

# **Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce**

## **Nauki medyczne i nauki o zdrowiu**

Część II



[www.mlodzinaukowcy.com](http://www.mlodzinaukowcy.com)

Poznań 2023

**Redakcja naukowa**

dr hab. n. med. Zbigniew Pasięka, prof. UMŁ

**Redakcja pomocnicza**

mgr inż. Karol Kłosiński

**Wydawca**

Młodzi Naukowcy

[www.mlodzinaukowcy.com](http://www.mlodzinaukowcy.com)

[wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com](mailto:wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com)

**ISBN (całość 978-83-66743-97-7)**

**ISBN (wydanie online 978-83-67991-04-9)**

**ISBN (wydanie drukowane 978-83-67991-03-2)**

Data wydania: wrzesień 2023

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**

<b>1. Dieta osób aktywnych fizycznie</b>	<b>7</b>
<i>Barwacz Joanna, Gładysz Dagmara</i>	
<b>2. Wrzodzące zapalenie jelita grubego – przegląd systematyczny</b>	<b>15</b>
<i>Barwacz Joanna, Gładysz Dagmara</i>	
<b>3. Testy behawioralne służące do oceny zaburzeń pamięci i procesów uczenia się w zwierzęcych modelach choroby Alzheimera</b>	<b>23</b>
<i>Bernard Martyna, Piekarczyk Natalia, Berezka Paweł, Majkutewicz Irena, Kaczor Jan Jacek</i>	
<b>4. Neuroprotektoryjne działanie witaminy D w chorobach neurodegeneracyjnych</b>	<b>29</b>
<i>Bernard Martyna, Piekarczyk Natalia, Berezka Paweł, Majkutewicz Irena, Kaczor Jan Jacek</i>	
<b>5. Enzymy wspomagające rozkład glutenu jako perspektywa wspomaganie diety bezglutenowej u osób z celiakią</b>	<b>35</b>
<i>Chrobak Daria, Gniadek Anna, Chilińska Oliwia</i>	
<b>6. Wiedza na temat zdrowego żywienia matek dzieci w wieku wczesnoszkolnym</b>	<b>42</b>
<i>Łukasz Długoński, Kaja Karwowska, Magdalena Skotnicka</i>	
<b>7. Wpływ diety wegetariańskiej na zachorowalność na choroby cywilizacyjne</b>	<b>51</b>
<i>Dagmara Gładysz, Joanna Barwacz</i>	
<b>8. SARS-CoV-2. Wpływ zachorowania na indukcję chorób autoimmunologicznych.</b>	<b>56</b>
<i>Dagmara Gładysz, Joanna Barwacz.</i>	
<b>9. Integralność obwodów neuronalnych i oddziaływań środowiskowych w zaburzeniach odżywiania z napadami objadania się – część II</b>	<b>61</b>
<i>Luiza Gryczka, Dominika Żywicka, Grażyna Jerzemowska</i>	
<b>10. Analiza zgodności pomiędzy tomografią komputerową tętnic wieńcowych a koronarografią w ocenie istotności zwężeń tętnic wieńcowych i czynników mogących wpływać na wskaźnik uwapnienia u pacjentów z wielonaczyniową chorobą wieńcową.</b>	<b>67</b>
<i>Kaczmarek Daria, Piekarniak Michał, Matuszewska-Brycht Oliwia, Kobierecki Mateusz, Jakuszczonek Milena</i>	
<b>11. Wpływ resweratrolu na choroby układu krążenia</b>	<b>75</b>
<i>Oliwia Weronika, Pałka Magdalena, Markowska Julia</i>	
<b>12. Zastosowanie oceny ubytku perfuzji w scyntygrafii serca w stratyfikacji zaawansowania niewydolności serca i choroby wieńcowej</b>	<b>82</b>
<i>Piekarniak Michał, Kaczmarek Daria</i>	
<b>13. Rola kwasów tłuszczowych w oddziaływaniu glipizydu z albuminą surowicy krwi w stanach hiperglikemii</b>	<b>89</b>
<i>Szkudlarek Agnieszka</i>	



Przedmowa

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

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

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

*Redakcja*



## **1. Dieta osób aktywnych fizycznie**

The diet of physically active people

Barwacz Joanna, Gładysz Dagmara

Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

Promotor: dr Barbara Piekło

Barwacz Joanna: joannabarwacz@gmail.com

Słowa kluczowe: żywienie w sporcie, wzorzec odżywiania, makroskładniki

### **Streszczenie**

Zasady zdrowego żywienia osób aktywnych oraz osób niepodejmujących codziennej aktywności fizycznej opierają się na bardzo podobnych fundamentach. Dieta powinna być odpowiednio zbilansowana, zawierać niezbędną ilość makro- i mikroskładników, składać się z produktów nieprzetworzonych i być dopasowana do celu konkretnej jednostki. Powinno się także zwracać uwagę na poziom i rodzaj wykonywanej aktywności fizycznej, która determinuje zapotrzebowanie kaloryczne. Liczne badania potwierdziły pozytywny wpływ białek na budowanie masy mięśniowej, zwiększania wydajności fizycznej i wspomagania regeneracji organizmu po wysiłku. Węglowodany natomiast stanowią kluczowy substrat energetyczny dla organizmu człowieka. Dostarczają energii dla mózgu, rdzenia nerwowego oraz erytrocytów, są też źródłem wykorzystywanym przez tkankę mięśniową, wątrobę, serce, nerki oraz jelita. Tłuszcze wspierają m.in. działanie systemu nerwowego, obniżają poziom cholesterolu, wspomagają prawidłowe funkcjonowanie układu krwionośnego. Chronią narządy wewnętrzne przed uszkodzeniem oraz uczestniczą w procesie przyswajania witamin A, D, E, K. Do osiągnięcia zamierzonych celów treningowych niezbędna jest prawidłowo zbilansowana dieta oraz suplementacja, aby zaspokoić zapotrzebowanie energetyczne sportowców i zapobiec niedoborom, co przełożyłoby się na gorsze efekty.

### **1. Wstęp**

W ostatnich latach w Polsce znacznie wzrosła świadomość dotycząca zdrowego odżywiania jak i aktywności fizycznej. Sportowcy powinni być świadomi swoich codziennych potrzeb żywieniowych, a ich dieta ulegać modyfikacjom w porównaniu do diety osób, które aktywności fizycznej nie podejmują. Należy pamiętać o odpowiedniej podaży makro-, mikroskładników oraz płynów, które zapewnią optymalny poziom energii dla uprawianej aktywności. Podstawą diety jest obliczenie zapotrzebowania kalorycznego, które będzie odpowiednie dla zaplanowanego celu, a także podział na poszczególne makroskładniki tj. białka, tłuszcze i węglowodany, dopasowany do każdego indywidualnie i zależny od wielu czynników. Mikroelementy biorą udział w produkcji energii, funkcjach immunologicznych czy zapobieganiu uszkodzeniom oksydacyjnym. Wspomagają procesy regeneracji mięśni i tkanek po ćwiczeniach czy urazach. Zrównoważenie spożycia energii z jego wydatkowaniem jest niezbędne dla zapobiegania deficytowi bądź nadmiarowi energii. Ważnym aspektem jest również żywienie okołotreningowe umożliwiające uzupełnianie zapasów glikogenu i prawidłową regenerację.

Celem niniejszej pracy przeglądowej była analiza oraz omówienie poszczególnych zasad prawidłowego żywienia jak i suplementacji osób aktywnych fizycznie.

### **2. Znaczenie odżywiania w sporcie**

Głównym czynnikiem wpływającym na zdrowie człowieka jest odpowiedni sposób odżywiania. Niezwykle ważnym aspektem jest dostarczanie każdego dnia odpowiedniej ilości witamin i minerałów w postaci różnorodnych grup produktów żywnościowych aby zapobiegać powstawaniu niedoborów. Czynniki, które należy brać pod uwagę podczas planowania diety to: tryb życia, wiek, stan zdrowia czy aktywność fizyczna. (Panasiewicz i Grochowicz 2016) Odżywianie

osób aktywnych fizycznie wymaga większej ilości modyfikacji i różni się od żywienia innych grup ludności. (Bean 2005) Różnice dotyczą głównie wartości energetycznej i różnorodności składników pokarmowych. Wynika to zwłaszcza z powodu zwiększonej przemiany materii, wzrostu tempa przemian biochemicznych czy wzmoczonej wymiany gazowej. (Cordain i Friel 2010) Dobrze skomponowana dieta powinna zawierać: 60% węglowodanów, 15% białka oraz 25% tłuszczu. W sportach wytrzymałościowo-siłowych tłuszcz jest niepotrzebny jako źródło energii, ponieważ czas uzyskania energii przy obciążeniu jest bardzo długi. Podczas treningów energia jest uzyskiwana głównie z węglowodanów. (Bieńczyk 2015)

Różnice zapotrzebowania energetycznego dla poszczególnych czynności kształtują się następująco (średnie zużycie kalorii w ciągu godziny przez osobę o wadze 75 kg): aerobik 808 kcal, jogging (10 km/h) 720 kcal, ćwiczenia siłowe (kulturystyka) 600 kcal, jazda na rowerze (20 km/h) 400 kcal, pływanie (2 km/h) 680. kcal (Bieńczyk 2015)

Dieta osób aktywnych fizycznie powinna zawierać:

- a) źródła białek, do których zaliczamy m. in. mięso, ryby, owoce morza, sery, twaróg, jaja, nasiona roślin strączkowych, orzechy i pestki, a w mniejszym stopniu produkty zbożowe;
- b) źródła węglowodanów, zaliczamy do nich m. in. pieczywo, płatki owsiane, otręby, ryż brązowy, grube kasze, razowy makaron, warzywa tj. groch, fasola, bób, soja, soczewica;
- c) źródła tłuszczów, do których zaliczamy m.in. oliwę, olej rzepakowy, olej słonecznikowy, masło, smalec.

### 3. Z czego powinna składać się dieta?

Aby wszystkie procesy fizjologiczne w organizmie człowieka zachodziły prawidłowo należy m.in. dostarczyć niezbędną ilość energii. Składnikami pokarmowymi stanowiącymi źródło energii są białka, węglowodany i tłuszcze. W opracowaniu planu dietetycznego jednym z ważniejszych aspektów jest określenie wartości CPM, czyli całkowitej przemiany materii. Na CPM składa się PPM, czyli podstawowa przemiana materii, jednak aby ustalić jej wartość należy podać należną masę ciała. W tym celu stosuje się wzory:

$$W = (H - 100) - (H - 100)/20 \quad \text{DLA KOBIET}$$
$$W = (H - 100) - (H - 100)/10 \quad \text{DLA MĘŻCZYŹN}$$

Gdzie:

W – należna masa ciała (kg), H – wysokość ciała (cm)  
(Gołąb i Chrzanowska 2007; Ryguła i in. 2007)

Kierowanie się powyższymi wzorami może okazać się jednak mało precyzyjne w przypadku osób trenujących dlatego, że osoby aktywne mają bardziej rozbudowaną tkankę mięśniową i prawidłowy poziom tkanki tłuszczowej. W tej sytuacji nie należy ustalać należnej masy ciała na podstawie równania, lecz do dalszych obliczeń należy przyjąć aktualną masę ciała.

$$PPM \left( \frac{kcal}{dobę} \right) = 655 + 9,6 * W + 1,8 * H - 4,7 * A \quad \text{DLA KOBIET}$$

$$PPM \left( \frac{kcal}{dobę} \right) = 66,4 + 13,7 * W + 6,0 * H - 6,8 * A \quad \text{DLA MĘŻCZYŹN}$$

Gdzie:

W – należna masa ciała (kg), H – wysokość ciała (cm), A – wiek (lata)  
(Ryguła i in. 2007)

CPM można obliczyć posiadając dodatkowo wartość współczynnika aktywności fizycznej (PAL) wg wzoru:

$$CPM = PPM * PAL$$



Wartość PAL zależy od trybu życia i wynosi:

1,4 – 1,69 dla mało aktywnego trybu

1,7 – 1,99 dla umiarkowanego trybu

2,0 – 2,4 dla bardzo aktywnego trybu

### 3.1 Białka

Źródło białka dla człowieka stanowi pożywienie. Badania podają, że 40-60% tego składnika dostarczają produkty zwierzęce: mięsa, wędliny, drób, ryby, mleko, sery, jaja, natomiast resztę stanowią białka roślinne: z produktów zbożowych, ziemniaków, warzyw i owoców.

O wartości odżywczej białek decyduje zawartość w nich egzogennych aminokwasów i ich wzajemne proporcje. W 1965 roku Komitet Ekspertów FAO/WHO przyjął albuminę jaja kurzego za białko wzorcowe – pełnowartościowe, które może posłużyć do porównywania wartości biologicznych różnych białek. Im większa wartość odżywcza białek, tym lepsze jego wykorzystanie.

Porównując białka z różnych produktów do białka wzorcowego można dokonać podziału na:

- a) białka o dużej wartości biologicznej, są to białka pełnowartościowe, należą do nich białko jaja kurzego, mleko krowie, białko mleka, sery, mięs zwierząt, drób, ryby;
- b) białka o małej wartości biologicznej, niepełnowartościowe, należą do nich białka roślinne: zbóż, warzyw, ziemniaków. (Ciborowska i Rudnicka 2014)

Zawartość białka w 100 gramach produktu:

- mleko 1%: 3,4g,
- ser żółty: 25g,
- mozzarella: 28g,
- jajko gotowane: 13g,
- białko surowe: 11g,
- kurczak: 11g,
- indyk: 29g,
- łosoś: 20g,
- tuńczyk: 30g,
- fasola: 7g,
- soja: 36g.

Zalecane dzienne spożycie (RDA) dla białka to ilość ustalona na podstawie bilansu azotu (fizjologiczna), potrzebna do zaspokojenia podstawowych potrzeb żywieniowych (życiowych na ten składnik). Dla osób dorosłych wynosi 0,9 g/kg masy ciała/dobę, a osobom powyżej 65 r. ż. obecnie zaleca się spożywanie białka co najmniej w ilości 1g/kg masy ciała i zwiększenie spożycia w obecności objawów niedożywienia lub chorób przewlekłych do co najmniej 1,2 g/kg masy ciała. U osób o zwiększonej aktywności fizycznej zaleca się 1,4-2 g/kg masy ciała/dobę.

### 3.2 Tłuszcze

Nazwa lipidy pochodzi od słowa greckiego *lipos* – tłuszcz. Jest to grupa związków organicznych o różnorodnej budowie, ale łączy je jedna wspólna cecha – są one nierozpuszczalne w wodzie. W organizmie pełnią rolę materiału energetycznego, dodatkowo są podstawowym rozpuszczalnikiem dla biologicznie ważnych związków nierozpuszczalnych w wodzie np. niektórych witamin.

Tłuszcze stanowią 10-15% masy ciała mężczyzn i 15-25% ciała u kobiet i występują jako tłuszcz podskórny oraz narządowy. Tłuszcz podskórny składa się głównie z glicerydów prostych, a w tłuszczu narządowym oprócz glicerydów prostych znajdują się także fosfolipidy, glikolipidy, cholesterol.

Tłuszcze m. in. dostarczają niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, są źródłem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, D, E, K), pełnią rolę strukturalną, decydują o właściwościach błony komórkowej, wchodzi w skład płynów ustrojowych, są prekursorami syntezy hormonów steroidowych. (Ciborowska i Rudnicka 2014)

Obecnie zaleca się, aby całkowite zapotrzebowanie na tłuszcz wynosiło 20-35% całkowitej podaży energii. Kobiety powinny spożywać niewiele więcej tłuszczu niż mężczyźni, czyli ok. 25-35%. Trzeba jednak kontrolować ilość spożywanych kwasów tłuszczowych, ponieważ zbyt wysokie spożycie może prowadzić do wzrostu tłuszczowej masy ciała (Rys. 1).

Źródła tłuszczów

pestki
nasiona
orzechy
tłuste ryby morskie
oleje roślinne
masło
smalec
tłuste mięso
nabiał
olej kokosowy i palmowy

**Rys. 1.** W tabeli przedstawione są produkty będące źródłem tłuszczów w diecie.

3.3 Węglowodany

Węglowodany to związki organiczne zwane cukrami, zbudowane są z węgla, wodoru i tlenu. Ze względu na wielkość cząsteczki dzielimy je na:

- cukry proste: monosacharydy
- węglowodany złożone:
  - a) oligosacharydy
  - b) polisacharydy

Węglowodany są głównym źródłem energii dla organizmu ludzkiego. Pod postacią glukozy utleniają się do CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O, w wyniku czego powstaje energia wykorzystywana w miarę potrzeb organizmu. W codziennym pożywieniu dostarczają 50-70% energii. Ze spalania 1g węglowodanów uzyskuje się 4 kcal. W organizmie człowieka magazynowane są w niewielkich ilościach (350-450 g), a ich zapas wystarcza zaledwie na 12 godzin przy zapotrzebowaniu 2800 kcal. Węglowodany występują głównie pod postacią glikogenu w wątrobie, w mięśniach, nerkach, w niewielkiej ilości w postaci glukozy, w surowicy krwi. Przy niedostatecznej ilości węglowodanów w pożywieniu organizm syntetyzuje glukozę z białek – jest to proces glukoneogenezy.

Według najnowszych zaleceń, węglowodany powinny dostarczać 50-70% dobowego zapotrzebowania na energię, w tym cukry (mono- i disacharydy) 10-20%, a cukry dodane – nie więcej niż 10%. Minimalna ilość węglowodanów przyswajalnych w dziennej racji pokarmowej młodzieży i dorosłych wynosi 130 g/dobę. Węglowodany powinny być spożywane głównie w postaci skrobi, występującej w produktach zbożowych, ziemniakach, nasionach roślin strączkowych. (Tab. 1)

**Tab. 1.** Przykładowe źródła węglowodanów w diecie (Ciborowska i Rudnicka 2014).

Produkt	Węglowodany ogółem (g)	Błonnik pokarmowy (g)
<b>Produkty zbożowe:</b>		
Chleb graham	48,7	6,4
Chleb pszenny	54,3	2,7
Chleb żytni razowy	51,2	8,4
Chleb żytni jasny	57,4	4,1
Chleb pumpernikiel	58,2	9,4
Chleb chrupki	78,9	6,0
Bułki pszenne zwykłe	57,7	1,8

**Tab. 1. c.d.** Przykładowe źródła węglowodanów w diecie (Ciborowska i Rudnicka 2014).

Produkt	Węglowodany ogółem (g)	Błonnik pokarmowy (g)
Bulki i rogalce maślane	61,0	1,8
Mąka pszenna, typ 500	74,0	2,3
Makaron dwujajeczny	76,8	2,6
Kasza gryczana	69,3	5,9
Kasza jęczmienna, pęczak	74,9	5,4
Kasza manna	76,7	2,5
Płatki kukurydziane	83,6	6,6
Płatki owsiane	69,3	6,9
Ryż biały	78,9	2,4
Otręby pszenne	61,9	42,4
Zarodki pszenne	45,5	14,0
<b>Warzywa:</b>		
Boćwina	5,5	4,4
Bób	14,0	5,8
Brukselka	8,7	5,4
Burak	9,5	2,2
Cebula	6,9	1,7
Cykoria	4,1	1,0
Dynia	7,7	2,8
Fasolka szparagowa	7,6	3,9
Fasola biała, nasiona suche	61,6	15,7
Groch, nasiona suche	60,2	15,0
Groszek zielony	17,0	6,0
Kalafior	5,0	2,4
Kalarepa	6,5	2,2
Kapusta biała	7,4	2,5
Kapusta kwaszona	3,4	2,1
Kapusta czerwona	6,7	2,5
Kapusta włoska	7,8	2,6
Marchew	8,7	3,6
Ogórek	2,9	0,5
Ogórek kwaszony	1,9	0,5
Papryka czerwona	6,6	2,0
Pietruszka, korzeń	10,5	4,9
Pietruszka, liście	9,0	4,2
Pomidor	3,6	1,2
Por	5,7	2,7
Rabarbar	4,6	3,2
Rzodkiewka	4,4	2,5
Salata	2,9	1,4
Seler korzeniowy	7,7	4,9
Soja, nasiona suche	32,7	15,7
Szczaw	4,9	2,6
Szczypiorek	3,9	2,5
Szpinak	3,0	2,6
Ziemniaki	18,3	1,5
Pieczarki świeże	2,6	2,0
<b>Owoce i przetwory owocowe:</b>		
Agrest	11,8	3,0
Brzoskwinia	11,9	1,9
Cytryna	9,5	2,0
Czarne jagody	12,2	3,2
Czereśnie	14,6	1,3
Grejpfrut	9,8	1,9
Gruszka	14,4	2,1
Jabłko	12,1	2,0
Maliny	12,0	6,7
Morele	11,9	1,7
Pomarańcze	11,3	1,9
Porzeczki białe	13,1	6,4

**Tab. 1. c.d.** Przykładowe źródła węglowodanów w diecie (Ciborowska i Rudnicka 2014).

Produkt	Węglowodany ogółem (g)	Błonnik pokarmowy (g)
Porzeczki czarne	14,9	7,9
Porzeczki czerwone	13,8	7,7
Poziomki	8,3	2,0
Rodzynki, suszone	71,2	6,5
Śliwki	11,7	1,6
Śliwki suszone	68,9	9,4
Truskawki	7,2	1,8
Winogrona	17,6	1,5
Wiśnie	10,9	1,0
Orzechy laskowe	14,9	8,9
Orzechy włoskie	18,0	6,5
Dżem wiśniowy wysokosłodzony	61,7	0,5
Powidła śliwkowe	53,0	1,8
Syrop truskawkowy	65,0	0,4
<b>Cukier i słodycze:</b>		
Cukier	99,8	0,0
Czekolada deserowa	64,0	1,4
Miód pszczeli	79,5	0,0

#### 4. Żywność funkcjonalna

Ważną rolę w odżywianiu się osób aktywnych, uprawiających sport zarówno rekreacyjny jak i wyczynowy, odgrywa żywność funkcjonalna. Koncepcja tej żywności wywodzi się z tradycji filozoficznej Wschodu, gdzie nie ma wyraźnej różnicy pomiędzy lekami a pożywieniem.

Żywność funkcjonalna to specjalnie opracowane produkty spożywcze wykazujące pozytywny wpływ na zdrowie, większy niż ten, który wynika z obecności w żywności składników spożywczych uważanych tradycyjnie za niezbędne. Żywność ta zawiera dodatkowo związki biologicznie czynne, które korzystnie oddziałują na zdrowie, rozwój fizyczny i samopoczucie.

Wyróżnić można cztery podstawowe kierunki oddziaływania żywności funkcjonalnej na poprawę komfortu życia konsumentów:

- bezpośredni – hamuje zmiany degeneracyjne ustroju bądź działanie lecznicze w przebiegu niektórych schorzeń;
- zwiększa podaż składników odżywczych w stanach fizjologicznych (zwiększonego zapotrzebowania tj. intensywny wzrost, ciąża, sport);
- komponowanie diety w specyficznych stanach chorobowych;
- poprawa nastroju i zwiększenie wydolności organizmu.

Żywność osób aktywnych stanowi szczególną grupę, która pokrywa zwiększone zapotrzebowanie tych osób. Niezbędne jest stosowanie specjalnie zaprojektowanych produktów spożywczych, o małej objętości, dużej koncentracji składników pokarmowych, szybko wchłanianych i lekkostrawnych, odpowiednich dla zwiększonych potrzeb. Żywność konwencjonalna u takich osób wymagałaby spożycia bardzo dużych ilości pożywienia, co powodowałoby obciążenie układu pokarmowego, wydłużenie czasu trawienia czy obniżenie wydolności. Niewystarczające spożycie natomiast powodowałoby niedobory żywieniowe, pogorszenie wydolności fizycznej i ogólnego stanu zdrowia.

Suplementacja diety przynosi wiele cennych korzyści:

- dietę można uzupełniać o jeden specyficzny składnik bądź kilka wybranych, w zależności od potrzeb;
- suplementacją można zastępować posiłki przy bardzo wysokim dziennym zapotrzebowaniu energetycznym, połączonym z brakiem czasu i szybko narastającymi po sobie jednostkami treningowymi;
- suplementy są praktyczne i mają wszechstronne zastosowanie;
- bez konieczności zmiany objętości pokarmu można zwiększyć stężenie składników odżywczych;

- suplementy pomagają na zaspokojenie potrzeb organizmu podczas podróży, gdy sportowiec nie ma możliwości oceny jakości i składu pożywienia (Bieńczyk 2015).

## **5. Trening rekreacyjny a dieta**

Można wyróżnić konkretne zalecenia dietetyczne dotyczące treningu rekreacyjnego:

- a) przed treningiem zwiększa się zapasy glikogenu poprzez spożywanie posiłków węglowodanowych np. makaron, ziemniaki, ryż, owoce;
- b) należy unikać ciężkostrawnych pokarmów bogatych w błonnik tj. fasola, groch, kapusta, kalafior, brokuły;
- c) podczas treningu zwiększa się zużycie wody, dlatego trzeba dbać o odpowiednie nawodnienie;
- d) po treningu w ciągu dwóch pierwszych godzin należy spożyć węglowodany łatwo przyswajalne, najlepiej żeby były to napoje energetyczne (węglowodanowe, węglowodanowo-białkowe);
- e) jeżeli celem jest budowanie masy mięśniowej, zaleca się spożywanie preparatów białkowych;
- f) po powrocie z treningu należy przyjąć porcję białka (gotowane mięso drobiowe, chude mięso wołowe, ryby) aby przyspieszyć proces odbudowy komórek mięśniowych.

Ponadto dzienny plan żywieniowy obejmuje:

- a) właściwy rozkład węglowodanów w ciągu dnia – największe spożycie węglowodanów na śniadanie i po treningu;
- b) kolacja bez węglowodanów – ze względu na spadek tempa przemiany materii;
- c) duża ilość ryb morskich i błonnika – ryby bogate są w omega-3, których obecność zwiększa wrażliwość mięśni na działanie insuliny, dzięki czemu poprawia ich jakość;
- d) ograniczenie tłuszczów w diecie;
- e) ćwiczenia aerobowe – najlepiej przeprowadzone rano, przed śniadaniem;
- f) suplementy – najważniejsze jest uzupełnianie minerałów i witamin, ponieważ są katalizatorami reakcji biochemicznych w ciele człowieka.

## **6. Trening wytrzymałościowy**

W przypadku treningu wytrzymałościowego zasady nieco się różnią:

- a) zwiększenie ilości węglowodanów – dzięki temu uzupełnione zostają zasoby węglowodanów (dobre źródła: makaron, ryż, musli, pieczywo pełnoziarniste);
- b) aminokwasy – wspomagają wydolność fizyczną w treningu wytrzymałościowym, a spożywając produkty bogate w białka trzeba zwracać uwagę na ich wartość biologiczną (leucyna, izoleucyna, walina są najważniejszymi aminokwasami do regeneracji, które należy dostarczyć z pokarmem);
- c) odpowiednia ilość płynów.

## **7. Suplementacja**

Zanim wprowadzi się suplementację u danego sportowca, zawsze należy wykonać analizę sposobu żywienia. Z racji różnic w stanie zdrowia, rodzaju uprawianego sportu czy cyklu treningowego, u każdego sportowca skład suplementacji będzie inny. Należy pamiętać, że stosowanie suplementów nie zrekompensuje złych nawyków żywieniowych czy nieodpowiedniej diety. W przypadku sportowców zawodowych obowiązkowe jest stosowanie strategii żywienia sportowego, która wspiera wydajność psychiczną i fizyczną.

Suplementy dla sportowców podzielić można na cztery grupy – A, B, C, D (klasyfikacja AIS – Australijski Instytut Sportu). Klasyfikacja ta cały czas jest aktualizowana ze względu na pojawiające się coraz to nowe doniesienia.

Grupa A zawiera suplementy i potencjalne składniki żywieniowe, których efektywność i bezpieczeństwo zostały dowiedzione. Grupa ta podzielona została na 3 subkategorie: żywność

przeznaczoną dla sportowców tj. napoje, żele, słodczyce, elektrolity, suplementy zawierające składniki odżywcze tj. żelazo, wapń, witamina D; suplementy mające poprawiać zdolności wysiłkowe tj. kofeina, beta-alanina, kreatyna.

Grupa B obejmuje suplementy, których działanie nie zostało dostatecznie potwierdzone naukowo, zatem istnieje potrzeba kolejnych badań, aby stwierdzić ich przydatność. Do suplementów tych zalicza się: żywność/ekstrakty bogate w polifenole, witamina C, N-acetylocysteina, mentol, chinina, kurkumina czy karnityna.

Do grupy C należą suplementy, których skuteczności nie potwierdzono badaniami naukowymi bądź też nie przeprowadzono badań określających ich wpływ na wydolność i wyniki sportowe. Zaliczamy do tej grupy: magnez, kwas 3-hydroksy-3-metylomasłowy (HMB), aminokwasy BCAA (leucyna, izoleucyna, walina), prebiotyki, witamina E i in.

Grupa D to zabronione u sportowców suplementy diety lub narażone na zafałszowanie substancjami, które mogłyby prowadzić do pozytywnego wyniku testu antydopingowego. Należą do nich: prohormony, stymulanty, modulatory hormonów i metabolizmu, peptydy uwalniające hormon wzrostu i in. (Siodłak i in. 2022)

## **8. Podsumowanie**

Dla osiągnięcia zamierzonych celów niezwykle ważna jest zbilansowana dieta dopasowana indywidualnie do każdego sportowca. Oprócz zdrowych, zbilansowanych posiłków, do diety sportowca niekiedy warto włączyć suplementy. Dotyczy to zwłaszcza osób intensywnie trenujących, u których zapotrzebowanie na poszczególne składniki odżywcze może być wyższe.

Wśród osób aktywnych fizycznie dużą popularnością cieszą się między innymi preparaty o wysokiej zawartości białka. W diecie sportowca nie powinno zabraknąć przede wszystkim węglowodanów, wysokiej jakości białka oraz zdrowych tłuszczów – oczywiście w odpowiednich proporcjach. Przy komponowaniu jadłospisu ważne jest także uwzględnienie zwiększonego zapotrzebowania na energię.

## **9. Literatura**

- Bean A (2005) Żywnienie w sporcie, tłum. E. Wojtczak, Zysk i S-ka, Poznań.
- Bieńczyk G (2015) Specyfika żywienia, żywności i napojów w sporcie, rekreacji i turystyce, s. 114.
- Ciborowska H, Rudnicka A (2014) Dietetyka. Żywnienie zdrowego i chorego człowieka. PZWL
- Chrzanowska M, Gołąb S (2007) Dziecko krakowskie 2000 (sprawność fizyczna i postawa ciała dzieci i młodzieży miasta Krakowa).
- Cordain L, Friel J (2010) Dieta dla aktywnych, Buk Rower, Warszawa.
- Panasiewicz M, Grochowicz J (2016) Ocena sposobu odżywiania i aktywności fizycznej w uprawianiu kulturystyki.
- Siodłak D, Pokajewicz K, Biernat P i in. (2022). Suplementy diety dla sportowców w aspekcie przepisów antydopingowych. In *Annales Academiae Medicae Silesiensis* (No. 76, pp. 152-160). <https://ncez.pzh.gov.pl/abc-zywienia/jakie-jest-dzienne-zapotrzebowanie-na-bialko/>  
<https://ncez.pzh.gov.pl/abc-zywienia/tluszcz-w-diecie-sportowca/>

## **2. Wrzodzące zapalenie jelita grubego – przegląd systematyczny**

Colitis Ulcerosa – a systematic review.

Barwacz Joanna, Gładysz Dagmara

Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

Opiekun naukowy: dr Barbara Piekło

Barwacz Joanna: joannabarwacz@gmail.com

Słowa kluczowe: choroby przewodu pokarmowego, nieswoiste choroby zapalne jelit, aminosalicylany

### **Streszczenie**

Wrzodzące zapalenie jelita grubego (WZJG) to choroba należąca do grupy nieswoistych chorób zapalnych jelit. Znacząco obniża jakość życia chorych, objawia się krwistymi biegunkami czy bólami brzucha. Etiopatogeneza nie została do końca poznana ale upatruje się przyczyny w zjawiskach immunologicznych, czynnikach środowiskowych czy genetycznych. Diagnostyka często przysparza wielu problemów, ponieważ nie istnieje złoty standard rozpoznawania WZJG, a objawy różnią się w zależności od stopnia zaawansowania choroby. Wyróżnia się leczenie farmakologiczne i chirurgiczne, ważna jest także zmiana stylu życia i wprowadzenie odpowiedniej diety. Na każdym etapie procesu terapeutycznego należy monitorować postęp leczenia i wyniki pacjenta. Celem niniejszej pracy przeglądowej była analiza obecnie dostępnych artykułów oraz wyników badań szeroko opisujących charakterystykę wrzodzącego zapalenia jelita grubego, przyczyny powstawania tej choroby, dostępne sposoby leczenia i metody diagnostyczne.

### **1. Wstęp**

Wrzodzące zapalenie jelita grubego (WZJG) stanowi jedną z chorób należących do grupy nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ). W etiopatogenezie istotną rolę odgrywiają zaburzenia immunologiczne u osób predysponowanych genetycznie, narażonych na wpływ czynników środowiskowych. Szczyt zachorowań na WZJG przypada na 20-40 r.ż. (Eder i in. 2013) Choroby z grupy NChZJ przysparzają znacznych trudności diagnostycznych ze względu na zróżnicowany obraz i przebieg kliniczny. Warunkiem koniecznym do rozpoznania jest potwierdzenie nieswoistej choroby zapalnej jelit w badaniu endoskopowym i histopatologicznym, jednak badania laboratoryjne są pomocne we wstępnej diagnostyce. (Wojtuń i in. 2014)

Celem niniejszej pracy przeglądowej była analiza dostępnych materiałów naukowych dotyczących wrzodzącego zapalenia jelita grubego, jego epidemiologii, objawów oraz sposobów leczenia.

### **2. Epidemiologia i patogeneza**

W Europie na WZJG choruje 2,2 mln osób, częściej na tę chorobę zapadają mężczyźni. Pierwszy szczyt zachorowania przypada na 2. i 3 r.ż., a drugi na 6. dekadę życia. (Zwolińska-Wcisło 2017)

Etiologia WZJG nie została do końca poznana. Najprawdopodobniej choroba ta jest uwarunkowana przez wiele czynników i obecnych jest wiele mechanizmów, które mogą mieć udział w jej wywołaniu. Do czynników tych zaliczyć można:

- czynniki genetyczne,
- infekcje,
- czynniki środowiskowe,
- czynniki dietetyczne,
- procesy immunologiczne,
- zaburzenia metabolizmu krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w kolonocytach,
- działanie wolnych rodników.

### 2.1 Czynniki genetyczne

Istnieje predyspozycja genetyczna w rozwoju WZJG, za czym przemawia różna zapadalność na tę chorobę w różnych grupach etnicznych oraz związek z zespołami i chorobami genetycznymi. 2-4x częściej choruje rasa biała niż ciemnoskórzy. Zwiększona zachorowalność występuje u członków rodzin pacjentów, zwłaszcza u krewnych pierwszego stopnia, a także częściej chorują bliźnięta jednojajowe. Opisano częstsze występowanie allelu DR2HLA II u chorych na WZJG oraz związek wystąpienia tych alleli z obecnością przeciwciał przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ANCA). (Buchner i in. 2002)

### 2.2 Czynniki środowiskowe

Na zachorowanie na WZJG i jego przebieg wpływają: palenie tytoniu, przebyte appendektomie, leki oraz skład jelitowej flory bakteryjnej.

### 2.3 Czynniki immunologiczne

We WZJG występuje wzmożona aktywacja limfocytów T o fenotypie CD4. Dominuje aktywacja populacji Th2, odpowiedzialnej za produkcję interleukin, co skutkuje zwiększoną produkcją przeciwciał. Istotą procesu zapalnego jelit jest przewaga cytokin prozapalnych nad cytokinami przeciwzapalnymi. Reakcja skierowana przeciwko bakteriom (komensalnym) uwarunkowana jest m.in. mutacjami w genach NOD2, ATG16L1 oraz IRGM, które odpowiedzialne są za odporność wrodzoną i autofagię. W wyniku tych mutacji dochodzi do utrudnionej eliminacji bakterii, co skutkuje rozwojem przewlekłego zapalenia w ścianie jelit. (Bartnik 2007)

## 3. Obraz kliniczny

Wyróżnić można trzy postaci WZJG w zależności od rozległości zmian zapalnych:

- zapalenie odbytnicy (E1 według klasyfikacji montrealskiej); główne objawy: gwałtowne parcie na stolec, krwawienie z dolnego odcinka przewodu pokarmowego, zaparcia,
- postać lewostronną (E2, w tym przypadku zmiany sięgają od odbytnicy do zagięcia śledzionowego okrężnicy)
- postać z zajęciem całego jelita grubego (E3, zajęta jest odbytnica oraz okrężnica proksymalnie do zagięcia śledzionowego).

Coraz częściej do oceny zaawansowania choroby stosuje się zmodyfikowaną skalę Mayo, która uwzględnia zarówno kryteria kliniczne, jak i endoskopowe (Tab.1).

**Tab. 1.** W tabeli przedstawiono parametry ze zmodyfikowanej skali Mayo, na podstawie których ocenia się zaawansowanie WZJG (Eder 2013).

PUNKTACJA	0	1	2	3
Częstość wypróżnień	prawidłowa	1-2 wypróżnień na dobę powyżej normy dla danego pacjenta	3-4 wypróżnienia na dobę powyżej normy dla danego pacjenta	5 i więcej wypróżnień na dobę powyżej normy dla danego pacjenta
Krwawienie z jelita grubego	brak	Ślad krwi w mniej niż połowę wypróżnień	Krew w większości wypróżnień	Wypróżnienia głównie krwią
Endoskopowy obraz błony śluzowej jelita grubego	prawidłowy	Niewielkie zatarcie siatki naczyniowej, kruchość śluzówki	Brak siatki naczyniowej, nadżerki, znaczna kruchość śluzówki	Samoistne krwawienie, owrzodzenia
Ogólna ocena lekarska	Stan prawidłowy	Łagodne nasilenie objawów	Choroba o średniej aktywności	Ciężka postać choroby



Interpretacja:

- 0 - remisja choroby
- 1-4 – łagodna postać choroby
- 5-8 – choroba o średniej aktywności
- 9-12 – ciężki rzut

Stosuje się także klasyfikację zależną od ciężkości rzutu choroby:

- S0 – remisja kliniczna
- S1 – łagodny rzut, brak objawów ogólnych, występuje do 4 stolców na dobę
- S2 – umiarkowany rzut, miernie nasilone objawy ogólne, >4 stolców/dobę
- S3 – ciężki rzut, gorączka, powyżej 6 krwistych stolców na dobę (Klimaszewska i in. 2022; Eder i in. 2013).

Najczęstsze objawy, jakie można zaobserwować to biegunka o różnym nasileniu z domieszką krwi w kale (do 20 stolców na dobę, natomiast w przypadku zmian ograniczonych do odbytnicy rytm wypróżnień może być prawidłowy, jedynym objawem jest wówczas krwawienie), biegunki naprzemiennie z zaparciami, domieszki śluzu w stolcu i wodniste stolce. Często spotyka się osłabienie oraz utratę masy ciała. W ciężkim rzucie występuje odwodnienie, obrzęki, tachykardia, gorączka i ból brzucha, a krwawienie może doprowadzić do rozwoju niedokrwistości. Objawy potrafią być niezwykle zróżnicowane w zależności od postaci choroby.

Oprócz objawów związanych z przewodem pokarmowym, występują także dolegliwości związane z innymi układami. Są to:

- zapalenie, bóle stawów,
- wrzody błony śluzowej jamy ustnej,
- zakrzepica żył obwodowych,
- stany zapalne w okolicy oczu,
- zmiany skórne (np. rumień guzowaty) (Wejman i in. 2011).

Przebieg WZJG jest przewlekły, występuje z rzutami i remisjami, które mogą być spowodowane stresem, lekami przeciwbólowymi (szczególnie NLPZ), zakażeniami czy zmianami w sposobie odżywiania.

#### **4. Powikłania**

W populacji pediatrycznej przebieg nieswoistych chorób zapalnych jelit jest cięższy niż u osób dorosłych. Częściej u dzieci obserwuje się występowanie powikłań tj. przetoki, zwężenie światła jelit, ropnie okołoodbytnicze, dlatego też większa jest konieczność wykonywania interwencji chirurgicznych. Jednym z najistotniejszych powikłań u osób poniżej 18 r.ż. jest niedożywienie, które skutkuje opóźnieniem czy też zahamowaniem procesów wzrastania i dojrzewania płciowego (Borys-Iwanicka 2020).

#### **5. Diagnostyka**

Rozpoznanie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego powinna opierać się na: obrazie klinicznym, badaniu endoskopowym oraz badaniu histologicznym. Nie ma badania określanego złotym standardem w diagnostyce tej choroby, dlatego rozpoznanie potrafi przysparzać wielu trudności.

Zwykle rozpoznanie stawia się przy diagnostyce niedokrwistości, spadku masy ciała lub obecności krwi utajonej w stolcu. Najczęściej wykonywanym obecnie badaniem diagnostycznym jest badanie endoskopowe. Umożliwia ono ocenę światła przewodu pokarmowego bez interwencji chirurgicznej. Już podczas takiego badania istnieje możliwość wykonania i pobrania materiału do badania histopatologicznego, które również jest niezbędne do rozpoznania choroby. W ciężkim rzucie

choroby zaleca się badanie rektoskopowe, ponieważ kolonoskopia nie jest wtedy zalecana ze względu na duże ryzyko perforacji kruchej ściany jelita. W badaniu endoskopowym stwierdza się ciągłość zmian ciągnących się od odbytnicy w kierunku proksymalnym, gdzie widoczna jest granica pomiędzy zmienioną zapalnie i zdrową błoną śluzową. W fazie ciężkiej możliwe do zaobserwowania jest zaczerwienienie błony śluzowej i granulowanie z zatartym rysunkiem naczyniowym, krwawienie kontaktowe czy nadżerki. W okresie remisji błona śluzowa może wyglądać prawidłowo, natomiast w fazie gojenia – polipy zapalne, wyglądzenie hastracji, zanik siatki naczyniowej. (Wejman i in. 2011)

W badaniu mikroskopowym stwierdza się nacieki plazmocytarny w okolicy dna krypt jelitowych (występuje u 38-100% pacjentów) czy zaburzenie architektiki krypt. Nie są to natomiast cechy patognomoniczne dla WZJG, ale znacznie ułatwiają rozpoznanie. Do badania należy pobrać wycinki z pięciu części jelita grubego, a u niektórych pacjentów wyżej wymienione cechy mogą nie wystąpić z powodu bardzo krótkiego czasu między wykonaniem badaniem a pojawieniem się objawów.

Pomocnym badaniem okazuje się badanie krwi utajonej w kale, które pozwala na stwierdzenie obecności krwi niewidocznej gołym okiem w przewodzie pokarmowym. Badanie kału przeprowadza się również pod kątem wykluczenia zakażeń bakteryjnych lub pasożytniczych (*Campylobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*). (Jess i in. 2011)

W diagnostyce u każdego z podejrzeniem WZJG zaleca się wykonanie morfologii krwi obwodowej, stężenia CRP, parametrów funkcji wątroby, gospodarki żelazem czy elektrolitów. W przypadku łagodnego bądź umiarkowanego rzutu choroby parametry stanu zapalnego mogą pozostawać prawidłowe.

We WZJG prawdopodobna etiologia może mieć podłoże autoimmunologiczne, dlatego ważnym badaniem jest badanie na obecność autoprzeciwciał. Charakterystyczne dla tej choroby są przeciwciała pANCA (przeciwciała przeciwko cytoplazmie granulocytów), które stwierdzane są nawet u 60-80% pacjentów, oraz GAb (przeciwciała przeciwko komórkom kubkowym jelita) stwierdzane u 30% pacjentów. (Da Silva i in. 2014; Kucharski 2012; Jess i in. 2011)

## 6. Leczenie

W zależności od postaci bądź zaawansowania choroby leczenie można podzielić na farmakologiczne i chirurgiczne. Duże znaczenie ma odpowiednie dopasowanie formy i aktywności leczenia indywidualnie do każdego chorego. Należy brać pod uwagę dane kliniczne (badanie podmiotowe i przedmiotowe) oraz wynik badania endoskopowego. Istotne w indywidualizacji leczenia jest także obecność istotnych czynników ryzyka tj. częste zaostrzenia, ciężkość minionych zaostrzeń, młody wiek w chwili rozpoznania, konieczność glikokortykosteroidoterapii w celu uzyskania remisji. Celem takiego leczenia jest uzyskanie potwierdzonej endoskopowo remisji klinicznej bez obowiązku stosowania steroidów, a pomocnym badaniem jest stężenie kalprotektyny w kale, która dobrze odzwierciedla nasilenie zmian zapalnych w jelicie grubym. (Jess i in. 2011)

Leczenie opiera się na stosowaniu różnych grup leków, do których zaliczamy:

- antybiotyki
- leki przeciwzapalne
- leki immunosupresyjne
- leki biologiczne
- środki przeciwbólowe. (Krzesek 2002)

Podstawą farmakoterapii we WZJG są aminosalicylany (preparaty kwasu 5-aminosalicylowego, 5-ASA), do których możemy zaliczyć sulfasalazynę i mesalazynę. Stosowane są zarówno w indukcji remisji, jak i jej podtrzymania w postaci doustnej oraz doodbytniczo w postaci wlewk i czopków. Wg wytycznych European Crohn's and Colitis Organisation aminosalicylany powinny być stosowane długoterminowo, ponieważ oprócz podtrzymania remisji pomagają zmniejszyć ryzyko zachorowania na raka jelita grubego. (Zagórowicz 2014)

W umiarkowanej postaci choroby stosuje się glikokortykosteroidy doustnie (prednizon), które wykazują skuteczność już w ciągu 3 tygodni od początku stosowania, natomiast u pacjentów hospitalizowanych z powodu ciężkiego rzutu stosuje się preparaty dożylnie (metyloprednizolon). (Krzesiek 2002)

Leczenie biologiczne stosowane jest u pacjentów z umiarkowanym lub ciężkim nasileniem choroby, u których standardowe leczenie immunosupresyjne nie przyniosło oczekiwanych rezultatów. W Polsce dostępne są adalimumab i infliximab. Są to przeciwciała monoklonalne wiążące cytokinę TNF- $\alpha$  (czynnik martwicy nowotworów), w wyniku czego powodują jej inaktywację. Stosuje się także wedolizumab, przeciwciało monoklonalne, które wiąże integryny. Blokuje w ten sposób migrację komórek odpornościowych do tkanki jelita i zmniejsza w ten sposób stan zapalny. Leczenie biologiczne w Polsce prowadzone jest w ramach programów lekowych i badań klinicznych w określonych ośrodkach. Kryterium kwalifikującym pacjenta do takiego programu jest ciężki przebieg choroby, przeciwwskazania lub nietolerancja leczenia standardowego. (<https://www.termedia.pl/mz/Programy-lekowe-w-autoimmunologii-wymagaja-skoordynowanych-zmian,38653.html>)

#### 6.1 Kryteria włączenia do programu lekowego:

Do leczenia infliksymabem mogą zostać włączeni świadczeniobiorcy w wieku 6 lat i powyżej, z rozpoznaną ciężką postacią wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, u których leczenie cyklosporyną jest niewskazane lub przeciwwskazane:

- a) z niedostateczną odpowiedzią na standardowe leczenie, w tym na leczenie kortykosteroidami i 6-merkaptopuryną (6-MP) lub azatiopryną (AZA), (ocena > 6 punktów w skali Mayo u osób w wieku  $\geq 18$  r.ż. albo ocena  $\geq 65$  punktów w skali PUCAI u osób w wieku < 18 r.ż.), lub
- b) nietolerujący leczenia kortykosteroidami i 6-merkaptopuryną (6-MP) lub azatiopryną (AZA), lub
- c) mający przeciwwskazania do leczenia kortykosteroidami i 6-merkaptopuryną (6-MP) lub azatiopryną (AZA).

Do leczenia wedolizumabem mogą zostać włączeni świadczeniobiorcy w wieku od 18 roku życia z rozpoznaną ciężką postacią wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, u których leczenie cyklosporyną jest niewskazane lub przeciwwskazane:

- a) z niedostateczną odpowiedzią na standardowe leczenie, w tym na leczenie kortykosteroidami i 6-merkaptopuryną (6-MP) lub azatiopryną (AZA), (ocena > 6 punktów w skali Mayo u osób w wieku  $\geq 18$  r.ż.), lub
- b) nietolerujący leczenia kortykosteroidami i 6-merkaptopuryną (6-MP) lub azatiopryną (AZA), lub
- c) mający przeciwwskazania do leczenia kortykosteroidami i 6-merkaptopuryną (6-MP) lub azatiopryną (AZA).

Należy wspomnieć również o kryteriach, które stanowią przeciwwskazanie do udziału w programie:

- a) nadwrażliwość na substancję czynną lub substancje pomocnicze;
- b) ciężkie zakażenia wirusowe, grzybicze lub bakteryjne;
- c) umiarkowana lub ciężka niewydolność mięśnia sercowego;
- d) niestabilna choroba wieńcowa;
- e) przewlekła niewydolność oddechowa;
- f) przewlekła niewydolność nerek;
- g) przewlekła niewydolność wątroby;
- h) zespół demielinizacyjny lub objawy przypominające ten zespół;

- i) choroba alkoholowa, poalkoholowe uszkodzenie wątroby lub każda czynna postępująca choroba wątroby;
- j) ciąża lub karmienie piersią;
- k) rozpoznanie stanów przednowotworowych lub nowotworów złośliwych, również w okresie 5 lat poprzedzających moment kwalifikowania do programu;
- l) powikłania wymagające innego postępowania (np. leczenia operacyjnego). (<https://www.gov.pl/attachment/4036123c-a4b8-4fcd-9979-65c8eb1b1d6b>)

Leczenie chirurgiczne stosowane jest w ciężkiej postaci choroby, kiedy leczenie farmakologiczne okazało się nieskuteczne. Wskazaniami do pilnego leczenia operacyjnego są: toksyczne rozdęcie okrężnicy, perforacja, masywne krwawienie z przewodu pokarmowego. Innym wskazaniem do leczenia operacyjnego jest stwierdzenie zmian przedrakowych lub raka jelita grubego. Technika z wyboru jest proktokolektomia z wytworzeniem zbiornika jelitowego. Technika laparoskopowa jest tak samo skuteczna jak operacje klasyczne.

W przypadku wskazań pilnych oraz u pacjentów w ciężkim stanie ogólnym procedurę tę powinno się wykonywać dwuetapowo: najpierw subtotalna kolektomia z pozostawieniem odbytnicy i wyłonieniem ileostomii, a w drugim etapie usunięcie odbytnicy i wytworzenie zbiornika jelitowego z odtworzeniem ciągłości przewodu pokarmowego. W pozostałych przypadkach dopuszczalna jest operacja jednoetapowa, chociaż ostateczny schemat postępowania (liczba etapów leczenia operacyjnego) zależy w dużej mierze od doświadczenia i praktyki w danym ośrodku chirurgicznym (Eder i in. 2013)

## **7. Dieta**

Należy stosować racjonalną i urozmaiconą dietę, która uwzględni indywidualne modyfikacje. W razie biegunek stosuje się dietę lekkostrawną z ograniczeniem spożycia błonnika pokarmowego (głównie frakcji nierozpuszczalnej). Zaleca się spożywanie 5-6 posiłków dziennie w regularnych odstępach czasu (co 3-4 godziny), a ostatni posiłek nie później niż 3 godziny przed snem. Produkty bogate w nasycone kwasy tłuszczowe powinny być ograniczone, a minimum 2 razy w tygodniu powinno wprowadzać się do diety ryby, szczególnie morskie. Mleko i produkty mleczne mogą być spożywane, jeżeli nie powodują dolegliwości żołądkowo-jelitowych (biegunki, wzdęcia, bóle brzucha). Minimum 1 raz dziennie powinno się spożywać fermentowane produkty mleczne (maślanek, jogurt naturalny, kefir). Należy pamiętać o odpowiednim nawodnieniu, szczególnie w przypadku nasilonych biegunek (min. 2 litry napojów dziennie, głównie w postaci wody lub słabych naparów herbat).

Najlepiej spożywać gotowane owoce czy warzywa z ograniczeniem świeżych. Przy dobrej tolerancji surowych warzyw należy usuwać skórkę i pestki. Warzywa o działaniu wzdymającym powinny być ograniczane. Potrawy powinny być gotowane w wodzie, duszone, pieczone pod przykryciem zamiast smażenia. Bezwzględnie należy wykluczyć alkohol i papierosy. Zaleca się wprowadzenie prebiotyków, które wydłużają stan remisji choroby. Wskazane jest kontrolowanie masy ciała co najmniej 1 raz w tygodniu, a o niezamierzonym spadku wagi należy powiadomić dietetyka czy lekarza prowadzącego. Co 3 miesiące w fazie aktywnej należy monitorować stężenie żelaza we krwi ([https://ncez.pzh.gov.pl/wp-content/uploads/2021/06/zalecenia-dietetycy\\_cdo\\_ncez\\_wzjg\\_2019.pdf](https://ncez.pzh.gov.pl/wp-content/uploads/2021/06/zalecenia-dietetycy_cdo_ncez_wzjg_2019.pdf)).

Grupy produktów zalecanych:

- a) Mięso - mięsa chude (drób indyki – najlepiej bez skóry), wołowina, cielęcina, królik, samodzielnie przyrządzone wędliny z chudych gatunków mięs.
- b) Ryby chude - leszcz, pstrąg, szczupak, sandacz, dorsz, mintaj, morszczuk, sola.
- c) Zboża - pszenne, mąka pszenna jasna, drobne kasze (manna, krakowska, jęczmienna), płatki owsiane, ryż biały, drobne makarony pszenne, płatki ryżowe, płatki pszenne, graham – kasze i płatki wymagają czasami przetarcia.

- d) Przetwory mleczne - mleko słodkie (do 2% tłuszczu), mleko zsiadłe, świeży biały ser (chudy i półtłusty), jogurt naturalny, kefir naturalny – w przypadku prawidłowej tolerancji.
- e) Jaja - gotowane na miękko, w koszulkach, potrawy z jaj przygotowywane na parze (jajecznica, jaja sadzone, omlety), żółtko do zaprawiania zup.
- f) Warzywa - marchew, burak, dynia, szpinak, cukinia, młoda fasolka szparagowa, sałata masłowa, pomidor bez skórki, warzywa gotowane.
- g) Owoce - dojrziałe, bez skórki i pestek, gotowane (ewentualnie przetarte): jabłka, morele, brzoskwinie, truskawki, maliny, jagody, rozcieńczone, gotowane soki z malin, jeżyn, porzeczek.
- h) Orzechy - siemię lniane mielone, napary z siemienia lnianego, orzechy i nasiona mielone (np. włoskie, nerkowca, migdały, brazylijskie, pestki dyni nasiona słonecznika).
- i) Przyprawy - łagodne w ograniczonych ilościach: koper zielony, natka pietruszki, tymianek, bazylija, oregano, rozmaryn.

Grupy produktów niezalecanych:

- a) Mięso - mięsa tłuste (wieprzowina, baranina, kaczki, gęsi, dziczyzna), wędliny tłuste (pasztety, wędliny podrobowe, mięsa peklowane, konserwy mięsne).
- b) Ryby - ryby wędzone, ryby tłuste (śledź, makrela, łosoś, sardynki, tuńczyk), konserwy rybne.
- c) Zboża - pieczywo świeże, razowe, żytnie, rogaliki francuskie, mąki żytnie i razowe, grube kasze (kasza gryczana, pęczak), grube makarony, potrawy z dodatkiem mąk/smażone na tłuszczu lub polewane tłuszczem (kluski kładzione, naleśniki).
- d) Jaja - gotowane na twardo, smażone na tłuszczu, jaja w majonezie.
- e) Przetwory mleczne - jogurty owocowe, kefir owocowy, sery żółte i topione, sery pleśniowe, sery typu feta, serki typu fromage, kwaśna śmietana, pełnotłuste, desery mleczne serki homogenizowane.
- f) Warzywa - warzywa kapustne, papryka, szczypior, cebula, ogórek, szczaw, rzepa, rzodkiewka, kukurydza (także konserwowa), warzywa z zasmażkami lub smażone, warzywa w zalewie octowej, grzyby, warzywa kiszzone (kapusta, ogórki).
- g) Owoce - wszystkie owoce surowe (niewielkie ilości w zależności od tolerancji pacjenta), suszone.
- h) Orzechy - orzechy i nasiona w całości.

## 8. Podsumowanie

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego to choroba przewlekła, uporczywa dla cierpiących na nią pacjentów. Charakteryzuje się biegunkami, często z domieszką krwi, co znacząco wpływa na jakość życia i utrudnia funkcjonowanie chorych. Często dochodzi do wyniszczenia organizmu, znacznego odwodnienia i prowadzi do utraty wagi. Kluczowe jest dobranie indywidualnego leczenia do każdego pacjenta i częste monitorowanie postępu procesu terapeutycznego. Ważnym aspektem jest wsparcie emocjonalne nakierowane na poprawę samopoczucia pacjenta i powinno dawać nadzieję na pokonanie choroby, a także uświadamiać społeczeństwo o tego typu chorobach, aby nie były nigdy więcej tematem „tabu”, o których chorzy boją się rozmawiać.

## 9. Literatura

Bartnik W (2007) Wytyczne postępowania w nieswoistych chorobach zapalnych jelit.

Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny, 2(5), pp.215-229.

Borys-Iwanicka A. (2020). Dieta w nieswoistych chorobach zapalnych jelit; 98.

Buchner A, Iwańczak F (2002) Etiopatogeneza wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Borgis - Nowa Pediatria 3/2002, s. 174-178.

- Da Silva BC, Lyra AC, Rocha R. et al. (2014) Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis. *World Journal of Gastroenterology* 2014; 20: 9458–9467.
- Eder P, Łodyga M, Łykowska-Szuber L i in. (2013) Wytyczne Grupy Roboczej Konsultanta Krajowego w dziedzinie Gastroenterologii i Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii dotyczące postępowania z pacjentem z wrzodzącym zapaleniem jelita grubego, *Przegląd Gastroenterologiczny, Polski Klub Trzustkowy*, vol. 8, no. 1, 2013, pp. 1-20, DOI:10.5114/pg.2013.34176.
- Jess T, Simonsen J, Nielsen N (2011) Enteric Salmonella or Campylobacter infections and the risk of inflammatory bowel disease. *Gut* 2011; 60: 318-324.
- Klimaszewska K, Krajewska-Kułak E. (2022) Współczesne wyzwania w ochronie zdrowia. Tom VI. Wrzodzące zapalenie jelita grubego – Nieswoista choroba zapalna jelit: 106-118.
- Krzesiek E (2002) Postępy w leczeniu nieswoistych zapaleń jelit. *Nowa Pediatria* 2002; 3: 179-184.
- Kucharski M (2012) Ocena przydatności skal endoskopowych do określania aktywności choroby u pacjentów z nieswoistymi zapalnymi chorobami jelit. *Klinika Gastroenterologii, Żywienia Człowieka i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu* 2012.
- Pawlik M, Rydzewska G - Wrzodzące zapalenie jelita grubego. *Wielka Interna. Gastroenterologia*. <https://podyplomie.pl/wiedza/wielka-interna/826,wrzodziejace-zapalenie-jelita-grubego>. Dostęp: 10.06.2023.
- Wejman J, Bartnik W. (2011) *Atlas kliniczno-patologiczny nieswoistych chorób zapalnych jelit*. Termedia, Poznań.
- Wojtuń S, Gil J, Szwed Ł i in. (2014) Podstawowe objawy i różnicowanie nieswoistych chorób zapalnych jelit, *Pediatr Med Rodz* 2014, 10 (1), p. 61–66.
- Zagórowicz E (2014) Kiedy można przerwać leczenie farmakologiczne w nieswoistych chorobach zapalnych jelit? *Gastroenterologia Kliniczna* 2014;6(3):88-91.
- Zwolińska-Wcisło M (2017) Przychodzi pacjent do lekarza z... ..Nieswoistym zapaleniem jelit. *Lekarz POZ*, 3(3), pp.171-173.
- Termedia: Programy lekowe w autoimmunologii wymagają skoordynowanych zmian. [online] Dostępne: <https://www.termedia.pl/mz/Programy-lekowe-w-autoimmunologii-wymagaja-skoordynowanych-zmian,38653.html>
- [https://ncez.pzh.gov.pl/wp-content/uploads/2021/06/zalecenia-dietetycy\\_cdo\\_ncez\\_wzjg\\_2019.pdf](https://ncez.pzh.gov.pl/wp-content/uploads/2021/06/zalecenia-dietetycy_cdo_ncez_wzjg_2019.pdf)

### **3. Testy behawioralne służące do oceny zaburzeń pamięci i procesów uczenia się w zwierzęcych modelach choroby Alzheimera**

Behavioral tests to assess memory and learning impairments in animal models of Alzheimer's disease

Bernard Martyna, Piekarczyk Natalia, Berezka Paweł, Majkutewicz Irena, Kaczor Jan Jacek

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

Opiekun naukowy: dr Irena Majkutewicz

Martyna Bernard: m.bernard.146@studms.ug.edu.pl

Słowa kluczowe: labirynt wodny Morrisa, labirynt Barnes, labirynt promienisty, choroba Alzheimera

#### **Streszczenie**

Na przestrzeni lat opracowano wiele zwierzęcych modeli chorób neurodegeneracyjnych, które umożliwiają przeprowadzanie badań przedklinicznych potencjalnych nowych leków. Jedną z najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych jest choroba Alzheimera (AD), której główne objawy i zmiany w mózgu odzwierciedlono w szeregu modeli zwierzęcych. Do oceny objawów kognitywnych występujących w tych modelach wykorzystuje się testy behawioralne takie jak labirynt wodny Morrisa, labirynt Barnes i labirynt promienisty (ang. radial maze). Służą one głównie do ewaluacji krótkotrwałej pamięci operacyjnej oraz długotrwałej pamięci referencyjnej.

#### **1. Wstęp**

Choroba Alzheimera (AD - ang. *Alzheimer's disease*) jako obecnie najczęściej występujące schorzenie neurodegeneracyjne, charakteryzuje się przede wszystkim zaburzeniami poznawczymi związanymi z procesami pamięciowymi oraz uczenia się. AD powoduje całkowitą utratę samodzielności pacjenta, a w ostatnim stadium choroby pojawiają się już zaburzenia ruchowe i autonomiczne, co prowadzi do śmierci. Neuronalem podłożem wszystkich objawów AD są zmiany w mózgu chorego, związane z akumulacją nieprawidłowych białek. Wewnątrz neuronów pojawiają się spletki neurofibrylarne w postaci hiperfosforylowanych form białka tau, a w przestrzeni zewnątrzkomórkowej odkładają się blaszki amyloidu beta (Salkovic-Petrisic i in. 2013). Na przestrzeni lat opracowano zwierzęce modele tej choroby, zarówno transgeniczne, jak i nietransgeniczne indukowane domózgowym podaniem toksyny lub amyloidu beta. Modele te umożliwiają przeprowadzanie wszechstronnych badań w celu opracowania nowych metod leczenia i profilaktyki tego schorzenia. Do behawioralnej oceny zmian neurodegeneracyjnych występujących w tych modelach wykorzystuje się testy angażujące procesy pamięciowe i uczenia się. Labirynt wodny Morrisa (MWM - ang. *Morris Water Maze*) stanowi najczęściej używane narzędzie do oceny deficytów pamięci w badaniach nad AD. Innymi testami behawioralnymi mającymi podobne zastosowanie są między innymi Labirynt Barnes (ang. *Barnes Maze*) oraz Labirynt promienisty (RAM - ang. *Radial Maze*). Pierwszy z wymienionych może być wykorzystany, aby ograniczyć bodźce stresowe i lękowe związane z pływaniem jakim poddawane są zwierzęta podczas wykonywania testu MWM. Labirynt ten ma formę okrągłej platformy z licznymi otworami. Pod jednym z nich znajduje się klatka docelowa stanowiąca schronienie dla gryzonia, który bierze udział w teście. RAM jako labirynt o co najmniej ośmiu ramionach, w których ukryte są nagrody (pokarm) służy głównie do pomiarów pamięci roboczej. Jego wersja połączona z MWM pełni rolę wodnego labiryntu, który jest znacznie trudniejszy do wykonania dla testowanych zwierząt.

Pamięciowe mapy przestrzenno-poznawcze służące szczurom do codziennej eksploracji prawdopodobnie mają swoją lokalizację w strukturze hipokampa. Na bieżąco są one aktualizowane pod wpływem uczenia się (epizodycznego), które ma miejsce podczas zapoznawania się z nowym środowiskiem przez zwierzę. Tak zwane "komórki miejsca" w hipokampie ulegają wzbudzeniu tylko podczas przebywania gryzonia w określonym położeniu w przestrzeni. Kombinacja wskazówek (bodźców) czuciowych i lokomotorycznych rejestrowanych przez układ nerwowy pozwala na

„zakodowanie” położenia obiektów w środowisku przez pola recepcyjne tych neuronów (Longstaff 2006).

## 2. Opis zagadnienia

Układ nerwowy pozwala na realizację wszechstronnych potrzeb życiowych organizmu odbierając, kodując i przechowując wielorakie informacje w postaci śladów pamięciowych. Źródłem tych informacji mogą być bodźce związane z zewnętrznymi zmianami środowiska mające pośredni wpływ, jak i te związane z wewnętrznymi zmianami ustroju, wywierające wpływ bezpośredni. Reakcja OUN w formie odtwórczej to procesy porównawcze szybko napływających sygnałów. Zachodzą one na poziomie błon komórek układu nerwowego i czas ich trwania mieści się w zakresie ułamków sekund do kilkudziesięciu minut co określamy pamięcią krótkotrwałą. Forma twórcza wiąże się ze zdolnością do przekształcania i przechowywania informacji docierających w postaci bodźców. Trwałe modyfikacje OUN pod wpływem napływających bodźców zachodzą na wszystkich poziomach organizacji OUN: molekularnej, komórkowej i strukturalnej. Są one podłożem pamięci długotrwałej. Efektem tych zmian jest proces uczenia się, czyli tworzenie i wielokrotne używanie śladów pamięciowych stworzonych podczas doświadczeń osobniczych (Węsierska 2000). Procesy pamięci można również klasyfikować pod względem rodzaju zapamiętanego informacji, czasowych właściwości pamięci czy też związku ze świadomością. Niektóre z tych procesów są przypisane wyłącznie ludziom, przykładem jest pamięć deklaratywna dotycząca zapisu określonych wydarzeń, które ulegają zwerbalizowaniu lub pozostają w formie wyobrażeń. Z kolei pamięć proceduralna dotycząca zapamiętywania procesów występuje zarówno u ludzi jak i u zwierząt. Polega na opanowaniu umiejętności określonego sposobu działania składającego się z wielu następujących po sobie czynności, które z kolei nie wywołują umysłowych wyobrażeń. (Sadowski 2009).



Rys. 1. Klasyfikacja pamięci wg. Sadowskiego (2009).

Przeważająca część testów behawioralnych używanych w badaniach na zwierzętach doświadczalnych, dotyczy pamięci krótko- i długotrwałej. Pozostałe typy śladów pamięciowych które można odzwierciedlić w modelach zwierzęcych to operacyjna pamięć krótkotrwałą oraz deklaratywna pamięć epizodyczna, a także pamięć proceduralna, warunkowanie i uczenie się nieasocjacyjne. Pamięć przestrzenna to zdecydowanie najważniejszy sposób utrwalania informacji przez zwierzęta. Przy udziale hipokampa pozwala ona na stworzenie mapy środowiska, w którym się znajdują. Dzieli się ona na krótkotrwałą pamięć operacyjną oraz długotrwałą pamięć referencyjną, którą wykazuje podobieństwo do pamięci semantycznej występującej u ludzi. Przechowywane informacje są wspólne dla wszystkich powtarzalnych epizodów, a nie specyficzne dla wybranej sytuacji (Sadowski 2009).

### Test labiryntu wodnego Morrisa - Morris Water Maze

Hipokamp odgrywa szczególnie u szczurów istotną rolę w uczeniu się zadań związanych z poruszaniem w przestrzeni. Stanowi też strukturę, która w pierwszej kolejności i w największym stopniu zostaje dotknięta zmianami neurodegeneracyjnymi (Longstaff 2006). Jednym z najczęściej wybieranych przez badaczy testów umożliwiających ocenę pamięci związanej z funkcjami hipokampa jest labirynt wodny Morrisa. Test ten opracował Richard G. Morris w 1982 roku i umożliwia on pomiar krótkotrwałej pamięci operacyjnej, która u zwierząt nieodłącznie wiąże się z pamięcią przestrzenną (Morris 1984). Oprócz procesów pamięciowych test MWM umożliwia



również ocenę aktywności lokomotorycznej oraz poziomu lęku. Polega on na umieszczeniu gryzonia w okrągłym basenie (o średnicy 1,3 - 1,5 m) wypełnionym ciepłą wodą. W zbiorniku znajduje się platforma (o średnicy 8 cm) umieszczona 1 cm ponad lub pod powierzchnią wody. Podczas pierwszej fazy testu w trakcie prób treningowych szczury pływają w basenie i przypadkowo odnajdują platformę, na którą mogą się wspiać i tym sposobem uniknąć nieprzyjemnego dla nich długotrwałego pływania. W trakcie treningu platforma wystaje nieco ponad powierzchnię wody, po to, aby upewnić się, że obserwowane różnice w uczeniu się nie są spowodowane innymi czynnikami, takimi jak różnice w sprawności lokomotorycznej, postrzeganiu i motywacji. W ciągu kolejnych, właściwych już sesji szczury uczą się położenia platformy odnosząc jej pozycję do wskazówek przestrzennych stanowiących elementy pomieszczenia lub w przypadku szczurów albinotycznych o gorszym wzroku, można zastosować wskazówki nawigacyjne o dobrym kontraście, np. białe papierowe koło umieszczone wewnętrznej stronie ściany czarnego basenu. W badaniach skoncentrowanych nad pomiarem deficytów pamięci operacyjnej, każda próba wymagająca od gryzonia pływania trwa aż do znalezienia przez niego platformy lub w przypadku jej nieodnalezienia po 120 sekundach szczur jest nawigowany przez badacza w stronę platformy. Stopień wyuczenia zadania mierzy się długością czasu potrzebną do odnalezienia platformy w kolejnych próbach lub też długością drogi, jaką zwierzęta przebywają, aby odnaleźć platformę. Ostatniego dnia przeprowadzania MWM ma miejsce "probe test", czyli sesja pływania bez platformy. Trwa ona 120 sekund i ma na celu zweryfikowanie częstości pojawiania się gryzonia w obszarze, w którym wcześniej znajdowała się platforma. Wszystkie próby są zazwyczaj rejestrowane przez kamerę umiejscowioną pod sufitem, centralnie nad basenem, na wysokości około 250 cm, w celu zwiększenia dokładności pomiarów. Kamera może być połączona z komputerem posiadającym oprogramowanie do analizy behawioru. Basen, w którym umieszczane są szczury, jest podzielony na 4 kwadranty: NE, NW, SE i SW. Istnieją różne warianty położenia platformy wirtualnie obrysowanej w programie komputerowym. W celu rozpoczęcia próby zwierzę umieszcza się w basenie pyszczkiem skierowanym do ściany. W pierwszej wersji platforma nie zmienia swojej pozycji i jest zanurzona pod wodą, w drugiej wersji platforma również ma stałe miejsce, ale wystaje ponad powierzchnię. Pozycja rozpoczęcia testu jest wybierana losowo. W trzeciej konfiguracji położenie i miejsce startowe platformy ulegają zmianie a w jeszcze kolejnej konfiguracji pozostaje pod wodą i zmienia się jej położenie. Miarą oceny długotrwałej pamięci odniesienia stanowi jak największe skrócenie czasu znalezienia platformy w pierwszych próbach w ciągu kolejnych dni testu (Morris 1984; Morellini 2013; Węsierska 2000).

#### Labirynt Barnes, *Barnes Maze*

Deficyty pamięci i uczenia się są stosunkowo trudnym obszarem do oceny w porównaniu z innymi procesami. Chociaż do tej pory istnieje sporo badań opisujących ocenę poznawczych w modelach AD, nieliczne testy behawioralne stanowią rzetelne narzędzie w tej kwestii. Innym testem pozwalającym na ocenę pamięci u szczurów jest labirynt Barnes (Barnes Maze) po raz pierwszy użyty przez Dr Carol Barnes w 1979. Chociaż początkowo został wynaleziony dla szczurów, labirynt Barnes stał się bardziej popularny do oceny pamięci przestrzennej u myszy, wykorzystując ich doskonałe zdolności do znajdowania i ucieczki w ciasne i ciemne przestrzenie. Główne narzędzie testu to okrągła platforma z licznymi otworami. Pod jednym z nich znajduje się klatka pełniąca funkcję miejsca docelowego, w którym zwierzę może się schronić. W celu zoptymalizowania wydajności poznawczej zwierząt biorących udział w doświadczeniu, podczas testu wymagane są wskazówki wizualne, ponieważ obserwuje się lepsze wyniki u zwierząt, które podczas testu mogły wykorzystać wskazówki wewnątrz i na zewnątrz labiryntu niż u osobników wytrenowanych bez obecności wskazówek przestrzennych. Podczas testu szczury są umieszczane na środku okrągłej platformy, co zmusza je do zmierzenia się z negatywnym wzmocnieniem w postaci jasnego strumienia światła, stresującego otoczenia, a nawet strumienia powietrza co motywuje zwierzęta do ucieczki do ciemnej klatki ukrytej pod jednym z otworów. Tak samo jak MWM, labirynt Barnes stanowi narzędzie do oceny przestrzennej pamięci referencyjnej. Oba testy mierzą zdolność zwierząt do uczenia się i zapamiętywania położenia strefy docelowej przy użyciu konfiguracji wizualnych wskazówek rozmieszczonych wokół obszaru testowego. Co więcej oba zadania opierają się na zależności od hipokampa przestrzennej pamięci referencyjnej oraz na nieodłącznych tendencjach

związanych z ucieczką od awersyjnych bodźców. Niemniej jednak element wymuszonego pływania w labiryncie wodnym Morrisa powiązany ze stresem i niepokojem u badanych zwierząt jest w tym teście wyeliminowany. Ta zaleta może jednocześnie stać się wadą przeprowadzanego testu. Proces uczenia się w labiryncie Barnes może przebiegać dużo wolniej w przeciwieństwie do wzmoczonej eksploracji ze względu na ubogi zakres bodźców motywujących (Grabowski i Jabłońska 2018). Zazwyczaj test tego labiryntu przebiega w 3 fazach. Pierwsza to habituacja, w której zwierzę uczestniczy w fazie szkolenia i przyzwyczajają się do środowiska oraz powierzonego mu zadania. Potem następuje faza treningu polegająca na odbywaniu licznych prób w celu nauki zadań a następnie dobę później, przechodzi właściwą próbę testu, w której już weryfikuje się zdolności nabyte we wcześniejszych próbach. Nabywanie śladów pamięciowych w fazie treningu jest zwykle oceniane jako skrócenie czasu wykonania zadania i liczby błędnych przeszukiwanych dołków przed dotarciem do tego docelowego. Odnalezienie i wejście do klatki często wcale nie jest punktem końcowym doświadczenia, ponieważ w przeciwieństwie do labiryntu wodnego Morrisa środowisko nie jest na tyle awersyjne, aby wymagało natychmiastowej ucieczki, w związku z tym szczury mogą kontynuować eksplorację nawet po odnalezieniu klatki docelowej. Parametry, które są badane w doświadczeniu to między innymi długość drogi oraz czas w jakim zwierzę dotrze do celu. Pamięć długotrwała jest ewaluowana we właściwych próbach testu, która odbywa się po treningu i polega na usunięciu klatki docelowej i obserwacji poszukiwania przez zwierzę otworu, pod którym znajdowała się klatka przez określony czas. Zakłada się, że szczury które zapamiętują położenie klatki docelowej, będą miały krótszy czas dotarcia do poprzedniej lokalizacji klatki i będą popełniały mniej błędów (Attar i in. 2013; Pitts 2018).

#### Labirynt promienisty, *Radial Maze*

Kolejnym testem behawioralnym służącym do oceny pamięci i uczenia się jest labirynt promienisty. Służy on głównie do pomiaru pamięci roboczej. Zbudowany jest z ośmiu do siedemnastu ramion o różnej wielkości, połączonych i rozstawionych w takiej samej odległości od punktu centralnego. Zadanie badanego zwierzęcia doświadczalnego polega na znalezieniu nagrody, którą jest pokarm (bodziec apetytywny) umieszczonej na końcu ramion labiryntu. Parametrami mierzonymi w tym teście są czas odnalezienia pokarmu i liczba popełnionych błędów (Borbély i in. 2013). Im więcej ramion posiada labirynt, tym zadanie dla badanego gryzonia jest trudniejsze i wymaga więcej czasu. Myszy lub szczury, u których występują zaburzenia przestrzennej pamięci roboczej wykazują problemy ze znalezieniem nagrody a niektóre z nich w ogóle nie są w stanie tego dokonać. Pierwszym etapem testu trwającym od dwóch do dziesięciu dni jest faza treningu, polegająca na umieszczeniu zwierzęcia w centrum labiryntu pozwalając na swobodną eksplorację. Kluczowym elementem całego doświadczenia jest tymczasowa deprywacja pokarmowa w celu zwiększenia motywacji do poszukiwania nagrody. Bezbłędne ukończenie testu polega na prawidłowym zapamiętaniu miejsc, w których umieszczony został pokarm i zmierzaniu prosto do nich po znalezieniu się w labiryncie (Vorhess i Williams, 2014). Istnieją dwie formy labiryntu promienistego. W pierwszej z nich w każdym ramieniu konstrukcji znajduje się nagroda i umożliwia pomiar krótkotrwałej pamięci operacyjnej. Druga forma zakłada umieszczenie pokarmu tylko w wybranych ramionach co pozwala na ewaluację długotrwałej pamięci referencyjnej, przy czym pokarm powinien znajdować się zawsze w tych samych ramionach podczas kolejnych dni testu. Parametrami mierzonymi podczas przechodzenia przez labirynt jest przede wszystkim liczba wejść do poszczególnych ramion (Puzzo i in. 2014; Delcourt i in. 2018). W labiryncie RAM proces uczenia się zachodzi znacznie wolniej w porównaniu do labiryntu Barnes czy MWM. Niemniej jednak może być to zaletą testu, im wolniejszy proces nauki tym jest on dokładniejszy i sprzyja dłuższej konsolidacji pamięci. RAM w porównaniu do MWM wymaga również dłuższego treningu.

Pokrewnym rodzajem RAM jest Wodny labirynt promienisty (RAMW - ang. *Radial Arm Water Maze*), który jako stosunkowo nowy test służy do badania zarówno pamięci roboczej jak i przestrzennej. W praktyce jest to połączenie dwóch opisanych wyżej testów, labiryntu wodnego Morrisa oraz labiryntu promienistego. Zadaniem gryzonia jest odnalezienie pod powierzchnią wody platformy znajdującej się w jednym z ramion labiryntu, który umieszczony jest w basenie Morrisa. Poziom trudności testu behawioralnego RAMW jest znacznie wyższy od MWM oraz RAM, wymaga

on od gryzonia wykorzystania elementów przestrzennych do odnalezienia platformy ukrytej w jednym z ramion (Penley i in., 2013; Puzzo i in. 2014). Silna chęć wydostania się z wody stanowi silniejszy czynnik motywujący w stosunku do nagrody będącej pokarmem w teście RAM. Wymuszone pływanie w celu wydostania się z basenu tak samo jak w Labiryncie wodnym Morrisa pełni rolę dodatkowych okoliczności stresujących. Zbiornik służący do przeprowadzania testu RAMW jest taki sam jak w przypadku testu MWM, dodatkowo na jego dnie umieszcza się konstrukcje w formie labiryntu promienistego (Penley i in., 2013; Vorhess, 2014). W tym teście okres habituacji może trwać nawet trzy tygodnie, obejmując przy tym codzienną zmianę położenia platformy. W ciągu danego dnia treningu zaleca się wykonywać maksymalnie pięć powtórzeń. Podczas każdego z nich należy zmieniać miejsce umieszczania myszy lub szczura w basenie i pozwolić gryzoniom lokalizować położenie platformy na podstawie wizualnych wskazówek rozmieszczonych w labiryncie (Penley i in., 2013). Kompletne wykonanie RAMW obejmuje czterokrotne powtórzenie procedury testu w krótkich odstępach czasu. Piąty, ostatni pomiar, służy właściwej ocenie pamięci krótkotrwałej, której miarą jest czas w jakim badane zwierzę dotrze do celu (Morellini 2013; Vorhess 2014).

### **3. Podsumowanie**

Pamięć jako proces poznawczy odpowiadający za tworzenie nowych lub modyfikację dotychczas powstałych połączeń neuronalnych, jest podstawą uczenia się zarówno u ludzi jak i u zwierząt. Testy behawioralne służące do oceny procesów pamięci i uczenia się stanowią znakomite narzędzie wykorzystywane w badaniach z wykorzystaniem zwierzęcych modeli chorób neurodegeneracyjnych takich jak choroba Alzheimera. Do najczęściej wykorzystywanych testów należą labirynt wodny Morrisa, labirynt Barnes oraz labirynt ramion promienistych. Kolejne modyfikacje testów, tak jak RAMW, czyli wodny labirynt promienisty będący połączeniem RAM i MWM, pokazują możliwości ich rozbudowania i zmian poziomu trudności, co daje badaczom szersze spektrum potencjalnych danych do kolejnych doświadczeń. Rodzajami pamięci u gryzoni, które mogą być ewaluowane za pomocą tych labiryntów jest zarówno pamięć krótkotrwała jak i długotrwała. Istnieją pewne specyficzne cechy ludzkich procesów pamięciowych które nie występują u zwierząt (między innymi te powiązane z zapamiętywaniem określonego materiału czy świadomością). Niemniej jednak dotychczas opracowane testy, które pozwalają na ewaluację zaburzeń poznawczych odgrywają istotną rolę w badaniach nad chorobami otepiennymi i dają możliwość na nowe perspektywy terapeutyczne.

### **4. Literatura**

- Attar A, Liu T, Chan WT, et al. (2013) A shortened Barnes maze protocol reveals memory deficits at 4-months of age in the triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS one*, 8(11), e80355.
- Borbély E, Scheich B, Helyes Z (2013) Neuropeptides in learning and memory. *Neuropeptides*. 47(6): 439-450.
- Delcourt J, Miller NY, Couzin ID, et al. (2018) Methods for the effective study of collective behavior in a radial arm maze. *Behavior Research Methods* Aug;50(4):1673-1685.
- Grabowski M, Jabłońska K (2018) Wybrane testy behawioralne w badaniach nad uczeniem się i pamięcią u myszy laboratoryjnych. *Nauki przyrodnicze* 4(22): 50-61.
- Longstaff (2006) *Neurobiologia*. Krótkie wykłady.
- Morellini F (2013) Spatial memory tasks in rodents: what do they model? *Cell Tissue Res*. 354(1): 273-286.
- Morris RG (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Methods*, 11, 47-60.
- Penley SC, Gaudet CM, Threlkeld SW (2013) Use of an Eight-arm Radial Water Maze to Assess Working and Reference Memory Following Neonatal Brain Injury. *Journal of Visualized Experiments* Dec 4;(82):50940

- Pitts MW (2018) Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice. Bio-protocol 8 (5): e2744.
- Puzzo D, Lee L, Palmeri A, et al. (2014) Behavioral assays with mouse models of Alzheimer's disease: practical considerations and guidelines. Biochemical Pharmacology. 450-467.
- Sadowski B (2009) Biologiczne mechanizmy zachowania się ludzi i zwierząt. Polskie Wydawnictwo naukowe. Warszawa.
- Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, et al. (2013) What Have We Learned from the Streptozotocin-Induced Animal Model of Sporadic Alzheimer's Disease, about the Therapeutic Strategies in Alzheimer's Research. Journal of Neural Transmission 120 (1): 233–52.
- Węsierska M (2000) Behawioralne metody oceny pamięci przestrzennej u zwierząt. Kosmos Tom 49, 1-2 (246-247): 75-85.
- Vorhess C, Williams M (2014) Assessing Spatial Learning and Memory in Rodents. ILAR Journal. 310-332.

## **4. Neuroprotecyjne działanie witaminy D w chorobach neurodegeneracyjnych**

Neuroprotective effects of vitamin D in neurodegenerative diseases

Bernard Martyna, Piekarczyk Natalia, Berezka Paweł, Majkutewicz Irena, Kaczor Jan Jacek

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

Opiekun naukowy: dr Irena Majkutewicz

Martyna Bernard: m.bernard.146@studms.ug.edu.pl

Słowa kluczowe: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, stwardnienie rozsiane, kalcytriol

### **Streszczenie**

Na przestrzeni ostatnich lat obserwuje się zwiększony odsetek osób cierpiących na choroby neurodegeneracyjne, co wynika ze wzrostu długości życia i tym samym dłuższego kontaktu z czynnikami ryzyka, takimi jak nieodpowiednia dieta czy niesprzyjające warunki środowiskowe. Obecnie poszukuje się rozwiązań, które potencjalnie wykazują działanie terapeutyczne w przebiegu tych chorób. Jednym z nich jest witamina D, która działa jednocześnie na różne mechanizmy związane z prawidłowym funkcjonowaniem neuronów. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych wykazują, że witamina D reguluje proliferację oraz różnicowanie się komórek nerwowych. Zapobiega również procesom prowadzącym do obumierania neuronów, co skutecznie zatrzymuje pogarszanie się funkcji poznawczych. Te procesy mają kluczowe znaczenie w chorobach neurodegeneracyjnych takich jak choroba Alzheimera, choroba Parkinsona czy stwardnienie rozsiane.

### **1. Wstęp**

Z uwagi na obserwowaną od wielu lat tendencję starzenia się społeczeństw, liczba osób w podeszłym wieku dynamicznie wzrasta a wraz z nią podwyższa się odsetek cierpiących na choroby otępienne oraz demencję. Według Światowego Raportu Alzheimera z 2022 roku, AD (AD - ang. *Alzheimer's disease*) jest obecnie najczęściej występującą chorobą neurodegeneracyjną wśród diagnozowanych zespołów otępiennych. W miarę postępu choroby znacznie pogarszają się funkcje poznawcze pacjenta (Gauthier i in. 2022).

Innym schorzeniem związanym z degeneracją ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jest choroba Parkinsona (PD - ang. *Parkinson's disease*), której objawy obserwowane są zazwyczaj po 50 roku życia i obejmują spowolnienie ruchowe, drżenie spoczynkowe i wzmożone napięcie mięśni. Objawy te utrudniają lub uniemożliwiają chorym samodzielne funkcjonowanie (Gaweł 2015; Newmark i Newmark 2007).

Jedną z powszechnych chorób autoimmunologicznych OUN dotyczących osób w młodym wieku jest stwardnienie rozsiane (MS - ang. *Multiple sclerosis*). Schorzenie to rozwija się w wyniku nadreaktywności odpowiedzi immunologicznej organizmu, której skutkiem jest atakowanie komórek gospodarza przez własny układ odpornościowy. Prowadzi to do przewlekłego stanu zapalnego układu nerwowego. W ciągu trwania choroby następuje demielinizacja oraz degeneracja neuronów (Kamińska i in. 2017).

Witamina D jest syntetyzowana przez ludzki organizm w skórze, gdzie pod wpływem słońca 7-dehydrocholesterol jest przekształcany w cholekalcyferol, a następnie w wątrobie i nerkach w aktywną biologicznie formę witaminy D3, zwaną kalcytriolem (Regulska 2020). Powszechnie znana jest rola tej witaminy w homeostazie wapniowo-fosforanowej i układu kostnego. W ostatnich latach coraz więcej dowodów eksperymentalnych wskazuje na jej neuroprotecyjne oraz przeciwzapalne działanie, potencjalnie korzystne w kontekście chorób neurodegeneracyjnych (Waszyk-Nowaczyk i in. 2020).

Na podstawie badań przekrojowych w ramach projektu PolSenior stwierdzono, że w Polsce problem niedoboru witaminy D dotyczy ponad 80% osób w wieku  $\geq 65$  lat (Wyskida i in. 2018), co

może wiązać się z zwiększonym ryzykiem wystąpienia zaburzeń funkcji poznawczych i większym ryzykiem zachorowania na zespoły otępienne. Ponadto wyniki badań epidemiologicznych wskazują na podwyższone ryzyko wystąpienia zaburzeń funkcji poznawczych i zachorowania na choroby neurodegeneracyjne u osób z poziomem witaminy D już na poziomie <50 nmol/l (Balion i in. 2012).

## 2. Opis zagadnienia

Witamina D oprócz wpływu na gospodarkę wapniowo-fosforanową organizmu, jest równie niezbędna w prawidłowej pracy OUN. Do grupy witamin D będących steroidami należą: witamina D1 (kalcyferol), witamina D2 (ergokalcyferol) oraz D3 (cholekalcyferol). Ich głównym źródłem jest synteza skórna, w wyniku której powstają na drodze przekształcenia metabolitu 7-dehydrocholesterolu pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (UV) (Chang i Lee 2019). Proces aktywacji cholekalcyferolu zachodzi w dwóch etapach. Pierwszy ma miejsce w wątrobie: pod wpływem hydroksylacji witaminy D3 dochodzi do wytworzenia kalcydiolu, a następnie w nerkach, gdzie ta forma ulega hydroksylacji do kalcytriolu (25(OH)D) - formy aktywnej (Regulska 2020).

Odkrycie receptora witaminy D (VDR) i potwierdzenie jego obecności w różnych tkankach pozwoliło na powiązanie jej działania z występowaniem wielu chorób i zaburzeń, takich jak otyłość, przewlekły stan zapalny, cukrzyca typu 2, schorzenia sercowo-naczyniowe, depresja i nowotwory (Dzik i Kaczor 2019). Receptory witaminy D znajdują się w całym organizmie, również w strukturach mózgu, m.in. hipokampie, który odpowiada za mechanizmy pamięci i funkcje poznawcze.

## 3. Przegląd literatury

### 3.1 Choroba Alzheimera

Jedną z obecnie najczęściej występujących chorób otępiennych jest choroba Alzheimera (AD) występująca w formie sporadycznej (*sporadic Alzheimer's disease, sAD*). Drugą formą AD jest forma rodzinna (*familial Alzheimer's disease, fAD*) obejmująca zaledwie 5% wszystkich przypadków zachorowań. W trakcie procesu chorobowego dochodzi do zaburzeń funkcjonowania układu nerwowego, objawiających się postępującym deficytem funkcji poznawczych - w tym zwłaszcza pamięci - oraz zaburzeniami zachowania, takimi jak apatia czy objawy psychotyczne. Towarzyszą temu charakterystyczne zmiany morfologiczne w OUN: zwyrodnienia neurofibrylarne w postaci wewnątrzkomórkowych, hiperfosforylowanych form białka tau oraz odkładających się zewnątrzkomórkowo złogów  $\beta$ -amyloidu. Wystąpienie tych patologicznych zmian prowadzących do neurodegeneracji jest poprzedzone m.in. zaburzeniami metabolizmu glukozy i sygnalizacji insulinowej, przewlekłym stanem zapalnym oraz podwyższonym poziomem stresu oksydacyjnego (Salkovic-Petrisic i in. 2013). Potencjalne funkcje neuroprotektoryjne witaminy D3 obejmują zmniejszenie akumulacji złogów  $\beta$ -amyloidu i poziomu stresu oksydacyjnego, usprawnienie metabolizmu glukozy oraz syntezę neuroprzekazników w obrębie OUN (Keeney i in. 2015).

Wyniki badań epidemiologicznych wskazują na zwiększone ryzyko wystąpienia zaburzeń funkcji poznawczych w AD u osób z poziomem witaminy D <50 nmol/l (Bailon i in. 2012). W metaanalizie przeprowadzonej na ponad 28 tysiącach osób wykazano, że już stężenie 25(OH)D we krwi na poziomie 60-90 nmol/l jest związane ze spadkiem ryzyka wystąpienia choroby Alzheimera o 31%, w porównaniu do stężenia <25 nmol/l (Jayedi i in. 2019). Osoby starsze, należące do głównej grupy ryzyka zachorowania na sAD, jednocześnie są szczególnie narażone na niedobór witaminy D. Obniżone stężenie tej witaminy u seniorów wiąże się z osłabieniem wydajności syntezy skórnej oraz zmianą trybu życia, z czym związane są zaburzenia ruchu oraz w konsekwencji ograniczenie ekspozycji na słońce. Kolejnym czynnikiem niedoborów tej witaminy jest zakłócone dostarczanie jej w diecie poprzez nieprawidłowy bilans spożywanych składników odżywczych. Wpływ mają również kwestie socjodemograficzne, takie jak niski status ekonomiczny czy złe warunki środowiskowe (Granda i in. 2019).

Jedną z najbardziej istotnych kwestii w kontekście chorób neurodegeneracyjnych stanowi neuroprotekcja. Sposoby na zapobieganie uszkodzeniom OUN powstających podczas sAD, wciąż w dużej mierze pozostają nieznanne. Witamina D3 potencjalnie stanowi jedną z substancji, która działa jednocześnie na różne mechanizmy związane z prawidłowym funkcjonowaniem neuronów. W mózgu

występują zarówno enzymy syntetyzujące (25-hydroksylaza i 1- $\alpha$ -hydroksylaza) jak i inaktywujące (24-hydroksylaza) aktywną formę witaminy D3. To oznacza, że może być ona syntetyzowana w OUN i działać zarówno autokrynnie (na komórkę, która wytwarza substancję), jak i parakrynnie (poprzez wpływ na sąsiednie komórki) i tym samym wpływać na funkcję neuronów (Regulska 2020). Według badań na zwierzętach doświadczalnych, witamina D3 reguluje proliferację oraz różnicowanie się komórek nerwowych, co zapobiega pogorszeniu się funkcji poznawczych. Ponadto hamuje procesy prowadzące do obumierania neuronów w procesie starzenia i ogranicza ich uszkodzenia spowodowane różnymi czynnikami m.in. kwasem glutaminowym czy niedokrwieniem (Landfield i in. 1998). Kluczowym mechanizmem działania tej witaminy w sAD jest stymulacja syntezy czynnika wzrostu nerwów (NGF; *nerve growth factor*) w hipokampie i korze mózgowej szczurów w komórkach glejowych (Hahn i in. 1997). Ponadto kalcytriol działając poprzez jądrowe receptory witaminy D3 (VDR) może prowadzić do zahamowania produkcji  $\beta$ -amyloidu poprzez inhibicję transkrypcji białka APP w neuronach. W ten sposób białko wiążące witaminę D3 bezpośrednio wstrzymuje odkładanie się złogów  $\beta$ -amyloidu, zmniejszając toksyczny wpływ tej substancji na komórki nerwowe, co hamuje indukowaną śmierć komórek hipokampa i w efekcie zmniejsza zaburzenia pamięci w sAD. Dodatkowo witamina D3 ma pozytywny wpływ na metabolizm glukozy: dzięki zwiększeniu wrażliwości komórek na insulinę obniża insulinooporność i zmniejsza stan zapalny organizmu (Waszyk-Nowaczyk i in, 2020). Obserwuje się również wpływ tej witaminy na szlaki biochemiczne związane z uszkodzeniem mitochondrialnej manganowej dysmutazy ponadtlenkowej (MnSOD). Generowane reaktywne formy tlenu wchodzą w reakcję z tlenkiem azotu (NO), gdzie w dalszych etapach przyczyniają się do wytworzenia nadtlenoazotynu (ONOO-), który uszkadza i zmienia aktywność białek kluczowych do funkcjonowania neuronów. Witamina D przyczynia się do zahamowania aktywatora NF- $\kappa$ B enzymu syntazy NO, w konsekwencji zatrzymując procesy nitracji białek i powstawania stresu nitrozacyjnego (Waszyk-Nowaczyk i in. 2020).

### 3.2 Choroba Parkinsona

Choroba Parkinsona jest przewlekłą chorobą neurodegeneracyjną, będącą zespołem hipokinetycznym, który charakteryzuje się drżeniem mięśniowym, sztywnością mięśni oraz akinezją (trudnościami w zapoczątkowaniu ruchu) i bradykinezją (spowolnieniem ruchu). Dominującą neuropatologią w tym schorzeniu jest degeneracja dużej liczby neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej, których aksony biegną do prążkowie. Następuje również śmierć innych neuronów monoaminergicznych. W cytoplazmie komórek objętych procesem patologicznym stwierdza się obecność ciałek Lewy'ego, zawierających białko  $\alpha$ -synukleinę. W genetycznie uwarunkowanej formie PD nieprawidłowe białko odkłada się w postaci wtrętów w neuronach, co prowadzi do mechanizmu apoptozy. Ponadto do patogenyzy PD zalicza się szereg czynników środowiskowych, włączając w to wolne rodniki oraz działanie stresu oksydacyjnego. Śmierć neuronów istoty czarnej powoduje drastyczne obniżenie poziomu dopaminy w prążkowie. W warunkach fizjologicznych w każdym 10 latach życia jej ilość maleje o 6-8%, osiągając poziom 40-50% pod koniec 6. dekady życia. Według badań objawy kliniczne ruchowe PD pojawiają się przy spadku stężenia dopaminy do ok. 20% wartości początkowej (Gawel 2015; Newmark i Newmark 2007).

Hipoteza wskazująca na powiązanie witaminy D z chorobą Parkinsona została sformułowana przez Newmark i Newmark (2007). Według badaczy przewlekły niedobór tej witaminy pogłębia zmiany patologiczne w PD, a chroniczna utrata neuronów dopaminergicznych w istocie czarnej spowodowana jest zależnością funkcjonowania komórek nerwowych od wchłaniania witaminy D z krwioobiegu oraz wewnętrznej aktywacji komórkowej do kalcytriolu, który jest wiązany przez jądrowe receptory VDR (Newmark i Newmark 2007). Istota czarna reprezentuje obszary ludzkiego mózgu, w którym receptor VDR ulega największej ekspresji. Neuroprotekcyjna rola witaminy D, polega na ograniczeniu powstawania stresu oksydacyjnego, który zwiększając wrażliwość komórek na uszkodzenia, może prowadzić do ich degeneracji i śmierci. Ponadto stres oksydacyjny zwiększa podatność neuronów na negatywne wpływy toksyn, wirusów i niektórych leków. W kolejnym badaniu Evatt i wsp. dowiedli korelację wzrostu częstości zachorowania na chorobę Parkinsona wraz z niedoborem witaminy D. W grupie osób chorych 55% wykazało niedobory, podczas gdy w grupie

kontrolnej 36%. Inne badania przesiewowe wykazały, że 55% pacjentów w połowie 7 dekady życia ma poziom witaminy D w surowicy poniżej 30 ng/mL, podczas gdy wśród pacjentów z AD tak niski poziom posiadało 41,2% osób, a wśród osób zdrowych 36,4% (Sajkowska-Kozielewicz i Paradowska 2016). Dodatkowo odnotowano pozytywny związek między polimorfizmem genu *VDR BsmI* a chorobą Parkinsona oraz wykazano, że białko wiążące witaminę D (VDBP) jest jednym z ośmiu biomarkerów PD w płynie mózgowo-rdzeniowym (Fernandez de Abreu i in. 2009). Przeprowadzono również badania z suplementacją witaminy D w dawce 1200 IU przez rok. Regularne zażywanie tej witaminy pozwoliło na jej dwukrotny wzrost w surowicy i zahamowanie postępu choroby. Badanie przeprowadzono za pomocą testów takich jak United Parkinson Disease Rating Scale. Dotychczas zebrane dane nie pozwoliły na potwierdzenie skuteczności witaminy D w leczeniu PD, lecz ewidentnie utrzymywanie jej na odpowiednim poziomie umożliwia jej neuroprotektoryjne działanie i w efekcie poprawę stanu chorobowego (Sajkowska-Kozielewicz i Paradowska 2016).

### 3.3 Stwardnienie rozsiane

Stwardnienie rozsiane jest jedną z najczęstszych chorób autoimmunologicznych OUN dotyczących osób w młodym wieku. Rozwija się w wyniku nadreaktywności układu odpornościowego, co prowadzi do przewlekłego stanu zapalnego układu nerwowego. Rozwój MS jest wieloogniskowy i rozłożony w czasie. Wiąże się z powstawaniem zmian w OUN, które prowadzą do demielinizacji oraz degeneracji aksonów. Na wciąż niedokładnie poznaną patogenezę choroby składa się wiele elementów: uszkodzenie bariery krew-mózg, powstawanie wieloogniskowych okołonaczyniowych nacieków komórkowych, uszkodzenie mieliny oraz utrata aksonów i oligodendrocytów, a dodatkowo wtórny przerost astrogleju. Przewlekłość zachodzących wyżej procesów prowadzi do znacznego zaniku tkanki ośrodkowego układu nerwowego, co w konsekwencji powoduje niewydolność ruchową oraz wykluczenie społeczne, jako że MS jest w gronie najczęstszych przyczyn nieurazowej niepełnosprawności osób na przełomie 2. i 3. dekady życia. Pomimo ogromnego postępu w badaniach nad MS, nadal różnorodny przebieg choroby uniemożliwia szybką i trafną diagnozę. Na rozwój choroby mają wpływ czynniki o charakterze egzogennym, takie jak niedobór witaminy D oraz palenie tytoniu, środowiskowym, np. zakażenie wirusowe, oraz genetycznym. Indukują one autoagresję przyczyniającą się do uszkodzenia bariery krew-mózg, co powoduje, że migrujące do ośrodkowego układu nerwowego limfocyty T oraz makrofagi tworzą liczne ogniska zapalno-demielinizacyjne wokół naczyń. Mediatorami procesu toczenia się leukocytów z krwi do OUN są cząsteczki adhezyjne, chemokiny oraz metaloproteazy macierzy pozakomórkowej. Zachodzi aktywacja komórek mikrogleju, które uwalniają cytokiny prozapalne (czynnik martwicy nowotworu- $\alpha$  (TNF- $\alpha$  tumor necrosis factor- $\alpha$ ), interleukiny, leukotrieny, interferon, enzymy proteolityczne). Aktywowane komórki mikroglejowe mają zdolności fagocytarne oraz zwiększają poziom stresu oksydacyjnego. Powoduje to rozległe uszkodzenie głównie istoty białej w obrębie nerwów wzrokowych, ciała modzelowatego, okołokomorowego i okolicach podnamiotowych, a także rdzenia kręgowego, zwłaszcza w odcinku szyjnym. Proces zapalny pełni rolę siły napędowej procesu demielinizacji (Kamińska i in. 2017; Fernandez de Abreu i in. 2009).

Podstawową rolą witaminy D oraz układu odpornościowego organizmu jest utrzymanie ciągłości bariery przeciwbakteryjnej organizmu, stymulacja chemotaksji komórek odpornościowych, regulacji stanów zapalnych oraz modulacja swoistej i nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. W kontekście stwardnienia rozsianego głównym obszarem działań witaminy D jest immunomodulacja, polegająca na regulacji pracy układu odpornościowego poprzez zahamowanie syntezy interleukin, czynników antyapoptotycznych oraz prozapalnych enzymów, co skutkuje zmniejszeniem ognisk zapalnych. Z uwagi na różne miejsce wychwytu w komórkach, istnieją 2 rodzaje mechanizmów oddziaływania witaminy D z receptorem VDR: genomowy oraz niegenomowy. Pierwszy z nich polega na związaniu się substancji z receptorem jądrowym (VDRn), co tworzy kompleks receptor-kalcytriol, który przenikając do jądra, jest zdolny do inicjowania transkrypcji genu *CY24* oraz genów biorących udział w odporności przeciwbakteryjnej organizmu. Drugi mechanizm - niegenomowy - zachodzi po przyłączeniu kalcytriolu do receptora VDRm w cytoplazmie komórki, co z kolei tworzy kompleks z białkiem kaweoliną-1, posiadający zdolność oddziaływania na wewnątrzkomórkowe przekaźniki drugiego rzędu. Modulacja odpowiedniego



mediatora prowadzi do wzrostu transkrypcji genów odpowiedzialnych za produkcję przeciwciał antywirusowych, zahamowania indukowanej przez NF- $\kappa$ B transkrypcji prozapalnych interleukin oraz wspomaganie syntezy enzymów odpowiedzialnych za aktywację witaminy D do 1,25-dihydroksycholekalcyferolu. Ponadto kompleks VDRm-kaweolina-1 prowadzi do obniżenia poziomu NF- $\kappa$ B w limfocytach, hamując syntezę interleukin oraz prozapalnych enzymów (COX 2), co zmniejsza ogniska zapalne oraz podnosi poziom interleukin stymulujących powstawanie limfocytów Th2 supresorowych. W efekcie organizm zostaje ukierunkowany na hamowanie aktywacji limfocytów T efektorowych i indukowaniu limfocytów T regulatorowych oraz stymulację komórek dendrytycznych wpływających na rozwój limfocytów T. Witamina D stymuluje procesy różnicowania limfocytów T CD4+ w limfocyty T regulatorowe, zdolne do produkcji interleukiny 10, która hamuje wytwarzanie cytokin prozapalnych, takich jak interferon- $\gamma$ , IL-2, IL-3; jest inhibitorem osteopontyny, prozapalnej cytokiny stymulującej produkcję IL-12 przez makrofagi, interferonu- $\gamma$  i TNF przez limfocyty T oraz hamującej produkcję IL-10 przez limfocyty T-regulatorowe. Wymienione wyżej mechanizmy immunomodulacji i neuroprotekcji, w których udział bierze witamina D, pozwala zaliczyć tą substancję jako potencjalny lek w terapii chorób neurodegeneracyjnych o podłożu immunologicznym (Waszyk-Nowaczyk i in. 2020).

#### **4. Podsumowanie**

Biorąc pod uwagę wieloprzyczynowy i różnorodny charakter zmian leżących u podstaw chorób neurodegeneracyjnych, właściwym działaniem wydaje się poszukiwanie terapii o działaniu wielokierunkowym. Plejotropowe działanie witaminy D na ludzki organizm czyni ją jedną z substancji potencjalnie obiecujących w kontekście neuroprotekcji. Udział kalcytriolu w procesach nadzorujących proliferację, różnicowanie i apoptozę komórek organizmu sprawia, że mógłby należeć do grupy substancji stosowanych zapobiegawczo w chorobach neurodegeneracyjnych o różnej etiologii. W kontekście AD neuroprotektoryjne działanie witaminy D, polegające przede wszystkim na zmniejszeniu powstawania i akumulacji blaszek B-amyloidu, poprzez nadekspresję receptora VDR, zdaje się mieć duży potencjał terapeutyczny, ale wciąż wymaga dalszych badań. Podobna sytuacja wiąże się z potencjalnym działaniem witaminy D w PD. Dotychczasowe badania epidemiologiczne dostarczyły argumentów uznających kalcytriol za neurosteroid odgrywający rolę w etiopatogenezie PD. Dotychczas wykazano wpływ witaminy D na szereg szlaków metabolicznych, które mogą odgrywać znaczącą rolę w terapii stwardnienia rozsianego, a jej niedobór stwierdzono u większości osób chorych na MS. Odpowiednia suplementacja może prawdopodobnie przyczynić się do zminimalizowania ryzyka wystąpienia MS u osób z obciążeniem genetycznym. Badanie oddziaływań genomowych i niegenomowych witaminy D, na różne populacje komórek odpornościowych organizmu, takich jak limfocyty T i B, monocyty czy komórki prezentujące antygen (makrofagi i komórki dendrytyczne), umożliwiło poznanie kolejnych funkcji witaminy, jakim jest immunomodulacja. Tak szeroki zakres działania potwierdzony w licznych badaniach jest kluczowym argumentem wskazującym na potrzebę edukacji społeczeństwa w kontekście światowego niedoboru witaminy D i jego związku z wieloma problemami zdrowotnymi. Równie istotna jest profilaktyka polegająca na badaniu stężenia tej witaminy w surowicy krwi.

#### **5. Literatura**

- Balion C, Griffith LE, Striffler L, et al. (2012) Vitamin D, cognition, and dementia. *Neurology* 79 (13): 1397–1405.
- Chang SW, Lee HC (2019) Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. *Pediatrics and neonatology*. Jun;60(3):237-244.
- Dzik KP, Kaczor JJ (2019) Mechanisms of Vitamin D on Skeletal Muscle Function: Oxidative Stress, Energy Metabolism and Anabolic State. *European Journal of Applied Physiology* 119 (4): 825–39.
- Evatt ML, Delong MR, Khazai N, et al. (2008) Prevalence of Vitamin d Insufficiency in Patients with Parkinson Disease and Alzheimer Disease. *Archives of Neurology* 65 (10): 1348–52.

- Fernandes de Abreu DA, Eyles D, Féron F (2009) Vitamin D, a Neuro-Immunomodulator: Implications for Neurodegenerative and Autoimmune Diseases. *Psychoneuroendocrinology, Neuroactive steroids: effects and mechanisms of action*, 34 (grudzień): S 265–77.
- Gauthier S, Webster C, Servaes S et al. (2022) *World Alzheimer Report 2022: Life after diagnosis: Navigating treatment, care and support*. London, England: Alzheimer's Disease International.
- Gaweł M, Potulska-Chromik A (2015) Choroby neurodegeneracyjne: choroba Alzheimera i Parkinsona. *Postępy nauk medycznych t. XXVIII*, nr 7. 468-476.
- Granda D, Żyfka-Zagrodzińska A, Renc-Smolewska P i in. (2019) Witamina D u osób starszych - funkcje, ryzyko niedoboru i wiedza seniorów. *Kosmos* 68 (lipiec): 283–92.
- Hahn M, Hanspeter L, Günther F (1997) Effect of Calcitriol in Combination with Corticosterone, Interleukin-1 $\beta$ , and Transforming Growth Factor-B1 on Nerve Growth Factor Secretion in an Astroglial Cell Line. *Journal of Neurochemistry* 69 (1): 102–9.
- Jayedi A, Rashidy-Pour A, Shab-Bidar S (2019) Vitamin D status and risk of dementia and Alzheimer's disease: A meta-analysis of dose-response. *Nutritional Neuroscience* 22 (11): 750–59.
- Kamińska J, Koper OM i Piechal K, et al. (2017) Multiple sclerosis - etiology and diagnostic potential. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej*. 2017;71(0):551-563.
- Keeney Jeriel T, Allan Butterfield D (2015) Vitamin D Deficiency and Alzheimer Disease: Common Links. *Neurobiology of Disease, Redox Signaling in Neurodegenerative Disorders*, 84 (grudzień): 84–98.
- Landel V, Annweiler C, Millet PI et al. (2016) Vitamin D, Cognition and Alzheimer's Disease: The Therapeutic Benefit Is in the D-Tails. *Journal of Alzheimer's Disease* 53 (2): 419–44.
- Landfield PW, Cadwallader-Neal L (1998). Long-Term Treatment with Calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub> Vit D<sub>3</sub>) Retards a Biomarker of Hippocampal Aging in Rats. *Neurobiology of Aging* 19 (5): 469–77.
- Regulska M (2020) Różne oblicza «witaminy słońca». *Wszechświat* 121 (04–06).
- Newmark HL, Newmark J (2007) Vitamin D and Parkinson's disease--a hypothesis. *Mov Disord*. Mar 15;22(4): 461-8.
- Sajkowska-Kozielewicz JJ, Paradowska K (2016) Witamina D – składnik o wielostronnym działaniu. *HERBALISM* 1 (2): 35.
- Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, et al. (2013) What Have We Learned from the Streptozotocin-Induced Animal Model of Sporadic Alzheimer's Disease, about the Therapeutic Strategies in Alzheimer's Research. *Journal of Neural Transmission* 120 (1): 233–52.
- Waszyk-Nowaczyk M, Główna E (2020) „Rola witaminy d w chorobach nowotworowych i neurodegeneracyjnych – przegląd literatury”. *Farmacja Polska* 76 (3): 149–55.
- Wyskida M, Owczarek A, Szybalska A, et al. (2018) Socio-Economic Determinants of Vitamin D Deficiency in the Older Polish Population: Results from the PolSenior Study. *Public Health Nutrition* 21 (11): 1995–2003.

## **5. Enzymy wspomagające rozkład glutenu jako perspektywa wspomagania diety bezglutenowej u osób z celiakią**

Enzymes supporting the breakdown of gluten as a prospect for supporting a gluten-free diet in people with celiac disease

Chrobak Daria<sup>(1)</sup>, Gniadek Anna<sup>(2)</sup>, Chilińska Oliwia<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Polskie Towarzystwo Bioinformatyki i Data Science - BIODATA

<sup>(2)</sup> Wydział nauk przyrodniczych, Uniwersytet Śląskie

<sup>(3)</sup> Instytut Nauk o Morzu i Środowisku, Wydział nauk ścisłych i przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński

Opiekun naukowy: dr. Tymoteusz Miller

Chrobak Daria: daria.chrobak.hutyra@gmail.com

**Słowa kluczowe:** skrobia, polisacharydy, peptydazy, enzym, gluten

### **Streszczenie**

Celiakia jest jedną z najczęstszych chorób przewodu pokarmowego w Europie. Celiakia jest chorobą o podłożu autoimmunologicznym, a jej leczenie polega na stosowaniu diety bezglutenowej przez całe życie. Gluten jest głównym białkiem magazynującym ziarna pszenicy. Jest złożoną mieszaniną setek powiązanych, ale odrębnych białek, głównie gliadyny i gluteniny. Białka glutenu odgrywają kluczową rolę w określaniu wyjątkowej jakości wypiekowej pszenicy poprzez nadawanie ciastu zdolności wchłaniania wody, spoistości, lepkości i elastyczności. Peptydy glutenowe, które są odporne na trawienie w przewodzie pokarmowym, są antygenowo prezentowane limfocytom T specyficznym dla glutenu w błonie śluzowej jelita.

Doustna terapia enzymatyczna, wykorzystująca enzymy rozkładające gluten, jest obiecującym podejściem terapeutycznym. Warunkiem koniecznym jest, aby takie enzymy były aktywne w warunkach żołądkowo-dwunastniczych, szybko neutralizowały peptydy glutenowe aktywujące limfocyty T i były bezpieczne do spożycia przez ludzi. Liczne badania wykazują zdolności niektórych bakterii, a dokładniej ich enzymów, do degradowania białek glutenu do formy nie wykazującej aktywności immunogennej. Przegląd przedstawia trzy badane na tą chwilę enzymy a także miejsca w ludzkim organizmie w którym bakterie taką aktywność wykazują i są obiecującym kierunkiem w celu utworzenia doustnej terapii enzymatycznej dla osób z celiakią.

### **1. Wstęp**

Głównym źródłem glutenu są ziarna zbóż pszenicy, jęczmienia i żyta. Z owych ziaren wykonuje się wiele produktów spożywczych, które stanowią nieodłączny element życia prawie każdego człowieka. Gluten w reakcji z wodą tworzy sprężystą sieć, która nadaje ciastu puszystości i miękkości. W zależności od rodzaju zboża, metody oraz warunków uprawy zmianie może ulec ilość syntetyzowanych białek glutenu (Biesiekierski 2017). Celiakia (CeD) jest najczęstszą dziedziczną chorobą zapalną wywoływaną pokarmem. Charakteryzuje się spłaszczeniem proksymalnych kosmków jelitowych i hiperplazją krypt, co powoduje utratę powierzchni resorpcyjnej. To często powoduje złe wchłanianie składników odżywczych, witamin i minerałów oraz zwiększa ryzyko anemii, osteoporozy, bezpłodności, skądinąd rzadkich nowotworów jelita cienkiego i szerokiego spektrum chorób autoimmunologicznych (Wei i in. 2020). Po rozpoznaniu CeD, ścisła dieta jest skutecznym sposobem leczenia i złagodzenia, a nawet, zapobiegania rozwojowi chorób współistniejących. Jednakże najnowsze badania pokazują możliwość pozyskiwania enzymów pochodzących od mikroorganizmów w celu uniknięcia przypadkowego spożycia glutenu w produktach zagranicznych, nieopisanych bądź GMO (Kõiv i in. 2020).

W tym przeglądzie omawiamy ogólną charakterystykę białek glutenu, charakterystykę celiakii i pozostałych chorób nią spowodowanych, a także kluczowe zagadnienie istnienia

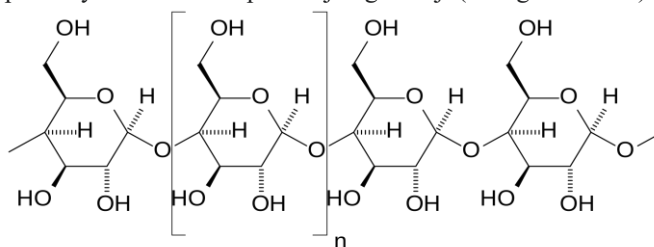
organizmów produkujących enzymy zdolne do rozkładu glutenu i możliwości ich zastosowania w terapii.

## 2. Charakterystyka białek glutenu

Białka glutenowe stanowią około 80–90 procent całkowitego białka bielma (jądra) pszenicy (Wei i in. 2020). Gluten to kompleks białek roślinnych oraz węglowodanów w skład których wchodzi skrobia (60-70%) w tym polisacharydy skrobiowe i nieskrobiowe (NSP) (6-16%), lipidy (1-2%) oraz proteiny znane jako białka zapasowe występujące w postaci gliadyn i glutenin. Białka te należą do grupy prolamin. Grupa ta charakteryzuje się wyjątkowo wysokim stopniem niejednorodności struktury (Biesiekierski 2017; Langer i Salmanowicz 2011).

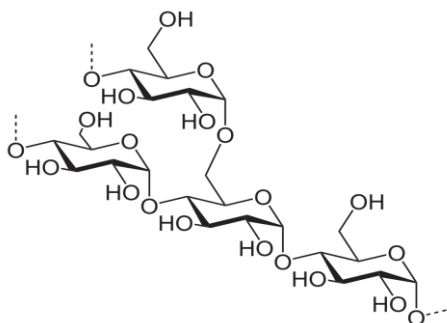
Podstawowym elementem składowym glutenu jest skrobia. Skrobia należy do grupy polisacharydów. W roślinie stanowi źródło materiału zapasowego. Występuje najczęściej w postaci granulek, które pod mikroskopem wyglądają jak zasocjowane ziarenka. Głównym składnikiem budulcowym skrobi są cząsteczki D-glukozy które połączone są ze sobą wiązaniami alfa-glikozydowymi. Jednakże sama cząsteczka skrobi złożona jest z dwóch frakcji jakimi są amyloza (Rys. 1) i amylopektyna (Rys. 2) (Wang i in. 2021; Biesiekierski 2017; Langer i Salmanowicz 2011).

Amyloza ma strukturę nierozgałęzionej, skręconej śrubowo nici, której reszty glukozowe połączone są ze sobą atomami tlenu za pomocą wiązań 1,4- $\alpha$ -glikozydowych (Günther, 2010). Amyloza nie jest rozpuszczalna w zimnej wodzie, natomiast rozpuszcza się w wodzie gorącej. Pod wpływem wysokiej temperatury może ulec stopniowej degradacji (Wang i in. 2021).



Rys. 1. Wzór strukturalny amylozy.

Amylopektyna natomiast, jest to wielocukier o łańcuchach mocno rozgałęzionych, zawierających dodatkowo oprócz wiązań 1,4-D-glikozydowych dodatkowe wiązania  $\alpha$ -1,6-glikozydowe. W porównaniu z amylozą, amylopektyna stanowi większą część składową skrobi (Wang i in. 2021).



Rys. 2. Wzór strukturalny amylopektyny.

Skrobia zaraz obok prolamin jest niezwykle cenionym składnikiem wśród piekarzy i cukierników.

Gliadyny to białka stanowiące 40-50% składu glutenu, a także wszystkich białek zapasowych pszenicy. Gliadyny zawierają sekwencje peptydowe (znane jako epitopy), które są wysoce odporne na trawienie proteolityczne w żołądku, i dalszej części przewodu pokarmowego. To

trudne trawienie jest spowodowane wysoką zawartością gliadyny w aminokwasach, prolinie i glutaminie, których wiele proteaz nie jest w stanie rozszcześcić (Biesiekierski 2017). Występują w postaci cząsteczek monomerycznych. Są to białka bez delikatnej struktury drugorzędowej. Przy pomocy rozdzału elektroforetycznego wyróżnić można cztery następujące frakcje: alfa-gliadyny, B-gliadyny,  $\gamma$ -gliadyny i w-gliadyny. Gliadyny alfa oraz beta zawierają trzy wiązania wewnątrzcząsteczkowe (SS) natomiast  $\gamma$ -gliadyny zawierają cztery takie wiązania. W przeciwieństwie do wyżej wymienionych cząsteczek w-gliadyny nie zawierają reszt cysteinowych (Wang i in. 2021; Wei i in. 2020; Biesiekierski 2017).

Wszystkie gliadyny zawierają peptydy stymulujące limfocyty T, jednakże, dwa peptydy pochodzące z  $\alpha$ - i  $\gamma$ -gliadyny, odpowiednio 33- i 26-merowe, są szczególnie silnymi aktywatorami limfocytów T i dlatego są one silnie skorelowane z zapoczątkowaniem, a także rozwojem CeD.

Natomiast gluteniny występują w postaci polimerycznych cząsteczek niskocząsteczkowych (LMW) lub polimerycznych cząsteczek wysokocząsteczkowych (HMW), które zawierają zagregowane białka połączone międzylańcuchowymi wiązaniami dwusiarczkowymi (Langer i Salmanowicz 2011).

### **3. Nietolerancja glutenu i choroby przez to spowodowane**

- a) Celiakia (CeD) - inaczej choroba trzewna - autoimmunologiczna choroba o podłożu genetycznym związana z uszkodzeniami błony śluzowej jelita cienkiego prowadzącymi do upośledzenia oraz zaniku kosmków jelitowych. Ich przyczyną jest niewłaściwa reakcja immunologiczna na spożywany gluten (Tanpowpong i in. 2012). Prezentacja białka gliadyny i aktywacja limfocytów T stanowi najważniejszy etap w zapoczątkowaniu choroby. Niekompletnie strawione białka glutenu wywołują silną odpowiedź immunologiczną. Na Celiakię zapadają nie tylko dzieci- gdzie najwyższy wskaźnik rozpoznania przypada na 5-11 rok życia, ale jak wskazują autorzy (Limanowska i wsp. 2014) także osoby dorosłe między 19 a 40 rokiem życia - głównie kobiety. W celu diagnozy choroby prowadzi się szereg badań potwierdzających takich jak badanie serologiczne przeciwciał specyficznych dla celiaki: przeciwko transglutaminazie tkankowej (tTG w klasie IgA i IgG); przeciwko endomysium mięśni gładkich (EmA w klasie IgA i IgG) przeciw deamidowanym peptydom gliadyny (DGP), przeciwgliadynowe (AgA) w klasie IgA i IgG. (3), oraz badania genetyczne w kierunku wykrycia wariantu genu HLA-DQ2 i HLA-DQ8. Autorzy prac wskazują iż tylko kompleksowe badania genetyczne, histologiczne - biopsja jelita cienkiego oraz serologiczne w połączeniu z typowymi objawami choroby mogą potwierdzić chorobę. (Herrán i in. 2017; Catassi i in. 2013).
- b) Alergia na pszenicę (WA) - pojawia się, kiedy organizm reaguje w nieprawidłowy sposób na białka występujące w zbożu. Wg (Nwaru i in. 2014) WA jest klasyfikowana jako trzecia najczęściej występująca alergia w Europie, zaraz po alergii na mleko i jajka. W przeciwieństwie do celiakii sama alergia nie wynika z podłoża genetycznego. Zastosowanie odpowiedniej diety pozwala na całkowite wyeliminowanie problemu, jednak jak wskazują autorzy (Limanowska i in. 2014) jest to proces wieloletni. Badania pokazują iż alergia pokarmowa może być skorelowana również z kofaktorami powodującymi jej nasilenie takimi jak wysiłek fizyczny czy leki przeciwzapalne oraz alkohol (Biesiekierski i in. 2011). Proces wykrycia alergii wskazuje na podwyższony poziom specyficznych IgE (Bartuzi i Ukleja-Sokołowska 2014).
- c) Nadwrażliwość na gluten bez celiakii (NCGS) - obejmuje kompleks objawów charakterystycznych dla wielu nadwrażliwości pokarmowych takich jak: biegunka, bóle brzucha, wzdęcia oraz inne dolegliwości pozajelitowe: bóle mięśni, głowy czy stany lękowe. Wg badań porównawczych pacjentów narażonych na białka glutenu jak i tych z grupy placebo jednoznaczne wskazanie na przyczynę powiązania glutenu z objawami jest trudne, jednak korelacja ta istnieje (Bartuzi i Ukleja-Sokołowska 2014). Wzdęcia czy inne objawy jelitowe mogą być spowodowane fermentacją słabo przyswajalnych białek glutenu.

- d) Choroba Dühringa (DH) - opryszczkowate zapalenie skóry Dühringa. Choroba ta definiowana jest jako skórny objaw celiakii występująca u osób nadwrażliwych na gluten. Związana jest z produkowaniem przeciwciał przeciwko transglutaminazie tkankowej (tTG) co jest typowe także w celiakii (Antiga i in. 2013). Charakterystycznymi objawami są pęcherze oraz zgrupowane grudki pojawiające się w kilku miejscach na skórze takich jak przedramiona, okolice kończyn i krzyża czy pośladki oraz intensywny świąd (Di Martino i in. 2018).

#### 4. Opis zagadnienia

Celem poniższego przeglądu była analiza badanych enzymów zdolnych do degradacji glutenu, zarówno pochodzenia bakteryjnego jak i grzybiczego.

#### 5. Przegląd literatury

W celu pozyskania źródeł informacji przeszukano domenę PubMed. Przeszukano publikacje zawierające informacje o badaniach nad enzymami zdolnymi do degradacji glutenu, wszystkie w fazach przedklinicznych. Przeanalizowano 26 artykułów z których wykorzystano 4 głównie odpowiadających badanemu zagadnieniu.

#### 6. Mikroorganizmy i enzymy wspomagające trawienie glutenu

Poszukiwanie alternatywnych ścieżek terapeutycznych w leczeniu CeD stało się tematem o dużym znaczeniu dla społeczności chorych na celiakię i pracowników służby zdrowia. Zastosowanie glutenaz, tj. endoproteaz specyficznych dla proliny i glutaminy, jako środków terapeutycznych, zostało zaproponowane jako realna nowa terapia w leczeniu CeD (Alhassan i in. 2019). Ponieważ proteazy żołądkowo-jelitowe ssaków nie mają zdolności do skutecznego rozszczepiania i znoszenia właściwości immunogennych odpowiednich peptydów glutenowych, badane są egzogenne źródła enzymów proteolitycznych pod kątem ich potencjału do uzupełnienia repertuaru enzymatycznego kodowanego przez człowieka, do trawienia peptydów opornych na proteolizę. W bakteriach, grzybach i roślinach zidentyfikowano wiele różnych enzymów rozkładających gluten. Na przykład jęczmień wytwarza pochodzącą z nasion endoproteazę cysteinową specyficzną dla glutaminy, a niektóre bakterie wytwarzają endopeptydazy prolinowe lub subtylizyny, które są bardzo skuteczne w trawieniu glutenu (Bethune i Kholosa 2012). Poniżej przedstawiono wybrane enzymy, które wykazują zdolność do rozkładu glutenu:

- a) Endopeptydazy prolinowe (PEP) – Enzymy ukierunkowane na typowe regiony glutenu bogate w prolinę z których kilka zawiera immunogenne epitopy komórek T. PEP pochodzą z bakterii i grzybów. PEP bakteryjne pochodzą od *Flavobacterium meningospeticum*, *Sphigomonas capsulata* a także od *Myxococcus xanthus*. Jest to enzym również produkowany przez pospolicie występującego grzyba *Aspergillus niger*. Liczne badania wykazały (Hausch i in. 2002), że chociaż wszystkie testowane enzymy wykazywały wysoce specyficzną aktywność wobec referencyjnych substratów chromogennych, wykazywały różnice w specyficzności w zależności od długości łańcucha peptydowego glutenu. Enzymy te wykazywały umiarkowaną stabilność w stosunku do proteaz trzustkowych i ekspozycji na kwasy, ale ich zdolności proteolityczne były całkowicie inaktywowane przez pepsynę, co wymagało ich ochrony przed kwasem żołądkowym i pepsyną, chociażby w kapsułkach aż do dotarcia w dalsze części układu pokarmowego (Kõiv i in. 2021; Wei i in. 2020)
- b) Endoproteaza cysteinowa specyficzna dla glutaminy (EP-B2) – Kolejne badania (Ludvigsson i in. 2018) dotyczyły zdolności proteolitycznych specyficznej dla glutaminy endoproteazy cysteinowej pochodzącej z nasion kielkującego jęczmienia. (Kõiv i in. 2021; Wei i in. 2020). Zespół Khosla w 2008r. (Bethune i in. 2008) przeprowadził badania nad izolacją, zwiększeniem skali i walidacją in vivo enzymu, z wykorzystaniem ekspresji u *E.coli* i wygenerował formy zymogenu enzymu w dużych ilościach

- z wykorzystaniem skalowalnej fermentacji, ponownego fałdowania i procesu oczyszczania.
- c) Ponieważ EP-B2 ma specyficzną miejscowość rozszczepienia dla reszt poglutaminowych, opracowano kombinację terapii enzymatycznej zarówno EP-B2, jak i PEP, która może skutecznie rozszczepiać te peptydy po resztach proliny, do leczenia CeD. Zatem badania *in vitro* wykazały, że kombinacje dwóch enzymów były zdolne do synergistycznego trawienia peptydów glutenu i skutecznego zmniejszania ich immunogenności w symulowanych warunkach żołądkowych (Kõiv i in. 2021; Wei i in. 2020).
- d) Elastaza LasB – enzym ten zyskał duże zainteresowanie ze względu na jego pochodzenie. Jest to pozakomórkowa metalopeptydaza wydzielana przez *Pseudomonas aeruginosa*, oportunistycznego patogena, który został wyizolowany z ludzkich odchodów oraz dwunastnicy pacjentów z CeD. Elastaza LasB skutecznie hydrolizuje cząsteczki glutenu, jednakże wytwarza wiele krótszych, immunogennych peptydów, które mogą aktywować komórki T u pacjentów z CeD. Badania *in vivo* u myszy, wykazały iż niektóre egzopeptydazy produkowane przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, izolowanych od ludzi bez CeD są zdolne do rozkładu tych peptydów, zmniejszając w ten sposób ich immunogenność (Kõiv i in. 2021).
- e) Enzymy rozkładające gluten, obecne w ludzkiej ślinie i przewodzie pokarmowym - Istnieją tysiące gatunków bakterii, które zamieszkują przewód pokarmowy człowieka, niektóre z nich wykazują potencjalne możliwości do rozkładu glutenu. Warto mieć na uwadze iż, skład mikrobiomu ma bezpośredni wpływ na objawy choroby związane ze spożyciem glutenu.
- Jama ustna - Trawienie spożywanego pokarmu rozpoczyna się w jamie ustnej. Liczne badania wykazały że bakterie z jamy ustnej mają zdolność rozkładania glutenu, np. *Rotia* spp., *Neisseria mucosa*, *Capnocytophaga sputigena* wykazują wysoką aktywność przeciwko gliadynie oraz/bądź 33-merowemu peptydowi immunogennemu. Ślina zawiera dużą ilość białek bogatych w prolinę; których rozkład najprawdopodobniej rozpoczynają subtylizyny wytwarzane przez bakterie jamy ustnej. Dlatego jest prawdopodobne, że niektóre z tych bakterii mogą również przyczynić się do degradacji glutenu. Enzym izolowany od *Rothia mucilaginosa* został następnie pomyślnie wyizolowany i zidentyfikowany jako należący do rodziny peptydaz S8 zwanych subtylizynami (Kõiv i in. 2021; Wei i in. 2020; Herrán i in. 2017).
  - Jelito cienkie – Wiele produktów degradacji spowodowanej trawieniem substancji jest wchłanianych w jelicie cienkim, które pełni również silne funkcje immunomodulujące. Zgodnie z tym, CeD jest wyzwalany w jelicie cienkim. Warunki w dwunastnicy mogą być również trudne dla niektórych bakterii, ponieważ zawiera ona wysokie poziomy ludzkich proteaz i kwasów żółciowych. Fizjologiczne zbiorowiska bakterii w jelicie cienkim są trudne do zbadania ze względu na konieczność wykonania biopsji. Do tej pory opublikowano tylko jedno badanie (Herrán i in. 2017), które ocenia potencjał degradacji glutenu zbiorowisk bakterii w jelicie cienkim, a dokładniej w dwunastnicy. Bakterie z próbek biopsyjnych z dwunastnicy badano pod kątem ich aktywności podczas degradacji nienaruszonego glutenu i 33-merowego peptydu (Kõiv i in. 2021; Herrán i in. 2017). Badanie to wykazało, że 15 gatunków bakterii jest w stanie zhydrolizować 33-mer. Dodatkowo zidentyfikowane bakterie, które wykazywały zewnątrzkomórkową aktywność degradującą gluten, takie jak: *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *L. casei/paracasei*, *Pseudomonas aeruginosa* i *S. aureus* (Kõiv i in. 2021; Wei i in. 2020; Herrán i in. 2017).
  - Okrężnica - Badania prowadzone przez Caminero i zespół (Caminera i in. 2014), zidentyfikował aktywność zdolną do degradacji glutenu w licznych szczepach, podobnych do tych wykazujących aktywność w jelicie cienkim, takich jak *B. subtilis*,

*C. pergringens*, *C. sporogenes*, *Enterococcus faecalis* oraz *faecium*, *S. epidermidis* (Kõiv i in. 2021; Herrán i in. 2017).

## 7. Podsumowanie

Celiakia i choroby towarzyszące spowodowane nietolerancją glutenu są coraz częstszym problemem naszego społeczeństwa. A obiecujące okazują się być enzymy produkowane przez bakterie zdolne do trawienia białek glutenu. Kiedy enzymy mają być wykorzystane do wspomaganie trawienia glutenu, należy stawić czoła dodatkowym wyzwaniom. Enzymy muszą rozłożyć gluten do punktu, w którym immunogenność zostaje zniesiona, zanim pokarm zawierający gluten, który zwykle jest osadzony w złożonej matrycy pokarmowej, dotrze do bliższej części jelita cienkiego. Ponadto enzymy są białkami i są prawdopodobnie podatne na degradację proteolityczną w surowym środowisku przewodu pokarmowego, który jest bardzo bogaty w enzymy proteolityczne, w tym pepsynę, trypsynę i chymotrypsynę. Wreszcie, enzymy rozkładające gluten, takie jak subtilizyny, mają określoną strukturę drugorzędową, która jest podatna na denaturację, a tym samym na zniesienie aktywności enzymatycznej przy kwaśnym pH, jakie występuje w żołądku. Mimo tych przeciwności stawianych podczas dostarczenia enzymów do naszego organizmu, istnieją środki dostarczające enzym laktazy dla osób cierpiących na nietolerancję laktozy.

Dalsze badania nad enzymami rozkładającymi gluten, ich pozyskanie i przebadanie w fazach klinicznych, i końcowo, komercjalizacja, jest dla wielu osób jedyną szansą na spożywanie minimalnych ilości glutenu bez narażenia się na objawy chorobowe.

## 8. Literatura

- Alhassan E, Yadav A, Kelly C.P i in. (2019) Novel nondietary therapies for celiac disease. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 8(3): 335–345.
- Antiga E, Verdelli A, Calabrò A i in. (2013) Clinical and immunopathological features of 159 patients with dermatitis herpetiformis: an Italian experience. *Italina Journal of dermatology and venereology* 148(2): 163-169.
- Bartuzi Z, Ukleja-Sokołowska N (2014) Alergia pokarmowa na mąkę i celiakia. *Alergia* 2: 4-10.
- Bethune MT, Khosla C (2012) Oral enzyme therapy for celiac sprue. *Methods in Enzymology* 502: 241–271.
- Bethune M.T, Ribka E, Khosla C i in. (2008) Transepithelial transport and enzymatic detoxification of gluten in gluten-sensitive rhesus macaques. *PLOS ONE Journal* 3: e1857.
- Biesiekierski J.R, Newnham E.D, Irving P.M i in. (2011) Gluten Causes Gastrointestinal Symptoms in Subjects Without Celiac Disease: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial. *The American Journal of Gastroenterology* 106(3): 508-515.
- Biesiekierski J.R (2017) What is gluten? *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 32: 78–8.
- Caminero A, Herrán A.R, Nistal E, Pérez-Andrés J i in. (2014) Diversity of the cultivable human gut microbiome involved in gluten metabolism: isolation of microorganisms with potential interest for coeliac disease. *FEMS Microbiology Ecology* 88(2): 309–319.
- Catassi C, Bai J.C, Bonaz B i in. (2013) Non-celiac gluten sensitivity: The new frontier of gluten related disorders. *Nutrients* 5(10): 3839–3853.
- Di Martino Ortiz B, Macchi H, Rebull C.V i in. (2018) Dermatitis herpetiformis: celiac disease of the skin. *dermatitis herpetiformis: celiac disease of the skin. Report of two cases report of two cases. Our Dermatology online* 9(1): 44-47.
- Hausch F, Shan L, Santiago N.A i in. (2002) Intestinal digestive resistance of immunodominant gliadin peptides. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* 283(4): 996–1003.
- Herrán A.R, Pérez-Andrés J, Caminero A i in. (2017) Gluten-degrading bacteria are present in the human small intestine of healthy volunteers and celiac patients. *Research in microbiology* 168(7): 673–684.
- Kõiv V, Adamberg K, Adamberg S i in. (2020) Microbiome of root vegetables—a source of gluten-degrading bacteria. *Applied microbiology and biotechnology* 104(20): 8871-8885.



- Langer M, Salmanowicz B (2011) Białka glutenowe i ich wpływ na jakość wypieków pszenicy. *Postępy Nauk Rolniczych* 4: 91-104.
- Limanowska P, Kubiak J, Napieraj K i in. (2014) Ocena wybranych aspektów życia codziennego i czynników determinujących przestrzegania diety bezglutenowej u osób chorych z celiakią. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu* 20(4): 356–359.
- Ludvigsson J.F, Ciacci C, Green P.H i in. (2018) Outcome measures in coeliac disease trials: The Tampere recommendations. *Gut* 67(8): 1410–1424.
- Nwaru B.I, Hickstein L, Panesar S.S (2014) Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy* 69(8): 992–1007.
- Tanpowpong P, Ingham T.R, Lampshire P.K i in. (2012) The New Zealand Asthma and Allergy Cohort Study Group. *Archives of Disease in Childhood* 97: 12–16.
- Wang Z, Ma S, Sun B i in. (2021) Effects of thermal properties and behavior of wheat starch and gluten on their interaction: A review. *International journal of biological macromolecules* 177: 474–484.
- Wei G, Helmerhorst EJ, Darwish G i in. (2020) Gluten Degrading Enzymes for Treatment of Celiac Disease. *Nutrients* 12(7): 2095.

## **6. Wiedza na temat zdrowego żywienia matek dzieci w wieku wczesnoszkolnym**

Knowledge on healthy nutrition of mothers of early childhood children

Łukasz Długoński, Kaja Karwowska, Magdalena Skotnicka

Katedra Żywienia Klinicznego, Gdański Uniwersytet Medyczny

Opiekun naukowy: dr hab. inż. Magdalena Skotnicka

Łukasz Długoński: dlugonski@gmail.com

Słowa kluczowe: dzieci, otyłość, nawyki żywieniowe, wpływ rodzicielski, informacje o żywieniu

### **Streszczenie**

Problemy z nadwagą i otyłością w dzieciństwie i okresie dojrzewania mają negatywny wpływ na zdrowie przez całe życie. To, co jemy i jak prowadzimy swoje życie w młodym wieku, wpływa na nasze zdrowie w przyszłości. Niestety, nawyki te są trudne do zmiany i często pozostają z nami na długo po osiągnięciu dorosłości. Celem badania było zbadanie roli matki w kształtowaniu nawyków żywieniowych ich dzieci. Badanie przeprowadzono w 7 Publicznych Szkołach Podstawowych, mieszczących się w województwie pomorskim w Polsce. W ankiecie wzięło udział 613 matek. W badaniu wykorzystano Kwestionariusz Zachowań Żywieniowych Dziecka (CEBQ) oraz Kwestionariusz Częstotliwości Żywności (FFQ). Badania wskazały, że nadmierne spożycie słonych przekąsek i słodzonych napojów stanowi jedną z głównych przyczyn nadwagi u dzieci. Matki, które czerpią swoją wiedzę żywieniową z Internetu, często narażają swoje dzieci na tego typu produkty, które są łatwo dostępne dla dzieci. Badania wykazały, że matki, które uważają swoje nawyki żywieniowe za niezdrowe, częściej wprowadzają do diety swoich dzieci produkty o niskiej wartości odżywczej. Wszystkie te działania prowadzą do występowania otyłości u dzieci. Dalsze badania i odkrywanie kolejnych czynników, które wpływają na występowanie nadwagi i otyłości u dzieci, są niezwykle istotne dla stworzenia efektywnych strategii kontrolowania masy ciała oraz systemów edukacyjnych, które pomogą zminimalizować ryzyko rozwoju tych chorób.

### **1. Wstęp**

Otyłość dziecięca jest powszechnym problemem zdrowotnym na całym świecie, który dotyka coraz większej liczby dzieci i młodzieży (Bentham i in. 2017). Otyłość jest efektem skomplikowanej kombinacji wielu elementów, w tym sposobu odżywiania (Neri i in. 2022). Epidemia otyłości ma negatywny wpływ na różne aspekty zdrowia zarówno krótkoterminowo, jak i długoterminowo. Oznacza to, że dzieci z nadwagą lub otyłością narażone są na problemy zdrowotne (Homs i in. 2023). Według Waśniewska M. otyłość w dzieciństwie pięciokrotnie zwiększa ryzyko otyłości w wieku dorosłym i koreluje z przyszłymi chorobami (Wasniewska i in. 2023). Otyłość wynika przede wszystkim z potrzeby magazynowania energii, gdy spożycie energii w diecie przekracza wydatek energetyczny (Gregory 2019). Najnowsze dane pokazują, że około 39 milionów dzieci poniżej 5 roku życia miało nadwagę lub otyłość (Santos 2021). Niewłaściwe odżywianie matek jest poważnym problemem zdrowia publicznego ze względu na niekorzystne konsekwencje zarówno dla nich, jak i ich dzieci (Nguyen 2021). Kołłajtis-Dołowy A. uważa, że choć zainteresowanie tematyką żywienia nie zapewnia automatycznie poprawy jakości diety, to daje ono szansę na dokonanie pozytywnych zmian. Kluczowe jest jednak, aby informacje o żywieniu pochodziły z rzetelnych źródeł, opartych na aktualnej wiedzy naukowej. Większość (80%) badanych wyraziła, że korzystała z Internetu, aby uzyskać informacje dotyczące żywienia. Ponad 40% respondentów wskazało, że czasopisma popularne były dla nich ważnym źródłem wiedzy o żywieniu. Inne istotne źródła informacji na temat żywienia to telewizja, fachowa literatura, znajomi i koledzy, szkoła, rodzina, a także lekarze i dietetycy. Natomiast radio okazało się być najmniej popularnym źródłem informacji (Kołłajtis-Dołowy 2015). Według badań Stankiewicz J. respondenci wskazali, że głównym źródłem wiedzy na temat właściwego odżywiania dzieci w wieku przedszkolnym jest

Internet. Z kolei wyniki badań sugerują, że lekarze odgrywają niewielką rolę w dostarczaniu informacji na temat żywienia dzieci (Stankiewicz 2013). Młodzi ludzie są bardzo zaangażowani w korzystanie z mediów społecznościowych, zwłaszcza jeśli chodzi o tematykę zdrowia. Wiele badań wykazało, że kobiety często korzystają z Internetu, aby znaleźć informacje na temat zdrowia, a jednym z najczęstszych sposobów, jakie wykorzystują, jest szukanie diet w sieci (Goodyear 2017). Badania Fassier P. pokazują, że korzystanie z Internetu w celu znalezienia informacji na temat żywienia stało się powszechne w dzisiejszych czasach. Jednakże, wraz z rosnącą ilością dostępnych informacji, pojawia się również problem z potencjalnie wprowadzającymi w błąd treściami dotyczącymi zdrowia i odżywiania Osoby, które poszukują informacji na temat żywienia w Internecie, często narażone są na nieprawdziwe lub niekompletne informacje, które mogą wprowadzić ich w błąd i negatywnie wpłynąć na ich zdrowie (Fassier 2016). Celem badania była analiza wpływu wiedzy na temat zdrowego żywienia matek dzieci w wieku wczesnoszkolnym na występowanie nadwagi i otyłości u nich.

## 2. Materiały i metody

### 2.1 Projekt badania

W okresie od listopada 2022 r. do lutego 2023 r., przeprowadzono badanie w 7 Publicznych Szkołach Podstawowych, mieszczących się w województwie pomorskim w Polsce. Celem badania było zbadanie roli matki w kształtowaniu nawyków żywieniowych ich dzieci. Przed przystąpieniem do badania, informowano uczestników, że badanie będzie w pełni anonimowe i wyniki będą wykorzystane tylko w celach badawczych. Udział w badaniu był dobrowolny, a każdy respondent wyraził świadomą zgodę na udział w badaniu poprzez stronę internetową.

Ankieta składała się z 11 pytań zamkniętych. Pytania zostały wybrane w sposób umożliwiający poznanie podstawowych cech respondentów oraz nawyków żywieniowych i zachowań matek biorących udział w badaniu. Pierwsza część kwestionariusza zawierała pytania, które pozwoliły na zróżnicowanie grupy badawczej oraz określenie podstawowych cech respondentów. Druga część dotyczyła nawyków żywieniowych i zachowań matek. W badaniu wykorzystano Kwestionariusz Zachowań Żywieniowych Dziecka (CEBQ) oraz Kwestionariusz Częstotliwości Żywności (FFQ), z wyłączeniem pytań dotyczących snu i aktywności fizycznej. Przyczyną takiego wyboru było to, że w badaniu wzięły udział wyłącznie matki dzieci uczęszczających na zajęcia wychowania fizycznego organizowane w szkole 4 razy w tygodniu i nie uprawiających żadnego innego sportu poza szkołą. Dzieci, które nie uczestniczyły w zajęciach sportowych ze względu na stan zdrowia, zostały wykluczone z badania.

### 2.2 Uczestnicy

W ankiecie wzięło udział 613 matek w wieku od 21 do ponad 43 lat ( $M = 33,9$ ). W badaniu uwzględniono zarówno chłopców, jak i dziewczynki. Analiza wyników wykazała, że w populacji badanych dzieci dziewczynki - stanowią 47.96% badanej grupy, podczas gdy chłopcy stanowią 52.04%. Ponadto, ustalono średnią wieku badanych dzieci, która wynosi 11.40 lat (Tab.1).

**Tab.1.** Charakterystyka dzieci uczęszczających do szkół podstawowych.

<b>pleć</b>	<b>n</b>
dziewczynki	294
chłopcy	319
<b>wiek</b>	<b>N / M</b>
dziewczynki	(6-15) / 11.78
Chłopcy	(5-15) / 11.02

### 2.3 Gromadzenie danych

Zaproszenie do udziału w badaniu zostało wysłane do administratorów szkół w celu udostępnienia na stronie internetowej ucznia, mediach społecznościowych i elektronicznym dzienniku o nazwie Librus. Ankieta została przygotowana w Google Forms i skierowana do matek

dzieci uczęszczających do szkół. Respondenci byli zaangażowani dobrowolnie. Respondenci zostali również poinformowani o anonimowości i poufności badania. Respondenci nie podali swoich nazwisk ani danych kontaktowych. Odpowiedzi zostały zapisane dopiero po kliknięciu przycisku "wyślij" po wypełnieniu ankiety. Uczestnicy nie otrzymywali wynagrodzenia za udział w badaniu.

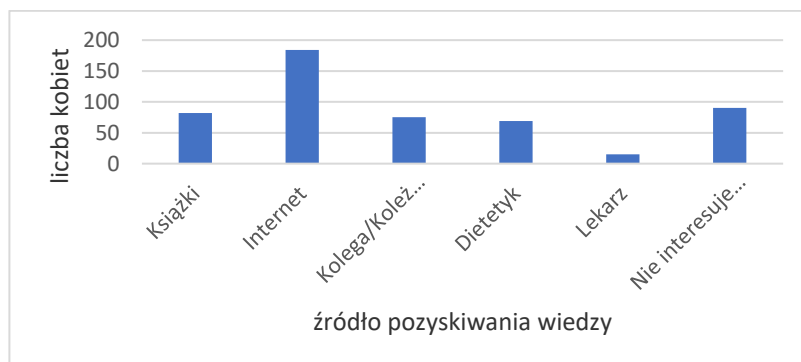
## 2.4 Analiza danych

Analiza została oparta na Statistica 12 Advanced Pack with Plus Kit, PQStat 1.8.0.438 i Excel 2019. Wykorzystano statystyki dotyczące zmiennych jakościowych, ponieważ występują one w badaniach (test chi-kwadrat, regresja logistyczna). Test chi-kwadrat jest narzędziem statystycznym używanym do testowania zgodności między rozkładami empirycznymi i teoretycznymi. Sprawdzone, czy istnieje związek między dwiema zmiennymi nominalnymi oraz czy częstotliwość występowania pewnych zjawisk jest zgodna z oczekiwaniami teoretycznymi. Interakcja, czyli oddziaływanie łączne. Mówi nam ona, w jakim stopniu wpływ jednego czynnika zależy od poziomu drugiego czynnika. Jeżeli pozostaje on taki sam, to nie ma żadnej interakcji. W przeciwnym wypadku między dwoma czynnikami zachodzi interakcja. Efekt interakcji jest to jednoczesny wpływ kilku zmiennych niezależnych na zmienną zależną. Występowanie istotnego efektu interakcji oznacza, że wpływ jednego czynnika (zmiennej niezależnej) na zmienną zależną jest różny na poszczególnych poziomach innego czynnika.

## 3. Wyniki

### 3.1 Charakterystyka źródeł pozyskiwania wiedzy o nawykach żywieniowych przez matki

W badaniu przeanalizowano odpowiedzi 613 matek, których dzieci uczęszczają do publicznych szkół podstawowych w Polsce. Badanie składało się z 12 pytań dotyczących zachowań i nawyków żywieniowych matek i ich dzieci. W badaniu kobiety wskazywały źródła pozyskiwania wiedzy na temat nawyków żywieniowych (Rys.1). Zgodnie z wynikami przeprowadzonego badania, udział dietetyka w źródłach informacji dotyczących zdrowego odżywiania wynosi 13.40%. Największy wpływ na zdobycie wiedzy na ten temat ma Internet, którego udział wynosi 35.73%. Z kolei informacje od kolegów i koleżanek są wykorzystywane przez 14.56% badanych. Książki zajmują 15.92% udziału w pozyskiwaniu informacji o zdrowym stylu życia. Natomiast lekarze mają zaledwie 2.91% wpływu na edukowanie pacjentów w zakresie prawidłowego odżywiania. Niepokojące wyniki odnotowano wśród osób, które nie interesują się zdrowym odżywianiem, a których udział wynosi aż 17.48%.

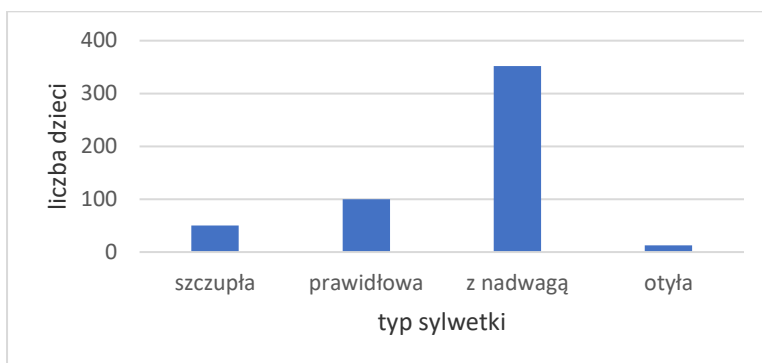


Rys.1. Miejsce pozyskiwania wiedzy przez matki na temat nawyków żywieniowych.

### 3.2 Ocena sylwetki dziecka z perspektywy matek

W badaniu przeprowadzonym wśród matek dzieci w wieku szkolnym, oceniono ich sylwetki w czterech kategoriach: otyła, prawidłowa, szczupła oraz z nadwagą (Rys.2). Wyniki pokazują, że większość matek (68.35%) oceniła swoje dzieci jako posiadające nadwagę. Warto zauważyć, że

jedynie niewielki odsetek matek (2.52%) ocenił swoje dzieci jako otyłe. 19.42% matek oceniło sylwetki swoich dzieci jako prawidłowe.



**Rys. 2.** Ocena sylwetki dziecka z perspektywy matek.

Wartość  $p$  jest bardzo mała ( $p = 0,0000$ ), co oznacza, że istnieją statystycznie istotne różnice między rozkładami empirycznymi i teoretycznymi. Innymi słowy, możemy odrzucić hipotezę zerową, nie ma różnic w typie ciała u dzieci w zależności od miejsca pozyskiwania wiedzy przez matki. Badanie pokazuje istotną zależność statystyczną między wiedzą żywieniową matek a występowaniem otyłości i nadwagi u dzieci. Różnice statystyczne skłoniły do głębszej analizy tego, jakie czynniki mogą determinować potencjalnie wyższy odsetek otyłych dzieci.

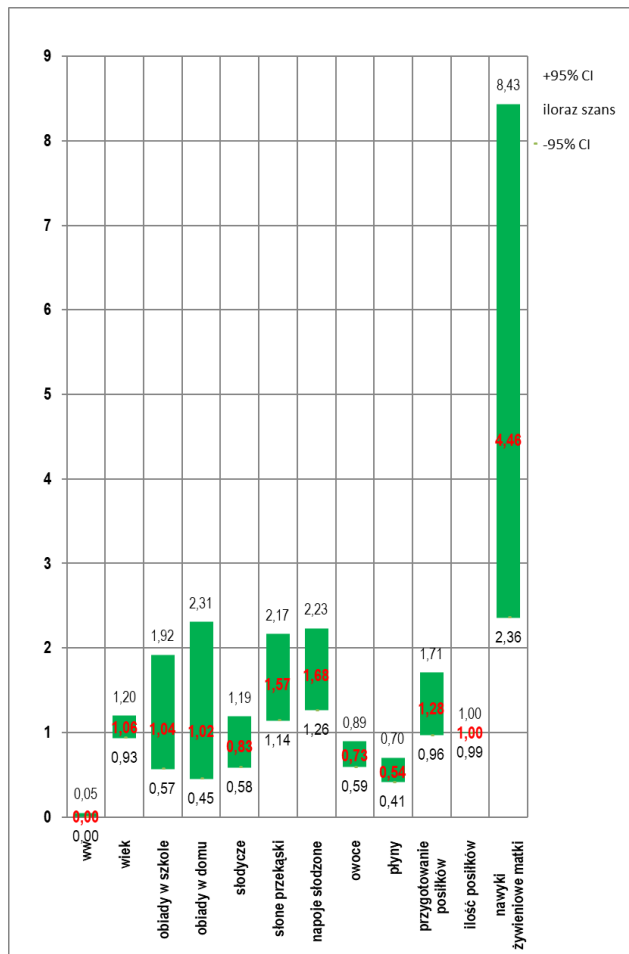
### 3.3 Determinanty kształtujące nadwagę i otyłość wśród dzieci

Wzrastająca liczba dzieci na całym świecie cierpi z powodu nadwagi i otyłości, które są szkodliwe dla ich zdrowia. Wiele czynników, w tym genetyka, styl życia i nawyki żywieniowe, przyczynia się do występowania nadwagi i otyłości u dzieci. Z uwagi na ryzyko chorób związanych z nadmierną wagą, są prowadzone badania, aby lepiej zrozumieć te czynniki i ich wpływ na organizm dziecka. Skupiają się one na czynnikach wpływających na przyrost masy ciała dzieci oraz na tym, jak wpływają one na zdrowie dziecka.

Na podstawie analizy porównywania modeli, ze statystycznego punktu widzenia, optymalnym modelem badającym wpływ sposobu odżywiania dziecka na jego sylwetkę jest model zawierający 11 zmiennych niezależnych oraz wyraz wolny.

Jakość dopasowania modelu jest średnio wysoka ( $R2Pseudo=0,41$ ,  $R2Nagelkerke=0.57$  i  $R2Coxa-Snella=0.42$ ). Jednocześnie model jest istotny statystycznie (wartość  $p < 0.000001$  testu ilorazu wiarygodności), a zatem zmienne niezależne znajdujące się w modelu są istotne statystycznie. Wynik testu Hosmera - Lemeshowa wskazuje na brak istotności ( $p=0.076843$ ). Przy czym, w przypadku testu Hosmera - Lemeshowa pamiętamy o tym, że brak istotności jest pożądany, bo wskazuje na podobieństwo liczebności obserwowanych i prawdopodobieństwa przewidywanego. Szansa na wystąpienie wzrostu nadwagi a następnie otyłości u dziecka zależy od wymienionych zmiennych w sposób opisany poprzez Iloraz Szans. Badanie wykazało, że im większa jest częstość spożywania słonych przekąsek przez dziecko tym szansa na wystąpienie u niego nadwagi i otyłości jest większa ( $OR[95\%CI]=1.57[1.14;2.17]$ ). Dodatkowo, im większa jest częstość spożywania napoi słodzonych przez dziecko tym szansa na wystąpienie u niego nadwagi i otyłości jest większa ( $OR[95\%CI]=1.68[1.26;2.23]$ ). Z drugiej strony badanie wykazało, że im większa jest częstość spożywania owoców przez dziecko tym szansa na wystąpienie nadwagi i otyłości u niego jest mniejsza ( $OR[95\%CI]=0.72[0.59;0.89]$ ). Podobnie wygląda kwestia wypijanych płynów w ciągu dnia, im jest większa, tym szansa na wystąpienie nadwagi i otyłości u dzieci jest mniejsza ( $OR[95\%CI]=0.54[0.41;0.70]$ ). Wyniki badań wykazały, że im gorzej matka ocenia swoje nawyki żywieniowe tym szansa na wystąpienie u jej dziecka nadwagi i otyłości jest większa ( $OR[95\%CI]=4.46[2.36;8.43]$ ). W przypadku zmiennych nieistotnych statystycznie przedział ufności dla Ilorazu Szans zawiera jedynie co oznacza, że zmienne te nie zwiększają ani nie zmniejszają

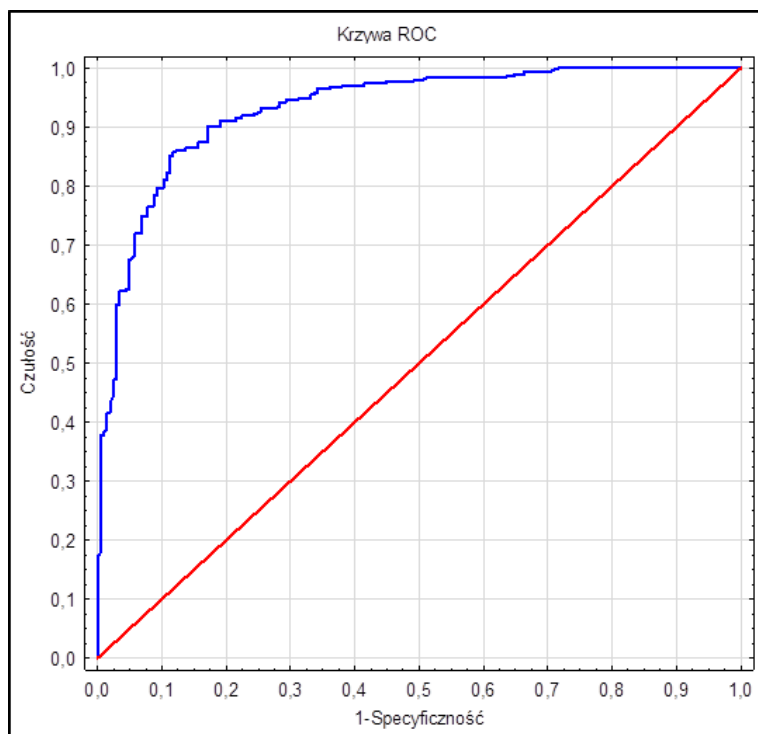
szansy na wystąpienie badanej wady. Nie można więc interpretować uzyskanego ilorazu w podobny sposób jak dla zmiennych istotnych statystycznie (Rys.3).



Rys. 3. Wpływ sposobu odżywiania dziecka na jego sylwetkę.

AUC - pole pod krzywą ROC –Krzywa ROC, zbudowana w oparciu o wartość zmiennej zależnej oraz przewidywane prawdopodobieństwo zmiennej zależnej P, pozwala na ocenę zdolności zbudowanego modelu regresji logistycznej do klasyfikacji przypadków do dwóch grup: (1) i (0). Powstała w ten sposób krzywa, a w szczególności pole pod nią, obrazuje jakość klasyfikacyjną modelu. Gdy krzywa ROC pokrywa się z przekątną  $y = x$ , to decyzja o przyporządkowaniu przypadku do wybranej klasy (1) lub (0) podejmowana na podstawie modelu jest tak samo dobra jak losowy podział badanych przypadków do tych grup. Jakość klasyfikacyjna modelu jest dobra, gdy krzywa znajduje się znacznie powyżej przekątnej  $y = x$ , czyli gdy pole pod krzywą ROC jest znacznie większe niż pole pod prostą  $y = x$ , zatem większe niż 0.5 (Rys.4).

Współczesna matka coraz częściej korzysta z różnych źródeł wiedzy na temat żywienia, a Internet stanowi jedno z najważniejszych z nich. Jednakże, niektóre źródła te mogą mieć negatywny wpływ na zdrowie i rozwój dzieci, w szczególności w zakresie występowania nadwagi i otyłości. Badania wskazują, że nadmierne spożycie słonych przekąsek i słodzonych napojów stanowi jedną z głównych przyczyn nadwagi u dzieci. Matki, które czerpią swoją wiedzę żywieniową z Internetu, często narażają swoje dzieci na tego typu produkty, które są łatwo dostępne dla dzieci. Badania wykazały, że matki, które uważają swoje nawyki żywieniowe za niezdrowe, częściej wprowadzają do diety swoich dzieci produkty o niskiej wartości odżywczej.



Rys. 4. Krzywa ROC.

#### 4. Dyskusja

Nadwaga i otyłość u dzieci to częsty problem zdrowotny, który staje się coraz bardziej powszechny na całym świecie. Wpływ na to ma wiele czynników, w tym styl życia i dieta. Jednym z ważnych czynników, który często jest pomijany, jest poziom wiedzy matki na temat zdrowego stylu życia. Wiele badań wskazuje na to, że edukacja matki na temat zdrowego odżywiania i aktywności fizycznej ma duży wpływ na profilaktykę otyłości u dziecka. Obecnie ludzie coraz częściej wykorzystują Internet jako źródło informacji na temat zdrowia i zdrowego odżywiania. Niestety, wiele z tych informacji może być nieprawdziwych lub niewiarygodnych, co może wpłynąć na podejmowane decyzje dotyczące stylu życia (Prnjak i in. 2019). Modave F. et al. twierdzą, że informacje o utracie wagi dostępne online często są niskiej jakości, nieprawdziwe lub wprowadzające w błąd. Niektóre strony internetowe mogą zachęcać do niezdrowych diet, które mogą prowadzić do otyłości i chorób. Niektóre z tych źródeł informacji mogą być oparte na sprzecznych badaniach naukowych, co może wprowadzać ludzi w błąd i doprowadzać do nieprawidłowych decyzji dotyczących utraty wagi. Może to prowadzić do wybierania nieodpowiednich diet lub podejść do utraty wagi, co może skutkować otyłością i innymi problemami zdrowotnymi (Modave i in. 2014). Narażenie na strony internetowe dotyczące zaburzeń odżywiania może prowadzić do nasilenia patologii odżywiania u osób, które już zmagają się z tymi problemami, jak również może przyczynić się do rozwoju zaburzeń odżywiania u osób, które jeszcze nie mają takich problemów. Strony internetowe mogą zachęcać do podejmowania niezdrowych zachowań, takich jak restrykcyjne diety, nadmierne ćwiczenia fizyczne, objadanie się. Osoby, które są narażone na takie informacje i często je czytają, mogą zacząć wprowadzać te zachowania do swojego życia, co prowadzi do nasilenia zaburzeń odżywiania lub ich rozwoju (Rodgers i in. 2016). Castillo M. et al. twierdzą, że wśród rodziców występują niedobory podstawowej wiedzy żywieniowej. Aby zwiększyć zrozumienie tego, czym jest „zdrowa” dieta, musi nastąpić znaczny wzrost podstawowej edukacji żywieniowej (Castillo i in. 2015). Natomiast Wojdyło M., w swoich badaniach wykazała, że większość dzieci, a mianowicie 58,3%, pozyskuje informacje na temat żywienia głównie od swoich rodziców. W kolejności, jako źródło wiedzy, pojawia się Internet oraz szkoła (Polish Review of Health Sciences 2017). Z drugiej

strony Debela B. et al. podają, iż kilka badań wykazało pozytywne powiązania między wiedzą na temat żywienia matek a żywieniem dzieci, ale dowody te ograniczają się do krajów rozwiniętych (Debela i in. 2017). Podobnie twierdzą Kakinami L. et al., dzieci rodziców z większą wiedzą żywieniową charakteryzowały się mniejszą otyłością (Kakinami i in. 2016). Janion K. et al. w swoich badaniach wykazali, że większość rodziców (78.9%) uważa swoją wiedzę na temat właściwego odżywiania dzieci za wystarczającą. Jednakże, wyniki pokazują, że informacje te są czerpane z różnych źródeł. Około jednej trzeciej badanych rodziców (32.1%) opiera swoją wiedzę na radach od rodziny i znajomych, a tylko nieco ponad jedna piąta (21.1%) korzysta z porad lekarzy pediatrów i dietetyków. Ponad połowa badanych rodziców (57.3%) deklaruje, że zawsze wiedzą, co ich dziecko jadło w przedszkolu, a niewielka liczba z nich (6.3%) zawsze wykorzystuje tę wiedzę do przygotowywania posiłków w domu, unikając składników, które dziecko już spożyło wcześniej. Większość rodziców (68.2%) wykorzystuje tę wiedzę tylko czasami (Szczepańska 2014). Nasze badanie wykazało, że im większa jest częstość spożywania słonych przekąsek przez dziecko tym szansa na wystąpienie u niego nadwagi i otyłości jest większa. Podobnie twierdzą Mendyk i in., którzy upatrują jako główną przyczynę otyłości u dzieci w sposobie odżywiania się. Dotyczy to głównie nadmiernego spożycia słonych przekąsek (Mendyk i in. 2017). Nasze badania wykazały, iż wysokie spożycie słodczy i słodzonych napojów wpływa na zwiększenie masy ciała u dzieci. Identyczne wnioski podaje Bielicz E., twierdząc, że napoje słodzone wpływają na występowanie otyłości u dzieci (Sosnowska -Bielicz i in. 2013). Z drugiej strony nasze badanie wykazało, że im większa jest częstość spożywania owoców przez dziecko tym szansa na wystąpienie nadwagi i otyłości u niego jest mniejsza. Badanie Mahmood i in. wykazało, że istnieje pozytywna korelacja między spożyciem owoców a występowaniem nadwagi u dzieci. Im częściej dzieci spożywają owoce, tym mniejsze jest ryzyko, że będą miały nadwagę. W badaniu zaobserwowano, że dzieci, które regularnie jedzą owoce, mają tendencję do spożywania mniejszej ilości kalorii i tłuszczów, co wpływa na utrzymanie prawidłowej masy ciała (Mahmood i in. 2021). Problem otyłości u dzieci i ich rodziców jest widoczny, Dlatego ważne jest, aby pracownicy służby zdrowia edukowali rodziców w zakresie zdrowych nawyków, biorąc pod uwagę zarówno cechy rodziców i dzieci (Costa i in. 2013). Według badań zaleca się zastosowanie programów szkoleniowych i edukacyjnych jako środka zapobiegawczego w przypadku otyłości u dzieci. Innymi słowy, wskazuje się na konieczność wprowadzenia działań edukacyjnych jako formy prewencji otyłości u najmłodszych (Koester i in. 2022).

Jednak należy uwzględnić pewne ograniczenia mojego badania. Przeprowadzony został z wykorzystaniem kwestionariusza, który został przekazany matkom dzieci uczęszczających do szkół podstawowych. W kwestionariuszu matki zostały poproszone o ocenę budowy ciała dzieci i wskazywały źródła pozyskiwania wiedzy na temat nawyków żywieniowych, co może prowadzić do subiektywnych odpowiedzi, co jest często obserwowane w tego typu badaniach. Nasze badanie stanowi jedynie fragment szerszych badań dotyczących problemu nadwagi i otyłości u dzieci. Konieczne jest kontynuowanie badań oraz poszukiwanie kolejnych czynników wpływających na występowanie nadwagi i otyłości u dzieci. Przyczyny nadwagi mogą być skutecznie badane, aby opracować strategię kontroli masy ciała i systemy edukacyjne, które pomogą zmniejszyć ryzyko wystąpienia tych chorób. Badania pomogą zrozumieć złożone przyczyny nadwagi, w tym czynniki genetyczne, biologiczne i środowiskowe, które wpływają na gromadzenie się tkanki tłuszczowej w organizmie. Dalsze badania nadwagi i otyłości u dzieci mogą prowadzić do odkrycia nowych rozwiązań, które pomogą zapobiec poważnym chorobom z nią związanym. Do głównych przyczyn występowania otyłości zalicza się spożywanie przez dzieci napoi słodzonych, słonych przekąsek oraz zbyt mała podaż płynów. Dzieci matek, które korzystały z Internetu jako źródła pozyskiwania wiedzy na temat żywienia wykazywały się zwiększoną masą ciała.

## **5. Wnioski**

Wyniki obecnych badań wskazują, że źródła pozyskiwania wiedzy na temat nawyków żywieniowych jest tym, które może determinować ryzyko rozwoju nadwagi i otyłości. Z naszych ustaleń wynika, że dzieci są wysoko oceniane pod względem występowania otyłości. Wśród



analizowanych dzieci wpływ na występowanie otyłości u nich należy wymienić: spożywanie słonych przekąsek i słodzonych napojów oraz zbyt mała ilość spożywanej wody.

## 6. Literatura

- Bentham J, Di Cesare M, Bilano i in. (2017) Worldwide Trends in Body-Mass Index, Underweight, Overweight, and Obesity from 1975 to 2016: A Pooled Analysis of 2416 Population-Based Measurement Studies in 128·9 Million Children, Adolescents, and Adults. *The Lancet* 2017 2627–2642
- Castillo M, Feinstein R, Tsang J i in. (2015) Assessment of Basic Nutrition Knowledge of Adolescents with Eating Disorders and Their Parents, *Int J Adolesc Med Health* 11–17
- Costa A, Oliveira, A (2023) Parental Feeding Practices and Childrens Eating Behaviours: An Overview of Their Complex Relationship, *Healthcare* 400
- Debela BL, Demmler KM, Rischke R (2017) Maternal Nutrition Knowledge and Child Nutritional Outcomes in Urban Kenya, *Appetite*, 518–526
- Fassier P, Chhim AS, Andreeva VA i in. (2016) Seeking Health- and Nutrition-Related Information on the Internet in a Large Population of French Adults: Results of the NutriNet-Santé Study, *British Journal of Nutrition*, 2039–2046
- Goodyear VA, Armour KM, Wood H (2017) Young People and Their Engagement with Health-Related Social Media, *New Perspectives*, 673–688
- Gregory JW (2019) Prevention of Obesity and Metabolic Syndrome in Children. *Front Endocrinol (Lausanne)* 669
- Homs C., Berrueto P, Arcarons A, i in. (2023) Independent and Joined Association between Socioeconomic Indicators and Pediatric Obesity in Spain: The PASOS Study. *Nutrients*, 1987–2023
- Kakinami L, Houle-Johnson S., McGrath JJ (2016) Parental Nutrition Knowledge Rather Than Nutrition Label Use Is Associated With Adiposity in Children, *J Nutr Educ Behav*, 461
- Koester BD, Sloane S, Chusid S (2022) Informing State-Wide Coalition Efforts to Implement and Integrate Nutrition Best Practices in Early Care and Education: Focus Group Insights from Child Care Providers, *Int J Environ Res Public Health* 10025
- Koňajtis-Dołowy A, Pyza J, Jeruszka-Bielak M (2015) Źródła Informacji o Żywieniu, 15
- Mahmood L., Flores-Barrantes P, Moreno LA (2021) The Influence of Parental Dietary Behaviors and Practices on Children’s Eating Habits *Nutrients*, 13
- Mendyk K., Antos-Latek K, Kowalik M i in. (2017) Pro-Health Behavior in Adolescents in Regard to Nourishment and Physical Activity, *Nursing and Public Health* 13–17
- Modave F, Shokar NK, Peñaranda E i in. (2014) Analysis of the Accuracy of Weight Loss Information Search Engine Results on the Internet, *Am J Public Health*, 1971–1978
- Neri D, Steele EM, Khandpur N i in. (2022) Ultraprocessed Food Consumption and Dietary Nutrient Profiles Associated with Obesity: A Multicountry Study of Children and Adolescents. *Obesity Reviews* ,23
- Nguyen PH, Kachwaha S, Tran LM i in. (2021) Maternal Diets in India: Gaps, Barriers, and Opportunities. *Nutrients* 3534
- Polish Review of Health Sciences (2017) Quarterly Nr 4, 53
- Prnjak K, Jukic I, Korajlija A.L (2019) How Perfectionism and Eating Disorder Symptoms Contribute to Searching Weight-Loss Information on the Internet? *Medicina*, 621
- Rodgers RF, Lowy AS, Halperin DM i in. (2016) Meta-Analysis Examining the Influence of Pro-Eating Disorder Websites on Body Image and Eating Pathology, *European Eating Disorders Review* 3–8
- Santos AF, Martins MC, Fernandes C i in. (2021) Relation between Attachment and Obesity in Preschool Years: A Systematic Review of the Literature. *Nutrients*, 3572
- Sosnowska -Bielicz E, Wrótniak J (2013) Nawyki Żywieniowe a Otyłość Dzieci w Wiekach Przedszkolnym i Szkolnym. *Lubelski Rocznik Pedagogiczny*, 32
- Stankiewicz J, (2013) Ocena Poziomu Wiedzy Żywieniowej Pracowników Przedszkoli w Zakresie Prawidłowego Żywienia Dzieci w Wiekach, *Nutrition of Preschool Children*, 17

- Szczepańska E (2014) Nutritional Behaviors of Preschool Children's Parents Inhabiting Upper Silesia, *Nowa Pediatria* 13-21
- Wasniewska M, Pepe G, Aversa T i in. (2023) Skeptical Look at the Clinical Implication of Metabolic Syndrome in Childhood Obesity. *Children*, 735

## **7. Wpływ diety wegetariańskiej na zachorowalność na choroby cywilizacyjne**

The influence of a vegetarian diet on the incidence of lifestyle diseases

Dagmara Gładysz, Joanna Barwacz

Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego

Opiekun naukowy: dr Barbara Piekło

Dagmara Gładysz: dagmaragladys226@gmail.com

Słowa kluczowe: dieta wegetariańska, nadciśnienie, metabolizm, wzorzec odżywiania

### **Streszczenie**

Dieta wegetariańska stanowi temat wielu badań naukowych i artykułów, skupiających się na jej wpływie na zdrowie i redukcji ryzyka chorób cywilizacyjnych. W niniejszej pracy przeglądowej dokonano kompleksowej analizy dostępnej literatury naukowej dotyczącej diety wegetariańskiej. Analiza obejmowała składniki odżywcze takie jak białko roślinne, błonnik, witaminy, minerały i kwasy tłuszczowe omega-3. Przyjrano się również kwestii odpowiedniej suplementacji, aby uniknąć niedoborów składników odżywczych u osób stosujących dietę wegetariańską. Wyniki badań wskazywały na korzystny wpływ tej diety na parametry krwi, takie jak poziom cholesterolu, triglicerydów i glukozy. Dieta wegetariańska przyczyniała się do obniżenia poziomu "złego" cholesterolu i zmniejszała ryzyko nadwagi, otyłości, nadciśnienia tętniczego oraz chorób układu krążenia. Przegląd uwzględniał również możliwości wykorzystania diety wegetariańskiej jako skutecznej strategii profilaktycznej w prewencji obszernej grupy chorób jaką są choroby sercowo-naczyniowe. Zalecano rozważenie tego sposobu odżywiania ze względu na potencjalne korzyści zdrowotne. Przedstawione informacje mogą być użyteczne zarówno w praktyce klinicznej, wspierając decyzje pacjentów w kwestii diety i stylu życia, jak i dla dalszych badań. Podsumowując, analiza naukowa przeprowadzona w niniejszej pracy przeglądowej pozwoliła na lepsze zrozumienie kompleksowego wpływu diety wegetariańskiej na zdrowie. Wykazano liczne korzyści płynące z tego sposobu odżywiania, jednak zalecano zachowanie równowagi żywieniowej oraz skonsultowanie się z dietetykiem w razie potrzeby suplementacji.

### **1. Wstęp**

We współczesnym społeczeństwie, zdominowanym przez pośpiech, stres i dostęp do wysoko przetworzonej żywności, nasze zdrowie może być narażone na negatywne skutki wynikające z nieprzemyślanego i nieświadomego wyboru diety. Produkty obfitujące w cukry proste, sól i dodatki chemiczne, których zawartość zdecydowanie nie współgra z określeniem "zdrowa dieta", są dla nas jako populacji niezwykle dostępne i kuszące. Niestety, konsekwencje takiego rodzaju żywienia stają się coraz bardziej widoczne chociażby w postaci epidemii otyłości, nadciśnienia, cukrzycy typu 2, insulinooporności i innych chorób cywilizacyjnych. W niniejszym artykule skupiono się na diecie opartej na roślinach i jej wpływie na występowanie wspomnianych dolegliwości. Dieta wegetariańska została przedstawiona jako potencjalnie "zdrowsza" alternatywa w porównaniu do typowej diety zawierającej mięso. Oparta na roślinach dieta może stanowić element zdrowego stylu życia dla osób pragnących poprawić swój stan zdrowia i samopoczucie. Zwrócono uwagę na kluczowe elementy składowe diety wegetariańskiej, które sprzyjają poprawie zdrowia. Wysoki poziom warzyw i owoców dostarcza błonnika, beta-karotenu, likopenu oraz różnorodnych witamin i minerałów, które są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu. Dieta ta bogata jest w zdrowe źródła węglowodanów, takie jak kasze, pieczywo pełnoziarniste, makarony z pełnego ziarna, warzywa korzeniowe, owoce, brązowy ryż i ziemniaki. Dodatkowo, bogactwo tłuszczu roślinnych w postaci orzechów, nasion, olejów roślinnych i awokado przyczynia się do zapewnienia organizmowi korzystnych kwasów tłuszczowych omega-3. Opisano również korzyści wynikające z zastąpienia białka pochodzenia zwierzęcego białkiem roślinnym, które jest dostępne w różnych źródłach, takich jak rośliny strączkowe, produkty sojowe, orzechy i nasiona. Badania wskazują, że dieta oparta na

białkach roślinnych może obniżać poziom cholesterolu LDL, co korzystnie wpływa na zdrowie serca. Dodatkowo, większe spożycie białek roślinnych może pomóc w prewencji zespołu metabolicznego i wspomagać utratę masy ciała u osób z nadwagą.

Pomimo wielu korzyści zdrowotnych, dieta wegetariańska może mieć również pewne wady i skutki uboczne. Należy pamiętać o odpowiednim planowaniu diety, aby uniknąć niedoborów składników odżywczych, takich jak witamina B12, żelazo, wapń, cynk i inne. W tym celu warto skonsultować się z dietetykiem, który pomoże ustalić indywidualne potrzeby i dostosować dietę do konkretnych wymagań. Warto pamiętać, że dieta wegetariańska, jako zdrowsza alternatywa, może nie tylko przyczynić się do zmniejszenia ryzyka chorób cywilizacyjnych, takich jak choroby serca, cukrzyca typu 2 i niektóre typy nowotworów, ale dodatkowo dieta oparta na roślinach jest przyjazna dla środowiska naturalnego i przyczynia się do szeroko rozumianego dobrostanu zwierząt.

## **2. Czym jest dieta wegetariańska?**

Dieta wegetariańska (inaczej dieta roślinna) najprościej mówiąc jest dietą eliminującą z jadłospisu wszelkiego rodzaju mięso zachowując jednak możliwość spożywania produktów pochodzenia zwierzęcego (tj. jajka, mleko). Produkty na których bazuje opisywana dieta to warzywa, owoce, produkty zbożowe, orzechy - a popularnym źródłem białka będącym jego zamiennikiem w porównaniu z dietą mięsną są wszelkiego rodzaju rośliny strączkowe oraz produkty wytwarzane na ich bazie, np. tofu (Florkiewicz i in. 2016).

Chociaż początki wegetarianizmu szacowane są na czasy starożytnego Egiptu i Indii (Hargreaves i in. 2021), dieta ta w dzisiejszych czasach cieszy się wzrastającą popularnością, panuje wręcz moda na tego typu sposób odżywiania. Dietę wegetariańską stosowała zarówno inteligencja np. grecki filozof Platon, Wergiliusz ale także osoby, które na co dzień potrzebowały dużo siły np. gladiatorzy (Grodecka 2009; Stanisławski i Mikita 2020). Co ciekawe, znanym wegetarianinem był również A. Einstein, L. da Vinci (Grodecka 2009; Wydrzyńska 2018). Warto wspomnieć, że obecnie wyróżnia się wiele rodzajów diety wegetariańskiej, poszczególne jej rodzaje oraz eliminowane produkty są przedstawione w tabeli (Tab. 1). Białko roślinne jest dostępne w różnych źródłach, takich jak nasiona roślin strączkowych, orzechy, nasiona oleiste, pestki, nasiona zbóż (np. komosa ryżowa), algi i produkty sojowe, np. tofu. Jednak białka pochodzenia roślinnego zawierają dwukrotnie mniejszą ilość białka na 100 kcal w porównaniu z białkami pochodzenia zwierzęcego, co oznacza, że trzeba ich spożyć więcej, aby uzyskać odpowiednią ilość wspomnianego makroskładnika. Wprowadzenie białka roślinnego do diety może przynieść liczne korzyści zdrowotne. Badania wykazały, że nawet częściowe zastąpienie białek zwierzęcych białkami sojowymi może obniżyć oporność tkanek na insulinę oraz poziom cholesterolu całkowitego i LDL, co jest korzystne dla zdrowia serca. Większe spożycie białek roślinnych może także pomóc w prewencji zespołu metabolicznego. Obserwowano odwróconą zależność między spożyciem białek z pełnoziarnistych zbóż, strączkowych roślin i orzechów a obwodem talii i masą ciała. Spożywanie białek sojowych z izoflawonami było szczególnie skuteczne w obniżeniu poziomu cholesterolu LDL i całkowitego u osób o wysokim ryzyku sercowo-naczyniowym. Owoce strączkowe, takie jak ciecierzycza, fasola czy soczewica, są także bogatym źródłem białka roślinnego i mogą korzystnie wpływać na zdrowie serca. Wprowadzenie większej ilości białka roślinnego do diety może być szczególnie korzystne dla osób z nadwagą lub otyłością, ponieważ może pomóc w zmniejszeniu masy ciała i obwodu talii. Dodatkowo, białko roślinne zawiera mniej tłuszczu nasyconego niż białko zwierzęce, co może być korzystne dla zdrowia serca (oraz stanowić prewencję zapadania na wszelkie choroby sercowo-naczyniowe).

Warto podkreślić, że dieta oparta na białkach roślinnych wymaga świadomego planowania, aby dostarczyć organizmowi wszystkich niezbędnych składników odżywczych. Dlatego też zaleca się zróżnicowaną dietę, która obejmuje różne źródła białka roślinnego. Konsultacja z dietetykiem może pomóc w ustaleniu odpowiedniej ilości białka i dostosowaniu diety do indywidualnych potrzeb i preferencji. Podsumowując, białko roślinne stanowi cenne źródło składników odżywczych i może przynieść liczne korzyści zdrowotne, zwłaszcza w kontekście obniżenia ryzyka chorób sercowo-naczyniowych oraz wspomaganie utraty masy ciała u osób z nadwagą, a te przyczyniają się do większości chorób cywilizacyjnych. Kluczowym aspektem jest jednak dbałość o odpowiednie

zrównoważenie diety, aby dostarczyć organizmowi wszystkich niezbędnych składników odżywczych. (Pyrzyńska 2013) W przypadku braku spożycia produktów zwierzęcych, możliwe jest zastąpienie ich roślinnymi zamiennikami dostępnymi w sklepach. Wegańskie jogurty sojowe i sery żółte stanowią alternatywę dla nabiału, a tofu może z powodzeniem zastąpić biały ser czy mięso. Strukturę jajka można zastąpić mąką ziemniaczaną, sojową lub zmielonym siemieniem lnianym, które doskonale sklejają kotlety. Mleko krowie, które jest często źródłem uczuleń, może zostać zastąpione roślinnymi opcjami, takimi jak mleko migdałowe, ryżowe, kokosowe lub sojowe. Badania wykazały, że różne roślinne zamienniki mleka mogą wpływać na odpowiedź układu immunologicznego. Przeciwciała IgE oraz IgG przeciwko mleku krowiemu, migdałowemu, kokosowemu i sojowemu były analizowane. Migdałowe zamienniki mleka wykazywały najwyższą reaktywność IgE, podczas gdy kokosowe wykazywało najniższą. Natomiast, reaktywność IgG była największa w przypadku sojowego zamiennika mleka. Wnioskiem z badań jest zatem, że różne roślinne zamienniki mleka mogą różnić się pod względem reakcji układu immunologicznego, dlatego ważne jest, aby osoby uczulone lub wrażliwe na określone składniki dokładnie zapoznały się z etykietą produktu i konsultowały się z lekarzem lub dietetykiem, aby wybrać odpowiednią alternatywę. Dodatkowo, zastępowanie produktów mlecznych roślinnymi zamiennikami może być korzystne dla osób z alergią lub nietolerancją na mleko krowie, pamiętając jednak o zwróceniu uwagi na suplementację wszystkich niezbędnych składników pokarmowych. (Voidani i in. 2018)

**Tab. 1.** Rodzaje diety wegetariańskiej z uwzględnieniem eliminowanych produktów (Cader i in. 2018).

Lp./ Number	Rodzaj diety wegetariańskiej/ Type of vegetarian diet	Mięso drobiowe/ Poultry meat	Czerwone mięso/ Red meat	Ryby/ owoce morza/ Fish/ seafood	Warzywa i owoce/ Vegetables and fruits	Mleko i przetwory mleczne/ Milk and dairy products	Produkty gotowane/ Cooked products	Jajka/ Eggs
1	weganizm/ vegan	-	-	-	+	-	+	-
2	laktowegetarianizm/ lacto-vegetarianism	-	-	-	+	+	-	-
3	laktoowoowegetaria- nizm/ lacto-ovo-ve- getarianism	-	-	-	+	+	-	+
4	laktoowopescewege- tarianizm/ lactoowo- pescege-tarianism	-	-	+	+	+	+	+
5	semiwegetarianizm/ semivegetarianizm	+	-	+	+	+	+	+
6	witarianizm/ raw food	-	-	-	+	-	-	-
7	frutarianizm/ fruita- rianism	-	-	-	+	-	-	-
8	polowegetarianizm/ polovegetarianism	+	-	-	+	-	+	+
9	fleksitarianizm/ flexitarianism	+	+	+	+	+	+	+
10	owoowegetarianizm/ ovo-vegetarianism	-	-	-	-	-	+	+

## 2.1 Założenia diety wegetariańskiej

Dieta wegetariańska, jak już wcześniej wspomniano, opiera się przede wszystkim na spożywaniu nieprzetworzonych produktów, takich jak warzywa i owoce, które stanowią źródło błonnika, beta-karotenu, likopenu oraz różnorodnych witamin i minerałów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego. Odpowiednio zbilansowane spożycie węglowodanów w diecie wegetariańskiej pochodzi z różnych źródeł, takich jak aromatyczne kasze, np. jęczmienna o delikatnym orzechowym smaku czy gryczana o charakterystycznym, ziarnistym posmaku. Dodatkowo, przewaga pieczywa pełnoziarnistego nad produktem białym zapewnia nie tylko węglowodany, ale także cenne błonnik i składniki odżywcze. Makarony z pełnego ziarna oraz zdrowe warzywa korzeniowe, takie jak soczysta marchew czy intensywnie czerwone buraki, dostarczają organizmowi energii i korzystnie wpływają na trawienie. Produkty bogate w tłuszcze, które są częścią diety wegetariańskiej, obejmują rozmaite orzechy, takie jak chrupiące i smakowite orzechy włoskie czy delikatnie słodkie migdały, które są źródłem zdrowych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Nasiona, takie jak odżywcze siemię lniane czy dynia, stanowią doskonały dodatek do różnych dań, zapewniając korzystne tłuszcze oraz błonnik. Oleje roślinne, takie jak oliwa z oliwek czy olej rzepakowy, wnoszą walory smakowe i dostarczają organizmowi tłuszcze roślinne korzystne dla funkcjonowania mięśnia sercowego. Dodatkowo, awokado, bogate w zdrowe tłuszcze, sprawiają, że dania nabierają kremowej konsystencji i niepowtarzalnego smaku. W diecie wegetariańskiej zapewnienie odpowiedniej podaży białka jest możliwe poprzez spożywanie różnorodnych źródeł, takich jak pełnowartościowe jaja, które dostarczają pełen zestaw niezbędnych aminokwasów. Przetwory mleczne, takie jak jogurt naturalny czy serek twarogowy, dostarczają białko i wapń, będący ważnym składnikiem zdrowych kości. Warzywa strączkowe, jak groch, ciecierzycza czy soczewica, są doskonałym źródłem białka roślinnego. Tofu, stanowi znakomitą alternatywę dla mięsa. Warzywa liściaste, w tym szpinak czy jarmuż, oprócz białka, dostarczają także ważne składniki mineralne. Wapń można znaleźć w produktach mlecznych, takich jak jogurt czy mleko (dla osób spożywających nabiał), a także w roślinnych napojach wzbogaconych w wapń. Tofu oraz jarmuż są również cennym źródłem tego minerału. Żelazo, niezbędne dla prawidłowej produkcji czerwonych krwinek, występuje w roślinach strączkowych, takich jak soczewica i ciecierzycza, oraz w pestkach dyni, suszonych owocach i pełnoziarnistych produktach zbożowych. Cynk, wspierający układ odpornościowy, można pozyskać z orzechów, nasion, pełnoziarnistych produktów zbożowych, tofu oraz z warzyw liściastych, takich jak szpinak i brokuły. Warto zauważyć, że dieta wegetariańska wymaga świadomego planowania, aby zapewnić odpowiednią ilość wszystkich niezbędnych składników odżywczych. Konsultacja z dietetykiem może być niezwykle pomocna w ustaleniu indywidualnych potrzeb i dostosowaniu diety wegetariańskiej, aby uniknąć niedoborów i czerpać pełne korzyści zdrowotne z tej w pełni roślinnej formy żywienia. (Clarys i Deliens 2014)

## 3. Wpływ stosowania diety wegetariańskiej na częstość występowania chorób cywilizacyjnych

Faktem jest, że jednym z najważniejszych czynników pozwalających utrzymać kondycję zdrowotną na wysokim poziomie jest sposób odżywiania, a więc dostarczenia do organizmu niezbędnych dla niego składników odżywczych. Zdecydowaną zaletą diety wegetariańskiej jest fakt dostarczania przez nią mnóstwa składników antynowotworowych. Wg badań „Osoby na diecie roślinnej zapadają o 63% rzadziej na nowotwory żołądka, o 50% na raka układu limfatycznego i trzustki, o 35% na nowotwór prostaty i o 12% na raka jelita grubego niż osoby spożywające mięso, pod warunkiem że warzywa i owoce nie zawierają w swoim składzie nadmiernej ilości nawozów syntetycznych oraz pestycydów i herbicydów”. (Gajewska i Kibil 2018; Stolińska 2020) Ze względu na fakt, że owoce i warzywa zawierają dużą ilość witaminy C, ilość zachorowań na choroby układu krążenia u osób spożywających dietę roślinną jest znacznie niższa niż u osób, u których produkty roślinne są spożywane w mniejszych ilościach. Dieta wegetariańska korzystnie wpływa również na obniżenie cholesterolu LDL co skutkuje obniżeniem średniego ciśnienia tętniczego, a co za tym idzie - obniża ryzyko wystąpienia zawału serca o 26% (Gajewska i Kibil 2018; Stolińska 2020) powstającego w wyniku niedotlenienia mięśnia poprzez tworzące się w naczyniach wieńcowych

blaszki miazdżycowe. Ponadto badania dowodzą, że osoby spożywające w większości pokarmy roślinne mają mniejsze ryzyko zachorowania na kamicy nerkową (do 31%). (Stolińska 2020) „*Osoby spożywające mięso są dwa razy częściej narażone na rozwój cukrzycy typu 2 w porównaniu z weganami, wegetarianami oraz laktowegetarianami. Białko zwierzęce i tłuszcz pobudzają uwalnianie insuliny w podobny sposób jak produkty wysokowęglowodanowe.*”. (Gajewska i Kibil 2018) Dieta cechująca się dużą zawartością błonnika (który wspomaga perystaltykę jelit) skutkuje również mniejszym ryzykiem zachorowania na ich choroby - szczególnie jelita grubego.

#### **4. Podsumowanie i wnioski**

Korzystny wpływ diety wegetariańskiej na zdrowie jest spowodowany nie tylko kwestią oczywistą przedstawioną w niniejszym artykule - zwiększoną podażą składników odżywczych, ale również zwiększoną świadomością dotyczącą chociażby gospodarki osób decydujących się na taką dietę z różnych względów. Opisany sposób odżywiania często idzie w parze z pozostałymi aspektami zdrowego stylu życia takimi jak chociażby dbanie o odpowiednią ilość aktywności fizycznej w ciągu tygodnia, odpowiedni sen. Zjawisko to jest spowodowane faktem, że dieta wegetariańska jest bardzo popularna wśród osób promujących zdrowy styl życia w social mediach (np. Instagram). Warto dodać, że mimo wielu zalet wciąż jest to dieta eliminacyjna. U osób, które zrezygnowały ze spożywania produktów mięsnych ważne jest, by szczególną uwagę zwrócić na regularne badanie parametrów krwi: poziomu witaminy B12, D, wapnia, żelaza, cynku. (Cedat i Lesiów 2021). Badania wykazują bowiem gorszy stan kości wśród wegetarian w porównaniu do osób stosujących dietę bogatą we wszystkie produkty odzwierzęce - łącznie z mięsem (Hargreaves i in. 2021). Oprócz korzyści zdrowotnych, dieta wegetariańska może również przyczynić się do zmniejszenia wpływu na środowisko naturalne i dobrostanu zwierząt, co stanowi dodatkowy aspekt, który przyciąga wielu zwolenników tego sposobu odżywiania. Warto podkreślić, że badania nad dietą wegetariańską i jej wpływem na zdrowie są ciągle rozwijające się, i nadal potrzeba dalszych badań, aby lepiej zrozumieć kompleksowy wpływ tej diety na organizm człowieka. Mimo licznych korzyści, każda dieta powinna być odpowiednio dopasowana do indywidualnych potrzeb i warunków zdrowotnych każdej osoby. Podsumowując, praca przeglądowa na temat diety wegetariańskiej przedstawiała jej korzystny wpływ na zdrowie, szczególnie w kontekście chorób cywilizacyjnych. Jest to również dieta przyjazna dla środowiska i stanowi alternatywny sposób odżywiania, który może przyczynić się do poprawy jakości życia i zdrowia wielu osób. Ostateczne wnioski z tej pracy przeglądowej sugerują, że dieta wegetariańska może stanowić zdrową i skuteczną strategię profilaktyczną w prewencji wielu chorób cywilizacyjnych. Jednak przed rozpoczęciem takiej diety zalecana jest konsultacja z dietetykiem w celu odpowiedniego planowania i dostosowania żywienia do indywidualnych potrzeb. Dieta wegetariańska nie jest odpowiednia dla każdego, ale dla wielu może być korzystnym wyborem, przyczyniającym się do poprawy zdrowia i ogólnego samopoczucia.

#### **5. Bibliografia**

- Brazier B (2019) *Weganizm daje moc*. Białystok: Vivante.
- Bujko J (2015) *Podstawy dietetyki* Warszawa: Wydawnictwo SGGW.
- Cader P, Lesiów T (2021) *Weganizm i wegetarianizm jako diety we współczesnym społeczeństwie konsumpcyjnym*. Wrocław: Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu.  
Dostępne na:  
[http://dbc.wroc.pl/Content/116435/Cader\\_Lesiow\\_Weganizm\\_i\\_vegetarianizm\\_jako\\_diety\\_we\\_wspolczesnym.pdf](http://dbc.wroc.pl/Content/116435/Cader_Lesiow_Weganizm_i_vegetarianizm_jako_diety_we_wspolczesnym.pdf).
- Campbell CT, Campbell TM (2018) *Nowoczesne zasady odżywiania. Przełomowe badanie wpływu żywienia na zdrowie*. Łódź: Galaktyka.
- Pyrzyńska E (2015) *Dieta wegetariańska w świetle zasad prawidłowego odżywiania – postawy i zachowania wegetarian w Polsce*. Zesz. Nauk. UEK, 2013, 906, 27–36.
- Vojdani A, Turnpaugh C, Vojdani E (2018) *Immune reactivity against a variety of mammalian milks and plant-based milk substitutes*. J Dairy Res 2018, 85, 358-365.

## 8. SARS-CoV-2. Wpływ zachorowania na indukcję chorób autoimmunologicznych.

SARS-CoV-2. The influence of getting sick on the induction of autoimmune diseases.

Dagmara Gładysz, Joanna Barwacz.

Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

Promotor: dr Barbara Piekło

Dagmara Gładysz: dagmaragladys226@gmail.com

Słowa kluczowe: COVID-19, pandemia, koronawirus, choroby autoimmunologiczne, przeciwciała

### Streszczenie

W ostatnich latach pandemia spowodowana chorobą Covid-19 wykazywała wiele skutków ubocznych, miała niepodważalny wpływ na gospodarkę, zachorowalność i śmiertelność, szczególnie u osób w grupie ryzyka. Pacjenci, którzy przeszli Covid-19, doświadczają trwałych objawów zmęczenia i innych niespecyficznych problemów zdrowotnych. Podejrzewa się, że powikłania autoimmunologiczne odgrywają znaczącą rolę w tych długotrwałych objawach. W przypadku chorób zakaźnych, w tym Covid-19, zaobserwowano generację przeciwciał przeciwko różnym czynnikom etiologicznym. Wirus SARS-CoV-2 może wiązać się z enzymem ACE2, co prowadzi do powstawania przeciwciał przeciwko ACE2. Wykryto autoantyciała przeciwko ACE2 u pacjentów z Covid-19, co może wpływać na nasilenie choroby. Inne autoantyciała, takie jak przeciwciała przeciwko interferonom, także występowały u pacjentów z Covid-19, wpływając zarówno korzystnie - regulując nadmiar stanu zapalnego, jak i szkodliwie - powodując zaburzenia krzepnięcia i co za tym idzie inne powikłania. Badania wykazały, że aktywność neutrofilów jest związana z rozwojem zespołu zakrzepowo-zapalnego u pacjentów z Covid-19. Powikłania autoimmunologiczne, takie jak małopłytkowość i choroba Kawasaki, również występują u pacjentów z Covid-19. Wciąż potrzebne są dalsze badania nad rolą autoantyciał w organizmie pacjentów chorujących na Covid-19 i ich wpływem na przebieg choroby. Poznanie dokładnych mechanizmów działania i powstawania autoantyciał może pomóc w opracowaniu skuteczniejszych terapii. Aktualne pojawienie się nowych wariantów, takich jak omikron w połączeniu z innymi zakażeniami układu oddechowego, stanowi nadal poważny problem. Zachowanie wysokiego poziomu odporności i unikanie ponownych zakażeń pozostaje ważne w zapobieganiu powikłaniom po przebiegu Covid-19.

### 1. Wstęp

W ciągu ostatnich lat świat boryka się z pandemią Covid-19 i jej wieloma skutkami ubocznymi jak chociażby wpływ na gospodarkę, zachorowalność i śmiertelność, zwłaszcza u osób znajdujących się w grupie ryzyka. Wiele związanych lub synergicznych powikłań klinicznych występuje wraz z uszkodzeniem płuc i tkanek, nasilonym stanem zapalnym, immunotrombozą prowadzącą do niewydolności wielonarządowej i śmiertelnego wyniku u niektórych zakażonych pacjentów. (Borges i in. 2020; Gupta i in. 2020) Dodatkowo, u znaczącej grupy pacjentów zakażonych SARS-CoV-2 zgłaszane są trwające długo objawy zmęczenia i inne wpływające na jakość życia obciążenia zdrowotne pojawiające się po przejściu ostrej fazy choroby i powrocie do zdrowia. (Castanares-Zapatero i in. 2020) Te trwałe konsekwencje patologiczne są niezależne od nasilenia choroby, wieku pacjenta, płci i stanu zdrowia. (Petersen i in. 2021; Augustin i in. 2021) Wciąż niewiele wiadomo na temat czynników, które mogą sprzyjać lub wywoływać wspomniany zespół długotrwałego COVID-19, chociaż niedawno wyjaśniono niektóre mechanizmy, które wiążą się z obecnością silnego stanu zapalnego. (Maamar i in. 2022) Badania sugerują, że za fakt ten odpowiada wystąpienie powikłań autoimmunologicznych w trakcie przebiegu choroby. (Amiral i in. 2020; Townsend 2020; Rodriguez-Perez i in. 2021; McMillan i in. 2021)



W przypadku chorób zakaźnych opisywano generację przeciwciał związanych z wieloma różnymi czynnikami etiologicznymi, ale głównie z cytomegalowirusem, wirusem Epsteina-Barr i ludzkim wirusem upośledzenia odporności. (Smatti 2019) Te indukowane przeciwciała są rozpoznawane głównie w momencie, w którym zaczynają powodować poważne powikłania, które zależą od docelowego autoantygeny, ich stężenia i wpływu na procesy fizjologiczne. (Ercolini 2009; Abdel-Wahab 2016) Jednak ich występowanie jest prawdopodobnie niedoszacowane, ponieważ badane są tylko w przypadku powikłań ciężkich i nietypowych u pacjentów, często związane z nieoczekiwanymi wynikami badań laboratoryjnych. (Getts 2013) Przykładem jest obecność przeciwciał skierowanych przeciwko białku S-koagulacyjnemu, które zostały zidentyfikowane w przypadku rzadkich pacjentów, u których wystąpiły zdarzenia zakrzepowe w trakcie lub zaraz po ospie wietrznej. (Levinni in. 1995; Peyvandi i in. 1996; Manco-Johnson i in. 1996; Samyn i in 2012)

Komponenty organizmu, które stają się kandydatami na autoantygeny, to białka powierzchniowe krwi lub komórek, które silnie wiążą się z patogenami lub ich metabolitami, a następnie są uformowane w kompleksy, na które skierowana jest odpowiedź immunologiczna organizmu. (Amiral 1997) Inne raporty sugerują, że układ odpornościowy może przyczynić się do regulacji stanu zapalnego poprzez generowanie przeciwciał reaktywnych z niektórymi cytokinami zapalnymi. W tym przypadku COVID-19 SARS-CoV-2 silnie wiąże się z enzymem konwertującym angiotensynę 2 (ACE2) poprzez domenę wiążącą receptor (RBD) z białka kolca, a w przypadkach ciężkich dochodzi do burzy cytokinowej, która znacznie pogarsza przebieg choroby i jej rokowanie. (Sarzi-Puttini i in. 2020) Powikłania autoimmunologiczne mogą przyczynić się do nasilenia choroby i wywoływania trwałych objawów związanych z utrzymującym się stanem zapalnym (Lyons-Weiler 2020). W przypadku wystąpienia przeciwciał, pozostają one w organizmie przez tygodnie lub miesiące, a następnie stopniowo maleją wraz z upływem czasu, gdy bodziec autoantygenny zanika. Jednak u małej grupy pacjentów wspomniane powikłania mogą przekształcić się w przewlekłe choroby autoimmunologiczne (De Groot i in 1998). Niniejszy przegląd literatury skupia się na różnych powikłaniach autoimmunologicznych, które zaobserwowano w COVID-19, ich wpływie na przebieg choroby oraz możliwym związku z przewlekłym przebiegiem choroby. (Halpert i in 2020; Zhou i in. 2020; Zuo i in. 2020)

## **2. Przebieg Covid-19 a zachorowalność na choroby autoimmunologiczne**

Autoimmunologiczne powikłania są zazwyczaj wykrywane w momencie pojawienia się objawów klinicznych i są wynikiem wytworzenia przeciwciał skierowanych przeciwko komórkom organizmu. Często nie jest identyfikowany docelowy antygen. Równie często raportowany cel przeciwciał dotyczy skutków ubocznych (np. toczeń rumieniowaty) a nie struktur, przeciwko którym skierowane są przeciwciała, lub całej komórki czy narządu (np. przeciwpłytkowe, przeciwnerkowe itp.). Lepsze zrozumienie mechanizmów zaangażowanych w patogenność wymaga dokładnej identyfikacji autoantygeny i skierowanych epitopów, które zostały opisane w wielu przypadkach, ale w wielu innych przypadkach nadal trzeba je zidentyfikować.

Nie wszystkie przeciwciała są patogenne. Wiele z nich może być nieistotne lub pozostawać bezobjawowe. Szkodliwe efekty występują, gdy przeciwciała reagują z białkami, wpływając na ich funkcję, lub gdy są skierowane do komórek, narządów lub tkanek, gdzie aktywują odpowiedź immunologiczną i szlaki dopełniacza. Odpowiedź autoimmunologiczna częściej rozwija się wobec białek o niskim lub bardzo niskim stężeniu, choć można ją również zaobserwować w przypadku białek lub struktur biologicznych obecnych w wysokim stężeniu. Szkodliwe efekty występują, gdy przeciwciała blokują kluczową funkcję fizjologiczną, w komórkach takich jak cytokiny, czynniki wzrostu, lub gdy aktywują lub niszczą linię komórkową, taką jak płytki krwi, komórki śródbłonka lub narząd. Patogenność przeciwciał zależy od docelowego autoantygeny i konkretnych epitopów, ich stężenia i powinowactwa, które określają zakłócenie funkcji fizjologicznych lub stopień niszczenia docelowej linii komórkowej lub narządu. Im wyższe stężenie i siła powinowactwa przeciwciał, tym silniejsze są szkodliwe efekty patologiczne powodujące niszczenie docelowych komórek lub narządów. Obecność czynników ryzyka może znacznie nasilić szkodliwe efekty przeciwciał, szczególnie jeśli sprzyjają zdarzeniom zakrzepowym: istniejący nieprawidłowy stan hemostazy prowadzi do rozwoju zakrzepicy w obecności niskich bodźców autoimmunologicznych,

które nie powodują patologicznego wpływu u zdrowych pacjentów lub u chorych niedoborami białek przeciwzakrzepowych, takich jak antytrombina, białko C lub białko S, lub w stanach hipofibrynolitycznych. (Amiral i in. 2020; Augustin i in. 2021; Borges i in. 2020; Castañares-Zapatero i in. 2020; Gupta i in. 2020; Maamar i in. 2022; McMillan i in. 2021; Petersen i in. 2021; Rodriguez-Perez i in. 2021)

### **3. Skutki patologiczne występowania przeciwciał: złożoność i implikacje w przypadku zakażenia Covid-19**

Patologiczne powikłania wynikające z autoprzeciwciał są bardzo zróżnicowane i związane z docelowym autoantygenem, jego funkcją fizjologiczną i lokalizacją, oraz związaniem się z powierzchnią komórek i stężeniem. Szkodliwe efekty są nasilane, gdy składniki docelowe, które noszą kluczową biologiczną aktywność występują w niskim stężeniu i wiążą się z receptorami na powierzchni komórki. Odpowiedź immunologiczna jest wtedy skierowana do tych komórek, które ekspozują receptory lub składniki zdolne do oddziaływania z autoantygenem. W związku tym faktem gdy autoprzeciwciała bezpośrednio lub pośrednio wiążą się z komórkami krwi, często mogą powodować niszczenie lub aktywację komórek, a także wywoływać epizody zakrzepowe. Aktywacja komórek śródbłonna lub płytek krwi przez autoprzeciwciała lub ich wpływ na procesy przeciwzakrzepowe, jest ważną przyczyną zakrzepicy. Jeśli autoprzeciwciała są skierowane przeciwko białkom hemostazy we krwi, ich efekt zależy od interakcji z funkcjami fizjologicznymi. Autoprzeciwciała mogą zmniejszać aktywność docelowych antygenów i powodować krwawienia, gdy dotyczy to czynników krzepnięcia, takich jak czynnik V lub czynnik VIII, lub zakrzepicy, jeśli wiążą się z białkami przeciwzakrzepowymi, takimi jak białko S. Kompleksy autoprzeciwciało-białko mogą również wpływać na funkcje fizjologiczne poprzez wiązanie się z aktywnymi powierzchniami biologicznymi, powodując utrudnienia, które zakłócają ich fizjologiczne aktywności. Przykładem są autoprzeciwciała przeciwko białkom krzepnięcia, takim jak białko S, protrombina,  $\beta$ 2-glikoproteina 1, aneksyna V, które wykazują działanie przeciwzakrzepowe w toczniu rumieniowatym układowym. W innych przypadkach przeciwciała mogą powodować krwawienia, zwłaszcza gdy są skierowane przeciwko pewnym glikoproteinom powierzchni płytek krwi, powodując trombocytopenię lub przeciwko czynnikom krzepnięcia, takim jak czynnik V, czynnik VIII, czynnik IX, czynnik von Willebranda lub czynnik XIII.

Gdy autoantyciała są obecne, poziom ich stężenia jest niezwykle trudny do kontrolowania. Pierwszym kluczowym działaniem mającym na celu ochronę przed wzrostem ich odestka jest usunięcie przyczyny prowadzącej do autoimmunizacji – nie zawsze jednak jest to możliwe. W przypadku heparynowo - indukowanej trombocytopenii, zatrzymanie podawania heparyny ma podwójną zaletę - eliminuje stymulację immunologiczną i usuwa antygen docelowy, który wymaga obecności heparyny (jest nim czynnik płytkowy 4). Jednak w większości przypadków powikłań autoimmunologicznych, usunięcie docelowego autoantygeny nie jest możliwe, a produkcja autoantyciał, gdy zostanie już rozpoczęta stymulacja trwa przez długi czas, choć zwykle zmniejsza się z czasem. Czas połowicznego rozpadu przeciwciał, gdy są stymulowane limfocyty B, wynosi kilka tygodni lub miesięcy, a ich szkodliwe konsekwencje wymagają odpowiedniego postępowania. Obecnie stosowane terapie są objawowe i mają na celu kontrolowanie i ograniczenie głównych szkodliwych skutków występowania autoantyciał lub zmniejszenie ich stężenia za pomocą kortykoterapii. Z drugiej strony, autoantyciała mogą również przyczyniać się do kontroli procesu patogenego wynikającego z nadmiaru stanu zapalnego. Przypuszcza się, że specyficzna odpowiedź autoimmunologiczna na niektóre cytokiny lub mediatory może regulować nadmierną ich produkcję, co zostało udowodnione dla autoantyciał przeciwko interleukinie (IL-6), ale także dla innych cytokin. Tak może być w przypadku autoantyciał przeciwko interleukinie 8 (IL-8), których obecność pozostaje bezobjawowa, o ile ich stężenie pozostaje niskie i nie zwiększa się wiązanie się z komórkami krwi. Stwierdzono, że niektórzy pacjenci z heparynowo-indukowaną trombocytopenią (HIT), bez obecności przeciwciał anty-heparynowo-PF4, reagują na IL-8 lub jej kompleksy z heparyną. W tym przypadku trombocytopenia występuje szybko po terapii heparyną, która zwiększa mostkowanie IL-8 do komórek krwi. Ponieważ IL-8 może wiązać się z heparyną, która w szczególności reaguje

z płytkami krwi i komórkami śródbłonna, zwłaszcza aktywowanymi płytkami krwi, co wywołuje autoantyciała przeciwko IL-8 na tych komórkach, gdzie skupia się odpowiedź immunologiczna przeciwko tejże interleukinie. Ten proces prowadzi do powstania zespołu przypominającego HIT, powodującego trombocytopenię i często rozsiane zakrzepy. Podobne powikłania mogą się rozwijać w obecności wcześniej istniejących przeciwciał przeciwko PF4, jeśli pacjenci otrzymują heparynę. Szybki początek HIT może rozwijać się po podaniu heparyny i ustępuje po jej wycofaniu. W przypadku VITT, autoantyciała przeciwko niektórym epitopom PF4, zwłaszcza tym definiującym domenę wiążącą heparynę PF4, są generowane i powodują ciężką trombocytopenię, z występowaniem zakrzepicy w nietypowych miejscach, takich jak żyła splotu trzewnego, pomimo braku heparyny. To powikłanie jest często zagrażające życiu, a stężenie przeciwciał przeciwko PF4 jest z grubsza związane z nasileniem i przebiegiem choroby. Związek między stężeniem autoantyciał a nasileniem obciążenia autoimmunologicznego jest potwierdzoną kluczową cechą i stanowi główny czynnik ryzyka ich patogenności o znaczeniu klinicznym. (Ubey i in. 2022)

### 3.1 Autoprzeciwciała stwierdzone u pacjentów, którzy przechorowali COVID-19

Początkowo sugerowano, że kluczową sytuacją sprzyjającą generowaniu autoantyciał przeciwko ACE2 jest specyficzna reakcja białka kolca wirusa SARS-CoV-2 z ACE2. (Amiral i in. 2020) Ta koncepcja spotkała się z zainteresowaniem innych badaczy, a niektóre spekulacyjne artykuły sugerowały możliwe występowanie tych autoantyciał u pacjentów z Covid-19. (Townsend 2020; Rodriguez-Perez i in. 2021) W późniejszych badaniach pacjentów hospitalizowanych z powodu Covid-19 o różnym stopniu nasilenia, w tym przypadkach śmiertelnych, wykryto obecność autoantyciał przeciwko ACE2, klasy IgG, IgM lub IgA lub ich kombinacji u około 10% pacjentów z często bardzo wysokim stężeniem tych autoantyciał. (Amiral i in. 2022) Inne badania potwierdziły rozwój wspomnianych autoantyciał u pacjentów z Covid-19. (Sciola-Rosen i in. 2022; Arthur i in. 2021) Obecnie nie ma jeszcze dowodów na to, w jaki sposób te autoantyciała przyczyniają się do powikłań lub pogorszenia choroby, lecz trwają dalsze badania. Istotność autoantyciał przeciwko ACE2 może wynikać z kluczowej roli regulacyjnej ACE2 w kontroli nadciśnienia krwi, równowagą sodową w komórkach i diurezą, między innymi w ramach regulacji układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS). (Verano-Braga i in. 2020) Sprawdzono również obecność autoantyciał przeciwko aneksynie A1, która jest głównym białkiem uwalnianym przez neutrofile co wykazuje działanie przeciwzapalne. (Bruschi i in. 2018; Suwanchote i in. 2018, Han i in. 2020) Ponadto zbadano pacjenta z hemofilią A, który cierpiał na przewlekłe objawy Covid-19 przez ponad 1 rok u którego wykryto wysokie stężenie autoantyciał przeciwko aneksynie A1, które utrzymywało się na bardzo wysokim poziomie przez cały okres obserwacji, warto pamiętać jednak, że w tej chwili nie ma dowodów na związek tych autoantyciał z utrzymującymi się objawami a badania w dalszym ciągu są prowadzone.

Inne badania opisują różne cele autoantyciał obecnych u pacjentów z Covid-19. Co ważne, doniesiono o istniejących lub nowo powstających autoantyciałach przeciwko interferonom, które mogą być związane z nasileniem choroby i rokowaniem. (Oning i in., 2021, Bastard i in. 2021) Autoantyciała te mogą powstawać jako mechanizm regulacyjny kontrolujący nadmiar uwalnianych interferonów, ale podobnie jak w przypadku cytokin, w obecności niektórych skrajnych stanów patologicznych mogą one wpłynąć na odpowiedź immunologiczną przez ingerencję w jej funkcję. Wśród opisanych autoprzeciwciał u pacjentów z Covid-19 znajdują się te powodujące zespół Guillain-Barré, małopłytkowość oraz przeciwciała przeciwjądrowe. (Chattarjee i Banerjee 2020; Ross i in. 2020; Son i in. 2022) Szczególnie istotna jest choroba Kawasaki obserwowana u wielu dzieci zakażonych wirusem SARS-CoV-2, która jest autoimmunologiczną naczyniową chorobą - zapaleniem wywołanym prawdopodobnie przez przeciwciała przeciwko komórkom śródbłonna. (Kurai i in. 2019; Berthelot i in. 2020) Autoantyciała przeciwko ACE2, receptora również obecnego na komórkach śródbłonna, zostały już opisane w 2010 roku u pacjentów z chorobami tkanki łącznej. (Takahashi i in. 2010)

## 4. Wnioski

Choroba Covid-19 wywołana zakażeniem wirusem SARS-CoV-2 charakteryzuje się silnymi reakcjami autoimmunologicznymi, związanymi z nasiloną reakcją zapalną i burzą cytokinową.

(Borges do Nascimento i in. 2020; Gupta i in. 2020) Nadmierna aktywność immunologiczna przyczynia się do nasilenia choroby, zachorowalności i śmiertelności. Aktywność neutrofilów odgrywa ważną rolę, ponieważ uczestniczy zarówno w obronie organizmu przed zakażeniem wirusowym, jak i w rozwoju zespołu zakrzepowo-zapalnego, z wysoką częstością powikłań zakrzepowo-zatorowych. (Zhu i in. 2022; Gillot i in. 2021) Pacjenci mogą rozwijać poważne zaburzenia krzepnięcia i mogą prezentować biomarkery nadkrzepliwości, których obecność skutkuje wysoką skłonnością do zakrzepów. W przypadku pacjentów dotkniętych chorobą Covid-19 obserwuje się wzrost czynnika von Willebranda (vWF), fibrynogenu i czynnika VIII, tendencję do obniżenia antytrombiny, wysoki wzrost aktywności inhibitora aktywatora plazminogenu 1 i stężenia białka oraz niski potencjał fibrynolizy. Stężenie d-dimerów jest bardzo wysokie i służy jako istotny wskaźnik nasilenia choroby. Ciężkie przypadki wymagają terapii przeciwkrzepliwych za pomocą heparyny, zwłaszcza niefrakcjonowanej, oraz leczenia przeciwzapalnego, takiego jak deksametazon. (Seinzadeh i in. 2021) Przyczynia się to do znacznego zmniejszenia śmiertelności związanej z chorobą.

Powikłania autoimmunologiczne mogą być dodatkowym czynnikiem obciążenia chorobowego. Są one zaangażowane w przebieg chorób wywołanych przez różne patogeny, zwłaszcza wirusa cytomegalii, wirusa Epsteina-Barr lub ludzkiego wirusa upośledzenia odporności. W przypadku zakażenia wirusem SARS-CoV-2, zaangażowanie procesów autoimmunologicznych wydaje się istotne, przy czym obserwuje się dużą różnorodność celów autoantyciał, z wieloma o charakterze przeciwnaczyniowym w różnych chorobach, takich jak przeciwciała antyfosfolipidowe czy małopłytkowość. Inne mogą być bardziej specyficzne i związane z wirusową strategią infekcji komórek ludzkich poprzez swoje specyficzne wiązanie z ACE2. (Amiral i in. 2022; Casciola-Rosen i in. 2022; Forrest i in. 2021)

Pomimo identyfikacji pewnych reakcji autoimmunologicznych u pacjentów z Covid-19 i ich związku z nasileniem choroby i jej przebiegiem, nadal brakuje klinicznych badań na dużych grupach pacjentów. Można oczekiwać, że dostępność narzędzi laboratoryjnych przyczyni się do przeprowadzenia badań klinicznych o charakterze przekrojowym, mającym na celu zrozumienie i udokumentowanie wpływu autoantyciał na rokowanie choroby.

Aktualnie występujące nowe warianty omikronu w połączeniu z innymi zakażeniami układu oddechowego, takimi jak grypa i wirus syncytialny (RSV), które objawiają się podobnymi objawami i przypadają na okres zimy, stanowią jedno z najważniejszych wciąż groźnych w kontekście powikłań „pocovidowych” problemów. Należy podkreślić, że musimy utrzymywać jak najwyższą odporność i unikać ponownych zakażeń oraz zmniejszać ryzyko długotrwałego COVID-19, który może wystąpić w nadchodzących zimowych dniach, nawet u młodych osób.

## **5. Bibliografia**

- Amiral J, Seghatchian J (2023) Autoimmune complications of COVID-19 and potential consequences for long-lasting disease syndromes. *Transfusion and Apheresis Science*, 62(1), 103625.
- Borges do Nascimento IJ, Cacic N, Abdulazeem HM et al. (2020) Novel coronavirus infection (COVID-19) in humans: a scoping review and meta-analysis. *J Clin Med*, 9(4), 941.
- Castanares-Zapatero D, Chalon P, Kohn L et al. (2022) Pathophysiology and mechanism of long COVID: a comprehensive review. *Ann Med*, 54(1), 1473-1487.
- Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K et al. (2020) Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med*, 26(7), 1017-1032.
- Naeije R, Caravita S (2021) Phenotyping long COVID. *Eur Respir J*, 58(2), 2101763.
- Petersen MS, Kristiansen MF, Hanusson KD et al. (2021). Long COVID in the Faroe Islands: a longitudinal study among nonhospitalized patients. *Clin Infect Dis*, 73(11), e4058-e4063.

## **9. Integralność obwodów neuronalnych i oddziaływań środowiskowych w zaburzeniach odżywiania z napadami objadania się – część II**

The integrity of neuronal circuits and environmental interactions in binge-type eating disorders – part II

Luiza Gryczka, Dominika Żywicka, Grażyna Jerzemowska

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański

Luiza Gryczka: l.gryczka.729@studms.ug.edu.pl

Słowa kluczowe: układ nagrody, zaburzenia odżywiania, neuroprzekązniki, uzależnienie

### **Streszczenie**

Zaburzenia odżywiania to schorzenia powodujące wiele problemów zdrowotnych związanych z funkcjonowaniem organizmu i zachowaniem homeostazy. W ciągu ostatnich lat liczba osób na nie cierpiących, szczególnie na zaburzenia odżywiania z napadami objadania się, wzrosła. Prowadzą one często do rozwoju otyłości i występowania chorób współistniejących. Powodem rosnącej liczby tych zachorowań może być zmiana kultury jedzenia i wykorzystywanie nagradzającego efektu płynącego ze spożywania smacznych, często wysokokalorycznych i wysoko przetworzonych pokarmów. Dużą rolę w procesie powstawania tych schorzeń odgrywa układ nagrody, w którym zaburzona aktywność neuronalna niektórych struktur skutkuje zmianami w ich neuroprzekąźnictwie, co w efekcie przekłada się na wykształcenie zachowań charakterystycznych dla uzależnień. Szczególne znaczenie w kontekście nagradzającego efektu żywności i jej wartościowania jako nagrody mają brzuszne pole nakrywki śródmózgowia oraz jądro półleżące. Przyczyny powstawania tego typu zaburzeń wydają się obejmować czynniki zarówno genetyczne, środowiskowe jak i stresowe. Dlatego też, poniższe opracowanie ma na celu przedstawić aktualną wiedzę na temat wpływu zmian środowiska na zmiany neuronalne zachodzące w mózgowiu u chorych z zaburzeniami odżywiania z napadami objadania się.

### **1. Wstęp**

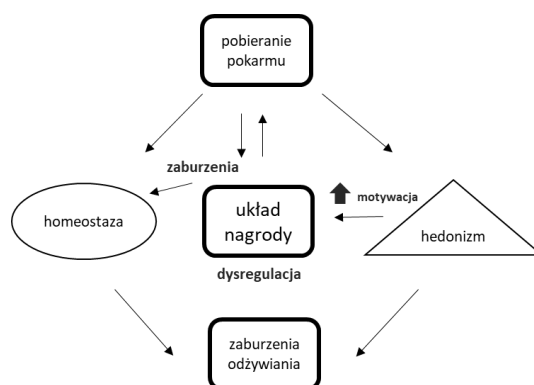
Znaczące zmiany w przemyśle żywnościowym w ciągu ostatnich 60-70 lat XX wieku i początku XXI wieku doprowadziły do istotnych zmian w kulturze jedzenia i wyborów żywieniowych. Przetwarzanie żywności i składników odżywczych uczyniły produkty żywnościowe bardziej dostępnymi i tańszymi, jednak przyczyniło się to również do powstawania wielu zaburzeń związanych z odżywianiem. Czynniki genetyczne, hedoniczna wartość żywności oraz emocje są kluczowymi czynnikami wpływającymi na zachowania i preferencje pokarmowe, z uwzględnieniem systemu nagrody i kary (Turton i in. 2017). Homeostaza wewnętrzna organizmu wpływa na utrzymanie odpowiedniego poziomu składników odżywczych. Kluczową rolę w homeostatycznej kontroli jedzenia pełni podwzgórze (*Hypothalamus* – Hyp). Boczna część podwzgórza (*Lateral Part of Hypothalamus* – LH) określana jest jako ośrodek głodu, natomiast jądra: brzuszno-przyśrodkowe (*Ventromedial Hypothalamic Nucleus* – VMH), przykomorowe (*Paraventricular Nucleus* – PVN) oraz grzbietowo-przyśrodkowe podwzgórza (*Dorsomedial Hypothalamic Nucleus* – DMH) są znane jako ośrodki sytości. Hedonistyczne spożycie żywności jest natomiast związane z obwodami obejmującymi jądro półleżące (*Nucleus Accumbens* - NAc), ciało migdałowate (*Amygdala* – Amg), LH i brzuszne pole nakrywki śródmózgowia (*Ventral Tegmental Area* – VTA) (Turton i in., 2017). Żywnienie homeostatyczne wynika głównie z konieczności utrzymania funkcji biologicznych, natomiast hedoniczna regulacja żywienia opiera się na dobrowolnym spożyciu pokarmu potencjalnie przekraczającym zapotrzebowanie energetyczne. Wcześniej wykazano, że neurony dopaminergiczne mózgu (*Dopamine Neurons* – neurony DA), zwłaszcza te pochodzące z VTA i wysyłające projekcje do NAc, są niezbędne dla funkcji homeostatycznych i kształtowaniu procesów związanych z nagrodą – działaniach opartych na motywacji i nadawaniu wartości nagrody żywności o dużej wartości energetycznej (Dore i in. 2020). Zakłócenia w aktywności neuronalnej tych obszarów skutkują

pojawieniem się zaburzeń odżywiania związanych z napadowym objadaniem się (*Binge-type Eating Disorders* – BED).

## 2. Opis zagadnienia

W związku z hedonicznym sposobem jedzenia, zmysły smaku i węchu mogą stanowić ważny element wpływający na wybór składników odżywczych i spożywanie określonych pokarmów. Badania ostatnich lat wykazały rosnące zainteresowanie znaczeniem wpływu smaku i węchu na równowagę energetyczną, uczucie sytości i długoterminowe zdrowie. Ponadto, zmysły te oraz struktury zaangażowane w przetwarzanie bodźców smakowych i węchowych prawdopodobnie wpływają na regulację wielu innych ważnych procesów metabolicznych, takich jak homeostaza energetyczna i kontrola apetytu, co z kolei warunkuje odpowiedni poziom zdrowia oraz prawidłową masę ciała (Micarelli i in. 2023). Zatem wyżej wymienione czynniki mogą wpływać na rozwój nieprawidłowych reakcji behawioralnych związanych z przyjmowaniem pokarmu i w konsekwencji prowadzić do powstania zaburzeń odżywiania (Rys.1).

Zaburzenie odżywiania typu BED jest najczęściej występującym typem zaburzeń odżywiania charakteryzującym się szybkim, nawracającym i nadmiernym spożyciem pokarmów w krótkim czasie (Smith i in. 2019). Występuje z częstością wynoszącą około 3,5% wśród kobiet i około 2% wśród mężczyzn, najczęściej w czasie wczesnej dorosłości. BED zostało uznane i sklasyfikowane przez Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne jako jedno z wielu typów zaburzeń związanych z odżywianiem i w maju 2013 roku opublikowane w „Diagnostycznym i Statystycznym Podręczniku Zaburzeń Psychiczych - 5 edycji” (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5<sup>th</sup> edition* – DSM-5) (Albertz i in. 2018). Ponadto stwierdzono, że związana z BED impulsywność emocjonalna, definiowana jako upośledzone podejmowanie decyzji lub działanie bez przewidywania, jest charakterystyczna dla wielu zaburzeń psychicznych i behawioralnych, w tym również dla zaburzeń odżywiania (Anderberg i in. 2016).



**Rys. 1** Uproszczony mechanizm powstawania zaburzeń odżywiania przy hedonizmie z uwzględnieniem zakłóceń związanych z działaniem układu nagrody.

Uważa się, że BED charakteryzuje się zmienionym przetwarzaniem nagrody, jednak dokładna natura i mechanizm powstawania tych zmian są nadal niejasne. Teoria uzależnień o uwarunkowaniu motywacyjnym zakłada, że wielokrotne używanie substancji zwiększa chęć zbliżenia się do nagrody („chcenie”), ale nie wpływa na przyjemność podczas spożywania tej nagrody („lubienie”). Sugeruje to, że procesy nagrody napędzające uzależnienie zmieniają się w czasie, co może dotyczyć również mechanizmów zachodzących w BED (Bodell i Racine 2023). Prawdopodobnie zjawisko to jest wynikiem utraty kontroli nad odpowiednią ilością przyjmowanego pokarmu i powstawanie zmian w obrębie obwodów neuronalnych. Przyczyną tych nieprawidłowości jest być może dysfunkcja mózgowego układu nagrody (*Reward System* – RS) (Sun i in. 2022).

BED posiada wspólny fenotyp behawioralny z otyłością, co jest wynikiem nadmiernej konsumpcji pokarmów (Smith i in. 2019). Otyłość (*Obesity*) jest chorobą zaliczaną do typu chorób

przewlekłych i pojawia się, gdy przez dłuższy czas spożycie energii przekracza wydatek energetyczny. Ponadto, istnieje korelacja pomiędzy otyłością a nieprawidłowymi nawykami żywieniowymi, jak np. nieregularne przyjmowanie posiłków lub nadmierne spożywanie kalorycznych pokarmów często typowych dla diety wysokotłuszczowej (*High Fat Diet* – HFD) (Sun i in. 2022). Objadanie się u ludzi wyzwalane jest zmianami w neuroprzekaznikach, czynnikami psychologicznymi, społecznymi lub interpersonalnymi (Amisshah i in. 2020). U osób ze zdiagnozowanym BED stwierdzono wyższą wartość wzmocnienia wysokotłuszczowej i przetworzonej żywności niż u osób zdrowych. Wzmacniające właściwości pokarmu są w dużej mierze kodowane przez obszary mózgu w tzw. mezolimbicznej ścieżce nagrody, której ważnymi elementami są NAc i VTA. Wartość wzmocnienia jest pośredniczona przez NAc – kluczowy obszar neuroanatomiczny, który reguluje żywienie hedoniczne lub przyjmowanie pokarmu przy braku deficytu kalorycznego. Natomiast VTA to struktura, która jest również powiązana z wartością wzmocnienia i wpływa na chęć przyjmowania i utrzymywania diety powodującej otyłość (Smith i in. 2019). Wzorce żywieniowe tego typu mogą prowadzić do niewystarczającego spożycia mikroelementów oraz nadmiernego spożycia makroskładników, zwłaszcza węglowodanów i tłuszczów. W warunkach laboratoryjnych osoby z BED spożywały większe ilości kalorii w porównaniu z osobami zdrowymi (które nie chorowały na BED) z grupy kontrolnej, zarówno podczas symulacji epizodu objadania się oraz gdy poinstruowano ich, aby jedli w normalny sposób (Wiklund i in. 2022). Oprócz napadowego objadania się i przybierania na wadze, osoby z BED mogą wykazywać szereg cech, które są obserwowane w uzależnieniu od innych substancji, klasyfikowanych jako narkotyki. W badaniach z udziałem pacjentów z BED stwierdzono, że ci pacjenci mają większą motywację do jedzenia, bardziej skupiają na nim uwagę i wykazują impulsywność związaną z jedzeniem (Curtis i in. 2019). Zatem BED to poważne zaburzenie utrzymujące się latami, które niesie za sobą wiele chorób somatycznych oraz zaburzeń psychicznych oraz znacząco wpływa na jakość życia chorych (Flatt i in. 2022). Problemy wynikające z BED są nie tylko uciążliwe dla chorego i jego otoczenia, ale w znaczący sposób obciążają ekonomicznie, ponieważ leczenie chorób współistniejących jest bardzo kosztowne.

### 3. Przegląd literatury

Działania układu mezolimbicznego (*Mesolimbic System* – MLS) oraz mózgowego RS warunkują odpowiednie wzmocnienie właściwości nagradzających pokarmu. We wzmacniających właściwościach przyjmowania żywności pośredniczą przede wszystkim NAc i VTA (Smith i in. 2019). Wiadomo, że neurony DA w VTA przewodzące sygnały do prążkowie (*Corpus Striatum* – CS), odgrywają kluczową rolę w regulacji zachowań behawioralnych związanych z żywieniem i opartych na systemie nagrody (Sun i in. 2022). Jedno z badań wykazało (Onaolapo i Onaolapo 2018), że u osób otyłych ekspozycja na sygnały pokarmowe postrzegane jako smaczne, była związana z nadmierną reakcją w obszarach mózgu związanych z RS. Potwierdza to powiązanie samej DA ze wzmacniającymi efektami pożywienia. Dodatkowo spożywanie pokarmu powoduje uwalnianie DA w CS, a stopień przyjemności czerpanej z jedzenia pozytywnie koreluje z samą ilością uwolnionej DA. Zatem wartość wzmocnienia kontrolowana jest przede wszystkim za pośrednictwem NAc regulującego hedoniczne odczucia z przyjmowania pokarmu oraz przyjmowanie go przy braku deficytu kalorycznego (Smith i in. 2019). NAc stanowi neuronalne podłoże wzmocnienia i zachowań ukierunkowanych na cel. Jądro to otrzymuje projekcje neuronalne z obszarów mózgu związanych z przyjmowaniem pokarmu. Dodatkowo zachowania pokarmowe napędzane są metabolicznym zapotrzebowaniem na energię, regulowanym przez aktywność neuronalną jąder Hyp, a w szczególności przez PVN (Smith i in. 2020).

Jako potencjalny regulator reakcji behawioralnych związanych z objadaniem się wskazuje się też sprzężony z białkiem G receptor – receptor 2 neuromedyny U (*Neuromedin U Receptor 2* - NMUR2). Jego ekspresja odbywa się głównie w ośrodkowym układzie nerwowym ssaków. Stwierdzono, że dezaktywacja receptora NMUR2 nasila napadowe spożywanie wysokotłuszczowej żywności. Wiadomo również, że ten receptor reguluje przyjmowanie pokarmu i utrzymywanie prawidłowej masy ciała. Dowodem tego są badania, w których stwierdzono, że myszy transgeniczne pozbawione NMUR2 są hiperfagiczne i wykazują zwiększone wzorce przyjmowania pokarmu (Smith

i in. 2019). Kolejne badania na szczurach wykazały, że delecja podwzgórzowego NMUR2 za pośrednictwem RNAi, w którym pośredniczyły wirusy, przyczyniła się do zwiększonej motywacji w przypadku pobierania wysokotłuszczowego pożywienia oraz do nasilenia napadów objadania się (Benzon i in. 2014). Zatem zmiana w aktywacji receptora NMUR2 może przyczynić się do zmiany mechanizmów mózgowych związanych z przyjmowaniem pokarmu, a proces ten, jak wiadomo, jest całkowicie rozregulowany w przypadku BED i otyłości. Ważne wydają się być również zależności między ekspresją NMUR2 w ośrodkach nagrody w mózgu a behawiorem związanym z objadaniem się (Smith i in. 2019).

Jednym z czynników odgrywających kluczową rolę w przekazywaniu sygnałów zapalnych jest również inhibitor podjednostki beta kinazy czynnika jądrowego kappa B (*Beta Kinase Inhibitor of Nuclear Kappa B Factor* – IKK $\beta$ ). Ponadto bezpośrednia fosforylacja reszt serynowych substratu receptora insuliny – 1 (*Insulin Receptor Substrate-1* – IRS-1) powoduje oporność na insulinę. We wcześniejszych badaniach wykazano, że niedobór IKK $\beta$ , który jest specyficzny dla neuronów Hyp, zmniejsza otyłość wywołaną stosowaniem diety wysokotłuszczowej. W badaniu na myszach stwierdzono, że niedobór IKK $\beta$  w VTA hamuje nie tylko objadanie się wysokotłuszczowym pożywieniem samic, lecz również stwierdzono zmniejszoną aktywację komórek glejowych w tej strukturze, co w efekcie może doprowadzić do zmiany w ekspresji genów związanych z DA i zmiany w oporności na insulinę, nie wpływając przy tym na zmianę bilansu energetycznego (Sun i in. 2022).

Dodatkowym aspektem mogącym wpływać na sygnalizację neuronalną i postrzeganie nagrody są hormony oreksynogenne – szczególnie grelina. Grelina wytwarzana jest w żołądku, a jej poziom wzrasta przed przyjęciem posiłku, co skutkuje spożyciem pokarmu. Wiadomo, że w oreksynogennym działaniu greliny pośredniczą przede wszystkim receptory hormonu wzrostu w OUN. Działanie greliny, oprócz kontroli spożywania pokarmów, polega również na zwiększeniu efektu nagrody, także podczas samego aktu jedzenia. Odbywa się to za pośrednictwem DA i opioidów. Kolejna jej funkcja może dotyczyć również regulacji samej impulsywności emocjonalnej (Anderberg i in. 2016).

Wpływ na regulację zachowań żywieniowych związanych z BED mają również układy neuroendokryne obejmujące oś współczulno-nadnerczowo-rdzeniową (*Sympathetic-Adrenal-Medullary Axis* – SAM) i oś podwzgórze-przysadka-nadnercza (*Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis* - HPA). Obie osie odgrywają ważną rolę w regulacji stresu i zapotrzebowania energetycznego i mogą w znaczący sposób wpływać na przebieg określonych reakcji adaptacyjnych, co ma ważne znaczenie w kontekście zaburzeń pokarmowych (Vannucci i in. 2015). Tym samym wskazuje się na duże znaczenie zmian w określonym środowisku oraz na znaczenie mechanizmów radzenia sobie z sytuacjami stresowymi. Zebrane dane sugerują, że zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe oddziałują wzajemnie na siebie, tym samym wpływając na rozwój zaburzeń odżywiania z napadami objadania się. Wiadomo, że BED to jednostka choroba, która jest zaburzeniem złożonym. Zatem przy poznawaniu jej mechanizmów powstawania należy wziąć pod uwagę wiele czynników, w tym biologicznych, społecznych i środowiskowych. Ponadto, czynniki te mogą wchodzić we wzajemne interakcje i wpływać na funkcje genów, dlatego ważne jest badanie mechanizmów epigenetycznych. Należy podkreślić, że podczas pandemii COVID-19 psychospołeczne czynniki stresogenne zaostrzyły istniejące wcześniej zaburzenia odżywiania i podatność na ich rozwój. Wiadomo, że negatywne emocje wpływają i wyzwalają epizody objadania się, a dodatkowa sytuacja związana z pandemią przyczyniła się do nasilenia zaburzeń odżywiania, w tym BED (Pucci i in. 2022). Przykładem może być badanie, w którym wykazano, że u nosicieli allele typu S 5-HTTLPR narażonych w dzieciństwie na maltretowanie, ryzyko wystąpienia napadów objadania się w okresie nastoletnim jest wyższe. W podobnej sytuacji nosiciele co najmniej jednego allele typu C polimorfizmu *Bcl1 GR* są bardziej narażeni na BED już jako dzieci. Ponadto, stres dziecięcy może wpływać również na zahamowanie rozwoju połączeń korowo-limbicznych oraz zahamowanie pozostałych układów neuronalnych w odpowiedzi na stres neuroendokryny, co w efekcie może prowadzić do niepożądanych reakcji behawioralnych związanych z dietą i prowadzić do BED. Następnie wykorzystywanie seksualne i fizyczne, separacja matek i izolacja społeczna od rówieśników to czynniki środowiskowe, które znacząco mogą mieć wpływ na przebudowę strukturalną i funkcjonalną neuronów korowo-limbicznych, funkcjonalną łączność między obszarami



korowo-limbicznymi, nadreaktywność obu osi SAM i HPA oraz mogą prowadzić do zmian poziomu kortyzolu w osoczu. Skutki wydarzeń traumatycznych obserwowane są w zmianach aktywacji korowo-limbicznej i neuroendokrynnej, które często nie są widoczne aż do okresu dojrzewania. Ponadto, zmiany te częściej obserwowane są u kobiet, co można tłumaczyć pojawieniem się zwiększonego odsetka BED u dorastających kobiet w porównaniu do dorastających mężczyzn (Vannucci i in. 2015). Badania na zwierzętach wykazały również, że stres może przyczynić się, pod wpływem zmian w aktywacji połączeń neuronalnych LH i VTA, do zmian nawyków żywieniowych, które promują nadmierną konsumpcję pokarmową. Ponadto podczas narażenia na stres społeczny może dochodzić do aktywacji neuronów glutaminergicznych (*Glutamatergic Neurons* – neurony Glu), wskutek czego synapsy na neuronach DA mogą być wzmacniane poprzez zmiany podjednostki receptora AMPA (Linders i in. 2022).

#### **4. Podsumowanie i wnioski**

Podsumowując, BED jest poważnym zaburzeniem dotyczącym wielu osób na całym świecie i w znaczący sposób obniżającym jakość życia tychże osób. Etiologia BED wydaje się być złożona i obejmuje wiele czynników, zarówno genetycznych, spontanicznych biochemicznych ze szczególnym uwzględnieniem zaburzeń neuroprzekaznictwa w obrębie RS oraz środowiskowych. Do tej pory nie udało się w pełni zbadać jednak wszystkich czynników wpływających na rozwój zaburzenia odżywiania się, a także znaleźć sposobu na ograniczenie jego występowania. Zatem, temat wymaga dalszych badań w celu ustalenia potencjalnych szlaków wpływających na rozwój BED oraz znalezienia dla tego schorzenia odpowiednich środków terapeutycznych.

#### **5. Literatura**

- Albertz J, Boersma GJ, Tamashiro KL, et al. (2018) The effects of scheduled running wheel access on binge-like eating behavior and its consequences. *Appetite* 126: 176–184.
- Amissah QR, Chometon S, Calvez J, et al. (2020) Differential Expression of DeltaFosB in Reward Processing Regions Between Binge Eating Prone and Resistant Female Rats. *Frontiers in System Neuroscience* 14: 562154.
- Anderberg RH, Hansson C, Fenander M, et al. (2016) The Stomach-Derived Hormone Ghrelin Increases Impulsive Behavior. *Neuropsychopharmacology* 41(5): 1199–1209.
- Benzon CR, Johnson SB, McCue DL, et al. (2014) Neuromedin U receptor 2 knockdown in the paraventricular nucleus modifies behavioral responses to obesogenic high-fat food and leads to increased body weight. *Neuroscience* 258: 270–279.
- Bodell LP, Racine SE (2023) A mechanistic staging model of reward processing alterations in individuals with binge-type eating disorders. *International Journal of Eating Disorders* 56(3): 516–522.
- Curtis GR, Coudriet JM, Sanzalone L, et al. (2019) Short- and long-access palatable food self-administration results in different phenotypes of binge-type eating. *Physiology & Behaviour* 212: 112700.
- Dore R, Krotenko R, Reising JP, et al. (2020) Nesfatin-1 decreases the motivational and rewarding value of food. *Neuropsychopharmacology* 45(10): 1645–1655.
- Flatt RE, Thornton LM, Smith T, et al. (2022) Retention, engagement, and binge-eating outcomes: Evaluating feasibility of the Binge-Eating Genetics Initiative study. *International Journal of Eating Disorders* 55(8): 1031–1041.
- Linders LE, Patrikiou L, Soiza-Reilly M, et al. (2022) Stress-driven potentiation of lateral hypothalamic synapses onto ventral tegmental area dopamine neurons causes increased consumption of palatable food. *Nature Communications* 13(1): 6898.
- Micarelli A, Vezzoli A, Malacrida S, et al. (2023) Taste Function in Adult Humans from Lean Condition to Stage II Obesity: Interactions with Biochemical Regulators, Dietary Habits, and Clinical Aspects. *Nutrients* 15(5): 1114.

- Onaolapo AY, Onaolapo OJ (2018) Food additives, food and the concept of 'food addiction': Is stimulation of the brain reward circuit by food sufficient to trigger addiction? *Pathophysiology* 25(4): 263–276.
- Pucci M, D'Addario C, Micioni Di Bonaventura E, et al. (2022) Endocannabinoid System Regulation in Female Rats with Recurrent Episodes of Binge Eating. *International Journal of Molecular Sciences* 23(23): 15228.
- Smith AE, Kasper JM, Ara 13, et al. (2019) Binge-Type Eating in Rats is Facilitated by Neuromedin U Receptor 2 in the Nucleus Accumbens and Ventral Tegmental Area. *Nutrients* 11(2): 327.
- Smith AE, Ogunseye KO, DeBenedictis JN, et al. (2020) Glutamatergic projections from homeostatic to hedonic brain nuclei regulate intake of highly palatable food. *Science Reports* 10(1): 22093.
- Sun R, Sugiyama M, Wang S, et al. (2022) Inflammation in VTA Caused by HFD Induces Activation of Dopaminergic Neurons Accompanied by Binge-like Eating. *Nutrients* 14(18): 3835.
- Turton R, Chami R, Treasure J (2017) Emotional Eating, Binge Eating and Animal Models of Binge-Type Eating Disorders. *Current Obesity Reports* 6(2): 217–228.
- Vannucci A, Nelson EE, Bongiorno DM, et al. (2015) Behavioral and neurodevelopmental precursors to binge-type eating disorders: support for the role of negative valence systems. *Psychological Medicine* 45(14): 2921–2936.
- Wiklund CA, Igudesman D, Kuja-Halkola R, et al. (2022) Intake and adherence to energy and nutrient recommendations among women and men with binge-type eating disorders and healthy controls. *Clinical Nutrition* 48:186-195.

## **10. Analiza zgodności pomiędzy tomografią komputerową tętnic wieńcowych a koronarografią w ocenie istotności zwężeń tętnic wieńcowych i czynników mogących wpływać na wskaźnik uwapnienia u pacjentów z wielonaczyniową chorobą wieńcową.**

Concordance between coronary artery computed tomography angiography and coronary angiography in assessing the significance of coronary artery stenosis and factors that may influence the coronary artery calcium score in patients with multivessel coronary artery disease.

Kaczmarek Daria, Piekarniak Michał, Matuszewska-Brycht Oliwia, Kobierecki Mateusz, Jakuszczonek Milena

II Klinika Kardiologii, Centralny Szpital Kliniczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
Opiekun naukowy: prof. dr hab. n. med. Jarosław Drożdż

Daria Kaczmarek: [dariaa.jedrzejewska@gmail.com](mailto:dariaa.jedrzejewska@gmail.com)

Słowa kluczowe: choroba wieńcowa, angiotomografia tętnic wieńcowych, wskaźnik uwapnienia

### **Streszczenie**

Choroba wieńcowa jest jednym z najczęściej występujących problemów kardiologicznych w Polsce. Celem pracy była analiza porównawcza wyników tomografii komputerowej tętnic wieńcowych (CCTA) i koronarografii (ICA) u pacjentów z wielonaczyniową chorobą wieńcową (MVD) oraz analiza czynników mogących wpływać na ocenę wskaźnika uwapnienia w tętnicach wieńcowych.

Oceniono wyniki CCTA i koronarografii u 106 pacjentów z MVD, porównując je pod kątem istotności zwężeń w tętnicach wieńcowych w obu badaniach oraz wpływ wybranych czynników na całkowity wskaźnik uwapnienia tętnic wieńcowych (calcium score, CS).

Większość pacjentów stanowili mężczyźni (n=69.8%). Średnia wieku wynosiła  $69.42 \pm 8.28$  lat. Całościowa zgodność w ocenie istotności zwężeń w tętnicach wieńcowych w badaniu CCTA w porównaniu z koronarografią wynosiła 73% (kappa 0.47). Największa zgodność dotyczyła pnia lewej tętnicy wieńcowej 78% (kappa 0.5), a najmniejsza – gałęzi okalającej 69% (kappa 0.34). Mediana wskaźnika uwapnienia wynosiła 669 j.A (IQR: 312-1023). Średni CS u mężczyzn był wyższy niż u kobiet (941.81 j.A vs 715.28 j.A). Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy wysokością wartości wskaźnika uwapnienia a wiekiem ( $p < 0.05$ ), podwyższonym poziomem frakcji LDL cholesterolu ( $p < 0.05$ ), podwyższonym NT-proBNP ( $p < 0.05$ ). Ponadto wykazano istotne różnice między CS a wyższym stopniem dolegliwości bólowych wg skali CCS ( $p < 0.05$ ) oraz obecnością wcześniejszej rewaskularyzacji pod postacią implantacji stentów w tętnicach wieńcowych ( $p < 0.001$ ).

### **1. Wstęp**

Choroby sercowo-naczyniowe (cardiovascular diseases, CVD) są najczęstszą przyczyną zgonów, przyczyniając się do prawie jednej trzeciej wszystkich zgonów na świecie (Moraga i in. 2017). Szacuje się, że choroba niedokrwienna serca dotyka 1 655 na każde 100 000 osób, co daje ponad 120 milionów ludzi na całym świecie (Khan i in. 2020). Według prognoz, w 2030 roku choroby układu krążenia spowodują ponad 23 miliony zgonów na całym świecie (Lozano i in. 2012). W zdecydowanej większości przypadków choroba wieńcowa (CAD) jest spowodowana zwężeniem tętnic wieńcowych przez blaszki miażdżycowe. W przypadku znacznego miażdżycowego zająęcia więcej niż jednej tętnicy wieńcowej lub pnia lewej tętnicy wieńcowej możemy mówić o wielonaczyniowej postaci choroby wieńcowej (MVD). Pacjenci z MVD mają zwiększone ryzyko wystąpienia ostrych zespołów wieńcowych i nagłej śmierci sercowej (Brar i in. 2008).

Dotychczas zidentyfikowano wiele uznanych czynników ryzyka choroby wieńcowej, w tym: zaburzenia lipidowe, palenie tytoniu oraz choroby współistniejące, np.: nadciśnienie tętnicze,

upośledzona tolerancja glukozy lub cukrzyca oraz miażdżycy innych tętnic. Ponadto płeć męska, starszy wiek, predyspozycje genetyczne i nadmierna masa ciała wraz z niewystarczającą aktywnością fizyczną przyczyniają się do zwiększonego ryzyka występowania choroby wieńcowej (Malakar i in. 2019).

Dostępnych jest wiele metod diagnostycznych, które pomagają określić stopień niedokrwienia mięśnia sercowego, a tym samym przybliżony stopień zwężenia w poszczególnych tętnicach wieńcowych. Nieinwazyjne metody obrazowania są powszechnie stosowane w diagnozowaniu CAD, w porównaniu do metody inwazyjnej – koronarografii (invasive coronary angiography, ICA), która jeszcze niedawno była powszechnie stosowana jako jedyna diagnostyka obrazowa w ocenie tętnic nasierdziowych (Skelly i in. 2016). Tomografia komputerowa tętnic wieńcowych z użyciem kontrastu (coronary computed tomography angiography, CCTA) jest szeroko stosowaną nieinwazyjną metodą umożliwiającą ocenę prawdopodobieństwa obecności istotnych zwężeń w tętnicach wieńcowych.

Celem poniższej pracy była analiza porównawcza wyników tomografii komputerowej tętnic wieńcowych i koronarografii w odniesieniu do zmiennych demograficznych i klinicznych u pacjentów z wielonaczyniową chorobą wieńcową oraz analiza czynników mogących wpływać na ocenę wskaźnika uwapnienia w tętnicach wieńcowych.

## **2. Materiały i metody**

Przeprowadziliśmy retrospektywne badanie pacjentów z rozpoznaną MVD. Stu sześciu uczestników zostało włączonych do badania w latach 2020-2022, po hospitalizacji w Klinice Kardiologii Centralnego Szpitala Klinicznego w Łodzi. Kryteria włączające do badania obejmowały: wiek powyżej 18 lat, rozpoznanie CAD zgodnie z najnowszymi wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego.

Przeanalizowano wyniki CCTA i ICA u pacjentów z wielonaczyniową chorobą wieńcową oraz porównano wyniki istotności zwężeń tętnic wieńcowych w obu metodach obrazowania.

CCTA wykonywano ambulatoryjnie w różnych pracowniach tomografii komputerowej na terenie Łodzi przy użyciu różnych tomografów komputerowych co najmniej 64- rzędowych. W badaniu stosowano jodowy środek kontrastowy. Istotne zwężenie tętnic wieńcowych definiowano w CCTA jako istotne, krytyczne, ciężkie lub zwężające > 70% światła tętnicy wieńcowej.

ICA wykonywano w Klinice Kardiologii Centralnego Szpitala Klinicznego w Łodzi. Istotne zwężenie tętnic wieńcowych w ICA definiowano jako ponad 50% w pniu lewej tętnicy wieńcowej i z ponad 70% w pozostałych tętnicach nasierdziowych. ICA wykonywano nie później niż 12 miesięcy po CCTA u tego samego pacjenta.

Zebrano dane demograficzne, takie jak wiek, płeć, wskaźnik masy ciała (body mass index, BMI), obliczony jako masa ciała w kilogramach podzielona przez wzrost w metrach podniesiony do kwadratu. Z dokumentacji medycznej uzyskano również informacje kliniczne, takie jak frakcja wyrzutowa lewej komory (left ventricular ejection fraction, LVEF), klasa bólu dławicowego wg Canadian Cardiovascular Society (CCS), historia palenia papierosów, choroby współistniejące: niewydolność serca, nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia, cukrzyca typu 2, przewlekła choroba nerek (chronic kidney disease, CKD), przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP).

Oceniono wpływ wybranych czynników na całkowity wskaźnik uwapnienia tętnic wieńcowych (calcium score, CS). Normalność rozkładu zmiennych ciągłych oceniono za pomocą testu Shapiro-Wilka wraz z oceną histogramów. Zmienne ciągłe, które spełniały rozkład normalny przedstawiono za pomocą średniej oraz odchylenia standardowego (standard deviation, SD). Zmienne, które nie spełniały rozkładu normalnego przedstawiono za pomocą mediany oraz rozstępu międzykwartylowego (interquartile range, IQR). Zmienne porządkowe przedstawiono za pomocą udziału procentowego każdej cechy w stosunku do badanej populacji. W przypadku obecności dwóch grup porównywano je za pomocą testów t-Welcha lub U-Manna-Whitneya w zależności od normalności rozkładów zmiennych. Analogicznie więcej niż 3 grupy porównywano ze sobą za pomocą testu ANOVA lub nieparametrycznego testu Kruskala-Wallisa. Korelację między zmiennymi oceniono za pomocą współczynnika korelacji Pearsona (zmienne o rozkładzie normalnym) lub Rho-Spearmana (brak normalności rozkładu). Współczynnik korelacji między zmiennymi oznaczono za

pomocą litery r. We wszystkich testach statystycznych używano hipotezy dwustronnej. Za kryterium istotności statystycznej p uznano wartość poniżej 0.05.

Do określenia zgodności pomiędzy wynikami CCTA i ICA w ocenie istotności zwężenia tętnicy wieńcowej wykorzystano współczynnik kappa Cohena. Zgodność między CCTA i ICA zdefiniowano jako oba badania wykazujące istotne zwężenie lub brak istotnego zwężenia w tętnicy wieńcowej. Zgodnie z zaleceniami autorów wskaźnika, wartości kappa w zakresie 0,21-0,4 uznano za średnią zgodność, a wartości 0,41-0,6 za umiarkowaną zgodność między wymienionymi metodami diagnostycznymi. Do wszystkich obliczeń użyto języka Python 3.11 wraz z biblioteką SciPy.

Z badania wyłączono pacjentów bez wykonanej koronarografii, z utrwalonym migotaniem przedsionków, z ostrym zespołem wieńcowym lub udarem mózgu w ciągu ostatnich 3 miesięcy, z niepełnym opisem zmian w badaniach obrazowych. Badanie było przeprowadzone zgodnie z Deklaracją Helsińską i zostało zatwierdzone przez lokalną komisję etyki lekarskiej. Wszyscy pacjenci wyrazili pisemną, świadomą zgodę przed udziałem w badaniu.

### 3. Wyniki

W badanej populacji przeważali mężczyźni (n=69.8%). Średnia wieku pacjentów wynosiła  $69.42 \pm 8.28$  lat, a średnie BMI  $27.91 \pm 4.44$  kg/m<sup>2</sup>. Przewlekłą niewydolność serca (CHF), przewlekłą chorobę nerek (CKD) i cukrzycę typu 2 (DMT2) zdiagnozowano odpowiednio u 52.8%, 18.9% i 35.8% badanej populacji. Ponad 92.5% uczestników badania miało w wywiadzie nadciśnienie tętnicze, 100% - hiperlipidemię, a 5.7% - przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (POChP). Objawy dławicy piersiowej u pacjentów były najczęściej (ponad 44%) klasyfikowane jako klasa II CCS. Dokładną charakterystykę kliniczną badanej populacji przedstawiono szczegółowo w Tab. 1.

**Tab. 1.** Charakterystyka kliniczna populacji.

Wiek (średnia, SD)	69.42 SD=8.28
Płeć	
Mężczyźni (N, %)	74 (69.8%)
Kobiety (N, %)	32 (30.2%)
BMI (średnia, SD)	27.91 SD=4.44
Skala CCS	
I (N, %)	16 (15.1%)
II (N, %)	47 (44.3%)
III (N, %)	40 (37.8)
IV (N, %)	3 (2.8%)
HF (N, %)	56 (52.8%)
HFpEF (N, % of HF)	43 (76.7%)
HFmrEF (N, % of HF)	8 (14.3%)
HFrEF (N, % of HF)	5 (9.0%)
Palenie tytoniu	
Nigdy nie palący (N, %)	48 (45.3%)
Palący w przeszłości (N, %)	38 (35.8%)
Palący obecnie (N, %)	20 (18.95)
Nadciśnienie tętnicze (N, %)	98 (92.5%)
Cukrzyca typu 2 (N, %)	38 (35.8%)
Dyslipidemia (N, %)	106 (100%)
Przewlekła choroba nerek (N, %)	20 (18.9%)
Przewlekła obturacyjna choroba płuc (N, %)	6 (5.7%)

BMI- body mass index wskaźnik masy ciała; Skala CCS- klasyfikacja zaawansowania dławicy piersiowej wg Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego; HF- niewydolność serca; HFpEF- niewydolność serca z zachowaną frakcją wyrzutową; HFmrEF- niewydolność serca z łagodnie obniżoną frakcją wyrzutową; HFrEF- niewydolność serca z obniżoną frakcją wyrzutową

Porównanie wyników CCTA i koronarografii przeprowadzono u 86 pacjentów. U 20 chorych nie oceniono istotności zwężeń w tętnicach wieńcowych z powodu zbyt wysokiego wskaźnika uwapnienia uniemożliwiającego podanie jodowego środka kontrastowego.

Zgodność w ocenie istotności zwężeń w tętnicach wieńcowych za pomocą CCTA w porównaniu z ICA wyniosła 73% ( $\kappa=0.47$ , umiarkowana zgodność). Najwyższą zgodność odnotowano dla pnia lewej tętnicy wieńcowej (78%,  $\kappa=0.5$ , umiarkowana zgodność), a najniższą dla gałęzi okalającej (69%,  $\kappa=0.34$ , średnia zgodność). Szczegółową analizę przedstawiono w Tab. 2.

**Tab.2** Zgodność istotności zwężeń w tętnicach wieńcowych pomiędzy koronarografią i angiotomografią komputerową.

	PLTW	GPZ	GO	PTW	razem
Zgodność	67 (78%)	63 (73%)	59 (69%)	62 (72%)	251 (73%)
Naddiagnozowanie	8 (9%)	2 (3%)	6 (7%)	4 (5%)	20 (6%)
Niedodiagnozowanie	11 (13%)	21 (24%)	21 (24%)	20 (23%)	73 (21%)
Wskaźnik Kappa Cohena	0.50	0.40	0.34	0.45	0.47

PLTW- pień lewej tętnicy wieńcowej; GPZ- gałąź przednia zstępująca; GO- gałąź okalająca; PTW- prawa tętnica wieńcowa. Pierwsza cyfra przedstawia liczbę bezwzględną pacjentów, a druga udział procentowy w całej subpopulacji 86 pacjentów.

Mediana wskaźnika uwapnienia w badanej populacji wynosiła 669 j.A (IQR: 312-1023). Średni CS u mężczyzn był wyższy niż u kobiet (941.81 j.A vs 715.28 j.A). Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy wysokością wartości wskaźnika uwapnienia a wiekiem ( $p<0.05$ ), podwyższonym poziomem frakcji LDL cholesterolu ( $p<0.05$ ), podwyższonym NT-proBNP ( $p<0.05$ ). Ponadto wykazano istotne różnice między CS a wyższym stopniem dolegliwości bólowych wg skali CCS ( $p<0.05$ ). Osoby, które miały wcześniejszą rewaskularyzację pod postacią implantacji stentów w tętnicach wieńcowych (PCI) miały wyższy wskaźnik uwapnienia niż osoby, które nie były poddane PCI ( $p<0.001$ ). Wyniki przedstawiono w Tab. 3 i Tab. 4.

**Tab. 3.** Porównanie wskaźnika uwapnienia między poszczególnymi grupami.

Grupy	Liczba pacjentów	Wskaźnik uwapnienia mediana- IQR	Istotność statystyczna (p)
Płeć			
Mężczyźni	74	682 (354-1173)	0.12
Kobiety	32	633 (231.5-1002.5)	
Skala CCS			
I	13	430 (236-742)	0.035
II	75	770 (398-1200)	
III	17	527 (310-865)	
LDL			
Prawidłowy	12	478 (308-661)	0.033
Podwyższony	94	741 (321-1043)	
HDL			
Prawidłowy	19	430 (219-885)	0.89
Obniżony	87	740 (340-1036)	
Cholesterol całkowity			
Prawidłowy	80	573 (300-1022)	0.59
Podwyższony	26	840 (480-1042)	
Triglicerydy			
Prawidłowe	76	723 (311-1060)	0.51
Podwyższone	30	547 (398-982)	
Nadciśnienie tętnicze			
Obecne	98	620 (310-1017)	0.33
Brak	8	960 (741-1479)	
Cukrzyca typu 2			
Brak	63	587 (282-888)	0.067
Obecna	25	800 (370-1050)	
W trakcie insulinoterapii	13	1010 (580-2354)	

Grupy	Liczba pacjentów	Wskaźnik uwapnienia mediana- IQR	Istotność statystyczna (p)
BMI			
Prawidłowe	30	622 (296-1117)	0.63
Nadwaga	46	835 (406-1043)	
Otyłość	30	482 (333-982)	
LVEF			
Zachowana	91	611 (306-1021)	0.33
Łagodnie obniżona	10	830 (417-1040)	
Obniżona	5	900 (680-1540)	
POCHP			
Obecne	6	680 (446-878)	0.20
Brak	100	669 (308-1029)	
Zakrzepica obwodowa w wywiadzie			
Obecna	19	800 (359-1005)	0.45
Brak	87	630 (306-1125)	
Przewlekła choroba nerek			
Obecna	20	821 (429-978)	0.46
Brak	86	644 (305-1081)	
Udar niedokrwienny w wywiadzie			
Tak	11	800 (312-955)	0.63
Nie	95	658 (339-1071)	
Przebyty zawał serca w wywiadzie			
Tak	25	611 (428-840)	0.08
Nie	81	740 (294-1200)	
Angioplastyka wieńcowa w wywiadzie			
Tak	27	527 (383 - 740)	0.000146
Nie	79	799 (286 - 1266)	
Pomostowanie aortalno wieńcowe w wywiadzie			
Tak	14	875 (745 - 1010)	0.29
Nie	92	564 (288 - 1029)	

Skala CCS- klasyfikacja zaawansowania dławicy piersiowej wg Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego; LDL- lipoproteiny o małej gęstości; HDL- lipoproteiny o dużej gęstości; BMI- body mass index wskaźnik masy ciała; LVEF- frakcja wyrzutowa lewej komory; POCHP- przewlekł obturacyjna choroba płuc

**Tab. 4.** Korelacja pomiędzy wskaźnikiem uwapnienia a poszczególnymi cechami.

Cecha	Współczynnik korelacji (r)	Istotność statystyczna (p)
Wiek	0.19	0.046
BMI	0.07	0.47
LVEF	-0.10	0.28
TnT	0.15	0.10
CK-MBmass	-0.02	0.83
NT-proBNP	0.22	0.0231
Hgb kobiety	0.41	0.019
Hgb mężczyźni	0.05	0.62
CRP	0.04	0.64

BMI- body mass index wskaźnik masy ciała; LVEF- frakcja wyrzutowa lewej komory; TnT- troponina T; CK-MBmass- izoenzym MB kinazy kreatynowej; NT-proBNP- N-końcowy fragment peptydu natriuretycznego typu B; Hgb- hemoglobina; CRP- białko C-reaktywne

#### 4. Dyskusja i wnioski

Chociaż angiotomografia komputerowa naczyń wieńcowych jest bardzo dobrą metodą obrazowania tętnic wieńcowych, główną zaletą tego badania jest jego wysoka ujemna wartość predykcyjna (Hadamitzky i in. 2009). Wykazano, że wykluczenie jakiegokolwiek zwężenia w tętnicy wieńcowej za pomocą CCTA wiąże się z bardzo niską śmiertelnością w tej grupie pacjentów (0.28%) (Min i in. 2011). CCTA charakteryzuje się wysoką czułością i swoistością (odpowiednio 97.2% i 87.4%) potwierdzoną w licznych badaniach. Jej wartość wzrasta u pacjentów bez stwierdzonej choroby wieńcowej w wywiadzie (odpowiednio 97.6% i 89.2%) oraz gdy częstość akcji serca pacjenta jest jak najbardziej zbliżona do 60/min lub nawet niższa (Schuetz i in. 2010; Brodoefel i in. 2008).

Jakość tej metody w ocenie tętnic wieńcowych jest obniżona przez wcześniejsze interwencje, takie jak pomostowanie tętnic wieńcowych lub przezskorną interwencję wieńcową z implantacją stentu. Arytmie lub szybkie tętno i otyłość u pacjentów również zmniejszają swoistość CCTA. Jednak dzięki nowoczesnemu sprzętowi- 64-rzędowe lub więcej tomografy komputerowe udaje się minimalizować te ograniczenia. (Ropers i in. 2006; Westwood i in. 2013). Dzięki wysokiej czułości i swoistości CCTA jest niezwykle przydatną metodą identyfikacji pacjentów z wysokim ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych, również w przypadku bezobjawowej choroby wieńcowej (Beller i in. 2018).

Koronarografia pozostaje nadal "złotym standardem" obrazowania tętnic wieńcowych. Jako metoda diagnostyczna i terapeutyczna pozwala na wizualizację w czasie rzeczywistym przepływu kontrastu przez naczynie i umożliwia przezskorną interwencję w celu rozszerzenia zwężenia tętnicy w tym samym czasie. W stosunku do CCTA, ICA wyróżnia się wyższą rozdzielczością przestrzenną i czasową. Niestety jest to metoda inwazyjna, która niesie ze sobą ryzyko powikłań, takich jak krwawienie w miejscu wkłucia (0.7%) (Marwan i in. 2009) oraz ryzyko zgonu, zawału mięśnia sercowego (MI) lub udaru mózgu (0.1-0.2%) (Arora i in. 2014).

CCTA wiąże się z niższą czułością i swoistością w identyfikacji pacjentów z istotnym zwężeniem > 70% światła tętnicy wieńcowej i segmentu tętnicy (Kim i in. 2019). Ta rozbieżność między wynikami CCTA i ICA dla istotnego zwężenia obecnie wyklucza planowanie rewaskularyzacji wieńcowej przy użyciu CCTA jako pojedynczej metody obrazowania. Niemniej jednak, nieinwazyjne metody obrazowania coraz częściej mogą stanowić podstawę przyszłej kwalifikacji do rewaskularyzacji, w tym u pacjentów z MVD, o czym świadczą wyniki badania SYNTAX III (Collet i in. 2018). Coraz lepsza dostępność i spadek kosztów badań obrazowych w ciągu ostatnich lat pozwala przypuszczać, że metoda ta dalej będzie zyskiwać na znaczeniu.

Nie ulega wątpliwości, że nadal potrzebne są dalsze badania, aby oprócz przyszłe podejmowanie decyzji odnośnie rewaskularyzacji wyłącznie na nieinwazyjnych badaniach obrazowych, tj. CCTA, i informacjach klinicznych. Badania takie wymagają jednak dużej, starannie wyselekcjonowanej grupy badawczej, którą szczególnie trudno zebrać, oraz wieloletniej obserwacji.

Czynniki ryzyka choroby wieńcowej są szeroko rozpowszechnione w populacji pacjentów z MVD, co jest ważną kwestią i podkreśla znaczną pracę, jaką personel medyczny powinien wykonać w celu edukacji społeczeństwa w zakresie zapobiegania chorobom sercowo-naczyniowym. U pacjentów z MVD istnieje umiarkowana zgodność między opisem istotności zwężeń tętnic wieńcowych na podstawie CCTA w porównaniu z ICA, co w chwili obecnej nie stawia CCTA jako samodzielnej metody kwalifikującej do leczenia interwencyjnego tych pacjentów. Niewątpliwą zaletą diagnostyki nieinwazyjnej jest zmniejszenie powikłań związanych z badaniem w porównaniu do procedur inwazyjnych.

Tomografia komputerowa serca, która jest wykonywana przed podaniem środka kontrastowego pozwala na ocenę obecności zwapnień w tętnicach wieńcowych, które należy wiązać głównie z obecnością blaszek miażdżycowych (Westwood i in. 2013). Oznaczona tą metodą wysoka wartość wskaźnika uwapnienia tętnic wieńcowych, tj. >400, wyrażana w jednostkach Agatstona znacznie obniża swoistość tego badania (O'Rourke i in. 2000). Znacznie nasilone zwapnienia w tętnicach wieńcowych ograniczają lub czasami nawet uniemożliwiają ocenę stopnia zwężenia tętnic wieńcowych, co może ograniczać zastosowanie tego badania w populacji pacjentów starszych,



z dyslipidemią oraz po angioplastykach wieńcowych z implantacją stentów. Jednocześnie wysoki wskaźnik uwapnienia tętnic nasierdziowych u 36.5% pacjentów z pośrednim prawdopodobieństwem choroby wieńcowej przed testem wiąże się z obecnością istotnych zwężeń i u 50% z wysokim prawdopodobieństwem (Chen i in. 2011).

Brak zwapnień w tętnicach wieńcowych wcale nie musi wykluczać obecności blaszek miażdżycowych, mogących powodować nawet ciężkie, istotne hemodynamicznie zwężenie i może wiązać się z częstszym występowaniem ostrych zespołów wieńcowych bez uniesienia odcinka ST (van Werkhoven i in. 2010).

Nasze badanie ma kilka ograniczeń. Badanie miało charakter retrospektywny i obejmowało tylko jeden ośrodek, dlatego ilość pacjentów była względnie niewielka. Badania CCTA były wykonywane przez różne pracownie i opisywane przez różnych radiologów, co może wpływać na ocenę całkowitego wskaźnika uwapnienia. Ponadto koronarografia była również wykonywana przez różnych kardiologów. Należy wziąć pod uwagę, że CCTA często podlega ograniczeniom wynikającym z różnic w poziomie doświadczenia lekarzy opisujących wynik badania oraz jakości aparatu, na którym były one wykonywane. Grupa badana stanowiła jednakże homogeną populację mieszkańców jednego województwa, która miała wykonaną koronarografię w jednym ośrodku.

## 5. Literatura

- Moraga P (2017) GBD 2016 causes of death collaborators global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. *Lancet*; 390(10100):1151–210.
- Khan MA, Hashim MJ, Mustafa H i in. (2020) Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: Results from the Global Burden of Disease Study. *Cureus*; 23;12(7):e9349
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K i in. (2012) Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet*; 380(9859):2095–128
- Brar SS, Syros G, Dangas G (2008) Multivessel disease: percutaneous coronary intervention for classic coronary artery bypass grafting indications. *Angiology*; 59(2 Suppl):83S-8S
- Malakar AK, Choudhury D, Halder B i in. (2019) A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics. *Journal of Cellular Physiology*; 234(10):16812-16823
- Skelly AC, Hashimoto R, Buckley DI i in. (2016) Noninvasive Testing for Coronary Artery Disease. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); (Comparative Effectiveness Reviews, No. 171.) Introduction.
- Hadamitzky M, Freissmuth B, Meyer T i in. (2009) Prognostic value of coronary computed tomographic angiography for prediction of cardiac events in patients with suspected coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology: Cardiovasc Imaging*; 2: 404–411.
- Min JK, Dunning A, Lin FY i in. (2011) Age- and sex-related differences in all-cause mortality risk based on coronary computed tomography angiography findings results from the International Multicenter CONFIRM (Coronary CT Angiography Evaluation for Clinical Outcomes: An International Multicenter Registry) of 23,854 patients without known coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*; 58: 849–860.
- Schuetz GM, Zacharopoulou M, Schlattmann P i in. (2010) Meta-analysis: noninvasive coronary angiography using computed tomography versus magnetic resonance imaging. *Annals of Internal Medicine*; 152: 167-177.
- Brodofel H, Burgstahler C, Tsiflikas I i in. (2008) Dual-source CT: effect of heart rate, heart rate variability, and calcification on image quality and diagnostic accuracy. *Radiology*; 247: 346–355.
- Ropers D, Pohle FK, Kuettner A i in. (2006) Diagnostic accuracy of noninvasive coronary angiography in patients after bypass surgery using 64-slice spiral computed tomography with 330-ms gantry rotation. *Circulation*; 114: 2334–2341.
- Westwood ME, Raatz HD, Misso K i in. (2013) Systematic review of the accuracy of dual-source cardiac CT for detection of arterial stenosis in difficult to image patient groups. *Radiology*; 267: 387–95.

- Beller E, Meinel FG, Schoeppe F i in. (2018) Predictive value of coronary computed tomography angiography in asymptomatic individuals with diabetes mellitus: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Cardiovascular Computed Tomography*; 12(4):320-328.
- Marwan M, Ropers D, Pflederer T i in. (2009) Clinical characteristics of patients with obstructive coronary lesions in the absence of coronary calcification: an evaluation by coronary CT angiography. *Heart*; 95: 1056–1060.
- Arora N, Matheny ME, Sepke C i in. (2007) A propensity analysis of the risk of vascular complications after cardiac catheterization procedures with the use of vascular closure devices. *American Heart Journal*; 153: 606–611.
- Kim C, Hong SJ, Shin S i in. (2019) Clinical utility of coronary computed tomography angiography in patients diagnosed with high-grade stenosis of the coronary arteries. *Coronary Artery Disease*. Apr 10.
- Collet C, Onuma Y, Andreini D i in. (2018) Coronary computed tomography angiography for heart team decision-making in multivessel coronary artery disease. *European Heart Journal*. Nov 1;39(41):3689-3698.
- O'Rourke RA, Brundage BH, Froelicher VF i in. (2000) American College of Cardiology/American Heart Association Expert Consensus document on electron-beam computed tomography for the diagnosis and prognosis of coronary artery disease. *Circulation*; 102: 126–140.
- Chen CC, Chen CC, Hsieh IC i in. (2011) The effect of calcium score on the diagnostic accuracy of coronary computed tomography angiography. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*; 27 (suppl. 1): 37–42
- van Werkhoven JM, de Boer SM, Schuijf JD i in. (2010) Impact of clinical presentation and pretest likelihood on the relation between calcium score and computed tomographic coronary angiography. *The American Journal of Cardiology*; 106: 1675–1679.

## 11. Wpływ resweratrolu na choroby układu krążenia

The influence of resveratrol on cardiovascular diseases

Oliwa Weronika, Pałka Magdalena, Markowska Julia

Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Nieorganicznej Katedry Chemii; Wydział Farmaceutyczny;  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: Kamila Kasprzak-Drozd

Oliwa Weronika: weronikaoliwa281@gmail.com

Słowa kluczowe: polifenole, miażdżycza, stres oksydacyjny

### Streszczenie

Choroby układu krążenia zaliczamy do jednych z najbardziej śmiertelnych chorób cywilizacyjnych; są one głównie wynikiem złego stylu życia, nieodpowiedniej diety oraz korzystania z używek. Resweratrol, czyli polifenol, którego duże stężenie można znaleźć w czerwonym winie (dokładniej znajduje się on w winogronach) wykazuje korzystne działanie na układ krwionośny, zatem może być pomocny w walce ze schorzeniami sercowo-naczyniowymi. Takie działanie tego związku opiera się na jego właściwościach antyoksydacyjnych – mobilizuje enzymy antyoksydacyjne, hamuje aktywność enzymów, przyczyniających się do powstania wolnych rodników oraz chelatuje jony metali, biorące udział w tworzeniu RFT. Resweratrol działa też przeciwpalnie poprzez hamowanie syntezy NF- $\kappa$ B, IL-6, TNF- $\alpha$  i IL-1  $\beta$ , które są mediatorami stanu zapalnego. Ma on także pozytywny wpływ na stosunek LDL/HDL oraz przeciwdziała agregacji płytek krwi, ze względu na inhibicję COX-1 i, co za tym idzie, zahamowanie wytwarzania tromboksanu A2. Dzięki tym działaniom, leżącym u podstawy chorób układu krążenia, resweratrol okazuje się być cenną substancją do profilaktyki lub leczenia wspomagającego takich dolegliwości jak: miażdżycza, choroba niedokrwienna serca oraz nadciśnienie tętnicze.

### 1. Wstęp

Choroby układu krążenia (cardiovascular diseases – CVD) to choroby dotyczące serca, tętnic i żył; często przybierają niebezpieczną postać i mogą prowadzić nawet do śmierci. Do najczęściej spotykanych schorzeń tego typu można zaliczyć: nadciśnienie tętnicze, miażdżycę, chorobę niedokrwienną serca, niewydolność serca, ale też żylaki lub migotanie przedsionków (Badowska-Kozakiewicz 2013).

Schorzenia układu sercowo – naczyniowego już na początku XXI wieku stały się główną przyczyną przedwczesnej śmiertelności i zachorowalności na całym świecie. Okazuje się, że w głównej mierze to nieodpowiedni styl życia odpowiada za rozwój tego typu dolegliwości. Dotyczy on między innymi złej diety (bogatej w nasycone tłuszcze i cukry proste), zbyt małej aktywności fizycznej oraz stosowania używek (palenia papierosów) (Teo and Rafiq 2021). Również nadużywanie alkoholu może przyczyniać się do złej kondycji układu krążenia, chociaż jego małe ilości paradoksalnie poprawiają jego funkcjonowanie (mowa tu o winie, którego składnik – resweratrol będzie przedmiotem naszych rozważań w tej pracy). Istnieje nawet następujące zjawisko: „paradoks francuski”, które wyjaśniało najniższą na świecie umieralność Francuzów z regionu Bordeaux na choroby serca w latach 90. XX wieku, mimo że tamtejsza dieta składała się z tłuszczów nasyconych oraz składników bogatych w cholesterol, czyli elementów generalnie wpływających niekorzystnie na zdrowie. Przypuszcza się, że spowodowane to było właśnie prozdrowotnymi składnikami wina spożywanego w małych ilościach (Bielawski 2019). Natomiast możliwe jest też, że nie same polifenole występujące w winie mają takie właściwości, ale spożywanie ich w połączeniu z serami pleśniowymi potęguje efekt kardioprotekcyjny (Sinkiewicz i Chudzińska 2021).

Resweratrol po raz pierwszy został wyizolowany z ciemniżycy białej (*Veratrum grandiflorum*). Natomiast największą jego ilość znaleziono w roślinach rodzaju *Vitis*, a dokładniej w winorośli właściwej (*Vitis vinifera*), co znajduje swoje potwierdzenie w tabeli (Tab.1), ponieważ

analizując ją można zauważyć, że najwięcej resweratrolu znajduje się w czerwonym winie (Skorek 2022). Zawiera ono również inne składniki takie jak: kwercyтынę oraz katechiny, które wspólnie działają antyoksydacyjnie, przeciwzapalnie i rozrzedzająco na krew (Kopeć i in. 2011). Etanol także przyczynia się do korzystnego działania na układ krwionośny ze względu na podnoszenie stężenia HDL oraz ochronę przed agregacją płytek krwi. Natomiast nie należy z tego powodu usprawiedliwiać spożywania zbyt dużych ilości alkoholu, ponieważ przyjmowany w nadmiarze prowadzi do powstania uzależnienia i ogromnych szkód w organizmie człowieka, znacznie przewyższających korzyści. Ustalono, że szczególnie pożyteczne jest picie wina po obiedzie, ponieważ po spożyciu posiłku zwiększa się stężenie triacylogliceroli i lipoprotein w surowicy krwi, co wiąże się ze zwiększeniem ryzyka wystąpienia chorób serca (Gałek i Targoński 2003).

Resweratrol jest jednym z przedstawicieli polifenoli, które są ważnymi składnikami żywności. Oprócz posiadania silnych właściwości przeciwutleniających, związki te wpływają na cechy organoleptyczne produktów spożywczych. Skład ilościowy i jakościowy frakcji polifenolowej decyduje o jakości sensorycznej świeżych surowców roślinnych. Barwa, smak, wygląd zewnętrzny, czy konsystencja produktów spożywczych w dużej mierze zależy od zawartości w nich związków polifenolowych (Sadowska i in. 2011).

**Tab. 1.** Zawartość resweratrolu w wybranych produktach żywnościowych.

<b>Produkt</b>	<b>Zawartość resweratrolu [µg/g]</b>
Orzechy ziemne	1,79 ± 0,02
Kakao	1,85 ± 0,43
Czekolada gorzka	0,35 ± 0,08
Czekolada mleczna	0,10 ± 0,05
Borówka amerykańska	0,6 *10 <sup>-5</sup>
Sok z żurawiny	0,107 *10 <sup>-5</sup>
Sok z winogron	0,156 *10 <sup>-5</sup>
Skórka pomidorów	18,4 ± 1,6
<b>Produkt (alkohole)</b>	<b>Zawartość resweratrolu [mg/dm<sup>3</sup>]</b>
Merlot 2006	1,40 ± 0,10
Cabernet Sauvignon 2006	3,09 ± 0,07
Piwo	14,7 – 20,5 [µg/dm <sup>3</sup> ]

Resweratrol należy do związków chemicznych o budowie stilbenu, a jego nazwa chemiczna to 3,5,4'-trihydroksystilben. Fitochemicznie jest on polifenolem klasyfikowanym do grupy flawonoidów, czyli związkiem pochodzenia roślinnego. Jest zaliczany do grupy fitoestrogenów, czyli hormonów roślinnych o działaniu estrogenopodobnym, na co wskazuje podobieństwo jego budowy chemicznej do dietylostilbestrolu estrogenowego, czyli 4,4'-dihydroksy-*trans*- $\alpha,\beta$ -dietylostilbenu.

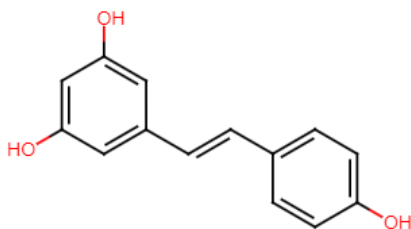
Resweratrol występuje w postaci dwóch izomerów: *cis*- i *trans*-, z czego forma *trans*- jest formą pierwotną, naturalnie występującą oraz skuteczniejszą w zastosowaniu, jednak mało stabilną (Rys.2). Izomer *cis*-, powstaje wskutek izomeryzacji *trans*-resweratrolu i po rozpadzie cząsteczki polimerów resweratrolu podczas fermentacji skórek z winogron, w wyniku działania promieni UV oraz w warunkach wysokiego pH, nawet w temperaturze pokojowej (Gryta i Paradowska 2022).

Zainteresowanie resweratrolem, ze względu na jego korzystne działanie na zdrowie, wykazała też branża farmaceutyczna. W związku z tym, poza obecnością tego związku w niektórych produktach spożywczych i alkoholach, możemy znaleźć go jeszcze w aptece. Jest on mianowicie dostępny jako suplement diety w postaci tabletek, kapsułek, kropli podjęzykowych, proszków do sporządzania zawiesin oraz preparatów liposomalnych (Górska i in. 2019).

Nie sposób określić dokładnie, jaką dawkę resweratrolu powinna zostać przyjęta, aby wywołać efekt prozdrowotny. Jednak na podstawie przeprowadzonych badań naukowych, w większości prowadzonych z udziałem zwierząt doświadczalnych wiele osób próbuje ustalić

skuteczną dawkę resweratrolu. Wielokrotnie można spotkać się z opinią, że resweratrol może wykazywać właściwości zdrowotne, gdy będzie stosowany w ilości ok. 1 g/dzień. Jednak dostarczenie takiej dawki tego składnika przy użyciu ogólnie dostępnych produktów spożywczych byłoby bardzo trudne, jeśli nie niemożliwe. Przykładowo, aby dostarczyć 1g resweratrolu należy spożyć 795 kg czerwonych winogron, 2 857 kg gorzkiej czekolady lub 2 500 kg jabłek (dane dotyczą resweratrolu niezwiązanego z innymi cząsteczkami).

Dodatkowo, na skuteczność działania resweratrolu negatywnie wpływa fakt, że związek ten jest bardzo słabo absorbowany (wchłaniany) z naturalnych źródeł (np. w postaci czerwonego wina) w naszym organizmie (Kulczyński 2021).



**Rys. 2.** Budowa *trans* resweratrolu („Compound Report Card” 2023).

## 2. Niezwykłość resweratrolu

Analizując przyczyny i patomechanizm najczęstszych schorzeń układu sercowo-naczyniowego łatwo można zauważyć, że podstawę tych dolegliwości, a tym samym ich ciężkich skutków stanowią dwa fundamenty – proces zapalny oraz stres oksydacyjny. Jak już zostało wspomniane resweratrol należy do grupy polifenoli roślinnych, których charakterystyczną cechą jest działanie antyoksydacyjne oraz przeciwzapalne, jednakże fenomen resweratrolu objawia się tym, że oprócz ogólnoustrojowego hamowania reakcji zapalnych i tworzenia się wolnych rodników wykazuje on ochronne działanie ukierunkowane na układ krwionośny, związane z poprawą funkcji serca i naczyń krwionośnych (Meng i in. 2020).

### 2.1 Jaką rolę pełnią reaktywne formy tlenu w powstawaniu zmian w naczyniach krwionośnych?

Wolny rodnik to atom, grupa atomów lub cząsteczka, która posiada niesparowany elektron na zewnętrznej orbicie. Wolne rodniki tlenowe są niezbędne w procesie zabijania wewnątrzkomórkowego drobnoustrojów, a także degradacji wielu antygenów, więc pełnią ważną rolę w organizmie. Natomiast stanowią też niekiedy zagrożenie dla homeostazy (gdy przyczyniają się do powstawania niekorzystnych zmian naczyniowych). Dzieje się tak w momencie zaburzenia równowagi pomiędzy powstawaniem wolnych rodników, a ich eliminowaniem. Stan taki określa się mianem stresu oksydacyjnego, a wynika on m.in. z: niedoboru nienasyconych kwasów tłuszczowych, długotrwałego stresu lub dymu tytoniowego. Organizm człowieka posiada mechanizmy pozwalające na zabezpieczenie komórek przed działaniem reaktywnych form tlenu. Należą do nich enzymy: dysmutazy ponadtlenkowe (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationu (GPX), katalizujące rozkład wolnych rodników. Istnieją również nieenzymatyczne antyutleniacze, do których należą np. kwas askrobinowy, karotenoidy, witamina E oraz inne roślinne składniki, np. resweratrol (Jankowski i Lewandowicz-Uszyńska 1992; Florkowska i in. 2017).

### 2.2 Działanie antyoksydacyjne resweratrolu

Ochrona komórek przed negatywnymi skutkami stresu oksydacyjnego jest wynikiem aktywności resweratrolu na trzech płaszczyznach – prewencja, utylizacja, naprawa. Resweratrol zapobiega powstawaniu RFT (reaktywne formy tlenu) poprzez mobilizację enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPX) (Meng i in. 2020; Gerszon i in. 2014), hamowanie aktywności enzymów odpowiedzialnych za powstawanie wolnych rodników (np. oksydaza ksantynowa) oraz chelatowanie jonów metali, które także biorą udział w tworzeniu RFT (reakcja Fentona) (Gerszon

i in. 2014). Wzrost aktywności takich enzymów jak katalaza (CAT) czy dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) jest wynikiem aktywowania przez resweratrol enzymów należących do grupy fosfataz, czego konsekwencją jest zahamowanie reakcji fosforylacji (Meng i in. 2020). Udział jonów metali w tworzeniu wolnych rodników jest związany z ich zdolnością do przenoszenia elektronów (są prooksygenami), przez co uwalniają wolne rodniki np. z wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz wodorotlenków (Delmas i in. 2005). Właściwości chelatujące resweratrolu są związane z obecnością trzech grup hydroksylowych (Delmas i in. 2005). Co ciekawe ułożenie grup hydroksylowych w izomerze *trans* jest bardziej korzystne dla chelatowania jonów metali (np. jonów Cu, biorących udział w utlenianiu LDL) (Pandey i Rizvi 2009) niż w izomerze *cis* (Delmas i in. 2005). Resweratrol wykazuje także hamujący wpływ na NADPH (dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy), którego nagromadzenie aktywuje oksydazę zależną od NADPH, co z kolei jest jednym z głównych mechanizmów tworzenia wolnych rodników w organizmie (Gerszon i in. 2014).

Eliminacja polega na przerywaniu wolnorodnikowych reakcji łańcuchowych w wyniku bezpośredniej reakcji wolnych rodników z resweratolem. Resweratrol jest „zmiataczem” zarówno rodników tlenowych (RFT) jak i azotowych (RNT). Właściwości te zawdzięcza swojej budowie – posiada 3 grupy OH w pozycjach 3, 4' i 5, pierścień aromatyczny oraz wiązanie podwójne w cząsteczce. Badania wykazały, że w reakcji zmiatania wolnych rodników to grupa hydroksylowa w pozycji 4' wykazuje większą aktywność niż pozostałe grupy hydroksylowe cząsteczki (Gerszon i in. 2014).

Efekt naprawczy resweratrolu jest związany w łagodzeniem skutków działania wolnych rodników na komórkę; odbywa się on m.in. na drodze indukowanej autofagii. Resweratrol pobudza proces tworzenia autosomów i lizosomów oraz ich fuzje do autolizosomów na drodze aktywacji transkrypcji czynnika EB lub inhibicji kinazy mTOR (Meng i in. 2020).

### 3. Działanie przeciwzapalne resweratrolu

Drugim fundamentem leżącym u podstawy schorzeń układu sercowo-naczyniowego jest nasilający się proces zapalny. Aktywność przeciwzapalna resweratrolu jest wynikiem jego działania poprzez różne mechanizmy - przede wszystkim przerywa on pętle amplifikacji (nasilania) stanu zapalnego. Mechanizm nasilania stanu zapalnego jest wynikiem wzrostu syntezy NF- $\kappa$ B, co prowadzi do wzrostu syntezy IL-6, która z kolei jest sygnałem dla transkrypcji czynnika STAT3, który nasila syntezę IL-6. Resweratrol hamuje syntezę NF- $\kappa$ B oraz IL-6, przez co prowadzi do zahamowania transkrypcji STAT3 w makrofagach, więc nie dochodzi do dodatkowej stymulacji syntezy IL-6, a tym samym transkrypcji czynnika STAT3. Dodatkowo resweratrol hamuje syntezę czynników tj. TNF- $\alpha$  i IL-1  $\beta$ , które są mediatorami stanu zapalnego (Meng i in. 2020). Ponadto resweratrol poprzez zmniejszanie produkcji cytokin TNF- $\alpha$  oraz IL-6 powoduje również obniżenie poziomu białka CRP, będącego markerem stanu zapalnego (Kopeć i in. 2011; Teimouri i in. 2022). Innym działaniem resweratrolu jest pobudzenie przeciwzapalnej hemowej oksigenazy (HO-1) w makrofagach – co ciekawe za działanie przeciwzapalne nie odpowiada bezpośrednio sam enzym, ale produkty rozkładu hemu tj.: bilirubina (m.in. hamuje syntezę limfocytów T cytotoksycznych) oraz CO (zmniejsza produkcję cytokin zapalnych) (Gerszon i in. 2014).

### 4. Działanie protekcyjne resweratrolu na układ sercowo-naczyniowy

Aby zrozumieć działanie resweratrolu należy przyjrzeć się dokładnie patomechanizmom, które towarzyszą powstawaniu chorób układu krążenia, którym ta substancja w pewnym stopniu przeciwdziała.

#### 4.1 Miażdżyca, od której wszystko się zaczyna

Miażdżyca leży u podstawy innych schorzeń sercowo-naczyniowych. Swój początek ma w momencie, gdy zaczyna się odkładać blaszka miażdżycowa w ścianach naczyń tętniczych. Prowadzi to do zwężenia naczyń krwionośnych i w konsekwencji do zmniejszonego przepływu krwi oraz niedokrwienia narządu. Pierwszym etapem tworzenia blaszki miażdżycowej jest odkładanie się

lipoprotein w wewnętrznej błonie tętnicy. Tworzą one złogi z proteoglikanami i podlegają oksydacji (w wyniku działania enzymów komórek ściany naczynia oraz makrofagów). W tym samym czasie do ściany naczynia przenikają limfocyty T, które wraz z makrofagami odpowiadają za rozwój stanu zapalnego wobec zgromadzonych wcześniej lipidów. Zaczynają się gromadzić komórki zapalenia i proces zapalny w miarę trwania ulega samoistnemu wzmocnieniu. Nasilenie tego stanu powoduje uszkodzenie śródbłonna, zwiększone przenikanie makrofagów i limfocytów oraz sprzyja procesom zakrzepowym. Makrofagi zaczynają zbierać nadmiar lipidów (lipoprotein LDL) i przekształcają się w komórki piankowate (są one zdolne do podziału). Komórki te są zaopatrzone w charakterystyczne receptory, które wylapują utlenioną formę lipoprotein – są one fagocytowane przez makrofagi. Dochodzi wtedy do nagromadzenia się dużej ilości lipidów w komórkach makrofagów i tworzenie tzw. blaszki miażdżycowej, czyli złogów tłuszczowych w ścianach tętnic (Beręsewicz 2011). Początkowe etapy tworzenia blaszki miażdżycowej można zatrzymać, natomiast gdy nastąpi przebudowa ściany naczynia nie ma już szans na odwrócenie tego procesu (Badowska-Kozakiewicz 2013).

#### 4.2 Działanie przeciwmiażdżycowe resweratrolu

Działanie przeciwmiażdżycowe resweratrolu jest głównym efektem jego ochronnego działania na układ krążenia. Tak jak w przypadku innych właściwości prozdrowotnych resweratrolu, efekt ten jest wynikiem działania polifenolu na różnych płaszczyznach. Istotnym czynnikiem rozwoju miażdżycy jest zaburzona równowaga LDL/HDL w kierunku LDL. Resweratrol powoduje wzrost stężenia HDL oraz zmniejsza utlenianie LDL, co jest wynikiem działania antyoksydacyjnego oraz zdolności chelatowania jonów Cu (kofaktor enzymów) (Pandey i Rizvi 2009). Zmniejszenie stężenia frakcji LDL w krążeniu oraz zwiększenie wydalania tej lipoproteiny z krążenia wątrobowo-jelitowego (czyli metabolizmu wątrobowego) jest też spowodowane odpowiednio zwiększeniem ekspresji receptorów dla LDL oraz enzymu CYP7A1, stymulowane działaniem resweratrolu (Santana i in. 2022). Dodatkowo hamuje on proces utleniania lipidów – jest to związane z jego antyoksydacyjnymi właściwościami, oraz po części z inhibicją enzymu COX-1 (enzym biorący udział w przemianach fosfolipidów błonowych m.in. w utlenianiu kwasu arachidonowego) (Kopeć i in. 2011; Gerszon i in. 2014; Pandey i Rizvi 2009). Resweratrol hamuje także wnikanie utlenionego LDL do ścian naczyń krwionośnych, przez co zapobiega odkładaniu się lipoprotein w wewnętrznej błonie tętnicy, a to jest pierwszym etapem tworzenia się blaszki miażdżycowej (Kopeć i in. 2011). Kolejnym etapem działania resweratrolu ukierunkowanym na blaszkę miażdżycową jest inhibicja jej rozrostu. Efekt ten jest wynikiem zahamowania proaterogennej sygnalizacji oksysterolu w makrofagach M1, które pobudzają stan zapalny. Ograniczenie stanu zapalnego jest także wynikiem hamowania przez resweratrol aktywacji inflamasyonu – czynnika który przyczynia się do zapalnego uszkodzenia naczyń oraz rozwoju miażdżycy (Meng i in. 2020).

#### 4.3 Wpływ antyagregacyjny resweratrolu

Uszkodzenie naczyń oraz narastający stan zapalny, które mają miejsce w miażdżycy powodują wzrost agregacji płytek krwi co przyczynia się do progresji blaszki miażdżycowej. Proces ten jest efektem wzrostu ekspresji czynników adhezyjnych - selektyny P i E oraz dążenia organizmu do zachowania "homeostazy" – gdy dochodzi do uszkodzenia naczynia krwionośnego płytki krwi w wyniku działania czynnika von Willebranda łączą się z uszkodzonym naczyniem tworząc czop ochronny, który zapobiega rozwojowi dalszych uszkodzeń (Borisoff i Ilcheff 2011). Głównym mechanizmem antykoagulacyjnego działania resweratrolu jest zahamowanie wytwarzania tromboksanu A2, poprzez inhibicję COX-1 (Delmas i in. 2005; Pandey i Rizvi 2009). Tromboksan A2 jest silnym czynnikiem proagregacyjnym, a dodatkowo wpływa na zwężenie naczyń krwionośnych (Pandey i Rizvi 2009).

#### 4.4 Inne efekty działania resweratrolu

Resweratrol wywiera także korzystny wpływ na krew obwodową – wykazuje interakcję z hemoglobina przez co zmniejsza utlenianie żelaza hemowego i działa ochronnie na erytrocyty. Dodatkowo wykazano również korzystny wpływ resweratrolu na serce - przede wszystkim poprawia autonomiczne funkcje serca oraz łagodzi migotanie przedsionków poprzez wzrost syntezy PI<sub>3</sub>K oraz

aktywację eNOS. Resweratrol znalazł także zastosowanie w prewencji nadciśnienia tętniczego. Efekt ten wynika z działania resweratrolu poprzez dwa mechanizmy. Przede wszystkim aktywuje czynnik Nrf2, co jest związane z wcześniej omówionym działaniem antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym oraz obniża ciśnienie krwi tętniczej poprzez aktywację cGMP-zależnej kinazy proteinowej 1 $\alpha$  (PKG1 $\alpha$ ) (Meng i in. 2020). Ponadto resweratrol wykazuje zdolność łagodzenia procesu włóknienia serca. W progresji włóknienia serca istotną rolę odgrywa szlak TGF- $\beta$ 1/Smad3, który m.in. zaburza homeostazę macierzy zewnątrzkomórkowej, czego skutkiem jest zwiększona sztywność komórek oraz przerost mięśnia sercowego. Resweratrol zmniejsza aktywność szlaku TGF- $\beta$ 1/Smad3 oraz stabilizuje macierz zewnątrzkomórkową w mięśniu sercowym, przez co ogranicza remodeling mięśnia sercowego (Li i in. 2023).

## 5. Podsumowanie

Choroby układu krążenia są wynikiem wielu nakładających się na siebie czynników takich jak proces zapalny, stres oksydacyjny, agregacja płytek krwi, tworzenie blaszki miażdżycowej czy nadciśnienie, trwających na przestrzeni wielu lat. Skutkiem całego procesu chorobowego jest pogorszenie stanu zdrowia oraz komfortu życia człowieka, który w konsekwencji może doprowadzić nawet do śmierci - dlatego istotne jest zapobieganie tym dolegliwościom. Resweratrol poprzez swój plejotropowy efekt działania, jest idealną substancją wspomagającą prewencję oraz leczenie chorób związanych z układem krążenia. Spożywanie pokarmów bogatych w resweratrol lub jego suplementacja przyczynia się do zmniejszenia zapadalności na choroby sercowo-naczyniowe.

## 6. Literatura:

- Badowska-Kozakiewicz AM. (2013) Patofizjologia człowieka: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- Beręsewicz A, (2011) Patofizjologia miażdżycy i choroby niedokrwiennej serca: Warszawa: Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego.
- Bielawski D (2019) Aspekty zdrowotne wina: Zeszyty Studenckiego Ruchu Naukowego Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach 28(2): 13 – 16.
- Borisoff JI (2011) Układ hemostazy jako modulator miażdżycy: Kardiologia po Dyplomie 10(10): 12–32.
- Delmas D, Jannin B, Latruffe N (2005) Resveratrol: Preventing Properties against Vascular Alterations and Ageing: Molecular Nutrition & Food Research 49(5): 377–95.
- Florkowska K, Duchnik W, Muzykiewicz A i in. (2017) Flawonoidy w profilaktyce i leczeniu miażdżycy: Problemy Higieny i Epidemiologii 98(3): 217 – 225.
- Gałek A, Targoński Z, (2003) Wpływ odżywiania na poziom potencjału antyoksydacyjnego organizmu oraz na genę chorób z tym związanych: Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 1(34): 5 – 17.
- Gerszon J, Rodacka A, Puchała M (2014) Antioxidant Properties of Resveratrol and its Protective Effects in Neurodegenerative Diseases: Advances in Cell Biology 4(2): 97 – 117.
- Górska A, Niwiński K, Jachowicz R, (2019) Nowe rozwiązania technologiczne w aspekcie miejscowego i doustnego podania resweratrolu: Farmacja Polska 75(11): 599 – 604
- Gryta K, Paradowska K (2022) Resveratrol – structure, properties, and effect on the human body: Postępy Fitoterapii 23(2): 85 – 91.
- Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, et al. (2011) Inflammation, Immunity, and Hypertension: Hypertension 57(2): 132–40.
- Jankowski A, Lewandowicz-Uszyńska A (1992) Wolne rodniki w patologii chorób człowieka: KOSMOS 41 (2/3): 147 – 158.
- Kopec A, Piątkowska E, Leszczyńska T i in. (2011) Prozdrowotne właściwości resweratrolu: Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 5(78): 5 – 15
- Kulczyński B (2021) Resweratrol: vitapedia.pl.
- Li C, Meng X, Wang L, et al. (2023) Mechanism of action of non-coding RNAs and traditional Chinese medicine in myocardial fibrosis: Focus on the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway: Frontiers in Pharmacology, Cardiovascular and Smooth Muscle Pharmacology 14(1092148).



- Meng, X, Zhou J, Zhao CN, et al. (2020) Health Benefits and Molecular Mechanisms of Resveratrol: A Narrative Review: *Foods* 9(3): 340.
- Pandey KB, Rizvi SI (2009) Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease: *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2(5): 270 – 278.
- Sadowska A, Świdorski F, Kromołowska R (2011) Polifenole - źródło naturalnych przeciwutleniaczy: *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego* 1: 108 – 111.
- Santana TM, Ogawa LY, Rogero MM et al. (2022). Effect of Resveratrol Supplementation on Biomarkers Associated with Atherosclerosis in Humans: *Complementary Therapies in Clinical Practice* 46: 101491.
- Sinkiewicz W, Chudzińska M (2021) Wino jest zdrowe. *Medycyna Praktyczna* 61: 112 – 113.
- Skorek M (2022) Badanie składu jakościowego oraz oznaczanie właściwości chemicznych i biologicznych wybranych surowców roślinnych stosowanych w kosmetyce i farmakoterapii. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski.
- Teimouri M, Homayouni-Tabrizi M, Rajabian A, et al. (2022) Anti-Inflammatory Effects of Resveratrol in Patients with Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials: *Complementary Therapies in Medicine* 70: 102863.
- Teo KK, Rafiq T. (2021) Cardiovascular Risk Factors and Prevention: A Perspective From Developing Countries: *Canadian Journal of Cardiology* 37(5): 733 – 743.

## 12. Zastosowanie oceny ubytku perfuzji w scyntygrafii serca w stratyfikacji zaawansowania niewydolności serca i choroby wieńcowej

The application of perfusion defect assessment in cardiac scintigraphy in the stratification of level of advancement of heart failure and coronary artery disease.

Piekarniak Michał, Kaczmarek Daria

Klinika Kardiologii, Centralny Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Piekarniak Michał: [michal.piekarniak@stud.umed.lodz.pl](mailto:michal.piekarniak@stud.umed.lodz.pl)

Słowa kluczowe: scyntygrafia perfuzyjna serca, niedokrwienie, tętnice wieńcowe, frakcja wyrzutowa, NT-proBNP, miażdżyca

### Streszczenie

Scyntygrafia perfuzyjna serca wykorzystywana jest do kwalifikacji do koronarografii i rewaskularyzacji na podstawie indukowanego ubytku perfuzji. Celem pracy było sprawdzenie, czy z rutynowego badania oceniającego niedokrwienie można wyciągnąć wnioski na temat całkowitego zaawansowania miażdżycy i niewydolności serca. Wytypowano pacjentów, którzy w okresie 3 miesięcy mieli wykonywaną scyntyografię perfuzyjną i koronarografię. Do analizy włączono dane o spoczynkowym i obciążeniowym ubytku perfuzji, frakcji wyrzutowej lewej komory, ilości istotnie zwiększonych tętnic wieńcowych, wartościach NT-proBNP. Na podstawie opisów koronarografii oceniono naczynia wieńcowe w skali Gensini. Z analizy statystycznej tych danych wynika, że angiograficznie oceniane zaawansowanie choroby wieńcowej znajdowało swoje odzwierciedlenie w wielkości ubytku indukowanego, lecz nie w wielkości ubytku utrwalonego. Ubytek utrwalony korelował z ujemnie z frakcją wyrzutową, a wartość 7% stanowiła najlepszy punkt odcięcia dla wykrycia frakcji wyrzutowej lewej komory <50%. Pacjenci z pośrednią frakcją wyrzutową cechowali się największymi spoczynkowymi i wysiłkowymi zaburzeniami perfuzji. Stężenie NT-proBNP nie wykazywało korelacji z wynikami scyntygrafii perfuzyjnej. Wynika z tego, że utrwalony ubytek perfuzji lepiej charakteryzuje poziom zaawansowania niewydolności serca, a indukowany – choroby wieńcowej. Na podstawie wielkości ubytku utrwalonego można wytypować pacjentów z obniżoną frakcją wyrzutową, a co za tym idzie – z większym ryzykiem sercowo-naczyniowym niezależnie od dotychczasowej stratyfikacji ryzyka na podstawie indukowanego niedokrwienia.

### 1. Wstęp

Scyntygrafia perfuzyjna mięśnia sercowego (MPI – *myocardial perfusion imaging*) metodą tomografii emisyjnej pojedynczego fotonu (SPECT - *single photon emission tomography*) stanowi jedną z nieinwazyjnych metod oceny choroby niedokrwiennej serca. Jest to metoda oparta na odczycie promieniowania gamma emitowanego przez radioznacznik wychwytywany selektywnie przez kardiomiocyty. Wychwyt jest proporcjonalny do przepływu krwi, toteż daje informacje o perfuzji narządu. Metoda ta obok pozytonowej tomografii emisyjnej, rezonansu magnetycznego, oceny perfuzji w tomografii komputerowej i echokardiograficznej próby dobutaminowej należy do nieinwazyjnych czynnościowych badań obrazowych w kardiologii. Otrzymywane w SPECT obrazy są obrazami tomograficznymi w 3 płaszczyznach z możliwością rekonstrukcji 3D. W odróżnieniu jednak od wyżej wymienionych metod nie uzyskuje się tą drogą informacji morfologicznych. Badanie może być wykonane z wykorzystaniem gammakamery ogólnego zastosowania lub kamery dedykowanej do przeprowadzania badań serca. Badanie na kamerze kardiologicznej zwiększa rozdzielczość obrazu przez zwiększenie liczby zliczeń kwantów promieniowania z jednostki objętości przy jednoczesnej redukcji podawanej dawki promieniowania. (Cantoni et al. 2021) Obecność indukowanego niedokrwienia wiąże się ze wzrostem ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych, w tym z dużym ryzykiem śmierci sercowej (>3% rocznie) przy przekroczeniu 10% indukowanego ubytku perfuzji serca. (Shaw et al. 2014) Dlatego podstawowym zastosowaniem metody jest kwalifikacja do

inwazyjnego leczenia choroby wieńcowej. Jednakże w grupie chorych kierowanych do scyntygrafii perfuzyjnej serca występuje jednocześnie liczna reprezentacja osób z niewydolnością serca. Ponadto badanie to nie daje wprost informacji o całkowitym zaawansowaniu miażdżycy w obrębie tętnic wieńcowych. Dlatego w naszym badaniu przyjrzelśmy się wynikom scyntyigrafii ukierunkowanej na poszukiwanie niedokrwienia pod kątem możliwości jednoczesowej oceny stopnia zaawansowania niewydolności serca i rozległości miażdżycy tętnic wieńcowych na tle innych kryteriów stratyfikacyjnych tych chorób.

## 2. Materiał i Metody

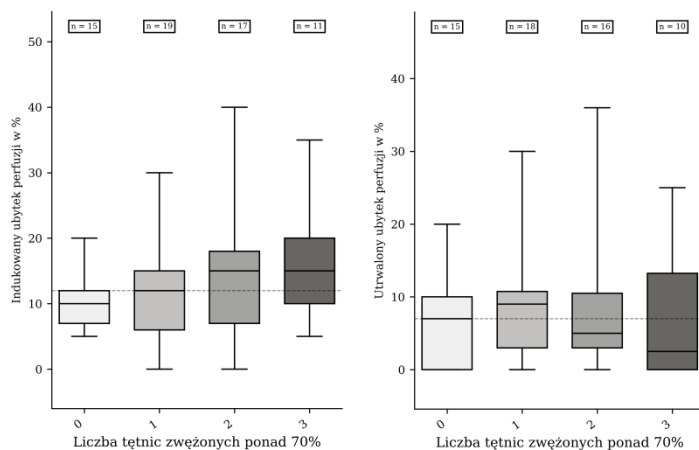
Badanie prowadzone było w grupie chorych diagnozowanych w Zakładzie Medycyny Nuklearnej oraz Klinice Kardiologii Centralnego Szpitala Klinicznego w Łodzi. Spośród 820 pacjentów naszego szpitala, u których w latach 2018-2021 wykonano SPECT-MPI wybrano tych, którzy mieli w ciągu 3 miesięcy od daty badania wykonaną koronarografię. Uzyskano w ten sposób grupę 62 osób. SPECT-MPI wykonywano przy użyciu  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi i gammakamery GE Discovery NM530c dedykowanej do badań kardiologicznych. Badania były wykonywane w protokole dwudniowym w spoczynku oraz po obciążeniu farmakologicznym (dipirydamol, regadenozon) lub wysiłkiem fizycznym na podstawie decyzji specjalisty medycyny nuklearnej i zgodnie z wytycznymi EANM (*European Association of Nuclear Medicine*). (Verberne et al. 2015) Wyniki SPECT-MPI podane zostały w formie procentowej rozległości indukowanego (*induced perfusion defect* – IPD) i utrwalonego (*fixed perfusion defect* – FPD) ubytku perfuzji. Badania te nie były oceniane pod kątem funkcji lewej komory, w tym frakcji wyrzutowej (*ejection fraction* – EF) przy użyciu bramkowania EKG. Wartość frakcji wyrzutowej ustalano na podstawie dostępnej dokumentacji lub wykonywano badanie echokardiograficzne. Opisowe wyniki koronarografii uwzględniające procentowe wartości zwężeń niasierdziejowych tętnic wieńcowych zostały ocenione w skali Gensini podsumowującej ogólną istotność zwężeń tętnic w chorobie wieńcowej u danego pacjenta. Ponadto rozległość choroby określono jako choroba 1-, 2- lub 3-naczyniowa w zależności od obecności jakiegokolwiek niezabezpieczonego pomostem naczyniowym zwężenia przekraczającego 70% obecnego w dorzeczach trzech głównych tętnic wieńcowych: LAD, RCA i CX. Porównano wyniki scyntygrafii z wynikami w skali Gensini, liczbą zajętych naczyń, EF i stężeniem n-końcowego fragmentu prohormonu mózgowego peptydu natriuretycznego (NT-proBNP). Wyniki poddano analizie statystycznej przy pomocy kalkulatorów EasyMedStat ver. 3.26 i DATAtab. Do oceny korelacji zmiennych ciągłych użyto współczynnika korelacji rang Spearmana. Normalność rozkładów weryfikowano testem Shapiro-Wilka, a heteroskedastyczność testem Levene'a. Do oceny rozkładu zmiennych ciągłych w ramach kategorii ilości zajętych naczyń wykorzystano analizę wariancji (ANOVA). Rozkład utrwalonego ubytku perfuzji według kategorii niewydolności serca oceniono testem Kruskala-Wallisa. Przy osiągnięciu istotności statystycznej wykonywany był test post-hoc Dunn-Bonferoni ( $\alpha = 0.05$ ). Różnicę ubytków perfuzji w grupie o obniżonej i prawidłowej EF oceniono testem U Manna-Whitney'a.

## 3. Wyniki

Badaną grupę stanowiło 48 mężczyzn i 14 kobiet w wieku 40-81 lat (średnio  $65,61 \pm 8,49$  lat). U 57 pacjentów stwierdzono obecność IPD a u 46 – FPD. Jedna osoba miała prawidłową perfuzję w obu częściach badania. W badanej grupie były 44 wyniki z istotnym IPD rozumianym jako obejmujący co najmniej 10% miokardium oraz 18 wyników bez istotnego IPD. Średnio ubytek utrwalony miał rozległość 8,44% (0-36%), a indukowany 12,73% (0-40%).

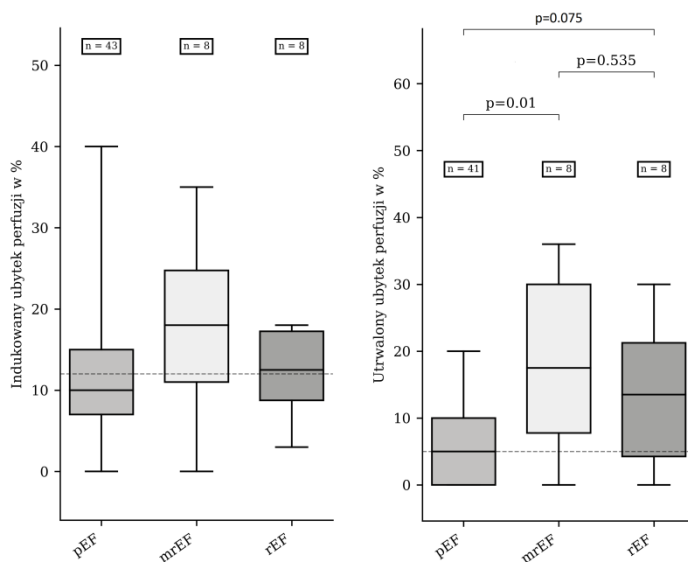
Zaawansowanie choroby wieńcowej wg. skali Gensini zawierało się w przedziale 0-130 punktów (średnio 37,04). Znalaziono słabo dodatnią, istotną statystycznie korelację między wynikiem w skali Gensini i rozległością IPD ( $\rho=0.36$ ;  $r^2=0.191$ ;  $p=0.004$ ). Zależności takiej nie potwierdzono w przypadku FPD ( $\rho=0.031$ ;  $r^2=0.021$ ;  $p=0.818$ ). Biorąc pod uwagę wartości skali Gensini w przedziałach  $\geq 10\%$  i  $< 10\%$  IPD nie wykazano istotnych różnic, choć mediana była wyższa w grupie istotnego niedokrwienia (29,5 vs. 20). Grupy podzielone ze względu na postać choroby wieńcowej z zajęciem 0, 1, 2 i 3 tętnic (odpowiednio 15, 19, 17 i 11 przypadków) nie różniły się

istotnie pod względem rozległości FPD ( $p=0,649$ ), ani IPD ( $p=0,239$ ), choć IPD w odróżnieniu od FPD wykazywał wzrost wraz ze wzrostem rozległości choroby. Wartości IPD w poszczególnych grupach miały średnią wartość odpowiednio 10.2%, 12.0%, 13.24% i 16.64% a FPD: 7%, 9%, 5% i 2,5%. (Rys. 1)



**Rys. 1.** Wartości ubytków perfuzji w zależności od rozległości choroby wieńcowej.

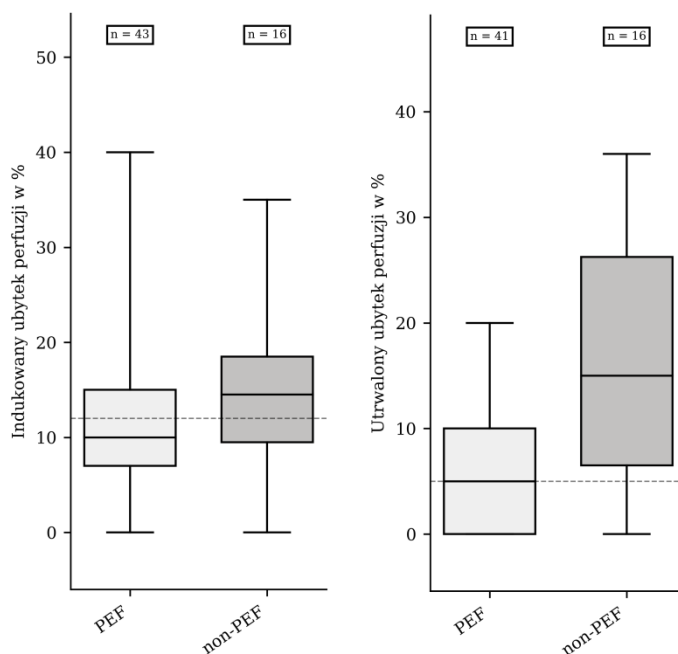
Przeanalizowano wykładniki niewydolności serca. Objętość lewej komory objęta FPD wykazywała słabo ujemną, istotną statystycznie korelację z EF ( $\rho=-0,27$ ;  $r^2=0,144$ ;  $p=0,044$ ). Takiej zależności nie znaleziono dla IPD ( $\rho=-0,066$ ;  $r^2=0,002$ ;  $p=0,619$ ). Przy porównaniu wartości NT-proBNP z rozległością FPD wykazano słabo dodatnią ale nieistotną statystycznie korelację ( $\rho=0,25$ ;  $r^2=0,102$ ;  $p=0,079$ ). Podobnie było z rozległością IPD ( $\rho=0,022$ ;  $r^2=0,027$ ;  $p=0,873$ ). Stosując znany z wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (McDonagh 2021) podział niewydolności serca na frakcję wyrzutową zachowaną (HFpEF:  $\geq 50\%$ ), łagodnie obniżoną (HFmrEF: 41-49%) i obniżoną (HFrEF:  $\leq 40\%$ ) wykazano, że FPD był istotnie większy w grupie HFmrEF w porównaniu z HFpEF ( $p=0,01$ ), ale różnica między HFpEF a HFrEF była mniejsza ( $p=0,075$ ). IPD miał podobny rozkład. Oznacza to, że średnie wartości obu ubytków w grupie o najmniejszej EF były niższe niż w grupie pośredniej. (Rys. 2)



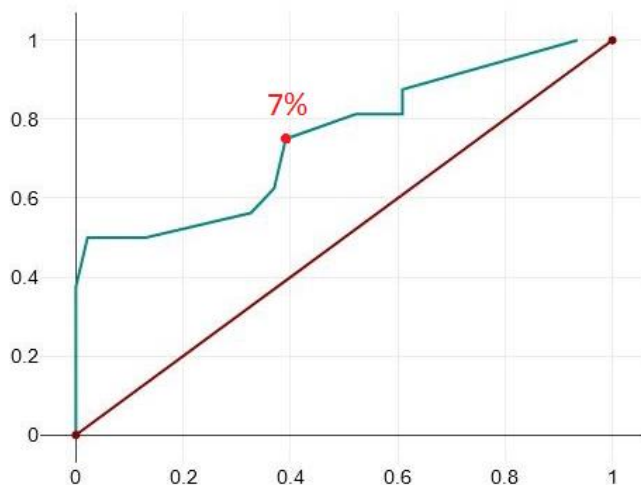
**Rys. 2.** Wartości ubytków perfuzji w zależności od frakcji wyrzutowej (EF).

Przy zastosowaniu dychotomicznego podziału pacjentów na populację z zachowaną frakcją wyrzutową (HFpEF) i pozostałych odnotowano istotną różnicę wartości FPD ( $p=0,004$ ), natomiast IPD nie wykazywał istotnych różnic ( $p=0,217$ ). (Rys. 3)

Przeprowadzono też analizę krzywej ROC (receiver-operating curve) (AUC: 0,687) w celu oceny możliwości predykcji obniżonej EF ze pomocą FPD. (Rys. 4) Wynika z niej, że punktem odcięcia dającym najlepszy kompromis czułości i swoistości dla wykrycia EF<50% było 7% FPD (75% czułość i 61% swoistość), choć przy 20% FPD swoistość wynosiła 98% przy 50% czułości.



**Rys. 3.** Wartości ubytków perfuzji w grupach z zachowaną (PEF) i obniżoną (non-PEF) frakcją wyrzutową.



**Rys. 4.** Krzywa ROC dla przewidywania EF<50% na podstawie wartości utrwalonego ubytku perfuzji. Oś X: 1-swoistość, oś Y: czułość.

#### 4. Dyskusja i wnioski

Za pomocą scyntygrafii perfuzyjnej diagnozowani są wyselekcjonowani chorzy z objawami sugerującymi niedokrwienie mięśnia sercowego w przebiegu choroby wieńcowej (typowy ból stenokardialny, męczliwość, duszność jako ekwiwalent stenokardii). W tej grupie pacjentów poszukuje się indukowanego niedokrwienia a obecność utrwalonego ubytku perfuzji tłumaczy się najczęściej przebyłym zawałem (możliwy zawał niemy klinicznie o którym pacjent nie wie). Wynika to z faktu, że FPD świadczy o obecności blizny w obrębie serca – miejsca, w którym kardiomiocyty zostały zastąpione przez tkankę włóknistą. Uzyskanie informacji o żywotności miokardium jest związane z mechanizmem aktywnej akumulacji lipofilnego kationu  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  w obrębie mitochondriów, który jest zależny od integralności błon komórkowych i stanu metabolicznego komórki. (Carvalho et al. 1992) Nasza analiza sugeruje, że obecność FPD wynika z innych niż tylko zwał serca typu 1 przyczyn. Wielkość FPD nie różniła się istotnie u osób z różną rozległością choroby wieńcowej. Punktacja Gensini wyraża łączną pulę zwężeń w tętnicach wieńcowych (z uwzględnieniem przewlekle zamkniętych lub zrekanalizowanych naczyń – obrazu pozostałego po „przechodzonej” zawale). Skala nie posiada punktów odcięcia. Wysoki wynik świadczy o zaawansowanej chorobie wieńcowej. Brak korelacji między FPD a wynikiem w skali Gensini i ilością zajętych naczyń może wynikać z innych niż choroba wieńcowa przyczyn martwicy lub ubytku czynnego miokardium (np. zapalenie mięśnia sercowego). Powyższe może świadczyć o tym, że choroba wieńcowa tętnic nasierdziowych nie musi być dominującą przyczyną FPD. Nie wyklucza to jednak liczącego się udziału choroby wieńcowej mikrokrążenia (której w koronarografii uwidocznić się nie da) w powstawaniu blizny.

IPD pojawia się przy zmienionych warunkach hemodynamicznych w wysiłku i wynika z redystrybucji krwi do reaktywnie poszerzonych zdrowych tętnic i częściowo ze zjawiska podkradania. (Gould 1989) Parametr ten jest wprost zależny od przepływu krwi a nie żywotności, więc jest bardziej specyficzny dla miażdżycy niż FPD. Stanowi lepszy wskaźnik oceny choroby wieńcowej, ponieważ świadczy o obniżeniu rezerwy wieńcowej będącym jej podstawową konsekwencją. W typowym scenariuszu poszukuje się pojedynczego zwężenia odpowiadającego za niedokrwienie, które będzie można poszerzyć. Biorąc pod uwagę korelację z punktacją Gensini można stwierdzić, że nie koniecznie pojedyncze istotne zwężenie ale cały obraz tętnic nasierdziowych, łącznie z przewlekle zamkniętymi rzutuje na wielkość ubytku indukowanego. IPD w przypadku przewlekle zamkniętej tętnicy może wynikać z obecności krążenia obocznego. (Aboul-Enin et al. 2004)

Z powodu związku gromadzenia się znacznika z obecnością żywego miokardium jedynie FPD istotnie koreluje z EF. Wynika to z faktu, że dokonana martwica ma większy wpływ na globalną funkcję skurczową niż indukowane niedokrwienie. Nie mniej jednak zmniejszenie EF może być również związane z indukowanym niedokrwieniem za sprawą zjawiska hibernacji miokardium. Jest to stan przewlekłego niedokrwienia, w którym kardiomiocyty wykazują przewlekle pogorszoną kurczliwość na skutek zmniejszenia się rezerwy wieńcowej i powtarzających się epizodów ischemicznych nawet przy zachowanej perfuzji spoczynkowej (Heusch et al. 2005). Wydaje się jednak, że zjawisko to ma na tyle małe znaczenie, że nie przekłada się na powiązanie IPD z EF. Najprawdopodobniej specyficzne warunki obejmujące niedokrwienie na tyle duże, że powoduje hibernację, ale na tyle małe, że nie powoduje martwicy są trudne do spełnienia lub obejmują małe fragmenty miokardium. Ponadto rutynowe echokardiograficzne pomiary EF dokonywane są w spoczynku, więc nie uwzględniają spadku kurczliwości w trakcie niedokrwienia spowodowanego wysiłkiem (jest to zjawisko inne niż hibernacja, możliwe do stwierdzenia w obrazowych badaniach obciążeniowych takich jak echokardiograficzna próba obciążeniowa, rezonans magnetyczny lub PET). Wartości bezwzględne i wysiłkowy spadek EF można też stwierdzić w scyntygrafii bramkowanej EKG (tzw. G-SPECT). (Johnson et al. 1997)

Można założyć, że rozległość martwicy ma bezpośrednie przełożenie na EF. Nie można tego jednak powiedzieć o drugim podstawowym markerze niewydolności serca, jakim jest NT-proBNP. W naszej analizie nie występował związek NT-proBNP z FPD ani IPD. Wynika to z faktu, że wydzielanie tego hormonu zależne jest od rozciągnięcia ścian serca spowodowanego przeciążeniem

objętościowym lub ciśnieniowym. (Magga et al. 1994) Dlatego zastosowanie tego parametru jest szersze niż EF i obejmuje ono postaci niewydolności serca, w których występują zaburzenia hemodynamiczne bez pogorszenia kureczliwości lub martwicy. Do takich patologii należą: wady zastawkowe, zatorowość płucna, przerost lewej komory, migotanie przedsionków. W przypadku IPD, czyli parametru związanego z chorobą wieńcową NT-proBNP może pozostawać w normie na wczesnym etapie choroby przed wystąpieniem powikłania w postaci kardiomiopatii niedokrwiennej. Ponadto na poziom NT-proBNP niebagatelny wpływ ma również masa ciała – im więcej tkanki tłuszczowej tym poziomy tego markera są relatywnie niższe mimo występowania niewydolności serca. (Madamanchi et al. 2014)

Największe wartości zarówno IPD, jak i FPD charakteryzowały grupę o pośredniej EF. Jest to ciekawe zjawisko. W przypadku IPD wynika z faktu, że w grupie osób o najniższej EF jest prawdopodobnie istotny udział chorych z nie-niedokrwinną etiologią martwicy, u których zaburzenia indukowane są rzadsze (o czym wspomnieliśmy wyżej) lub zjawisko remodelingu, które prowadzi do spadku EF ale niekoniecznie zaburza perfuzję. Poza tym dla wystąpienia IPD konieczna jest obecność żywego miokardium, którego w grupie HFrEF może być już za mało do wygenerowania dużego ubytku. Lepszą od klasycznego SPECT zdolność rozróżnienia etiologii niewydolności serca niedokrwiennej od nie-niedokrwiennej ponownie wykazuje G-SPECT (Ananthasubramaniam et al. 2011). Podobnie, potencjalnym wytłumaczeniem paradoksalnie nie największego FPD w grupie o najniższej EF mógłby być remodeling uszkodzonej lewej komory prowadzący do dalszego spadku EF niezależnie od postępu choroby wieńcowej lub innej patologii leżącej u podstaw utraty żywego miokardium lub przeciążenia lewej komory. (Narula et al. 2000)

Podsumowując, SPECT nawet w swojej podstawowej wersji (bez bramkowania EKG) oraz jako badanie służące przede wszystkim ocenie niedokrwienia daje też pewną możliwość wytypowania pacjentów z obniżoną EF i co za tym idzie intensywniejszymi objawami i dodatkowo zwiększonym ryzykiem powikłań i zgonu. Jednym z powikłań bezpośrednio powiązanych z wielkością blizny są nagłe zgonu sercowe i wyładowania kardiowertera-defibrylatora. (Gupta et al. 2018) Dlatego możliwość oceny rokowania niezależnie od ryzyka niedokrwiennego może okazać się klinicznie przydatna, a na szczególną uwagę zasługują chorzy z FPD ponad 7%. Ponadto, biorąc pod uwagę powiązanie IPD i wyniku w skali Gensini, w pewnym stopniu scyntygrafia perfuzyjna dostarcza danych o całkowitym poziomie zaawansowania choroby wieńcowej. W praktyce jednak sugestie te będą miały marginalne znaczenie, gdyż u pacjentów z istotnym niedokrwieniem będą weryfikowane w koronarografii, która dostarczy szczegółowych informacji anatomicznych.

## 5. Literatura

- Aboul-Enein F, Kar S, Hayes SW, et al. (2004) Influence of angiographic collateral circulation on myocardial perfusion in patients with chronic total occlusion of a single coronary artery and no prior myocardial infarction. *Journal of Nuclear Medicine*. Jun 2004, 45(6): 950-955.
- Ananthasubramaniam K, Dhar R, Cavalcante JL (2011) Role of multimodality imaging in ischemic and non-ischemic cardiomyopathy. *Heart Fail Rev* 16: 351–367. <https://doi.org/10.1007/s10741-010-9218-y>
- Cantoni V, Green R, Acampa W et al. (2021) Diagnostic performance of myocardial perfusion imaging with conventional and CZT single-photon emission computed tomography in detecting coronary artery disease: A meta-analysis. *J. Nucl. Cardiol.* 28: 698–715. <https://doi.org/10.1007/s12350-019-01747-3>
- Carvalho PA, Chiu ML, Kronauge JF et al. (1992) Subcellular distribution and analysis of technetium-99m-MIBI in isolated perfused rat hearts. *J Nucl Med* 33: 1516.
- Gould KL (1989) Coronary steal: is it clinically important? *Chest* 96(2): 227-229.
- Gupta A, Harrington M, Albert C, et al. (2018) Myocardial Scar But Not Ischemia Is Associated With Defibrillator Shocks and Sudden Cardiac Death in Stable Patients With Reduced Left Ventricular Ejection Fraction. *J Am Coll Cardiol EP.* 4(9): 1200–1210.
- Heusch G, Schulz R, Rahimtoola SH. (2005) Myocardial hibernation: a delicate balance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H984-99.

- Johnson L, Verdesca S, Aude W, et al. (1997) Postischemic Stunning Can Affect Left Ventricular Ejection Fraction and Regional Wall Motion on Post-Stress Gated Sestamibi Tomograms. *J Am Coll Cardiol* 30(7): 1641–1648.
- Madamanchi C, Alhosaini H, Sumida A, Runge MS (2014) Obesity and natriuretic peptides, BNP and NT-proBNP: mechanisms and diagnostic implications for heart failure. *International journal of cardiology* 176(3): 611-617.
- Magga J, Marttila M, Mäntymaa P, et al. (1994) Brain natriuretic peptide in plasma, atria, and ventricles of vasopressin-and phenylephrine-infused conscious rats. *Endocrinology* 134(6): 2505-2515.
- McDonagh TA, Metra M, Anamo M et al. (2021) ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal* Volume 42, Issue 36: 3599–3726. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>
- Narula J, Dawson M, Singh B, et al. (2000) Noninvasive characterization of stunned, hibernating, remodeled and nonviable myocardium in ischemic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 36(6): 1913–1919. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(00\)00959-1](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(00)00959-1)
- Shaw LJ, Berman DS, Picard MH, et al. (2014) National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute Sponsored ISCHEMIA Trial Investigators. Comparative definitions for moderate severe ischemia in stress nuclear, echocardiography, and magnetic resonance imaging. *JACC Cardiovasc Imaging* 7: 593–604.
- Verberne HJ, Acampa W, Anagnostopoulos C, et al. (2015); European Association of Nuclear Medicine (EANM). EANM procedural guidelines for radionuclide myocardial perfusion imaging with SPECT and SPECT/CT: 2015 revision. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 42(12):1929-40. doi: 10.1007/s00259-015-3139-x.



### **13. Rola kwasów tłuszczowych w oddziaływaniu glipizydu z albuminą surowicy krwi w stanach hiperglikemii**

The role of fatty acids in the interaction of glipizide with serum albumin in hyperglycemic states

Szkudlarek Agnieszka

Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Szkudlarek Agnieszka: aszkudlarek@sum.edu.pl

Słowa kluczowe: glipizyd, albumina glikowana, nasycone i nienasycone kwasy tłuszczowe

#### **Streszczenie**

Według Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej IDF cukrzyca została uznana za najdynamiczniej rozwijające się globalne zagrożenie zdrowotne XXI wieku. Jedną z ważniejszych przemian biochemicznych, która odgrywa dominującą rolę w rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycowych o charakterze mikro- i makroangiopatii jest nieenzymatyczna glikacja białek. Albumina ze względu na długi okres półtrwania i wysokie stężenie w surowicy krwi jest białkiem niezwykle podatnym na glikację, która istotnie wpływa na strukturę i pełnione funkcje makrocząsteczki, w tym na zdolność wiązania leków. Celem prezentowanej pracy jest ocena w warunkach *in vitro* wpływu fizjologicznej mieszaniny kwasów tłuszczowych (KT) na farmakokinetykę glipizydu (GLP), leku antyhiperglikemicznego, do glikowanej albuminy osocza krwi (gHSA, gHSA<sub>fizjo</sub>). Przy użyciu spektrofotometrii wykazano (i) zmniejszenie zdolności wygaszania fluorescencji albuminy gHSA<sub>fizjo</sub> w obecności KT przez badany lek. Słabsze wygaszanie fluorescencji zarejestrowane dla gHSA<sub>fizjo</sub> wskazuje na mniejszą zdolność przyjmowania energii przez GLP od wzbudzonych fluoroforów gHSA<sub>fizjo</sub> niż gHSA; (ii) otrzymane z zależności Klotza większe wartości stałej asocjacji  $K_a$  dla kompleksu GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> ( $K_{a(275nm)} = 1.76 \times 10^4 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $K_{a(295nm)} = 0.88 \times 10^4 \text{ mol L}^{-1}$ ) niż GLP–gHSA ( $K_{a(275nm)} = 0.86 \times 10^4 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $K_{a(295nm)} = 0.39 \times 10^4 \text{ mol L}^{-1}$ ), wskazują na zwiększenie stabilności powstałego kompleksu. Podczas terapii z użyciem glipizydu, ważna jest kontrola ilości KT dostarczanych do organizmu wraz z pożywieniem i podczas suplementacji. Większa siła wiązania GLP do gHSA<sub>fizjo</sub> sprawia, iż w osoczu maleje stężenie wolnej frakcji leku, odpowiedzialnej za efekt terapeutyczny. Należy zatem indywidualnie dobrać dawkę glipizydu, bezdyskusyjnie dla pacjenta obciążonego w wywiadzie cukrzycą.

#### **1. Wstęp**

Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna IDF uznała cukrzycę za najdynamiczniej rozwijające się globalne zagrożenie zdrowotne XXI wieku. Szacuje się, że do 2030 roku liczba chorych na cukrzycę sięgnie 578 milionów, a do roku 2045 nawet 783 milionów (IDF Diabetes Atlas 2022). Przewlekłe utrzymujący się podwyższony poziom cukru we krwi prowadzi do uszkodzenia, niewydolności oraz dysfunkcji wielu narządów. Jedną z ważniejszych przemian biochemicznych, która odgrywa dominującą rolę w rozwoju powikłań o charakterze mikro- i makroangiopatii jest glikacja białek. Glikacja zachodzi fizjologicznie z niewielkim natężeniem, nasilając się z wiekiem, zaś intensywnie przebiega w stanach zwiększonego stężenia cukru we krwi oraz w przebiegu stanów zapalnych w następstwie zwiększonego stresu oksydacyjnego. Zachodzi w warunkach *in vivo*, *in vitro* oraz podczas przetwarzania żywności (Zuwała-Jagiełło 2009). Jej istotą jest, niezależna od enzymów, reakcja przyłączenia cukru redukującego (m.in. glukozy, fruktozy, galaktozy) do wolnej grupy N-aminowej białka, w wyniku której powstają zaawansowane (końcowe) produkty glikacji (AGEs). Albumina (HSA) ze względu na długi okres półtrwania i wysokie stężenie w surowicy krwi jest białkiem niezwykle podatnym na glikację. Proces ten wpływa na strukturę i pełnione funkcje makrocząsteczki, w tym na zdolność wiązania związków biologicznie czynnych i ich dystrybucję w obrębie organizmu (Rondeau i Bourdon 2011; Vetter i Indurthi 2011).

Celem prezentowanej pracy jest analiza oddziaływania glipizydu (GLP) do albuminy glikowanej, bez (gHSA) i w obecności fizjologicznej mieszaniny kwasów tłuszczowych (gHSA<sub>fizjo</sub>). Glipizyd jest pochodną sulfonilomocznika (PSM) II generacji, stosowaną jako lek antyhiperglikemiczny, w leczeniu cukrzycy typu 2 u dorosłych (Anwer i in. 2021). W porównaniu z grupą leków I generacji, GLP posiada bardziej niepolarny łańcuch boczny, co przyczynia się do jego silniejszego efektu terapeutycznego.

## 2. Materiał i metody

W badaniu zastosowano: odtłuszczoną albuminę surowicy krwi ludzkiej (HSA), frakcja V (MP Biomedicals<sup>TM</sup> Inc, LLC, Francja); glipizyd (GLP) (Sigma-Aldrich Chemistry, Chiny); kwas linolowy (LYN), kwas mirystynowy (MYR), kwas oleinowy (OLE), kwas palmitynowy (PAL) oraz kwas stearynowy (STE) (MP Biomedicals, Ohio, USA); D(-)-fruktozę (FRC); azydek sodu (Sigma-Aldrich Chemistry, Niemcy); dimetylosulfotlenek (DMSO) (Sigma-Aldrich Chemistry, Francja); metanol do badań spektroskopowych (Merck KGaA, Niemcy).

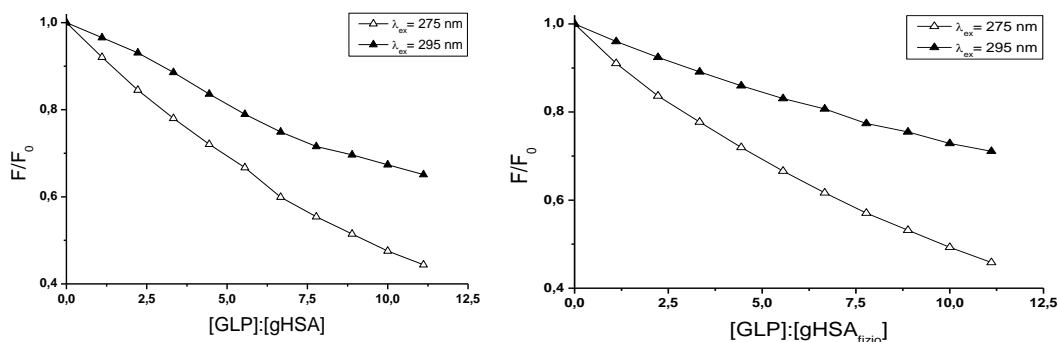
Glikowaną ludzką albuminę surowicy krwi (gHSA) otrzymano w warunkach laboratoryjnych poprzez inkubację HSA z FRC w buforze fosforanowym (pH 7.4) w obecności azydku sodu, przez okres 21 dni w temperaturze 37°C. W metanolu przygotowano roztwory kwasów: MYR, PAL, STE, OLE i LYN, każdy o stężeniu  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Następnie w odpowiedniej proporcji nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych przygotowano ich fizjologiczną mieszaninę o stężeniu  $2.05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . W DMSO przygotowano roztwór zapasowy GLP o stężeniu  $2.5 \times 10 \text{ mol L}^{-1}$ .

Metoda wygaszania fluorescencji białka posłużyła do analizy interakcji glipizydu (GLP) z glikowaną, odtłuszczoną (gHSA) i zatłuszczoną fizjologiczną mieszaniną kwasów tłuszczowych (gHSA<sub>fizjo</sub>). Do wzbudzenia fluorescencji gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub>, bez i w obecności GLP, zastosowano promieniowanie o długości fali  $\lambda_{\text{ex}}$  275 nm i  $\lambda_{\text{ex}}$  295 nm. Do pomiarów w układzie GLP-gHSA i GLP-gHSA<sub>fizjo</sub> wykorzystano roztwór albuminy o stałym stężeniu  $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , bez (0) i w obecności GLP o rosnącym stężeniu, od  $5.56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  (1) do  $5.56 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  (10). Stopień wygaszania fluorescencji gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> przez GLP określano względem fluorescencji albuminy nie zawierającej leku. Ze względu na efekt wewnętrzznego filtra (*inner filter effect*) rejestrowaną fluorescencję makrocząsteczek oraz układu GLP-gHSA i GLP-gHSA<sub>fizjo</sub> skorygowano za pomocą wzoru przedstawionego przez Lakowicza (Lakowicz 2006). Pomiarów fluorescencyjnych przeprowadzono przy użyciu spektrofluorymetru JASCO FP-6500, natomiast pomiary widm elektronowych przy użyciu spektrofotometru JASCO V-530.

Na podstawie wyznaczonych intensywności fluorescencji układu GLP-gHSA i GLP-gHSA<sub>fizjo</sub> wykreślono krzywe wygaszania fluorescencji gHSA, gHSA<sub>fizjo</sub> przez GLP (określenie w oddziaływaniu udziału reszty Trp-214 ( $\lambda_{\text{ex}}$  295nm) i/lub reszt Tyr ( $\lambda_{\text{ex}}$  275nm)). Przebieg krzywych Sterna-Volmera ( $F_0/F = f([\text{GLP}]])$  pozwolił wnioskować o mechanizmie wygaszania fluorescencji fluoroforów gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> (mechanizm statyczny i/lub dynamiczny) (Grigoryan i Ghazaryan 2013). Ze zmodyfikowanej zależności Sterna-Volmera ( $F_0/\Delta F = f(1/[\text{GLP}])$ ) wyznaczono stałą Sterna-Volmera  $K_{SV}$ , stałe szybkości wygaszania fluorescencji ( $k_q$ ) w układzie GLP-gHSA i GLP-gHSA<sub>fizjo</sub> oraz ułamek maksymalnej fluorescencji białka dostępnej dla wygaszacza ( $f_a$ ) (Eftink i Ghiron 1981). W prezentowanej pracy do oceny specyficzności wiązania posłużyły izotermi wiązania ( $r = f([L_f])$ ) (Taira i Terada 1985) i/lub krzywe Scatcharda ( $r/[L_f] = f(r)$ ) (Hiratsuka 1990). Parametry wiązania GLP do gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub>, tj. liczbę miejsc w makrocząsteczce wiążącą GLP ( $n$ ) oraz wielkość powinowactwa GLP do tych miejsc wyrażoną wartością stałej asocjacji  $K_a$  wyznaczono z równania Klotza ( $1/r = f(1/[L_f])$ ) (Klotz i Hunston 1971). Z zależności Hilla ( $\log[r/(1-r)] = f(\log[L_f])$ ) (Goutelle i in. 2008) określono współczynniki interakcji Hilla ( $n_H$ ).

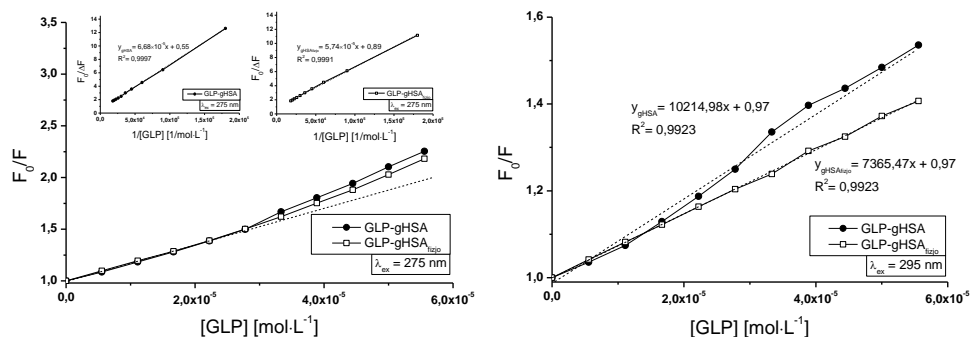
## 3. Wyniki

Wykreślone krzywe wygaszania fluorescencji gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> o stężeniu  $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  w obecności glipizydu (GLP) o rosnącym stężeniu  $5.56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1} - 5.56 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  dla  $\lambda_{\text{ex}}$  275nm i  $\lambda_{\text{ex}}$  295nm przedstawia Rys. 1.



**Rys. 1.** Krzywe wygaszania fluorescencji albuminy a) gHSA i b) gHSA<sub>fizjo</sub> o stężeniu  $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  w obecności GLP o stężeniach  $5.56 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1} - 5.56 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$  i  $\lambda_{\text{ex}} 295 \text{ nm}$ .

Na Rys. 2 przedstawiono krzywe Sterna-Volmera dla układu GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$  (Rys. 2a) i  $\lambda_{\text{ex}} 295 \text{ nm}$  (Rys. 2b). Na wykresach linią przerywaną zaznaczono modelowy prostoliniowy przebieg zależności  $F_0/F = f([\text{GLP}])$ .



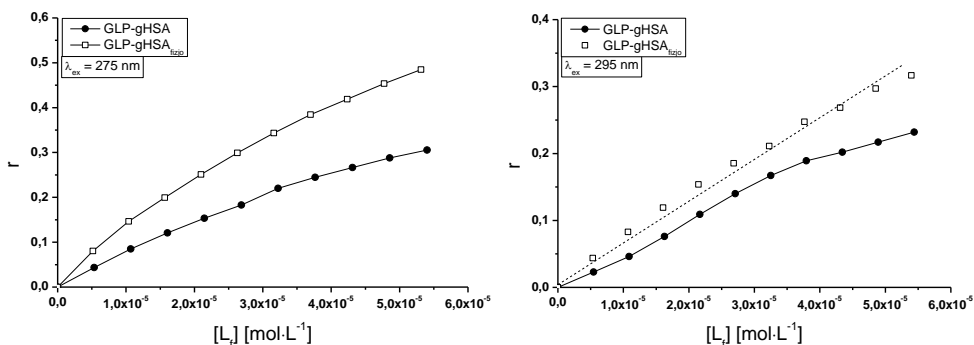
**Rys. 2.** Krzywe Sterna-Volmera układu GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla a)  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$  i b)  $\lambda_{\text{ex}} 295 \text{ nm}$ . Zmodyfikowany wykres Sterna-Volmera (zależność  $F_0/\Delta F = f(1/[\text{GLP}])$ ) dla GLP–gHSA (Rys. 2a, w insercie po lewej) i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> (Rys. 2a, w insercie po prawej),  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$

Prostoliniowy przebieg zależności  $F_0/F = f([\text{GLP}])$  wykazują krzywe Sterna-Volmera wykreślone dla GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla  $\lambda_{\text{ex}} 295 \text{ nm}$  (Rys. 2b), na podstawie których wyznaczono stałe Sterna-Volmera ( $K_{\text{SV}}$ ) i stałe szybkości wygaszania fluorescencji ( $k_q$ ). W związku z nieliniowym przebiegiem krzywych Sterna-Volmera (od stężenia GLP wynoszącego  $2.78 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) dla GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$  (Rys. 2a), parametry wygaszania i frakcję maksymalnie dostępną dla GLP fluorescencji fluoroforów gHSA i gHSA<sub>fizjo ( $f_a$ ) wyznaczono w oparciu o zależność Sterna-Volmera w modyfikacji Lehrera ( $F_0/\Delta F = f(1/[\text{GLP}])$ ) (Rys. 2a, w insercie). Parametry wygaszania zebrano w Tab. 1.</sub>

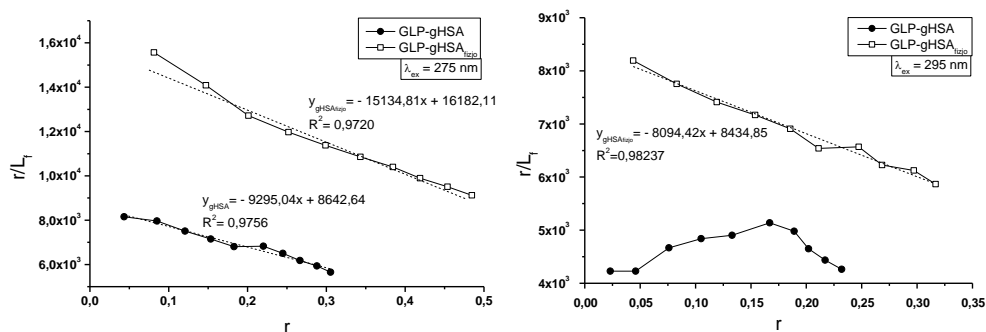
Na Rys. 3 przedstawiono zależność  $r = f([L_f])$  opisującą krzywe wysycenia (izotermy wiązania) GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$  (Rys. 3a) i  $\lambda_{\text{ex}} 295 \text{ nm}$  (Rys. 3b).

Rys. 4 przedstawia zależność Scatcharda ( $r/[L_f] = f(r)$ ) dla gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> o stężeniu  $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  w obecności rosnącego stężenia glipizydu w układzie lek–albumina wzbudzonego długością fali  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$  (Rys. 4a) i  $\lambda_{\text{ex}} 295 \text{ nm}$  (Rys. 4b).

W analizie ilościowej wiązania glipizydu do ludzkiej albuminy surowicy krwi skorzystano z zależności Klotza ( $1/r = f(1/[L_f])$ ) (Rys. 5), z której wyznaczono stałe asocjacji  $K_a$  oraz liczbę cząsteczek GLP wiążących się z jedną cząsteczką albuminy w stanie równowagi ( $n$ ). Parametry wiązania dla GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla  $\lambda_{\text{ex}} 275 \text{ nm}$  i  $\lambda_{\text{ex}} 295 \text{ nm}$  zebrano w Tab. 1.



**Rys. 3.** Krzywe wysycenia glipizydu do gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> w temperaturze 37°C, dla długości fali a)  $\lambda_{ex}$  275nm i b)  $\lambda_{ex}$  295nm.



**Rys. 4.** Krzywe Scatcharda dla GLP-gHSA i GLP-gHSA<sub>fizjo</sub> dla a)  $\lambda_{ex}$  275nm i b)  $\lambda_{ex}$  295nm.

Ponadto korzystając z zależności Hilla ( $\log[r/(1-r)] = f(\log[L_f])$ ) dla kompleksu GLP-gHSA i GLP-gHSA<sub>fizjo</sub> wyznaczono współczynniki interakcji Hilla ( $n_H$ ), które przedstawiono w Tab. 1.

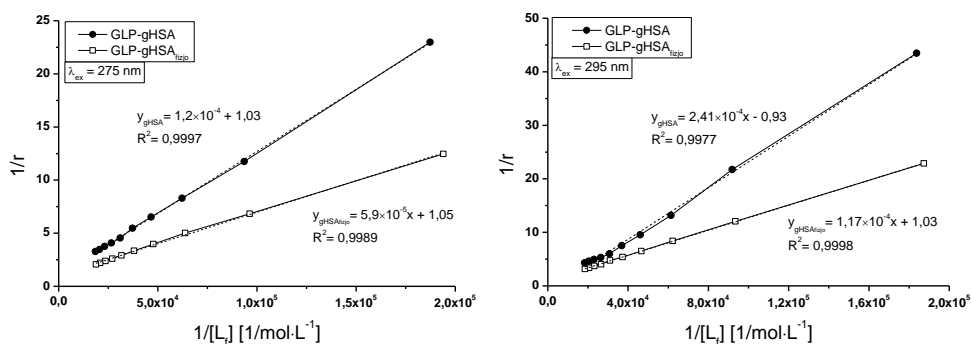
**Tab. 1.** Stałe asocjacji  $K_a$  [ $L \text{ mol}^{-1}$ ], stałe Sterna-Volmera  $K_{SV}$  [ $L \text{ mol}^{-1}$ ], stałe szybkości wygaszania fluorescencji  $k_q$  [ $L \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ], liczba cząsteczek glipizydu związana z jedną cząsteczką albuminy ( $n$ ), dostępność fluoroforów gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> dla GLP ( $f_a$ ) oraz współczynniki interakcji Hilla ( $n_H$ ) wyznaczone dla kompleksu GLP-gHSA i GLP-gHSA<sub>fizjo</sub>,  $\lambda_{ex}$  275nm i  $\lambda_{ex}$  295nm

	GLP-gHSA		GLP-gHSA <sub>fizjo</sub>	
	$\lambda_{ex}$ 275nm	$\lambda_{ex}$ 295nm	$\lambda_{ex}$ 275nm	$\lambda_{ex}$ 295nm
$K_a \times 10^4 \pm SE^{*)}$ [ $L \text{ mol}^{-1}$ ]	$0.86 \pm 0.01$	$0.39 \pm 0.01$	$1.76 \pm 0.01$	$0.88 \pm 0.02$
$K_{SV} \times 10^4 \pm SE^{*)}$ [ $L \text{ mol}^{-1}$ ]	$0.82 \pm 0.07$	$1.02 \pm 0.07$	$1.55 \pm 0.05$	$0.74 \pm 0.01$
<sup>(a)</sup> $k_q \times 10^{12} \pm SE^{*)}$ [ $L \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ]	$1.37 \pm 0.12$	$1.70 \pm 0.05$	$2.58 \pm 0.08$	$1.23 \pm 0.01$
$n \pm SE^{*)}$	$0.97 \pm 0.01$	$1.08 \pm 0.04$	$0.96 \pm 0.01$	$0.97 \pm 0.03$
$f_a \pm SE^{*)}$	$1.82 \pm 0.24$	-----*	$1.12 \pm 0.09$	-----*
$n_H \pm SE^{*)}$	$0.99 \pm 0.01$	$1.15 \pm 0.03$	$1.02 \pm 0.02$	$1.00 \pm 0.01$

<sup>\*)</sup> niepewność pomiarowa

-----\* niemożliwe do wyznaczenia

<sup>(a)</sup> obliczono wg  $k_q = K_{SV}/\tau_0$ , gdzie  $\tau_0 = 6\text{ns}$  – czas życia fluorescencji albuminy w nieobecności liganda (Lakowicz i Weber 1973)



Rys. 5. Wykresy Klotza dla GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla a)  $\lambda_{ex}$  275nm i b)  $\lambda_{ex}$  295nm.

#### 4. Dyskusja i wnioski

Emisyjne widma fluorescencji albuminy glikowanej, bez (gHSA) i w obecności fizjologicznej mieszaniny kwasów tłuszczowych (gHSA<sub>fizjo</sub>) w układzie GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub>, wzbudzonym długością fali  $\lambda_{ex}$  275nm i  $\lambda_{ex}$  295nm w obecności glipizydu (GLP) wskazują na stopniowe zmniejszenie intensywności fluorescencji fluoroforów makrocząsteczek. Zjawisko to najprawdopodobniej świadczy o przejmowaniu części energii pochodzącej od reszty tryptofanowej (Trp-214) i/lub reszt tyrozylowych (Tyr) gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> przez znajdujący się w odległości nie większej niż 7nm (Valeur 2002) lub nie większej niż 10nm GLP (Stryer 1978). Porównanie przebiegu krzywych wygaszania fluorescencji gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> w obecności GLP pozwoliło na wskazanie odpowiednich fluoroformów zaangażowanych w oddziaływanie z badanym lekiem. Promieniowanie o długości fali  $\lambda_{ex}$  275nm wzbudza w strukturze albuminy zarówno resztę Trp-214 (ulożoną w subdomenie IIA), jak i reszty Tyr (umiejscowione w subdomenie IB (Tyr-138, Tyr-140, Tyr-148, Tyr-150, Tyr-161), IIA (Tyr-263), IIB (Tyr-319, Tyr-332, Tyr-334, Tyr-341, Tyr-353, Tyr-370) oraz IIIA (Tyr-401, Tyr-411, Tyr-452, Tyr-497)). Z kolei  $\lambda_{ex}$  295nm wzbudza prawie wyłącznie resztę Trp-214 w makrocząsteczce. Obecność kwasów tłuszczowych (KT) w strukturze glikowanej albuminy surowicy krwi wpływa na zdolność wygaszania fluorescencji przez GLP. Słabsze wygaszanie fluorescencji gHSA<sub>fizjo</sub> niż gHSA świadczy o zmianach strukturalnych albuminy glikowanej spowodowanych obecnością KT, które przejawia się zwiększeniem odległości między wzbudzonymi fluoroforami a cząsteczką GLP oraz mniejszym transferem energii między nimi. Intensywniejsze wygaszanie fluorescencji gHSA (Rys. 1a) i gHSA<sub>fizjo</sub> (Rys. 1b) podczas wzbudzania długością fali  $\lambda_{ex}$  275nm niż  $\lambda_{ex}$  295nm wskazuje na udział nie tylko reszty Trp-214, ale również reszt Tyr i ich otoczenia w oddziaływaniu z GLP. Na podstawie krzywych Sterna-Volmera (Rys. 2) określono mechanizm wygaszania fluorescencji gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> w obrębie subdomen, które zawierają reszty aminokwasowe biorące udział w tworzeniu kompleksu GLP–albumina. Analiza wykresów Sterna-Volmera wykazała prostoliniowy przebieg dla układu GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> dla wzbudzenia długością fali  $\lambda_{ex}$  295nm, co może świadczyć o dynamicznym (kolizyjnym) lub statycznym mechanizmie wygaszania fluorescencji albumin (Rys. 2b). Jak wynika z literatury, w wygaszaniu dynamicznym lek penetruje otoczenie makrocząsteczki, a wygaszanie fluorescencji spowodowane jest kolizją cząsteczki wygaszacza i fluoroforów albuminy. Statyczne wygaszanie natomiast prowadzi do zmniejszenia natężenia emitowanej fluorescencji, gdy lek wiąże się do cząsteczki fluoroforu będącej w stanie niewzbudzonym, co zmniejsza populację fluoroforów zdolnych do wzbudzenia (Eftink i Ghiron 1981). Rząd wyznaczonych dla układu GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> stałych szybkości wygaszania fluorescencji  $k_q$  ( $10^{12}$ ) wskazuje na statyczny mechanizm wygaszania fluorescencji w układzie glipizyd–albumina (Łakowicz 2006) (Tab. 1). Niewielkie dodatnie odchylenie od prostoliniowego przebiegu zależności Sterna-Volmera (od stężenia GLP wynoszącego  $2,78 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) dla kompleksu GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> wzbudzonego  $\lambda_{ex}$  275nm, wskazuje na złożony mechanizm wygaszania fluorescencji albuminy przez glipizyd, w którym obok wygaszania statycznego występuje także wygaszenie dynamiczne (Rys. 2a) (Eftink i Ghiron 1981). Mniejsza wartość stałej Sterna-Volmera  $K_{SV}$  otrzymana dla kompleksu GLP–

gHSA<sub>fizjo</sub> niż GLP–gHSA ( $\lambda_{ex}$  295nm) (Tab. 1) świadczy o zwiększeniu odległości cząsteczki GLP od wzbudzonej reszty Trp-214 albuminy glikowanej w wyniku obecności KT w jej strukturze. Natomiast dla wzbudzenia  $\lambda_{ex}$  275nm, niemal 2-krotny wzrost stałej  $K_{SV}$  otrzymany dla kompleksu GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> w porównaniu z GLP–gHSA oraz towarzyszący temu spadek frakcji maksymalnie dostępnej fluorescencji fluoroforów albuminy ( $f_a$ ) sugeruje, że KT zwiększają siłę oddziaływania GLP z resztami Tyr i równocześnie zmniejszają ich dostępność dla leku (Tab. 1).

Kształt izoterm wiązania dla kompleksu GLP–gHSA ( $\lambda_{ex}$  275nm i  $\lambda_{ex}$  295nm) oraz dla GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> ( $\lambda_{ex}$  275nm) (Rys. 3) wskazuje na mieszaną (specyficzny i niespecyficzny) charakter oddziaływania glipizydu z albuminą. Z kolei krzywa wysycenia wykreślona dla GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> ( $\lambda_{ex}$  295nm) (Rys. 3b) sugeruje na występowanie niespecyficznych miejsc wiązania cząsteczek GLP z hydrofobowymi fragmentami powierzchni albuminy gHSA<sub>fizjo</sub> (Taira i Terada 1985). Specyficzne wiązanie charakteryzuje duże powinowactwo i niewielka zdolność wiązania, podczas gdy wiązanie niespecyficzne – małe powinowactwo i nieograniczona zdolność wiązania liganda. Skoro GLP wysyca miejsca wiązania gHSA i gHSA<sub>fizjo</sub> na podstawie krzywych Klotza (Rys. 5) wyznaczono stałe asocjacji  $K_a$ , które określają stabilność utworzonego kompleksu lek–białko. Zarejestrowany prostoliniowy przebieg wykresów Klotza dla kompleksu GLP–gHSA i GLP–gHSA<sub>fizjo</sub> (Rys. 5) wskazuje na wiązanie GLP do makrocząsteczek w obrębie jednej klasy miejsc wiążących. Natomiast nieliniowy przebieg krzywych Scatcharda (Rys. 4) potwierdza niespecyficzny charakter wiązania GLP z albuminami, sugeruje istnienie wielu klas miejsc wiążących glipizyd i/lub negatywną kooperatywność, tj. związanie GLP w jednym miejscu wraz ze zmniejszeniem powinowactwa liganda do pozostałych miejsc wiązania w strukturze albuminy. Otrzymane wartości stałych asocjacji  $K_a$  wskazują na silniejsze wiązanie GLP do gHSA<sub>fizjo</sub> niż do gHSA, dla obu długości fali wzbudzającej ( $\lambda_{ex}$  275 nm i  $\lambda_{ex}$  295 nm) (Tab. 1), co sugeruje wpływ KT na strukturę albuminy glikowanej powodując wzrost powinowactwa GLP do makrocząsteczki, a tym samym zwiększając stabilność powstałego kompleksu.

Wyniki badań zaprezentowane w niniejszej pracy wskazują, że glikacja ludzkiej albuminy surowicy krwi w obecności fizjologicznej mieszaniny kwasów tłuszczowych indukuje zmiany w mikrośrodowisku subdomen makrocząsteczki wpływając na farmakokinetykę glipizydu – leku stosowanego w leczeniu cukrzycy. Wykazano, że obecność kwasów tłuszczowych w albuminie glikowanej zwiększa trwałość powstałego kompleksu GLP–gHSA<sub>fizjo</sub>. Podczas terapii z użyciem glipizydu należy zwrócić uwagę na ilość kwasów tłuszczowych dostarczanych do organizmu wraz z dietą bądź w postaci suplementów, ponieważ będą one wywierać wpływ na efekt terapeutyczny leku lub/i na wystąpienie niepożądanych skutków ubocznych. Przeprowadzone badania sugerują potrzebę opracowania indywidualnego doboru dawki konkretnego leku dla pacjenta, zwłaszcza takiego, u którego istnieje podejrzenie występowania albuminy o zaburzonej strukturze i zdolności wiążącej, obciążonego schorzeniami przewlekłymi, np. cukrzycą.

Praca zrealizowana ze środków finansowych umowy realizowanej przez Młodego Naukowca nr: PCN-2-012/K/1/F i PCN-2-013/K/2/F

## 5. Literatura

- Anwer R, AlQumaizi KI, Haque S et al. (2021) Unravelling the interaction of glipizide with human serum albumin using various spectroscopic techniques and molecular dynamics studies. *J Biomol Struct Dyn* 39(1): 336–347.
- Eftink MR, Ghiron CA (1981) Fluorescence quenching studies with proteins. *Anal Biochem* 114: 199–227.
- Goutelle S, Maurin M, Rougier F i in. (2008) The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fund Clin Pharm* 22(6): 633–648.
- Grigoryan KR, Ghazaryan AG (2013) Quenching mechanism of human serum albumin fluorescence by Gangleron. *Chem Biol* 2: 6–10.
- Hiratsuka T (1990) Conformational changes in the 23-kilodalton NH<sub>2</sub>-terminal peptide segment of myosin ATPase associated with ATP hydrolysis. *J Biol Chem* 265(31): 18786–18790.
- The IDF Diabetes Atlas 10th Edition Reports 2022. Wersja dostępna online: [www.idf.org/diabetesatlas](http://www.idf.org/diabetesatlas) (data cytowania 10 maja 2023).

- Klotz IM, Hunston DL (1971) Properties of graphical representations of multiple classes of binding sites. *Biochemistry* 10(16): 3065–3069.
- Lakowicz JR (2006) *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. New York: Springer.
- Lakowicz JR, Weber G (1973) Quenching of Protein Fluorescence by Oxygen. Detection of Structural Fluctuations in Proteins on the Nanosecond Time Scale. *Biochemistry* 12: 4171–4179.
- Rondeau P, Bourdon E (2011) The glycation of albumin: structural and functional impacts. *Biochimie* 93: 645–658.
- Stryer L (1978) Fluorescence spectroscopy of proteins. *Science* 162: 526–533.
- Taira Z, Terada H (1985) Specific and non-specific ligand binding to serum albumin. *Biochem Pharm* 34(11): 1999–2005.
- Valeur B (2002) *Molecular fluorescence. Principles and applications*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Vetter SW, Indurthi VS (2011) Moderate glycation of serum albumin affects folding, stability and ligand binding. *Clin Chim Acta* 412(23–24): 2105–2116.
- Zuwała-Jagiełło J (2009) Terapia chorób z udziałem końcowych produktów zaawansowanej glikacji w ich patogenezie. *Pol Merk Lek XXVII*: 152–158.