośnych powstrzymując adhezję płytek krwi oraz aktywuje lipazę lipoproteinową. Co istotne działanie heparyny jest silne ale krótkotrwałe. Stosowana jest droga parenteralną po zabiegach operacyjnych, szczególnie u chorych unieruchomionych, w ostrych zespołach wieńcowych, żylnej chorobie zakrzepowo-zatorowej. Czasem po podaniu heparyny następuje u pacjenta reakcja immunologiczna prowadząca do wytwarzania przeciwciał przeciw trombocytom w wyniku czego spada zawartość płytek krwi w osoczu, a następnie w efekcie odbicia dochodzi do ich nadmiernej aktywacji i nadprodukcji zakrzepin. Absolutne przeciwwskazania do stosowania leku to: rozwarstwienie aorty, nadciśnienie wrotne, skazy krwotoczne, krwawienia ze strony przewodu pokarmowego. Poza tym heparyna niefrakcjonowana powoduje wiele interakcji istotnych z klinicznego punktu widzenia: jej aktywność hamują min. antagoniści receptora H₁, pochodne tetracykliny, antybiotyki makrolidowe, pochodne promazyny, nikotyna. Natomiast łączne stosowanie heparyny niefrakcjonowanej i azlocyliny, karbenicyliny, tikarecyliny, cefamandolu, NLPZ, tiklopidyny, klopidogrelu czy dekstranu zwiększa ryzyko krwawienia (Krzych i in. 2015).

- Heparyny drobnocząsteczkowe (LMWH, HDCz)

Otrzymywane są w wyniku depolimeryzacji heparyny niefrakcjonowanej. HDCz stosuje się zarówno w leczeniu choroby zakrzepowej (w dużych dawkach) jak i w prewencji powstawania zakrzepów (w niskich dawkach). Działanie farmakologiczne LMWH opiera się zasadniczo na blokowaniu aktywności czynnika krzepnięcia Xa, w mniejszym stopniu wpływają one na trombinę (czynnik IIa). W porównaniu do heparyny niefrakcjonowanej efekt działania HDCz jest o wiele dłuższy ale słabszy. W przypadkach nagłych interwencji oraz podczas zabiegów chirurgicznych nadal wykorzystuje się głównie heparynę niefrakcjonowaną (Łapaciuk 1999). Zastosowanie heparyn małowcząsteczkowych obejmuje najczęściej profilaktykę żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej w okresie okołoperacyjnym, podczas hemodializ, u pacjentów unieruchomionych oraz leczenie zakrzepicy żył głębokich, dławicy piersiowej, zawału mięśnia sercowego (bez załamka Q). Z klinicznego punktu widzenia istotne jest iż równoczesne stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych czy glikokortykosteroidów i heparyn małowcząsteczkowych zwiększa ryzyko wystąpienia krwawień, natomiast wspólne podanie z nitrogliceryną obniża aktywność przeciwzakrzepową heparyny. Obecnie w lecznictwie wykorzystuje się: parnaparynę, dalteparynę (o średniej masie 5000 Da), enoksaparynę (o średniej masie 4500 Da), nadroparynę (o średniej masie 4300 Da), rewiparynę (o średniej masie 3900 Da) (Samama et al. 1999).

- Antagoniści witaminy K: warfaryna i acenokumarol

Są doustnymi lekami przeciwzakrzepowymi, antagonistami witaminy K. Ich działanie farmakologiczne jest efektem blokowania wątrobowej syntezy aktywnych postaci czynników krzepnięcia : II, VII, IX, X. Warfarana i acenokumarol są wskazane w terapii oraz zapobieganiu zatorowości płucnej i zakrzepicy żył głębokich, prewencji zawałów i zapobieganiu powikłaniom zakrzepowo-zatorowym szczególnie pozawałowym i poudarowym. Podstawowe przeciwwskazania do ich stosowania to: ciąża (szczególnie pierwszy i trzeci trymestr), niewydolność wątroby, koagulopatie, niekontrolowane nadciśnienie, krwawienia wewnątrzczaszkowe, zapalenie wsierdzia i psychozy. Wśród częstych działań niepożądanych pojawiających się podczas terapii wymienić należy krwawienia, zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego. W przypadku leczenia warfaryną rzadko obserwowanymi charakterystycznymi objawami ubocznymi są martwica kumarynowa naskórka oraz zespół purpurowego palucha (Mital i in. 2013).

Najważniejsze z klinicznego punktu widzenia interakcje pochodnych kumaryny (Woźnicka-Leśkiewicz i in. 2014):

- ✓ kolestyramina, sukralfat + pochodna kumaryny = spadek wchłaniania leku przeciwzakrzepowego;
- ✓ induktory enzymatyczne (fenobarbital, karbamazepina, rifampicyna, fenytoina) + pochodna kumaryny = zwiększony metabolizm acenokumarolu i w efekcie skrócony czas działania;

- ✓ witamina K, estrogeny, glikokortykosteroidy + pochodna kumaryny = antagonistyczne działanie na aktywność trombiny;
- ✓ warfaryna + leki wypierające z połączeń z białkami krwi (NLPZ, doustne leki przeciwcukrzycowe, sulfonamidy) = wzrost aktywnej frakcji warfaryny we krwi, tym samym nasilenie jej działania i możliwych skutków ubocznych;
- ✓ NLPZ + pochodne kumaryny = wzrost ryzyka krwawień z przewodu pokarmowego;
- ✓ inhibitory enzymów wątrobowych (cymetydyna, propafenon, allopurinol, lowastatyna, fluoksetyna, erytromycyna, ketokonazol) + pochodna kumaryny = hamowanie metabolizmu leku przeciwzakrzepowego, wydłużony czas półtrwania i wzrost ryzyka występowania działań niepożądanych;
- ✓ warfaryna + witamina C = spadek wchłaniania leku przeciwzakrzepowego;
- ✓ witamina A i E, czosnek, żurawina, preparaty zawierające kasztanowiec + pochodna kumaryny = wzrost efektu przeciwzakrzepowego.

Bezpośrednie inhibitory czynników krzepnięcia

- Bezpośrednie inhibitory trombiny

Argatroban

Jest małocząsteczkowym antykoagulantem, bezpośrednim inhibitorem trombiny. Argatroban stosuje się w profilaktyce oraz leczeniu zakrzepicy u chorych z trombocytopenią spowodowaną stosowaniem heparyny jak także w interwencjach wieńcowych. Lek usuwany jest z organizmu przez wątrobę dlatego można go stosować u pacjentów z niewydolnością nerek w przeciwieństwie do lepirudyny (Dhillon 2009).

Biwalirudyna

Lek przeciwzakrzepowy bezpośrednio i swoiście hamuje aktywność trombiny zarówno w fazie płynnej jak i tej znajdującej się już w skrzepie. Biwalirudyna uniemożliwia powstawanie fibryny oraz aktywację czynników VIII, V, XIII i trombocytów. Lek stosowany jest w terapii niestabilnej choroby wieńcowej szczególnie przed zabiegiem angioplastyki (Windyga 2010).

Dabigatran

Jest odwracalnym, swoistym, bezpośrednim inhibitorem trombiny. Zapobiega powstawaniu zakrzepów blokując przekształcanie fibrynogenu w jego aktywną postać- fibrynę. Dabigatran stosowany jest w prewencji żylnych powikłań zakrzepowo-zatorowych po zabiegach operacyjnych, zatorowości systemowej, udarów u chorych z niezastawkowym migotaniem przedsionków szczególnie w przypadku napadów niedokrwiennych (zarówno przemijających jak i po udarach), niewydolności serca, nadciśnieniu, cukrzycy. Lek znalazł również zastosowanie w leczeniu zakrzepicy żył głębokich, zatorowości płucnej. Wśród działań niepożądanych dabigatranu najczęściej obserwowanych u pacjentów podczas terapii wymienić można krwawienia z przewodu pokarmowego, nosa, krwotoki do skóry, niedokrwistość, niestrawność, rzadziej zmiany w obrazie krwi: spadek stężenia hemoglobiny, trombocytopenia. Lek bardzo rzadko daje interakcje z innymi lekami, należy jednak pamiętać o ryzyku interakcji z inhibitorami P-glikoproteiny (amiodaron, klarytromycyna, werapamil) hamują one bowiem metabolizm dabigatranu zwiększając ryzyko występowania działań ubocznych podczas terapii (Legrand et al. 2011).

Lepirudyna

Polipeptyd będący rekombinowaną hirudyną. Lek tworząc kompleks z trombiną hamuje jej aktywność. Lepirudyna stosowana jest w profilaktyce żylnych chorób zakrzepowo-zatorowych. Ze względu na wydalanie głównie przez nerki nie powinno się jej stosować u pacjentów z niewydolnością nerek (Lubenow 20014).

- Inhibitory czynnika Xa

Fondaparynuks

Jest syntetycznym pentasacharydem hamującym selektywnie czynnik Xa. Odwracalnie łączy się z antytrombiną, modulując jej przestrzenną strukturę i w efekcie zwiększając zdolność

hamowania czynnika X. Skuteczność fondaparynuksu jest wyższa niż heparyn drobnocząsteczkowych dlatego co raz częściej stosowany jest w profilaktyce przeciwzakrzepowej przy zabiegach operacyjnych (Dobrowolski i in. 2007).

Rywaroksaban

Jest selektywnym, bezpośrednim inhibitorem czynnika Xa, hamuje tym samym wytwarzanie trombiny a w efekcie powstawanie zakrzepu. Rywaroksaban nie wywiera wpływu na płytki krwi ani na czynnik II. Lek stosowany jest zarówno w profilaktyce udarów mózgu, żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej po zabiegach chirurgicznych oraz zatorowości obwodowej u pacjentów z niezastawkowym migotaniem przedsionków szczególnie z czynnikami ryzyka takimi jak: nadciśnienie, niewydolność serca, cukrzyca, napad niedokrwienny (przemijający lub udar). Stosowany jest również w farmakoterapii zatorowości płucnej i zakrzepicy żył głębokich. Wśród najczęstszych działań niepożądanych obserwowanych podczas terapii lekiem obserwuje się niedokrwistość, krwiaki, krwawienie (szczególnie często podspojówkowe, z przewodu pokarmowego, z dziąseł, nosa), niedociśnienie, bóle kończyn i obrzęk obwodowy jak także zwiększoną aktywność aminotransferaz wątrobowych. Ze względu na metabolizm wątrobowy inhibitory CYP3A4 (min. ketokonazol, amiodaron, cyprofloksacyna) nasilają efekt przeciwzakrzepowy rywaroksabanu, natomiast induktory (karbamazepina, rifampicyna, fenobarbital) wywołują działanie odwrotne (Tomkowski 2010).

Apiksaban

Jest doustnym wysoce selektywnym, odwracalnym inhibitorem czynnika Xa który katalizuje przekształcanie protrombiny w aktywną trombinę. Wykorzystywany jest w profilaktyce zawałów (szczególnie u osób z niemiernościami serca) oraz leczeniu żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej także u chorych z niewydolnością nerek oraz dializowanych. Apiksaban jest lekiem najnowszej generacji, bezpiecznym, dobrze tolerowanym przez pacjentów rzadko powoduje działania niepożądane, najczęstszym z nich są krwawienia z nosa (Martinez et al. 2018).

- Inne leki

Abcysymab

Lek łączy się z receptorem powierzchniowym GP IIb/IIIa hamując przyłączanie się cząsteczek adhezyjnych takich jak czynnik von Willebranda i fibrynogenu. Abcysymab stosuje się głównie w świeżych zawałach bez załamka Q, podczas zabiegów w obrębie naczyń krwionośnych takich jak angioplastyka, implantacja stentu jak także w zapobieganiu zawału w niestabilnej chorobie wieńcowej (stosowany maksymalnie przez miesiąc). Z klinicznego punktu widzenia niezwykle istotny jest brak interakcji abciximabu z płynami infuzyjnymi, azotanami (w tym z nitrogliceryną), lekach stosowanych w nadciśnieniu czy chorobie niedokrwiennej serca. Przeciwwskazania do stosowania to min. udar mózgu w ciągu ostatnich dwóch lat, nowotwory mózgu, terapia antykoagulantami (w ciągu ostatnich 7 dni), ciężka niewydolność nerek i wątroby oraz choroby związane z hemostazą takie jak trombocytopenia, skaza krwotoczna czy czynne krwawienia wewnętrzne (Kochański i in. 2012).

Eltrombopag

Lek to agonista receptora c-MPL, który jest miejscem wychwytu trombopoetyny. Eltrombopag stosuje się w immunologicznej plamicy małopłytkowej oraz małopłytkowości w przebiegu marskości wątroby wywołanej zakażeniem HCV. Podczas terapii lekiem zalecane jest ograniczanie o połowę dawek niektórych statyn (atorwastatyny, prawastatyny, fluwastatyny, rosuwastatyny), metotreksatu oraz penicyliny benzylowej. Eltrombopag hamuje metabolizm środków przeciwbólowych zarówno NLPZ jak i opiatów (Bussel et al. 2007).

3. Podsumowanie

Leki przeciwzakrzepowe i przeciwplatekcyjne stanowią obecnie złoty standard w leczeniu i prewencji zakrzepic zarówno obwodowych i ośrodkowych. Leki najnowszej generacji nie tylko

idealnie sprawdzają się w profilaktyce wielu chorób neurologicznych i kardiologicznych, ale zapewniają jednocześnie bardzo dobry profil bezpieczeństwa i komfort terapii dla pacjenta.

4. Literatura

- Baker WL, White CM (2009) Role of prasugrel, a novel P2Y₁₂ receptor antagonist, in the management of acute coronary syndromes. *American Journal of Cardiovascular Drugs* 9(4): 213-229.
- Bussel JB, Cheng G, Saleh MN et al. (2007) Eltrombopag for the treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *The New England Journal of Medicine* 357: 2237-2247.
- Campbell CL, Montalescot G, Steinhubl SR (2007) Aspirin dose for the prevention of cardiovascular disease: a systemic review. *Journal of the American Medical Association* 297(18): 2018-2024.
- Dhillon S (2009) A review of its use in the management of heparin-induced thrombocytopenia. *American Journal of Cardiovascular Drugs* 9(4): 261-282.
- Dobrowolski P, Kosiński P, Filipiak KJ (2007) Leki przeciwkrzepliwe w chorobach serca naczyństan obecny i perspektywy. *Choroby Serca i Naczyń* 4(3): 130-136.
- Kochański K, Południński M, Kuźma Ł i in. (2012) Leki przeciwplateletowe i przeciwkrzepliwe u pacjentów z cukrzycą stosowane w okresie przezskórnych interwencji wieńcowych. *Przegląd Kardiologiczny* 7(2): 70-77.
- Krzyż ŁJ, Nowacka E, Knapik P (2015) Małopłytkowość poheparynowa. *Anestezjologia Intensywna terapia* 47(1): 65-79.
- Legrand M, Mateo J, Aribaund A et al. (2011) The use of dabigatran in elderly patients. *Archives of Internal Medicine* 171: 1285-1286.
- Lubenow N, Eichler P, Lietz T et al. (2004) Lepirudin for prophylaxis of thrombosis in patients with acute isolated heparin-induced thrombocytopenia: an analysis of 3 perspective studies. *Blood* 104: 3072-3077.
- Łapaciuk S (1999) Heparyny drognoczęteczkowe w profilaktyce i leczeniu żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej. *Farmakoekonomika* 4(2): 12-25.
- Maffrand JP (2012) The story of clopidogrel and its predecessor, ticlopidine: Could these major antiplatelet and antithrombotic drugs be discovered and developed today? *Comptes Rendus Chimie* 15(8): 737-743.
- Martinez BK, Sood NA, Bunz TJ et al. (2018) Effectiveness and Safety of Apixaban, Dabigatran, and Rivaroxaban Versus Warfarin in Frail Patients With Nonvascular Atrial Fibrillation. *Journal of American Health Association* 7(8): 100-115.
- Mital A, Łętowska M, Chojnowski K i in. (2013) Polskie zalecenia dotyczące leczenia antagonistami witaminy K. *Journal of Transfusion Medicine* 6(2): 41-47.
- Fevier R, Fevier M, Martigetti JA (2013) First successful use of eltrombopag before surgery in child with MYH9-related thrombocytopenia. *Pediatrics* 132: 793-795.
- Orzechowska-Juzwenko K (1997) Podstawy farmakologii klinicznej, Volumed 20-180.
- Samama MM, Cohen JY, Desjardins L et al. (1999) A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. Prophylaxis in Medical Patients with Enoxaparin Study Group. *The New England Journal of Medicine* 341: 793-800.
- Tomkowski WZ (2010) Nowe zarejestrowane leki przeciwzakrzepowe: rywaroksaban i dibigastran. *Hematologia* 1(2): 151-156.
- Windyga J (2010) Powikłania leczenia przeciwkrzepliwego. *Hematologia* 1(2): 142-150.
- Woźnicka-Leśkiewicz L, Wolska-Bałach A, Tykarski A (2014) Interakcje antykoagulantów z lekami i żywnością- wskazówki dla lekarza praktyka. *Choroby Serca i Naczyń* 11(2): 78-90.
- Yusuf S, Zhao CF, Mehta SR et al. (2001) Effect of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *New England Journal of Medicine* 345(7): 494-502.

20. Farmakoterapia ADHD

Pharmacotherapy of ADHD

Straszak Dominik⁽¹⁾, Drózd Monika⁽²⁾, Dymek Aleksandra⁽³⁾, Widelska Gabriela⁽⁴⁾, Tabin Mateusz⁽⁵⁾, Matosiuk Dariusz⁽¹⁾

⁽¹⁾Katedra i Zakład Syntezy i Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Samodzielna Pracownia Radiofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾Katedra i Zakład Farmakognozji z Pracownią Roślin Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽⁴⁾Zakład Chemii Nieorganicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽⁵⁾Oddział Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Metabolicznych 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką we Wrocławiu

Opiekun naukowy: prof. hab. n. farm. Dariusz Matosiuk

Dominik Straszak: dominik.straszak@gmail.com

Słowa klucze: nadpobudliwość, metylofenidat, stymulanty, atomoksetyna, OUN

Streszczenie

Zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD) jest obecnie jednym z najczęściej diagnozowanych zaburzeń psychicznych u dzieci i młodzieży. Ze względu na dynamiczne badania nad przyczyną, metodami diagnostycznymi i farmakoterapią ADHD można uznać za jedną z najlepiej poznanych zaburzeń w medycynie. Obecnie na rynku dostępny jest szereg leków skutecznych w terapii choroby zarówno pobudzających (metylofenidat, pochodne amfetaminy) jak również regulujących funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego (atomoksetyna, guanfacyna) które pozwalają skutecznie kontrolować rozwój choroby, zapewnić pacjentowi lepszą jakość życia oraz poprawę funkcjonowania w społeczeństwie. Mimo postępu jaki dokonał się w opiece medycznej nad pacjentami z ADHD należy podkreślić że choroba ta zazwyczaj nie ustępuje i towarzyszy pacjentowi całe życie dając objawy o większym bądź mniejszym nasileniu.

1. Wstęp

Zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (attention-deficit/hyperactivity disorder, ADHD) rozwija się zazwyczaj w wieku młodzieńczym (6-12 lat). Choroba zaliczana jest grupy zaburzeń hiperkinetycznych z zachowaniami destrukcyjnymi. Zasadnicze kryteria rozpoznania ADHD według DNS-IV-TR to min. hiperaktywność, problemy z kontrolą uwagi, nadpobudliwość psycho-ruchowa, nagłe zmiany zachowania, zaburzenia emocji, brak zahamowań. Światowa Organizacja Zdrowia ocenia że około 39 milionów osób choruje na ADHD. Kluczowym elementem terapii pacjenta dotkniętego zespołem nadpobudliwości jest prawidłowe i szybkie postawienie diagnozy, wdrożenie leczenia farmakologicznego oraz terapii zachowawczej, pozwala to normalnie rozwijać się emocjonalnie i funkcjonować we współczesnym świecie. Co istotne ADHD jest najczęściej nieuleczalne, jednak można w pełni kontrolować chorobę i zapewnić pacjentowi prawidłowy rozwój zarówno emocjonalny, intelektualny, fizyczny jak i społeczny (Faraone et al. 2000).

2. Opis zagadnienia

2.1 Przyczyny ADHD

Dotychczas nie zostały określone dokładne przyczyny występowania deficytu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi, jednak istnieje szereg czynników które mogą nasilać objawy choroby lub przyczynić się do jej wystąpienia, należą do nich min. z urazy czaszki czy epizody niedotlenienia mózgu. Czynniki genetyczne najprawdopodobniej pełnią kluczową rolę

w etiopatogenezie. ADHD często dziedziczone jest w linii prostej, szczególnie istotne są w tym przypadku geny powiązane z neuroprzekątnictwem dopaminowym: DRD₄, DRD₅, DAT, TAAR₁, MAOA, COMT, DBH oraz serotononinowym: BDNF, TPH₂, ADRA_{A2A}, SERT, HTR_{1B}, SNAP₂₅ GRIN_{2A} (Faraone et al. 2005).

Należy podkreślić iż zespół nadpobudliwości psychoruchowej nie wynika z czynników społecznych, nie jest wywołany błędami wychowawczymi, ale ma podłoże biologiczne i wynika z zaburzeń równowagi między neuroprzekaznikami w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (Maher et al. 2002).

2.2 Diagnostyka

Objawy ADHD mogą przybierać zróżnicowaną formę i natężenie. Pierwszą kliniczną charakterystykę choroby opracowano w latach 70-tych. U pacjentów obserwuje się zmiany behawioralne w sferze ruchowej, poznawczej oraz emocjonalnej (Cichoń i in. 2017):

- sfera emocjonalna- nadekspresja, impulsywność, wybuchowość, napady złości i agresji, nadreaktywność na bodźce zewnętrzne, gwałtowne zmiany emocjonalne, zaburzone relacje z rówieśnikami;
- sfera ruchowa- niepokój ruchowy, zaburzenia motoryki, chodzenie bez celu, wymachiwanie rękami, nogami, szybkie, zmienne ruchy;
- sfera poznawcza- trudności w koncentracji, pochopność, przerzucanie uwagi między obiektami (set shifting), trudności w wyrażaniu myśli, zmiany w wydajności myślenia, trudności w planowaniu, popełnianie błędów w wyniku braku uwagi, problemy z nauką, nie stosowanie się do instrukcji poleceń.

Podstawowym zadaniem lekarza we wstępnym etapie jest odróżnienie ADHD od chorób dających podobne objawy jak duża depresja, zaburzenia afektywne dwubiegunowe, zaburzenia lękowe, osobowości typu borderline czy zespół Aspergera. Ze względu na nieswoisty charakter objawów trudności jakie stwarza różnicowa diagnostyka ADHD niezwykle istotne jest wszechstronne badanie lekarskie obejmujące min. testy inteligencji czy testy ciągłego wykonywania (CPT), istotna jest również ocena umiejętności czytania, pisania, mówienia, literowania oraz liczenia. Do oceny stanu pacjenta wykorzystuje się skale diagnostyczne: Conners ADHD Diagnostic Interview, Barkley's Current Symptoms Scale, Brown ADD Scale Diagnostic Form, Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia Diagnostic Interview oraz skale oceny objawów min. Connersa, Wender-Reimherr'a, Barkleya (Kooij et al. 2010).

Poza zaburzeniami zachowania u pacjentów z ADHD stwierdzono czynnościowe oraz strukturalne odmienności w mózgu (Castle et al. 2008):

- zaburzona aktywność układu dopaminergicznego szczególnie w jądrze ogoniastym oraz układzie limbicznym, który można zobrazować z wykorzystaniem pozytronowej tomografii emisyjnej (PET);
- aktywacja sieci neuronowych dwóch okolic skroniowych mózgu podczas wykonywania zadań, zmianę tą diagnozuje się z wykorzystaniem czynnościowego rezonansu magnetycznego (fMRI);
- dwuletnie opóźnienie pogrubiania kory mózgowej w rejonach przedśrodkowych oraz przedczołowych, zaburzenie to obrazuje się za pomocą metody rezonansu magnetycznego (MRI).

3. Farmakoterapia ADHD

3.1 Metylofenidat (MPH)

Jest pochodną fenyloetyloaminy, stymuluje ośrodkowy układ nerwowy. MPH blokuje wychwyty zwrotne noradrenaliny oraz dopaminy. Metylofenidat wykorzystywany jest w terapii ADHD, wyprowadzaniu z narkozy, hipersomnii idiopatycznej oraz narkolepsji. Obecnie stanowi lek pierwszego rzutu w przypadkach nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi u pacjentów powyżej 6-ego roku życia. Paradoksalne działanie uspakajające na organizm u osób cierpiących na ADHD jest najprawdopodobniej efektem zwiększenia poziomu dopaminy w przestrzeniach

międzysynaptycznych w prążkowiu oraz innych rejonach mózgu. W terapii ADHD metylofenidat stosowany jest w postaci tabletek powlekanych oraz kapsułek o modyfikowanym uwalnianiu (system OROS- osmotic release oral system). Tabletki powlekane dają możliwość dostosowania dawki do samopoczucia i potrzeb pacjenta w ciągu dnia, ta forma podania jest szczególnie wskazana u małych dzieci. Kapsułki OROS dedykowane są młodzieży oraz osobom dorosłym dzięki przedłużonemu uwalnianiu można ograniczyć częstość stosowania preparatu i minimalizować ryzyko uzależnienia. Od niedawna na rynku dostępne są również preparaty metylofenidatu w formie systemów transdermalnych. Ze względu na potencjał uzależniającego niezwykle istotne w terapii ADHD jest częsta weryfikacja konieczności stosowaniu MPH, a jeśli pacjent wymaga ciągłej farmakoterapii wskazane jest okresowe odstawienie leku na parę miesięcy co najmniej raz w roku (Biederman et al. 2006). Metylofenidat wykazuje szereg działań niepożądanych w wyniku stymulacji OUN najczęściej obserwowane to: drażliwość, nadreaktywność, smutek, problemy z zasypianiem, wybuchy emocjonalne, wycofanie społeczne, zubożenie, zaburzenia akomodacji oka, zawroty głowy, spadek łaknienia, bóle głowy, zaburzenia obrazu krwi (niedokrwistość leukopenia, plamica małopłytkowa) oraz układu sercowo naczyniowy (zaburzenia rytmu, tachykardia, nadciśnienie). Podczas terapii konieczne jest monitorowanie ciśnienia tętniczego krwi i tętna, zmian masy ciała pacjenta, pojawienia się zaburzeń psychicznych (nieobserwowanych przed rozpoczęciem leczenia, nasilenie wcześniej występujących objawów). MPH nie powinien być stosowany u kobiet w ciąży oraz karmiących (kategoria C). Najistotniejsze interakcje farmakologiczne leku związane są z jego wpływem na układ sercowo-naczyniowy, dlatego nie powinno się łączyć stosować MPH oraz: nieodwracalnych inhibitorów monoaminooksydazy, agonistów receptora alfa-2 oraz lekami o działaniu dopaminergicznym gdyż istnieje ryzyko wystąpienia przełomu nadciśnieniowego. Przeciwwskazania do terapii MPH to między innymi: jaskra, nadczynność tarczycy, guz chromochłonny, występowanie wcześniej epizodów choroby afektywnej dwubiegunowej oraz zaburzenia układu sercowo-naczyniowego (Searight et al. 2000).

3.2 Lisdeksamfetamina (LDX)

Jest długodziałającym prolekiem metabolizowanym w organizmie do aktywnej farmakologicznie D-amfetaminy oraz L-lizyny. Okres półtrwania LDX pozwala ograniczyć częstotliwość przyjmowania preparatu w ciągu dnia, minimalizując tym samym w znacznym stopniu ryzyko nadużywania przez pacjentów. Lek na chwilę obecna nie jest dopuszczony do obrotu na terenie Polski (Biederman et al. 2007).

3.3 Atomoksetyna

Działa ośrodkowo na układ współczulny, hamuje wychwyt zwrotny noradrenaliny, nasila neuroprzeżywalność dopaminergiczną w obrębie kory przedczołowej, w minimalnym stopniu wpływa również na układ serotonergiczny. Atomoksetyna wskazana jest szczególnie u pacjentów ze współistniejącym zespołem Tourette'a, zaburzeniami lękowymi, tikami. Zgodnie z zaleceniami FDA jest lekiem drugiego rzutu wykorzystywanym gdy preparaty pobudzające nie wykazują skuteczności lub istnieją przeciwwskazania do ich stosowania. Podobnie jak metylofenidat atomoksetyna może być wykorzystywana w terapii od 6-ego roku życia. Efekt działania leku jest opóźniony (ok. 2 tygodnie od rozpoczęcia leczenia). Najczęściej obserwowane działania niepożądane podczas farmakoterapii to zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego (spadek łaknienia, suchość w jamie ustnej), tachykardia, zmęczenie, drażliwość, zawroty głowy, bezsenność, rzadko uszkodzenia wątroby, wzrost ciśnienia krwi i przyspieszenie akcji serca. Szczególnie istotna w trakcie terapii jest obserwacja zmian zachowań pacjenta gdyż atomoksetyna może wywoływać bądź nasilać myśli i zachowania samobójcze u pacjenta (Posey et al. 2006).

3.4 Klonidyna

Lek jest agonistą receptorów α_2 adrenergicznych (szczególnie presynaptycznych), w niewielkim stopniu α_1 adrenergicznych oraz imidazolinowych. Klonidyna wykazuje aktywność w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, pobudza receptory w paśmie samotnym powodując obniżenie napięcia układu współczulnego i spadek wytwarzania katecholamin kontrolujących pracę serca oraz mięśni gładkich naczyń krwionośnych, pobudza również nerw błędny. Sumaryczny

rezultat działania klonidyny to: obniżenie ciśnienia krwi, zwolnienie akcji serca, spadek objętości wyrzutowej, efekt uspokajający, przeciwlękowy oraz przeciwbólowy. Ze względu na szeroki wachlarz działania rezerpiny jest ona stosowana w szeregu chorób: nadciśnieniu, ADHD (szczególnie u pacjentów z nasiloną agresją i tikami), terapii odwykowej, zespole Tourette'a. Według zaleceń FDA terapię klonidyną w ADHD wdraża się gdy leki pobudzające oraz atomoksetyna nie wykazują pozytywnego efektu terapeutycznego lub istnieją przeciwwskazania do ich stosowania. Działania niepożądane klonidyny to: początkowy wzrost ciśnienia krwi związany z niewielkim pobudzeniem obwodowych α_2 oraz α_1 , zwiększenie łaknienia, sedacja, suchość w jamie ustnej oraz zawroty głowy. Co istotne leku nie można odstawić nagle ze względu na ryzyko wystąpienia kryzy nadciśnieniowej (Campbell et al. 1984).

3.5 Guanfacyna

Jest selektywnym agonistą receptora α_{2A} adrenergicznego. Guanfacyna moduluje funkcje układu współczulnego w obrębie jąder podstawy i kory przedczołowej, hamuje przepływ impulsów nerwowych z ośrodka naczynioruchowego do naczyń krwionośnych oraz serca w efekcie zwalniając jego akcje oraz obniżając ciśnienie. Lek jest stosowany w nadciśnieniu oraz terapii ADHD szczególnie przy współistnieniu tików i agresji. Działania niepożądane guanfacyny to najczęściej sedacja, drażliwość, zmniejszenie apetytu, moczenie nocne, zwolnienie akcji serca oraz spadek ciśnienia krwi. Lek wykazuje podobną skuteczność co klonidyna jednak ze względu na wysoką selektywność dużo rzadziej wykazuje działania niepożądane lub mają one mniejsze nasilenie (Huss i Ludolph 2016).

3.6 Haloperidol

Lek przeciwpsychotyczny pierwszej generacji wykazujący silne powinowactwo do receptora D2, działa również w niewielkim stopniu cholinolitycznie, stosowany jest najczęściej w terapii psychoz schizofrenicznych, stanach maniakalnych. Niegdyś haloperidol był podstawą leczenia nadmiernej aktywności, w tym w ADHD czy tikach, obecnie ze względu na dużą ilość działań ubocznych oraz szereg interakcji jego zastosowanie jest ograniczone. Do najistotniejszych działań niepożądanych haloperidolu należą: zespół parkinsonowski, depresja polekowa, dystonia, niepokój, nadmierna sedacja, spadek ciśnienia krwi czy zaburzenia rytmu serca. W przypadku wieloletniego stosowania leku może nastąpić niezwykle niebezpieczne uszkodzenia neuronów dopaminergicznym co prowadzi do jatrogennego parkinsonizmu (efekt neurotoksycznego działania metabolitu haloperidolu : jonu 4-(4-chlorofenilo)-1-[4-(4-fluorofenilo)-4-oksobutylo]pirydyniowego (HPP⁺) oraz jonu 4-(4-chlorofenilo)-1-[4-(4-fluorofenilo)-4-hydroksybutylo]pirydyniowego (RHPP⁺)). Podczas terapii haloperidolem należy zwrócić uwagę na nasilenie działania leków wykazujących depresyjny efekt na ośrodkowy układ nerwowy (min. benzodiazepiny, barbiturany, opiaty) (Goodman 2010).

3.7 Risperidon

Lek przeciwpsychotyczny drugiej generacji pozbawiony efektu cholinolitycznego, blokuje postsynaptyczne receptory serotoninowe oraz dopaminowe. Działa aktywizująco, przeciwywórczo (McDougle et al. 1998). Risperidon stosowany jest w psychozach schizofrenicznych, leczeniu nadmiernej aktywności w tym ADHD, zespole Tourette'a, depresji lekoopornej. Najczęściej jako objawy uboczne terapii obserwuje się bezsenność, rzadziej senność, zmęczenie, ślinotok, wzrost masy ciała, zawroty głowy (McDougle et al. 1997).

Naltrekson

Jest strukturalnym analogiem kodeiny, odwrotnym agonistą receptorów opioidowych, przede wszystkim receptora μ , w mniejszym stopniu κ oraz δ . Naltrekson wykazuje skuteczność w terapii ADHD szczególnie w przypadkach zaburzeń uwagi i nadmiernej aktywności ruchowej (Weisler i Goodman 2009).

3.8 Bupropion

Jest związkiem z grupy chemicznej katynonów. Należy do selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego noradrenaliny i dopaminy (NDRI), zwiększa tym samym ilość

neuroprzekazników w przestrzeni międzysynaptycznej. Bupropion jest również niekompetencyjnym antagonistą receptorów nikotynowych. Lek znalazł szerokie zastosowanie w terapii depresji, szczególnie sezonowej, otyłości, nikotynizmu oraz nadmiernej aktywności psychoruchowej. W leczeniu ADHD bupropion stosuje się w przypadkach deficytów noradrenaliny, rzadziej przy deficytach dopaminy. Najważniejszym przeciwwskazaniem do terapii lekiem jest aktywna padaczka gdyż obniża on próg drgawkowy, jak również anoreksja i bulimia (osłabia łaknienie) (Woodruff et al. 2004). Bupropion rzadko daje działania niepożądane, najczęściej są to bezsenność i bóle głowy, czasem nadciśnienie, pobudzenie, poty czy suchość w jamie ustnej. Ze względu na to iż lek ulega metabolizmowi przez izoenzym CYP2B6 należy ostrożnie łączyć go z innymi substratami tego izoenzymu, w tym antydepresantami (min. paroksetyna, sertalina, diazepam, kłopidogrel) oraz induktorami (ziele dziurawca, barbiturany, fenytoina, klotrimazol czy ryfamipicyna). Bupropion ze względu na obniżenie progu drgawkowego należy również ostrożnie łączyć z innymi lekami o tym potencjale (sterydy, teofilina czy trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne) (Kolevzon 2009).

3.9 Preparaty uzupełniające w terapii ADHD

Randomizowane badania potwierdzają poprawę stanu pacjenta (w porównaniu z placebo) gdy pomocniczo w terapii ADHD stosuje się suplementację kwasami tłuszczowymi omega, preparatami cynku oraz żelaza.

4. Podsumowanie

Mimo ciągłego rozwoju medycyna zazwyczaj u chorych cierpiących na ADHD sama farmakoterapia nie jest wystarczająca. Aby poprawić funkcjonowanie pacjenta niezbędne jest uzupełnienie leczenia w psychoterapię poznawczo-behawioralną, wprowadzenie treningów rozwiązywania problemów, organizacji czy umiejętności życiowych. Należy zwrócić uwagę że ADHD dotyka również rodzinę pacjenta, dlatego interwencje terapeutyczne powinny dotyczyć również rodziców, partnera czy dzieci osoby chorej aby usprawnić funkcjonowanie całej rodziny w życiu codziennym.

5. Literatura

- Biederman J, Mick E, Spencer T et al. (2006) An open-label trial of OROS methylphenidate in adults with late-onset ADHD. *CNS Spectrums* 11(5): 390-396.
- Biederman J, Krishnan S, Zhang Y et al. (2007) Efficacy and tolerability of lisdexamfetamine dimesylate (NRP-104) in children with attention-deficit/hyperactivity disorder: a phase III, multicenter, randomized, double-blind, forced-dose, parallel-group study. *Clinical Therapeutics* 29(3): 450-463.
- Campbell M, Anderson LT, Deutsch SI et al. (1984) Psychopharmacological treatment of children with syndrome of autism. *Pediatric Annals* 13(4): 309-316.
- Castle I, Kalali AH, Weisler RH (2008) Trends in medication treatment for ADHD. *Journal of Attention Disorders* 10(4): 335-342.
- Cichoń L, Jelonek I, Janas-Kozik M (2017) ADHD- wskazówki praktyczne: farmakoterapia i prowadzenie dokumentacji. *Psychiatria i Psychologia Kliniczna* 17(4): 270-273.
- Faraone SV, Biederman J, Spencer TJ et al. (2000) Attention-deficit/hyperactivity disorder in adults: an overview. *Biological Psychiatry* 48: 9-20.
- Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE et al. (2005) Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry* 57: 1313-1323.
- Goodman DW (2010) Czarna księga ADHD. *Psychiatria po Dyplomie* 7(3): 12-32.
- Huss M, Chen W, Ludolph AG (2016) Guanfacine extended release: a new pharmacological treatment option in Europe. *Clinical Drug Investigation* 36: 1-25.
- Kolevzon A (2009) Farmakologiczne leczenie zaburzeń uwagi i nadpobudliwości ruchowej w autyzmie. *Psychiatria po Dyplomie* 6(3): 63-68.
- Kooij SJ, Bejerot S, Blackwell A et al. (2010) European consensus statement on diagnosis and treatment of adult ADHD: The European Network Adult. *BMC Psychiatry* 10: 67-69.

- Levin FR, Evans SM, McDowell DM et al. (2002) Bupropion treatment for cocaine abuse and adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of Addictive Diseases* 21(2): 181-193.
- Lopez MA, Toprac, MG, Crimson ML (2005) A psychoeducation program for children with ADHD or depression and their families: results from CMAP Feasibility Study Community. *Journal of Mental Health* 41(1): 51-66.
- Maher BS, Marazita ML, Ferrell RE et al. (2002) Dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder, a meta-analysis. *Psychiatric Genetics* 12: 2007-215.
- McDougle CJ, Holmes JP, Bronson MR et al. (1998) A double-blind, placebo-controlled study of risperidone in adults with autistic disorders and other pervasive developmental disorders. *Archives of General Psychiatry* 55(7): 633-641.
- McDougle CJ, Holmes JP, Bronson MR et al. (1997) Risperidone treatment of children and adolescents with pervasive development disorders: a prespective open-label study. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 36(5): 685-693.
- Posey DJ, Wiegman RE, Wilkerson J et al. (2006) Open-label atomoxetine for attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms associated with high-functioning pervasive developmental disorders. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 16(5): 599-610.
- Searight HR, Burke JM, Rottnek F (2000) Adult ADHD: evaluation and treatment in family medicine. *American Family Physician* 62(9): 2077-2086.
- Weisler RH, Goodman DW (2009) Ocena i rozpoznanie ADHD u dorosłych: wyzwania kliniczne i możliwości poprawy opieki nad chorymi. *Psychiatria po Dyplomie* 6(2): 31-41.
- Woodruff TJ, Axelrad DA, Kyle AD et al. (2004) Trends in environmentally related childhood illnesses. *Pediatrics* 113: 1133-1140.

21. Neuroprotecyjne właściwości resweratrolu

Neuroprotective properties of resveratrol

Wicha-Komsta Katarzyna

Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Uniwersytet Medyczny, Lublin

Opiekun naukowy: dr hab. Tomasz Kocki

Wicha-Komsta Katarzyna: kasia@ulterior.pl

Słowa kluczowe: choroby neurodegeneracyjne, białko SIRT1, choroba Alzheimer

Streszczenie

Zależność pomiędzy wzrostem średniego wieku społeczeństw krajów rozwiniętych a zwiększeniem częstości występowania chorób neurodegeneracyjnych jest dobrze udokumentowana. Poszukuje się więc nowych sposobów ich leczenia i zapobiegania. Farmakoterapia zaburzeń otępiennych (np. choroby Alzheimer czy Parkinsona) jest trudna, a zmiany w neuronach są w większości nieodwracalne. Duże zainteresowanie i nadzieje budzi wykorzystanie związków pochodzenia naturalnego będących składnikami diety (w tym resweratrolu) do leczenia wspomagającego. Wyjaśnienie mechanizmów neuroprotecyjnego działania tych substancji może pozwolić na odkrycie innych, dodatkowych przyczyn zmian neurodegeneracyjnych, a te mimo postępu wiedzy nadal nie są do końca poznane. Niniejsza praca przedstawia wyniki badań dotyczących wpływu resweratrolu na zmiany zwyrodnieniowe w mózgu wywołane chorobą Alzheimer, Parkinsona i Huntingtona i jest krytycznym zestawieniem informacji pochodzących z anglojęzycznych prac poglądowych przedstawiających różne aspekty działania tej substancji. Szczególną uwagę zwrócono na oddziaływanie resweratrolu na białko SIRT1 i możliwe korzyści tej interakcji.

1. Wstęp i opis zagadnienia

Zainteresowanie resweratrolem znacznie wzrosło po zaobserwowaniu niskiej śmiertelności populacji francuskiej z powodu chorób układu krążenia, mimo stosowania niezdrowej diety o dużej zawartości tłuszczu. Doprowadziło to do poszukiwania przyczyny, czyli „paradoksu francuskiego”, za którą uważa się dostarczanie polifenolowych antyoksydantów poprzez regularne spożywanie niewielkiej ilości alkoholu w formie czerwonego wina.

Resweratrol, jeden z takich związków, (RSV, 5-[(E)-2-(4-hydroksyfenylo) etenylo]benzeno-1,3-diol) jest naturalną polifenolową pochodną stilbenu. Ze względu na podwójne wiązanie pomiędzy pierścieniami benzenowymi, związek ten może występować w formie dwóch izomerów geometrycznych *cis* i *trans*, jednak tylko forma *trans* charakteryzuje się aktywnością biologiczną (Catalgol i in. 2012). Związek może ulegać trans izomeryzacji *in vitro* - forma *cis* powstaje z formy *trans* pod wpływem promieniowania UV, wysokiego pH, jak również *in vivo* – podczas fermentacji (Kopeć i in. 2011). RSV występuje głównie w roślinach z rodziny ciborowatych (*Cyperaceae*), dwuskrzydłowych (*Dipterocarpaceae*), gniotowatych (*Gnetaceae*) oraz winoroślowatych (*Vitaceae*) (Richard i in. 2011). Po raz pierwszy został wyizolowany z korzenia ciemnicy *Veratrum grandiflorum* (MAXIM. EX MIQ.) O.LOES (Catalgol i in. 2012). Źródłem resweratrolu w diecie są przede wszystkim czarne odmiany winogron, jednak obecny jest również w orzechach ziemnych, morwie, jabłkach oraz owocach jagodowych. Synteza resweratrolu w roślinach zachodzi w odpowiedzi na bodziec stresogenny, taki jak zmiana temperatury, infekcja pasożytem, zranienie tkanki czy promieniowanie UV (Kopeć i in. 2011).

W organizmie człowieka RSV jest wchłaniany w jelicie cienkim, a metabolizm zachodzi w wątrobie przy udziale cytochromu P450. Wydalany jest z moczem i kałem po sprzęgnięciu z siarczanami i glukuronianami (Poulose i in. 2015). Wykazuje szereg aktywności biologicznych obejmujących działanie antyagregacyjne, przeciwnowotworowe, kardioprotekcyjne,

antyoksydacyjne, przeciwstarzeniowe. Działa również przeciwbakteryjnie, przeciwwirusowo i przeciwzapalnie. Wymienione efekty są związane m.in. z wpływem RSV na enzymy (COX-1 i COX-2), zdolnością do hamowania syntezy i wydzielania mediatorów zapalnych, działaniem antyproliferacyjnym i hamowaniem angiogenezy. Obniża także poziom reaktywnych form tlenu (Catalgol i in. 2012).

Poza swoimi właściwościami antyoksydacyjnymi i przeciwzapalnymi, RSV jest jednym z najbardziej znanych naturalnych aktywatorów sirtuiny 1 (SIRT1), enzymu regulującego wiele procesów komórkowych (Wiercińska i Rosołowska-Huszcz 2017). Sirtuiny należą do grupy diacetylaz histonowych, zależnych od dinukleotydu nikotynoadeninowego (NAD⁺). W organizmach ssaków zostało zidentyfikowanych 7 strukturalnie różnych homologów sirtuin (SIRT1 - SIRT7). Obecne są one w jądrze komórkowym (SIRT 1, 2, 6, 7), cytoplazmie (SIRT1 i SIRT2) i mitochondriach (SIRT3, 4 i 5). SIRT deacetyluje histony (zasadowe białka wchodzące w skład chromatyny), co uniemożliwia dostęp do czynników transkrypcyjnych, hamując w konsekwencji ekspresję genów. Spośród wszystkich homologów sirtuin najbardziej przebadana jest SIRT1, obecna w wysokim stężeniu w mózgu, nerce, mięśniach szkieletowych, wątrobie, śledzionie i białej tkance tłuszczowej. Obszarami mózgu o szczególnie zaznaczonym występowaniu SIRT1 są neurony hipokampa, wzgórze i jądra pasma samotnego (Cao i in. 2018).

SIRT1 wpływa na metabolizm węglowodanów i cholesterolu poprzez aktywację różnych czynników. Jest substratem PPAR_α (receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów) i PGC-1_α (koaktywator receptora PPAR_γ), powodując wzrost utleniania kwasów tłuszczowych i glukoneogenezę (Rodgers i in. 2005). Poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego FOXO 1 zwiększa uwalnianie glukozy z hepatocytów, a zwiększając promocję genu UCP-2 powoduje wzrost wydzielania insuliny. Wpływ SIRT1 na białko wiążące sekwencję odpowiedzi na sterole (SREBP-2) i wątrobowy receptor jądrowy LXR- α polega na odpowiednio hamowaniu biosyntezy lub stymulacji odkomórkowego transportu cholesterolu (Wiercińska i Rosołowska-Huszcz 2017).

Obecność SIRT1 w mózgu, szczególnie w neuronach, chroni komórki układu nerwowego, a modulacja poziomu lub aktywacji receptorów SIRT została udowodniona w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych, jak choroba Alzheimera (AD). Wpływ SIRT1 na rozwój neuronów obejmuje również ochronę przed stresem oksydacyjnym, zmianę procesów poznawczych i plastyczność synaptyczną (Cao i in. 2018). Aktywacja SIRT1 może powodować zablokowanie powstawania toksycznego amyloidu beta i blaszek amyloidowych, prawdopodobnie przez inhibicję transkrypcyjnego czynnika jądrowego NF- κ B oraz przez aktywację transkrypcji α -sekretazy, enzymu wpływającego na białko prekursorowe amyloidu (Kucińska i in. 2010).

Badania (zarówno na modelach zwierzęcych, jak i epidemiologiczne) nad resweratrole, jako jednym z naturalnych aktywatorów SIRT1, dają nadzieję na odkrycie potencjalnego czynnika protekcyjnego w terapii chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona, Alzheimera czy Huntingtona.

2. Przegląd literatury

2.1 Resweratrol a choroba Alzheimera

Choroba Alzheimera należy do najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych o charakterze nieuleczalnym i postępującym. Do charakterystycznych objawów należy narastające pogorszenie się pamięci i uczenia się, zubożenie mowy, zaburzenie koordynacji i zmiany w zachowaniu. Późny etap choroby całkowicie uniemożliwia samodzielne funkcjonowanie.

Rolę w patogenezie AD odgrywa m.in. nagromadzenie się w przestrzeni międzykomórkowej mózgu złogów amyloidowych (tzw. płytek starczych), zbudowanych głównie z białka β -amyloidu, w obrazie neuropatologicznym stwierdzono również występowanie wewnątrzkomórkowo spletków neurofibrylarnych powstałych przede wszystkim z hiperfosforylacji białka Tau.

Amyloid beta (A β) stanowi grupę peptydów o różnej wielkości, najczęściej o długości łańcucha od 39 do 43 aminokwasów. Jego prekursorem jest transmembranowe białko APP (*amyloid precursor protein*) o krótkiej C-końcowej domenie zakotwiczonej w cytoplazmie i N-końcowej glikozylowanej domenie zewnątrzkomórkowej. W warunkach prawidłowych APP zostaje

rozszczone przez enzym α -sekretagę na rozpuszczalne fragmenty o własnościach regulatorowych. Nierozpuszczalne formy β -amyloidu powstają w wyniku patologicznych przemian przy udziale β i γ -sekretag. Tworzą blaszki starcze, a także mogą odkładać się w ścianach drobnych naczyń krwionośnych w warstwie korowej mózgu i prowadzić do powstawania mikrokrwawień. W obecności A β dochodzi również do zwiększenia fosforylacji białka Tau.

Obecność hiperfosforylowanego białka Tau prowadzi do obumierania neuronów poprzez upośledzenie czynności mikrotubul, zaburzenie przewodnictwa wzdłuż aksonu i destrukcję cytoszkieletu komórki nerwowej. Prawidłowe białko Tau wiąże się z mikrotubulami w aksonach, uczestnicząc w procesach transportu wewnątrzneuronalnego (Rang i in. 2012).

Shelat i wsp. wykazali możliwość indukcji powstawania reaktywnych form tlenu (ROS) przez A β , na drodze aktywacji NADPH-oksydazy, wykazali także indukcję stresu oksydacyjnego przez A β (Sun i in. 2010).

Kompleksowy i nie do końca wyjaśniony mechanizm neurodegeneracji w przebiegu AD inspiruje do poszukiwania nowych substancji leczniczych o różnych punktach uchwytu. Obecnie stosowane leki pozwalają na łagodzenie objawów demencji, nie pozwalają jednak na opóźnienie czy zwolnienie postępu choroby.

Rekomendowane w leczeniu AD są dwie grupy leków: inhibitory acetylocholinoesterazy i memantyna, antagonist receptoru NMDA (N-metylo-D-asparaginowego). Badania kliniczne wykazały również skuteczność niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLPZ). U pacjentów leczonych NLPZ z powodu np. zapalenia stawów obserwowano obniżoną częstość występowania demencji i AD. Poszukiwania nowych leków koncentrują się na próbie zahamowania produkcji toksycznego A β i zapobieganiu nadmiernej fosforylacji białka Tau (Rang i in. 2012). Idealna byłaby substancja działająca na wiele punktów uchwytu skomplikowanego patomechanizmu AD, stąd pojawiają się liczne prace wskazujące na wielokierunkowe, neuroprotektoryjne działanie RSV.

Rege i wsp. prowadzili doświadczenia na liniach komórkowych hipokampa H19-7 z 2-godzinną inkubacją 75 μ M roztworem RSV, poprzedzone 24-godzinną inkubacją 25 μ M roztworem A β . W grupie komórek z obecnością A β obserwowano zmniejszoną aktywność antyoksydantów: zarówno tych enzymatycznych (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, reduktaza glutationu), jak nieenzymatycznych (tokoferol, kwas askorbinowy, glutation) w porównaniu z grupą kontrolną. Obecność RSV zmniejszała peroksydację lipidów w komórkach inkubowanych A β , ponadto przywracała poziom antyoksydantów. Wykazano również zwiększenie poziomu PSD-95 (białka kotwiczącego zagęszczenia postsynaptycznego, tworzącego kompleksy z receptorem NMDA), proteiny ARC (activity-regulated cytoskeleton-associated protein), obecnej w dendrytach neuronów hipokampa, szczególnie ważnych dla dojrzałości i plastyczności synaptycznej (Dias i in. 2016).

Ekspozycja neuronalnych komórek macierzystych (human neural stem cells – hNSCs) na A β znacząco zmniejszała żywotność komórek w wyniku zapalenia i stresu oksydacyjnego. Obserwowano podwyższony poziom cytokin prozapalnych IL-1 β oraz czynnika martwicy nowotworów TNF- α (cytokiny zaangażowanej m.in. w apoptozę, angiogenezę, reakcje autoimmunologiczne i zapalenie). Obecność RSV znosiła efekty prozapalne A β , najprawdopodobniej poprzez aktywację kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK). Neuroprotektoryjne działanie RSV na drodze aktywacji ścieżki AMPK- zależnej było blokowane poprzez dodanie specyficznego antagonisty kinazy AMPK (Compound C). RSV zapobiegał również zależnemu od A β zwiększeniu ilości czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, który jest odpowiedzialny m. in. za regulację odpowiedzi immunologicznej na infekcję. Powoduje on także wzrost poziomu cytokin prozapalnych i może stymulować cyklooksigenazę COX-2 odpowiedzialną za syntezę prostaglandyn. Modulacja ilości czynnika NF- κ B zależna jest od wiązania z białkiem SIRT1 w mózgu i jego deacetylacji.

Podawanie RSV przywracało również fizjologiczną aktywność enzymów COX-2 i syntetazy tlenu azotu (iNOS) w komórkach neuronalnych poddanych działaniu A β (Chiang i in. 2018).

Oprócz cytotoksycznych właściwości samego A β , akumulacja i agregacja włókien amyloidowych odpowiada za proces neurodegeneracji w przebiegu AD. Najprawdopodobniej włókna A β odpowiedzialne są za powstawanie wolnych rodników tlenowych, podczas gdy monomery A β działają jako antyoksydanty zapobiegające śmierci komórki wywołanej przez stres oksydacyjny (Richard i in. 2011).

Badania *in vitro* nad RSV i innymi pochodnymi stilbenu wykazały zahamowanie agregacji i destabilizację już utworzonych oligomerów i włókien A β . W doświadczeniach przebadano pochodne o różnym stopniu polimeryzacji (mono, di i oligomery stilbenu) w stężeniu 10 μ M, a efekt inhibicji włókien A β był porównywany z kurkumina jako dodatnią grupą kontrolną. RSV powodował istotne zwiększenie inhibicji w odniesieniu do grupy kontrolnej w przypadku wszystkich przebadanych monomerów stilbenu. Wykazano również zależność między strukturą monomerów a stopniem inhibicji włókien A β . Dodatek grupy aromatycznej, obecność grupy metoksylowej lub hydroksylowej redukowała potencjalną zdolność do inhibicji (Richard i in. 2011). Riviere i wsp. wskazali na możliwy mechanizm tej inhibicji. W wyniku interakcji między polifenolem a A β dochodzi do otwarcia hydrofobowego „suwaka” łączącego włókna amyloidowe i przesunięcia równowagi w kierunku nieuporządkowanej i zdestabilizowanej struktury (Riviere i in. 2009).

Zmiany w produkcji amyloidu mogą być również związane z opisanym wcześniej białkiem SIRT1. Badania przeprowadzone na modelu mysim APP^{swe}/PS1^{de9} wykazały, że nadekspresja SIRT1 redukowała produkcję amyloidu i ilość płytek starczych, usunięcie genu kodującego SIRT1 podwyższało poziom A β . Dodatkowo obserwowano poprawę pamięci i zdolności uczenia (Donmez i Outeiro 2013).

Próby kliniczne z zastosowaniem RSV u pacjentów cierpiących na AD wykazały zmiany w poziomie biomarkerów zapalenia w płynie mózgowo-rdzeniowym i osoczu w porównaniu do grupy otrzymującej placebo. W 52-tygodniowym badaniu obserwowano znaczący spadek poziomu metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej MMP-9, (biomarkera uszkodzenia mózgu) w grupie pacjentów otrzymujących RSV. Autorzy sugerują, że podawanie RSV może zmniejszać przepuszczalność bariery krew- mózg i ograniczać napływ leukocytów i innych mediatorów zapalenia do mózgu. Wykazano również zwiększony poziom IL-4 i chemokiny pochodzącej od makrofagów (MDC) w płynie mózgowo-rdzeniowym w grupie badanej, co wskazuje na aktywację odpowiedzi immunologicznej, głównie poprzez indukcję limfocytów Th. Cytokiny MDC mogą pośredniczyć również w transporcie komórek NK, limfocytów Th2 i monocytów do zmienionego zapalnie miejsca. Suplementacja RSV prowadziła dodatkowo do zmniejszenia poziomu A β 40 i A β 42, chociaż nie wpływała na poziom białka Tau a także jego hiperfosforylowanej formy.

Nie obserwowano znaczących różnic w teście przesiewowym „mini-mental” (MMSE- Mini-Mental State Examination) służącym do oceny stanu poznawczego pacjentów w diagnostyce otępień. Wydaje się, że RSV może złagodzić i opóźnić wystąpienie objawów w przebiegu AD natomiast nie jest w stanie zapobiec ich wystąpieniu (Drygalski i in. 2018).

2.2 Resweratrol a choroba Parkinsona

Choroba Parkinsona (PD) jest przewlekle postępującą chorobą układu nerwowego charakteryzującą się spowolnieniem ruchowym, drżeniem spoczynkowym i sztywnością mięśni. Patogeneza PD związana jest z neurodegeneracyjnymi zmianami istoty czarnej, należącej do struktur śródmózgowia, co prowadzi do spadku stężenia dopaminy i w mniejszym stopniu pozostałych amin katecholowych. Zmiany te związane są z odkładaniem w różnych obszarach mózgu wewnątrzkomórkowych wtętołów tzw. ciał Lewy’ego (LB). Zbudowane są głównie z białka α -synukleiny, które występuje również w warunkach fizjologicznych. Prawidłowa synukleina odpowiedzialna jest za transport synaptyczny i magazynowanie dopaminy. W PD dochodzi do agregacji i kumulacji nieprawidłowych białek, zwiększenia cytoplazmatycznego stężenia dopaminy na skutek niewłaściwego jej magazynowania i przyspieszenie jej biodegradacji. Towarzyszy temu produkcja wolnych rodników działających neurotoksycznie. W leczeniu PD stosuje się (oprócz lewodopy, będącej prekursorem dopaminy), grupę agonistów receptorów dopaminowych, jak również inhibitory monoaminooksydazy typu B (MAO-B) (Rang i in. 2012).

W badaniach przeprowadzonych na szczurach wykazano zmiany behawioralne, histopatologiczne i molekularne po podaniu toksyny 6-OHDA (6-hydroksydopaminy), wywołującej uszkodzenie układu dopaminergicznego. Następnie zwierzętom zaordynowano RSV w dawce 10, 20, i 40 mg/kg *per os* przez dziesięć tygodni. Zaobserwowano znaczące zmiany w teście obrotowym oraz zmniejszenie kondensacji chromatyny, wakuolizacji i obrzmienia mitochondriów w neuronach

dopaminergicznych istoty czarnej. Właściwości przeciwzapalne RSV zostały potwierdzone poprzez spadek ekspresji COX-2 i TNF- α (Jin i in. 2008).

Podanie neurotoksyny MPTP myszom szczepu C57BL/6 wywołało zmiany w typie choroby Parkinsona, łącznie ze zmniejszeniem poziomu dopaminy (DA) i obumieraniem neuronów dopaminergicznych. Suplementacja takich myszy RSV w dawce 50 lub 100mg/kg/dobę przez 1 lub 2 tygodnie zapobiegała zmniejszeniu poziomu DA wywołanego przez MPTP oraz utrzymywała poziom hydroksylazy tyrozynowej. RSV, podawany przed zastosowaniem MPTP, działał ochronnie i zabezpieczał neurony prądkowia przed toksycznym działaniem MPTP (Blanchet i in. 2008).

Również w przypadku choroby Parkinsona istnieją doniesienia o możliwym współdziałaniu białka SIRT1 i RSV.

Istotny wpływ SIRT1 na neuroprotektoryjne działanie RSV w chorobie Parkinsona wykazali Albani i wsp. Linię komórkową neuroblastoma SK-N-BE poddano działaniu neurotoksyny 6-OHDA lub toksycznej formy białka α -synukleiny (TAT- α -syn). Korzystne działanie RSV obserwowano tylko przy aktywnym białku SIRT1. Wyłączenie aktywności SIRT1 skutkowało utratą protekcyjnych właściwości RSV (Albani i in. 2010)

Donmez i wsp. wykazali na zwierzęcych modelach i liniach komórkowych zahamowanie tworzenia agregatów α -synukleiny pod wpływem SIRT1 w wyniku aktywacji białek opiekuńczych.

Doświadczenia przy użyciu SIRT1 transgenicznych myszy z indukowanym MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridina) modelem PD nie wykazały protekcyjnego działania białka SIRT1, stąd konieczność dalszych badań potwierdzających tę rolę (Donmez i Outeiro 2013).

2.3 Resweratrol a choroba Huntingtona

Choroba Huntingtona jest genetyczną, autosomalnie dominującą chorobą ośrodkowego układu nerwowego. Tak jak w przypadku choroby Parkinsona i Alzheimerera, w chorobie Huntingtona dochodzi do kumulowania się złogów białkowych, a w konsekwencji zaniku neuronów, szczególnie kory mózgowej i prądkowia. W wyniku zwiększonej liczby powtórzeń trójnukleotydowych (CAG) w obrębie genu IT15 kodujących glutaminę następuje produkcja nieprawidłowego poliglutaminowego białka Htt (huntingtyny). Kliniczne objawy zaniku tych struktur to przede wszystkim otępienie i mimowolne ruchy o charakterze płasawicznym. Farmakoterapia HD obejmuje leczenie tylko objawowe, brak jest obecnie skutecznego leczenia przyczynowego. W celu zmniejszenia nasilenia ruchów płasawicznych stosuje się przede wszystkim leki blokujące receptory dopaminowe, głównie z grupy klasycznych neuroleptyków (Rang i in. 2012).

W modelu HD indukowanym kwasem 3-nitropropionowym po podaniu RSV obserwowano zahamowanie aktywności COX-1 i znaczną poprawę zdolności ruchowych i poznawczych.

Aktywacja SIRT1, która pojawia się w odpowiedzi na RSV, jest jednym z możliwych mechanizmów ochrony neuronów przed cytotoksycznym działaniem zmutowanego białka m-htt. W neuronach, w których stwierdzono obecność m-htt, uruchamiany jest mitochondrialny szlak apoptotyczny indukowany przez nagromadzone białko p53. Redukcja akumulacji białka p53 eliminuje depolaryzację błony mitochondrialnej i hamuje śmierć neuronów. Białko SIRT1 powoduje inhibicję p53 poprzez jego deacetylację (stąd jego, a w konsekwencji również RSV, neuroprotektoryjne działanie w HD) (Tellone i in. 2014).

3. Wnioski

Choroby neurodegeneracyjne charakteryzują się postępującą utratą komórek nerwowych, która koreluje z kumulacją nieprawidłowo uformowanych białek, wiążących jony metali przejściowych i prowadzących do powstania reaktywnych form tlenu. Skomplikowana i nie do końca wyjaśniona etiopatogeneza chorób neurodegeneracyjnych ogranicza możliwości terapeutyczne i skłania do poszukiwania nowych form terapii. W tym kontekście RSV, jako substancja o działaniu neuroprotektoryjnym, jest obiecującym obiektem zainteresowań, szczególnie w kontekście ostatnich badań wskazujących na zaburzenie homeostazy ROS w postępie zmian degeneracyjnych i wpływu na funkcjonowanie mitochondriów. Istotny jest również wpływ RSV na białko SIRT1, którego aktywacja pełni ważną rolę w chorobach neurodegeneracyjnych.

Wyniki badań doświadczalnych i epidemiologicznych sugerują korzystne działanie RSV na ośrodkowy układ nerwowy i sugerują możliwość wykorzystania w profilaktyce i terapii chorób neurodegeneracyjnych. Ograniczeniem do stosowania RSV może być niska dostępność po podaniu doustnym oraz jego szybka biochemiczna przemiana do metabolitów o mniejszej aktywności farmakologicznej.

4. Literatura

- Albani D, Polito L, Signorini A i in. (2010) Neuroprotective properties of resveratrol in different neurodegenerative disorders. *BioFactors* 36: 370-376.
- Banchet J, Longpré F, Bureau G i in. (2008) Resveratrol, a red wine polyphenol, protects dopaminergic neurons in MPTP-treated mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32: 1234-1250.
- Cao W, Dou Y, Li A (2018) Resveratrol Boosts Cognitive Function by Targeting SIRT1. *Neurochemical Research* 48: 1705-1713.
- Catalgol B, Batirel S, Taga Y i in. (2012) Resveratrol: French paradox revisited. *Frontiers in Pharmacology* 3: 1-18.
- Chiang MC, Nicol CJ, Cheng YC (2018) Resveratrol activation of AMPK-dependent pathways is neuroprotective in human neural stem cells against amyloid- β -induced inflammation and oxidative stress. *Neurochemistry International* 115: 1-10.
- Dias GP, Cocks G, Bevilacqua MC i in. (2016) Resveratrol: A Potential Hippocampal Plasticity Enhancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. DOI: 10.1155/2016/9651236.
- Donmez G, Outeiro T (2013) SIRT1 and SIRT2: emerging target in neurodegeneration. *Molecular Medicine* 5: 344-352.
- Drygalski K, Ferencik E, Koryciński K i in. (2018) Resveratrol and Alzheimer's disease. From molecular pathophysiology to clinical trials. *Experimental Gerontology* 113: 36-47.
- Jin F, Wu Q, Lu YF i in. (2008) Neuroprotective effect of resveratrol on 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. *European Journal of Pharmacology* 600: 78-82.
- Kopeć A, Piątkowska E, Leszczyńska T i in. (2011) Prozdrowotne właściwości resweratrolu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 5(78): 5-15.
- Kucińska M, Piotrowska H, Murias M (2010) Sirtuiny – modulacja aktywności jako nowy cel terapeutyczny. *Polski Merkuriusz Lekarski* 165: 231-235.
- Poulose SM, Thangthaeng N, Miller MG i in. (2015) Effects of pterostilbene and resveratrol on brain and behavior. *Neurochemistry International* 89: 227-233.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM i in. (2012) *Choroby neurodegeneracyjne*. W: *Farmakologia*, Elsevier Urban & Partner, 491-506.
- Richard T, Pawlus AD, Iglésias ML i in. (2011) Neuroprotective properties of resveratrol and derivatives. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1215: 103-108.
- Riviere C, Delaunay JC, Immel F i in. (2009) The polyphenol piceid destabilizes preformed amyloid fibrils and oligomers in vitro: hypothesis on possible molecular mechanisms. *Neurochemical Research* 34: 1120-1128.
- Rodgers JT, Lerin C, Haas W i in. (2005) Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature* 434: 113-118.
- Sun AY, Wang Q, Simonyi A i in. (2010) Resveratrol as a Therapeutic Agent for Neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology* 41: 375-383.
- Tellone E, Galtieri A, Russo A i in. (2015) Resveratrol: A Focus on Several Neurodegenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. DOI: 10.1155/2015/392169.
- Wiercińska M, Rosołowska – Huszcz D (2017) Naturalne i syntetyczne modulatory aktywności sirtuin. *Kosmos. Problemy nauk biologicznych*. 316: 365-377.

22. Działania niepożądane doustnych środków antykoncepcyjnych

Side effects of oral contraceptive agents

Rafał Ziemiński⁽¹⁾, Patrycja Gierszon⁽²⁾, Kamil Szpiech⁽³⁾, Marcin Zaniuk⁽³⁾, Michał Piwoński⁽³⁾, Tomasz Gęca⁽¹⁾, Anna Kwaśniewska⁽¹⁾

⁽¹⁾Katedra i Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży, I Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾Zakład Psychologii Stosowanej, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽³⁾Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Psychologii Stosowanej, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Opiekun naukowy: prof. dr hab. n. med. Anna Kwaśniewska

Rafał Ziemiński: rafal.zieminiski@gmail.com

Słowa kluczowe: tabletki antykoncepcyjne, ryzyko i korzyści, efekty uboczne, regulacja urodzeń

Streszczenie

Poszukiwanie bezpiecznych i skutecznych metod regulacji płodności jest ważnym elementem rozwoju nowoczesnej medycyny, trwającym już niemalże od stu pięćdziesięciu lat. Współcześnie za najskuteczniejsze metody zapobiegania poczęciom uważane są środki hormonalne, a z nich najpopularniejsze są doustne tabletki antykoncepcyjne. Jednakże mimo szerokiego zastosowania, rosnącej świadomości społecznej i wielu korzyści pozaantykonceptyjnych, doustna antykoncepcja wciąż budzi emocje i obawy, najczęściej dotyczące możliwych działań niepożądanych i ewentualnego niekorzystnego wpływu na zdrowie. Jako najczęstsze potencjalne dolegliwości związane ze stosowaniem antykoncepcji wymieniane są plamienia z dróg rodnych, zaburzenia nastroju i przyrost masy ciała. Nierzadko mówi się także o zwiększonym ryzyku chorób sercowo-naczyniowych, żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, a także niektórych chorób nowotworowych. W poniższej pracy opierającej się na przeglądzie literatury przyjrzelśmy się najnowszym badaniom dotyczącym najczęstszych skutków ubocznych i podjęliśmy próbę obalenia niektórych mitów, które przez lata narosły wokół doustnych środków antykoncepcyjnych.

1. Wstęp

Problem regulacji urodzeń zawsze był bardzo istotnym czynnikiem wpływającym na jakość życia społeczeństw, jednak we współczesnym świecie pojawiło się wiele nowych zjawisk, które czynią ten problem jeszcze bardziej aktualnym - wcześniejszy wiek inicjacji seksualnej, wzrost częstości występowania ciąży u nastolatek czy swoboda obyczajowa związana z częstszym podejmowaniem przygodnych kontaktów seksualnych. Ponadto ze względu na wzrastające ryzyko przeludnienia ograniczenie płodności wydaje się być niezbędne (Pawelczyk i in. 2015). Tymczasem mimo szerokiej dostępności metod zapobiegania poczęciom i coraz większej otwartości kobiet na ich stosowanie, w społeczeństwie Polskim istnieje wiele obaw i mitów dotyczących szkodliwości antykoncepcji dla zdrowia. W poniższym opracowaniu postaramy się podsumować współczesną wiedzę na temat antykoncepcji hormonalnej, omówić najczęstsze możliwe działania niepożądane, a także przedstawić korzyści zdrowotne wynikające z jej stosowania. Podczas przeglądu literatury opieraliśmy się na bazie danych Uptodate, a także pracach dostępnych w wyszukiwarce PubMed.

2. Opis zagadnienia

2.1 Rys historyczny

Historia antykoncepcji w medycynie jest niedługa, ale burzliwa. Lekarze, poddawani przez wieki dyktatowi tradycyjnej moralności, nie mieli chęci lub odwagi sprzeciwić się głosowi Kościoła katolickiego, który nauczał, że jakakolwiek ingerencja w płodność kobiety i próba jej ograniczenia

jest ciężkim grzechem. Za prekursora antykoncepcji uważa się doktora Wilhelma Mensingę, pracującego we Flensburgu, a jego działalność wynikała z głęboko humanistycznych pobudek. W epoce, w której niedostępne były skuteczne metody zapobiegania poczęciom, a na dodatek próby ich stosowania uważane były za głęboko niemoralne, lekarz ten stykał się na co dzień z kobietami żyjącymi w skrajnym ubóstwie. Pacjentki te wydawane były wcześniej za mąż i już w młodym wieku wyczerpane były wielokrotnymi i nierzadko ciężkimi porodami, co poważnie uszkadzało ich zdrowie, doprowadzało je do niepełnosprawności, a nawet do śmierci. Od wieków w celach antykoncepcyjnych stosowane były ówczesne odpowiedniki współczesnych prezerwatyw, jednak Mensinga uważał, że potrzebna jest metoda, która kwestię regulacji poczęć pozostawia do decyzji kobiet, nie uzależniając zgody na ich zastosowanie od męskich kaprysów. W roku 1873 wynalazł pessarium - kapturek zakładany na szyjkę macicy (współcześnie pessary mają wiele zastosowań w ginekologii i położnictwie), który tworząc barierę między pochwą a macicą znacznie zmniejszał szansę na przedostanie się nasienia do macicy redukując w ten sposób ryzyko zapłodnienia (Thorwald 2016). Pierwsza tabletki antykoncepcyjna ukazała się na rynku dopiero w roku 1961 i była owocem wieloletniej pracy i wysiłku Johna Rocka, Gregory'ego Pincusa i Minha Changa. Trudno jednak pominąć udział w wynalazku dwóch feministek, Margaret Sanger i Katherine McCormick, które poświęciły życie uświadamianiu społecznemu, wspieraniu kobiet i namawianiu lekarzy do podjęcia prac nad stworzeniem skutecznej metody zapobiegania poczęciom (Dhont 2010). W artykule opublikowanym w 2006 roku w czasopiśmie *Annals of the New York Academy of Sciences* nowoczesne metody antykoncepcyjne nazwane zostały "więcej, niż wielkim postępem technicznym - są instrumentem prawdziwej rewolucji społecznej". Wskaźniki rozrodczości spadły z 5,1 w roku 1950 do 3,7 w roku 1990. W rezultacie liczba ludności na świecie, która w ciągu jednego stulecia potroiła się (od 1,6 miliarda do pod 6 miliardów), dziś wydaje się być pod kontrolą. Na przełomie wieków ponad sześćset milionów kobiet na świecie korzystało z antykoncepcji. Metody regulacji płodności są wciąż ulepszane, dawki hormonów są zmniejszane, syntetyzowane są nowe substancje oraz opracowywane są nowe schematy ich podawania (Benagiano i in. 2006).

2.2 Informacje podstawowe

Wg informacji podanej w rekomendacjach Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników antykoncepcja stanowi podstawowy element kontroli urodzin. Celem antykoncepcji jest niedopuszczenie do zapłodnienia lub zagnieżdżenia zapłodnionej komórki jajowej. Efekt ten osiąga się poprzez stosowanie różnych metod farmakologicznych, mechanicznych lub chirurgicznych (Karowicz-Bilińska A i in. 2014). Miarą skuteczności antykoncepcji jest Indeks Pearl, czyli liczba ciąż, która wystąpi u stu kobiet stosujących przez rok daną metodę antykoncepcji. Metoda jest zatem tym skuteczniejsza, im niższa jest wartość Indeksu Pearl (Pawelczyk L i in. 2015). W poszukiwaniu najlepszej metody regulacji urodzeń Guillebaud przedstawił kryteria idealnej metody antykoncepcji. Kryteria te obejmują przede wszystkim stuprocentowe bezpieczeństwo bez objawów niepożądanych stwarzających zagrożenie dla zdrowia i komfortu pacjentki przy zachowaniu stuprocentowej skuteczności dodatkowo niezwiązanej z aktywnością seksualną, czyli metoda ta nie może wymagać dodatkowych czynności przed podjęciem współżycia. Dodatkowo metoda ta powinna być całkowicie odwracalna, prosta do zastosowania, łatwa do odstawienia, bezpieczna nawet bez nadzoru personelu opieki zdrowotnej, dostępna, tania, a także akceptowalna przez każdą kulturę, religię, światopogląd i zapatrywania polityczne. Jak łatwo się domyślić, idealna metoda antykoncepcji nie istnieje, jednak należy poszukiwać metody spełniającej jak najwięcej tych kryteriów (Guillebaud 2017). Doustne środki antykoncepcyjne (OC - oral contraceptives) należą do grupy metod hormonalnych, których głównym mechanizmem działania jest blokowanie owulacji. Najpopularniejsze są dwuskładnikowe tabletki estrogenowo-gestagenne, jednakże działanie antykoncepcyjne jest warunkowane przez gestagen, w związku z czym jest możliwość stosowania jednoskładnikowych tabletek z samym gestagenem u pacjentek, u których przeciwwskazane jest przyjmowanie estrogenów (Pawelczyk i in. 2015). Wraz z wkładkami wewnątrzmacicznymi, implantami podskórnymi, plastrami i pierścieniami dopochwowymi należą do metod najsukcesywniejszych, o indeksie Pearl zamykającym się w przedziale 0-2,18 (Karowicz-Bilińska i in. 2014). Warto wspomnieć, że jest to metoda wymagająca dyscypliny i regularności, jednak przy odpowiednim stosowaniu należy do

najskuteczniejszych i najbezpieczniejszych u zdrowych pacjentek (Mansour 2010). U pacjentek obciążonych chorobami współistniejącymi należy ostrożnie dobierać antykoncepcję hormonalną i prowadzić ją pod ścisłym nadzorem lekarskim (Batur i in. 2016). Ponadto przed włączeniem OC należy wykonać dokładne badanie podmiotowe obejmujące wywiad rodzinny i personalny, przede wszystkim pod kątem występowania zakrzepicy, wykonać badanie przedmiotowe z badaniem ginekologicznym, USG dopochwowe, cytologię, zmierzyć ciśnienie tętnicze krwi oraz zbadać gruczoły piersiowe. Ma to na celu uniknięcie sytuacji, gdy antykoncepcja będzie maskowała uprzednio istniejące problemy zdrowotne lub objawy chorobowe weźmie się za działania niepożądane antykoncepcji i zaniedba diagnostykę (Karowicz-Bilińska i in. 2014)

2.3 Przeciwwskazania do stosowania doustnych środków antykoncepcyjnych

Opierając się na tabelach Amerykańskiego Centrum Kontroli Chorób i Prewencji w niektórych przypadkach klinicznych ryzyko związane ze stosowaniem doustnej antykoncepcji przewyższa potencjalne korzyści. Za przeciwwskazania do stosowania OC uważane są następujące sytuacje: palenie powyżej 15 papierosów dziennie przez kobiety powyżej 35 roku życia, liczne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych (palenie tytoniu, wiek, nadciśnienie tętnicze i cukrzyca), żylna choroba zakrzepowo-zatorowa, obecność trombofilii uwarunkowanych genetycznie, poważne zastawkowe wady serca, choroba niedokrwienna serca, udar mózgu w wywiadzie, rak piersi, marskość wątroby, migrena z aurą, gruczolak wątroby lub rak wątrobowokomórkowy. W takich przypadkach należy zastąpić OC wkładką wewnątrzmaciczną lub innymi metodami antykoncepcji (CDC 2017).

2.4 Najczęstsze działania niepożądane, a także korzyści wynikające ze stosowania doustnych środków antykoncepcyjnych

Spośród licznych opisywanych potencjalnych działań niepożądanych antykoncepcji hormonalnej najczęściej zwraca się uwagę na wzrost ryzyka raka piersi, a także zwiększone ryzyko incydentów zakrzepowo-zatorowych (Lockwood 2019). Wspomina się również o częstszym występowaniu epizodów sercowo-naczyniowych u kobiet stosujących OC, zwłaszcza u palaczek tytoniu (Sherif 1999). Częstym objawem, który nierzadko niepokoi pacjentki, a który występuje najczęściej w początkowych miesiącach stosowania OC są epizody plamienia, a nawet krwawienia z dróg rodnych (Hee i in 2012), a także wzdęcia, nudności i tkliwość piersi. Często wymieniane są również problemy takie, jak wzrost masy ciała, zaburzenia nastroju i zaburzenia funkcji seksualnych (Martin i in. 2019). Warto jednak również wspomnieć o potencjalnych korzyściach zdrowotnych związanych ze stosowaniem OC. Jako potencjalne korzyści wymieniane są m.in. zmniejszenie ryzyka raka jajnika, raka trzonu macicy, zapalenia narządów miednicy mniejszej i ciąży ektopowej. W pacjentek stosujących doustne środki antykoncepcyjne rzadziej występuje niedokrwistość z niedoboru żelaza, pierwotnie bolesne miesiączkowanie, czynnościowe torbiele jajnika oraz łagodne guzy sutka. Antykoncepcja może również chronić przed łagodnymi nowotworami macicy, osteoporozą i reumatoidalnym zapaleniem stawów (Grimes 1992). Ponadto opisuje się poprawę regularności cykli miesięczkowych, poprawę narządowego przepływu krwi, a także łagodzenie objawów trądziku i hirsutyzmu (Sherif 1999). OC łagodzi objawy związane z późną fazą lutealną, takie jak zespół napięcia przedmiesiączkowego i związane z nim bóle głowy (Brown i in. 2017). Poniżej przyjrzymy się temu, co najnowsze badania naukowe oparte na Evidence-Based Medicine, zebrane w bazie danych Uptodate, mówią na temat działań niepożądanych najczęściej przypisywanym doustnym środkom antykoncepcyjnym.

3. Przegląd literatury

3.1 Najczęstsze dolegliwości

Krwawienie w trakcie cyklu miesięczkowego jest najczęstszym efektem ubocznym doustnych środków antykoncepcyjnych, który jednak nie wpływa na ich skuteczność. Zaleca się niezmiennianie schematu dawkowania OC przed upływem 3 miesięcy od jego wdrożenia, gdyż dolegliwości te najczęściej ustępują samoistnie. Jeżeli tak się nie stanie, należy pogłębić diagnostykę

i wykonać USG dopochwowe, gdyż przyczyną krwawień mogą być polipy lub mięśniaki macicy (Martin i in. 2019).

Dane dotyczące wpływu antykoncepcji na zaburzenia nastroju są sprzeczne. W czterech badaniach populacyjnych przeprowadzonych w ciągu ostatnich 15 lat dwa nie wykazały żadnego związku między stosowaniem OC a nastrojem pacjentek, natomiast dwa wykazały, że antykoncepcja hormonalna redukuje objawy depresyjne. Jednakże jedno kohortowe badanie prospektywne przeprowadzone na ponad milionie pacjentek w Danii wykazało niewielki wzrost użycia leków antydepresyjnych u pacjentek stosujących OC (Skovlund i in. 2016).

Wiele kobiet i lekarzy wierzy, że tabletki antykoncepcyjne powoduje przyrost masy ciała, jednak dostępne dane wskazują, że tak nie jest. Również informacje na temat wpływu OC na seksualność kobiet są sprzeczne. Niektóre kobiety zgłaszają spadek libido, inne jego wzrost, większość z nich jednak nie zauważa wpływu antykoncepcji na tę sferę ich życia (Martin i in. 2019).

3.2 Ryzyko sercowo-naczyniowe

W początkowych latach stosowania doustnych środków antykoncepcyjnych zwracało się uwagę na wywoływane przez nie zwiększenie ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych, jednakże współcześnie to ryzyko jest znacznie zmniejszone poprzez redukcję dawek hormonów. Współcześnie ryzyko względne choroby wieńcowej przy stosowaniu OC sięga nawet 2, jednakże ze względu na niezwykle rzadkie występowanie tej choroby w grupie wiekowej, która stosuje OC, ryzyko pozostaje bardzo niskie. Wyjątkiem jest grupa pacjentek powyżej 35 roku życia palących powyżej 15 papierosów dziennie - u nich, jak wspominaliśmy wcześniej, nie należy stosować doustnych środków antykoncepcyjnych (Batur i in. 2016).

3.3 Zakrzepica żylna

Powikłania zakrzepowo-zatorowe są najczęstszym powikłaniem naczyniowym OC. Choć ryzyko jest 2-4 razy większe, niż u pacjentek nie stosujących antykoncepcji, pozostaje jednak znacznie mniejsze, niż podczas ciąży i porodu. Jest ono wprost proporcjonalne do dawki estrogenu w tabletkach, a także zależne od typu zastosowanego gestagenu. Badania ponadto ujawniają, że ryzyko ŻChZZ jest największe w pierwszym roku stosowania OC, stopniowo malejąc w czasie późniejszym. Otyłość, wiek i palenie tytoniu dodatkowo podnosi ryzyko (Martin i in. 2019).

3.4 Ryzyko nowotworów

Wpływ doustnych środków antykoncepcyjnych na epidemiologię nowotworów budzi wielkie zainteresowanie w społeczeństwie i jest jednym z najczęściej omawianych aspektów dotyczących OC. Jednak badanie kohortowe wykonane w roku 2017 przez angielskie Royal College of General Practitioners, które obejmowało 50000 kobiet obserwowanych do 44 roku życia wykazało, że tabletki antykoncepcyjne nie wywołuje ogólnego zwiększenia częstości występowania nowotworów złośliwych. Wzrost ryzyka raka piersi był stwierdzany u pacjentek, które obecnie lub niedawno stosowały OC, jednak ryzyko powracało do populacyjnego po upływie 5 lat. Natomiast warto zauważyć, że stosowanie OC łączy się ze zmniejszeniem ryzyka raka okrężnicy, jajnika i endometrium. W tych przypadkach działanie protekcyjne utrzymywało się przez co najmniej 30 lat od odstawienia tabletek. Sugerowano również powiązanie OC ze zwiększonym ryzykiem czerniaka, jednak nie znalazło to odzwierciedlenia w badaniach naukowych (Iversen i in. 2017).

Na wyróżnienie zasługuje problem wpływu antykoncepcji hormonalnej na ryzyko raka szyjki macicy. Istnieją doniesienia sugerujące zwiększenie ryzyka tego nowotworu u pacjentek stosujących OC, zwłaszcza przy współistnieniu infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV). Ryzyko wraca do populacyjnego dopiero 10 lat po odstawieniu doustnej antykoncepcji. Jako, że nie jest to nowotwór hormonozależny, trwają prace nad wyjaśnieniem tego zjawiska, pozostaje jednak ono nieznane. Być może antykoncepcja hormonalna przyspiesza procesy neoplastyczne wywoływane przez HPV. Drugą teorią jest zjawisko częstszego podejmowania ryzykownych zachowań seksualnych prowadzących do zakażeń HPV u pacjentek, które zabezpieczone są przed niechcianą ciążą (Appleby i in. 2007).

3.5 Inne możliwe działania niepożądane

Jedną z najczęściej opisywanych dolegliwości mogących występować przy stosowaniu doustnych środków antykoncepcyjnych są bóle głowy, jednak badania wykazują, że powiązanie jest niezbyt silne. Uporczywe bóle głowy występują częściej u pacjentek, których wywiad rodzinny obciążony jest w tym kierunku. Należy jednak pamiętać, że występowanie migreny z aurą jest przeciwwskazaniem do stosowania OC, ponieważ ze względu na działanie na naczynia krwionośne zwiększa się wówczas ryzyko udaru niedokrwiennego mózgu.

Ze względu na znaczny wzrost ryzyka żyłnej choroby zakrzepowo zatorowej w połogu zaleca się stosowanie w tym okresie tabletki jednoskładnikowej, bez komponentu estrogenowego (CDC 2017).

Estrogeny wywierają korzystny wpływ na profil lipidowy i w gospodarkę węglowodanową, natomiast progestageny działają odwrotnie, podwyższając stężenie LDL i cholesterolu całkowitego, a obniżając poziom HDL. Ponadto mogą zwiększać insulinooporność. Uważa się, że tabletki antykoncepcyjne nie zwiększają ryzyka cukrzycy, natomiast mogą powodować nieprawidłowe zmiany w profilu glikemii u pacjentek z już rozpoznaną cukrzycą. Jednakże przy wykluczeniu innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego cukrzyca sama w sobie nie jest przeciwwskazaniem do stosowania OC (Wolski 2014).

4. Podsumowanie i wnioski

Doustne środki antykoncepcyjne, mimo że wciąż budzą kontrowersje w społeczeństwie, są coraz bezpieczniejszym i coraz popularniejszym sposobem zapobiegania poczęciom. U zdrowych kobiet ich stosowanie wiąże się z pewnym ryzykiem dla zdrowia i może być przyczyną przykrych działań niepożądanych, ale powoduje również liczne korzystne skutki. Należy pamiętać o konieczności odbycia wizyty u ginekologa przed rozpoczęciem przyjmowania OC, a także o regularnych wizytach podczas ich stosowania. Pacjentki obciążone chorobami przewlekłymi, zwłaszcza sercowo-naczyniowymi, rakiem piersi, żyłną chorobą zakrzepowo zatorową, chorobami wątroby i migreną są specyficzną grupą wymagającą indywidualnego i ostrożnego postępowania i modyfikacji schematów przyjmowania antykoncepcji.

5. Literatura

- Appleby P, Beral V i in (2007) Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Lancet* 2007; 370:1609.
- Batur P, Bowersox N, McNamara M (2016) Contraception: Efficacy, Risks, Continuation Rates, and Use in High-Risk Women. *Journal of Women's Health*, 25(8), 853–856.
- Benagiano G, Bastianelli C, Farris M (2006) Contraception Today. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1092(1), 1–32.
- Brown EJ, Deshmukh P, Antell K (2017) Contraception Update: Oral Contraception. *FP Essentials* 462:11-19.
- Centers for Disease Control and Prevention (2017) Summary Chart of U.S. Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion.
- Dhont M (2010). History of oral contraception. *The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care*, 15(sup2), 12-18.
- Grimes DA (1992) The safety of oral contraceptives: epidemiologic insights from the first 30 years. *Am J Obstet Gynecol* 166, 6(2), 1950-1954.
- Guillebaud J (2017) Contraception today. *J Fam Plann Reprod Health Care* 43:167.
- Hee L, Kettner LO, Vejtorp M i in. (2012). Continuous use of oral contraceptives: an overview of effects and side-effects. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 92(2), 125–136.

- Iversen L, Sivasubramaniam S, Lee AJ i in. (2017) Lifetime cancer risk and combined oral contraceptives: The Royal College of General Practitioners' Oral Contraception Study. *Am J Obstet Gynecol* 216:580.
- Karowicz-Bilińska A, Nowak-Markwitz E, Oszukowski P i in. (2014) Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotyczące wskazań i bezpieczeństwa stosowania antykoncepcji hormonalnej oraz wewnątrzmacicznej. *Ginekologia Polska* 85, 234-239.
- Lockwood CJ (2019) Ryzyko i korzyści związane z antykoncepcją hormonalną. *Ginekologia po dyplomie* 21, 2(20), 31-35.
- Mansour D, Inki P, Gemzell-Danielsson K (2010) Efficacy of contraceptive methods: A review of the literature. *The European Journal of Contraception and Reproductive Health Care*, 15:4–16.
- Martin KA, Barbieri R (2018) Overview of the use of combined estrogen-progestin oral contraceptives. *Uptodate.com*.
- Martin KA, Douglas PS (2018) Risks and side effects associated with combined estrogen-progestin oral contraceptives. *Uptodate.com*.
- Pawelczyk L, Banaszewska B (2015) Regulacja urodzeń. Bręborowicz GH (red.) *Położnictwo i ginekologia*, ISBN 978-83-200-4998-5.
- Sherif K (1999) Benefits and risks of oral contraceptives. *Am J Obstet Gynecol* 180, 6(2), 343-348.
- Skovlund CW, Mørch LS, Kessing LV i in (2016) Association of Hormonal Contraception With Depression. *JAMA Psychiatry* 2016; 73:1154.
- Thorwald J (2016) *Pigułka antykoncepcyjna*. Ginekolog, 147-194, ISBN 978-83-65282-25-5.
- Wolski H (2014) Wybrane aspekty działań niepożądanych złożonej doustnej antykoncepcji hormonalnej. *Ginekol Pol* 85, 944-949.