

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Nauki medyczne i nauki o zdrowiu

Choroby



www.mlodzinaukowcy.com

Poznań 2021

Redakcja naukowa

dr Jędrzej Nyćkowiak

dr hab. Jacek Leśny, prof. UPWR

Wydawca

Młodzi Naukowcy

www.mlodzinaukowcy.com

wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com

ISBN (całość 978-83-66392-91-5)

ISBN (wydanie online 978-83-66743-36-6)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-66743-35-9)

Ilość znaków w książce: 413 tys.

Ilość arkuszy wydawniczych: 10.3

Data wydania: maj 2021

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

Spis treści

1. Ocena interakcji społecznych u gryzoni	7
<i>Banaszkiewicz Izabela, Biała Grażyna, Kruk-Słomka Marta</i>	
2. <i>Helicobacter pylori</i> i świadomość na jej temat wśród młodych osób	17
<i>Marta Dąbrowska, Joanna Banasiewicz</i>	
3. Najczęstsze choroby przenoszone drogą płciową	23
<i>Marta Dąbrowska, Joanna Banasiewicz</i>	
4. Zmiany nowotworowe u pacjentów pediatrycznych	29
<i>Katarzyna Drelich, Olga Pustelniak, Magdalena Woźniak</i>	
5. Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego- obecne wyzwania diagnostyczne i terapeutyczne	37
<i>Martyna Janczewska, Joanna Kobak, Michał Korab, Jakub Radulski, Zuzanna Gwóźdź, Emilia Langa, Karol Bochyński, Norbert Nowak</i>	
6. Fluorescencja indukowana zielenią indocyjaninową- nowe możliwości w chirurgicznym leczeniu zaawansowanego raka jelita grubego	44
<i>Martyna Janczewska, Emilia Langa, Jakub Radulski, Joanna Kobak, Karol Bochyński, Michał Korab, Zuzanna Gwóźdź, Norbert Nowak</i>	
7. Omekantiw mekarbilu oraz wericiguat w leczeniu przewlekłej niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową	50
<i>Dominik Kurczyński, Kaja Pelar, Mariusz Kowaliński</i>	
8. Kardiomiopatia przerostowa a serce sportowca-epidemiologia, diagnostyka różnicowa i leczenie	56
<i>Dominik Kurczyński, Mariusz Kowaliński, Kaja Pelar</i>	
9. Biegunka indukowana chemioterapią - patofizjologia, obecne i przyszłe kierunki leczenia	62
<i>Maksymowicz Jerzy, Środa - Pomianek Kamila</i>	
10. Zaburzenia mikrobiomu jelitowego a choroby neurodegeneracyjne	68
<i>Natalia Piekarczyk, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska</i>	
11. Wpływ mikrobiomu na rozwój ośrodkowego układu nerwowego i zaburzenia jego funkcjonowania	75
<i>Natalia Piekarczyk, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska</i>	
12. Rola wybranych adipocytokin oraz stresu oksydacyjnego w patogenezie niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby	83
<i>Anna Piórkowska, Karolina Szewczyk-Golec, Marlena Budek, Jarosław Nuszkiewicz</i>	
13. Przełom w leczeniu cukrzycy- kanagliflozyna	89
<i>Sochacki Rafał, Homa Katarzyna, Balawejder Anna, Parys Wioletta</i>	
14. Dylematy diagnostyczne autoimmunologicznych chorób pęcherzowych skóry	97
<i>Marta Szepietowska, Bernadetta Nowak</i>	
15. Grzybica twarzy gladiatorów (tinea faciei gladiatorum): opis przypadku i przegląd piśmiennictwa	103
<i>Marta Szepietowska, Katarzyna Skinderowicz, Alicja Dąbrowska</i>	
16. Zespół Downa – praca pogładowa	110
<i>Trochimiuk Anna, Buczyńska Angelika</i>	
17. Współczesna terapia celowana w zróżnicowanym raku tarczycy	116
<i>Trochimiuk Anna, Buczyńska Angelika, Poptawska-Kita Anna</i>	

Przedmowa

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

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

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

Redakcja

1. Ocena interakcji społecznych u gryzoni

The assessment of social interaction in rodents

Banaszkiewicz Izabela, Biała Grażyna, Kruk-Słomka Marta

Katedra i Zakład Farmakologii z Farmakodynamiką, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: dr hab. Marta Kruk-Słomka

Banaszkiewicz Izabela: izabela.banaszkiewicz@umlub.pl

Słowa kluczowe: zachowania społeczne, gryzonie, wycofanie społeczne, testy laboratoryjne

Streszczenie

Zachowania społeczne to naturalna zdolność i chęć do przebywania z osobnikami tego samego gatunku. Interakcje społeczne stanowią podstawowy i adaptacyjny element biologii. Obejmują dzielenie informacji, wyrażanie emocji, współodczuwanie, a także podtrzymywanie więzi za pomocą różnorodnych środków komunikacji. Zachowania społeczne są złożone, ale ważne dla zdrowia i dobrego samopoczucia. W wielu chorobach psychicznych takich jak: schizofrenia, autyzm, depresja, choroba afektywna dwubiegunowa czy zaburzenia obsesyjno-kompulsywne dochodzi do zaburzenia interakcji społecznych. Testy laboratoryjne przeprowadzane na gryzoniach, służące do oceny tych interakcji znalazły szerokie zastosowanie w badaniach zaburzeń neuropsychiatrycznych.

W niniejszej pracy omówiono najczęściej stosowane testy laboratoryjne oceniające interakcje społeczne u gryzoni, które znalazły szerokie zastosowanie w badaniach z użyciem modeli farmakologicznych, genetycznych oraz neurorozwojowych. Główną zasadą tych testów, pomimo ich różnorodności jest wywoływanie spontanicznej interakcji pomiędzy dwoma, nieznanymi sobie wcześniej osobnikami oraz pomiar tej interakcji.

1. Wstęp

Zachowania społeczne to naturalna zdolność i chęć do przebywania z osobnikami tego samego gatunku. Interakcje społeczne stanowią podstawowy i adaptacyjny element biologii. Obejmują dzielenie informacji, wyrażanie emocji, współodczuwanie, a także podtrzymywanie więzi za pomocą różnorodnych środków komunikacji. Zachowania społeczne są złożone, ale ważne dla zdrowia i dobrego samopoczucia. Zrozumienie zachowań społecznych oraz mechanizmów ich upośledzenia jest niezbędne w przypadku leczenia zaburzeń neuropsychiatrycznych, w których dochodzi do deficytów społecznych takich jak: autyzm, schizofrenia, depresja, choroba afektywna dwubiegunowa czy zaburzenia obsesyjno-kompulsywne.

Upośledzenie interakcji społecznych charakteryzuje się wycofaniem społecznym, czyli mniejszym zainteresowaniem rówieśnikami, trudnością w utrzymaniu kontaktów społecznych oraz problemami z komunikacją werbalną i niewerbalną. Zaburzenia zachowań społecznych występujące w wymienionych chorobach są trudne do kontroli, przede wszystkim z powodu ograniczonego zrozumienia złożonych mechanizmów, które je wywołują.

Podstawy neurobiologiczne interakcji społecznych, jak same interakcje są różnorodne i skomplikowane. Z tego powodu obejmują wiele obwodów neuronalnych i systemów neuroprzekaźnikowych, których dokładna rola w powstawaniu i modulacji interakcji społecznych nie jest w pełni poznana.

Zachowania agresywne są wynikiem braku równowagi pomiędzy korowymi systemami kontrolującymi i nadreaktywnością ciała migdałowatego i innych struktur układu limbicznego. Niewystarczająca aktywność nadrzędnych ośrodków kontrolujących, zlokalizowanych w korze przedczołowej (neuroprzekaźnictwo serotoninerгіczne), nadmierna stymulacja katecholaminergiczna, podkorowe zaburzenia równowagi układów glutaminianergicznych i GABA-ergicznych oraz zmiany w układach neuropeptydowych zaangażowanych w regulację zachowań afiliacyjnych mogą przyczyniać się do powstawania agresji (Siever 2008).

Społeczne poznanie, które jest wyrazem funkcji poznawczych i wiąże się z funkcjonowaniem społecznym (obejmuje rozpoznawanie emocji twarzy i percepcję sygnałów

społecznych), wymaga sprzężonej współpracy systemów podkorowych i czołowych, które wzajemnie się uzupełniają. Z neurobiologicznego punktu widzenia, najważniejsze dla prawidłowego poznania społecznego są następujące struktury neuronalne: przyśrodkowa kora przedczołowa, górna bruzda skroniowa, zakręt wrzecionowaty, jądro migdałowe i brzusno-przyśrodkowa kora przedczołowa. Podkorowe struktury limbiczne (np. ciało migdałowe) łączą się z korą oczodołowo-czołową i informacja jest przetwarzana i przekazywana do płata środkowo-czołowego, aby dalej stworzyć decyzje. Dysfunkcje w powyższych obszarach wykazano np. w schizofrenii, co prowadzi do zaburzeń w komunikacji społecznej (Spychalska i in. 2004).

Mimo, że zachowania ludzi w zakresie interakcji społecznych są na ogół szersze i bardziej złożone niż zachowania zwierząt, to modele zwierzęce, przynajmniej częściowo odzwierciedlające zachowania u ludzi, są cennym narzędziem, niezbędnym do zrozumienia mechanizmów neurobiologicznych leżących u podstaw zachowań społecznych.

Zachowania społeczne są powszechnym zjawiskiem w świecie zwierząt i przejawiają się w postaci pierwotnych instynktów będących wynikiem reakcji na specyficzne bodźce społeczne. Mogą mieć charakter pozytywny (wspólny odpoczynek oparty na kontakcie osobników, zachowania pielęgnacyjne) lub negatywny (agresja, podporządkowanie). Prawidłowe interakcje międzysobnicze wspierają dobrostan jednostki i zwiększają szanse na rozród, wpływając na ogólny poziom dostosowania.

Społeczne funkcje poznawcze („poznanie społeczne”, „kompetencje społeczne”) są kluczowe dla struktury i stabilizacji sieci i relacji definiujących społeczności. Dla gryzoni rozpoznanie osobników tego samego gatunku warunkuje utrzymanie hierarchii społecznej oraz łączenie się w pary (Berry i in. 1992; Nikiforuk 2016).

W porozumiewaniu między osobnikami duże znaczenie ma zapach. Zapachy dostarczają gryzoniom niezwykle ważnych informacji, które przyczyniają się do sukcesu reprodukcyjnego jednostki. Opierając się na wrażeniach węchowych mysz może okazać imponującą gamę zachowań, od obrony swojego terytorium do zalotów i kopulacji.

Jak już wspomniano, wiele zaburzeń neuropsychiatrycznych charakteryzuje się upośledzeniem zachowań społecznych. W celu badania tych schorzeń niezbędne jest opracowanie właściwych testów przedklinicznych prowadzonych na gryzoniach laboratoryjnych, które pozwolą na ocenę interakcji społecznych pomiędzy osobnikami tego samego gatunku. Gryzonie są dobrym modelem zwierzęcym służącym do badań zachowań społecznych, ponieważ tworzą hierarchiczne struktury społeczne oraz wykazują podstawowe zachowania społeczne, omówione poniżej (Sams-Dodd 1999; Wilson i Koenig 2014).

W niniejszej pracy omówiono najczęściej stosowane testy laboratoryjne oceniające interakcje społeczne u gryzoni, które znalazły szerokie zastosowanie w badaniach z użyciem modeli farmakologicznych, genetycznych oraz neurorozwojowych. Główną zasadą tych testów, pomimo ich różnorodności, jest wywoływanie spontanicznej interakcji pomiędzy dwoma, nieznanymi sobie wcześniej osobnikami oraz pomiar tej interakcji. Dokonuje się oceny ilościowej (czas trwania interakcji) jak i jakościowej (rodzaj zachowań społecznych) (Sams-Dodd 1999).

2. Testy wykorzystywane w badaniach interakcji społecznych u gryzoni

Do najbardziej powszechnych testów wykorzystywanych w badaniach zachowań społecznych należą:

- Test rezydent-intruz (ang. *Resident-intruder test*)
- Probówkowy test dominacji społecznej (ang. *Tube dominance test*)
- Test wokalizacji ultradźwiękowych (ang. *Ultrasonic vocalization test*)
- Test pamięci społecznej (ang. *Social memory test*)
- Trzy-kompartментowy test towarzyskości i test nowości (ang. *Three chamber sociability and social novelty test*)

3. Zastosowanie testów interakcji społecznych w badaniach chorób psychicznych

Tab.1. Wykorzystanie testów interakcji społecznych w badaniach zaburzeń neuropsychiatrycznych (Fan i in. 2019; Jacobs i in. 2016; Koolhaas i in. 2013; Nikiforuk 2016; Wilson i Koenig 2014).

TEST	CECHY	ZASTOSOWANIE
Test rezydent-intruz	<ul style="list-style-type: none"> • Choroba afektywna dwubiegunowa • Schizofrenia 	<ul style="list-style-type: none"> • Prosty do przeprowadzenia • Nie wymaga specjalistycznej aparatury • Wiele zmiennych • Wyniki trudne do zinterpretowania, bardzo subiektywne
Probówkowy test dominacji	<ul style="list-style-type: none"> • Choroba afektywna dwubiegunowa • Schizofrenia 	<ul style="list-style-type: none"> • Wiarygodny • Niewielki stres dla zwierząt • Wyniki niezależne tylko od agresji
Test wokalizacji ultradźwiękowych	<ul style="list-style-type: none"> • Autyzm • Zaburzenia lękowe 	<ul style="list-style-type: none"> • Szybka analiza danych • Trudna interpretacja danych
Test pamięci społecznej	<ul style="list-style-type: none"> • Tani i łatwy do przeprowadzenia • Wiele zmiennych 	<ul style="list-style-type: none"> • Autyzm
Trzy-kompartментowy test towarzyskości i test nowości	<ul style="list-style-type: none"> • Autyzm • Schizofrenia 	<ul style="list-style-type: none"> • Niskie narażenie na stres i zachowania agresywne zwierząt • Aparatura pozwala na wykonanie różnych modyfikacji testów

4. Test rezydent-intruz

Test rezydent-intruz jest standardowym testem służącym do oceny agresji, przemocy i zachowań obronnych. Jest to test szczególnie użyteczny w badaniach nad ostrym i przewlekłym stresem społecznym (Mikulecká i in. 2014).

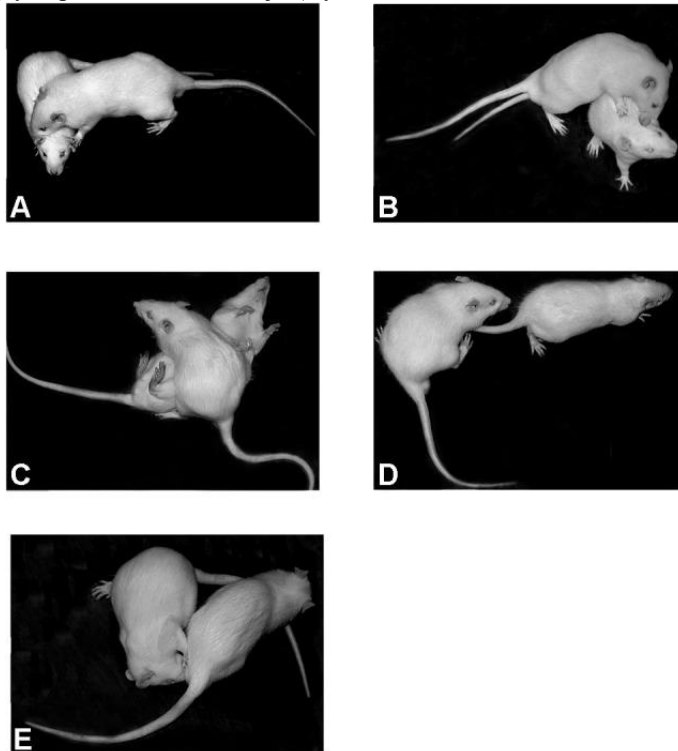
Agresja należy do repertuaru naturalnych zachowań wszystkich gatunków zwierząt. Z biologicznego punktu widzenia zachowania agresywne to wysoce funkcjonalna forma komunikacji społecznej, której celem jest aktywna kontrola środowiska społecznego. Charakteryzuje się zestawem zachowań typowym dla danego gatunku zwierząt, przebiegających w ścisłej interakcji z przeciwnikiem. Otwarta agresja jest szkodliwa nie tylko dla ofiary, ale również dla agresora. Dlatego w całym królestwie zwierząt istnieją mechanizmy minimalizujące i kontrolujące agresję fizyczną, aby zapobiegać jej potencjalnie niekorzystnym konsekwencjom. Do takich mechanizmów należą np. groźne zachowania, które często zwiastują fizyczne ataki i tym samym pozwalają na ich uniknięcie, jak również rytualizacja (ang. *ritualization*), uległość (ang. *submission*), pojednanie (ang. *reconciliation*) i złagodzenie (ang. *appeasement*) (Koolhaas i in. 2013; Mikulecká i in. 2014).

Agresję można podzielić na ofensywną i defensywną. Agresja ofensywna jest formą agresji, w której dochodzi do inicjatywy sprawcy oraz szeregu wprowadzających, często groźnych zachowań przed próbą osiągnięcia i ugryzienia np. grzbietu czy szyi (części niewrażliwych). Pomimo tak wysoce adaptacyjnego mechanizmu kontroli istnieją przykłady funkcjonalnej agresji, przekształcającej się w przemoc. Przemoc można zatem zdefiniować jako szkodliwą formę agresji ofensywnej, która wymyka się spod kontroli i kontekstu. Jest to zatem patologiczna forma agresji ofensywnej, która nie podlega już hamującym mechanizmom kontroli, i która nie ma addytywnej

wartości funkcjonalnej w stosunku do normalnego zachowania agresywnego w komunikacji społecznej. Obejmuje ataki skierowane na wrażliwe części ciała takie jak gardło, brzuch, łapy, które zwykle są zabronione (Fan i in. 2019).

Agresja defensywna (obronna) jest to rodzaj zachowań prezentowanych w odpowiedzi na atak innego osobnika. Agresja defensywna różni się znacznie od ofensywnej, a w skrajnych przypadkach również może przybierać formę przemocy (Koolhaas i in. 2013).

Test rezydent-intruz pozwala na badanie spontanicznych i naturalnych zachowań zarówno agresji defensywnej (intruza), jak i ofensywnej (rezydenta) u gryzoni laboratoryjnych. Pod uwagę brana jest częstotliwość, czas trwania, latencja i sekwencja wszystkich zaobserwowanych zachowań oraz pozycje walczących podczas konfrontacji (Rys.1).



Rys. 1. Wzorce zachowań społecznych prezentowane przez szczury w teście rezydent-intruz. (A) atak, skakanie (ang. *pouncing*) (B) walka, zapasy (ang. *wrestling*) (C) przyszpilenie, przygwożdżenie (ang. *pinning*), (D) śledzenie (ang. *following*) (E) badanie genitaliów (ang. *genital investigation*) (Mikulecká i in. 2014).

Paradygmat testu rezydent-intruz oparty jest na fakcie, iż dorosły samiec ustala swoje terytorium, kiedy otrzymuje wystraszającą przestrzeń życiową. Ponadto terytorialność jest silnie wzmocniona w przypadku obecności samicy. Ze względu na zajmowane terytorium rezydent będzie atakować nieznaną mu samców (intruzów), którzy zostaną umieszczeni w jego klatce domowej. Agresję ofensywną można badać wykorzystując rezydenta (mieszkańca). Dodatkowo, aby ocenić czy zachowania agresywne wykraczają poza kontekst i mechanizmy kontroli hamującej, czyli przechodzą w przemoc, wykorzystuje się różnych intruzów np. samice, samców poddanych znieczuleniu.

Intruzi w teście rezydent-intruz przedstawiają zachowania obronne w odpowiedzi na ataki rezydentów, dlatego test ten pozwala również na badanie agresji defensywnej, a także stresu społecznego. Chroniczny stres w tym teście, może być wywołany poprzez wielokrotne wykorzystywanie zwierzęcia doświadczalnego jako intruza lub umieszczenie go w dodatkowej, małej klatce wykonanej np. z siatki, umieszczonej w terytorium rezydenta.

Jak każdy paradygmat stresu, paradygmat rezydent-intruz nie jest wolny od kwestii etycznych, ale modele zwierzęce są niezbędne do uzyskania informacji i lepszego zrozumienia przyczyn zachowań agresywnych i przemocy. Zwłaszcza kiedy agresja, przemoc i stres społeczny to poważne problemy w naszym społeczeństwie, a przemoc interpersonalna jest nie tylko głównym źródłem zgonów na całym świecie, ale także głównym źródłem poważnych problemów zdrowotnych u ofiar agresji.

Z biologicznego punktu widzenia agresja jest naturalną, biologicznie funkcjonalną formą zachowań społecznych zmierzających do ustanowienia terytorium, dominacji społecznej i obrony zasobów. Test rezydent-intruz przenosi tę naturalną formę zachowania do środowiska laboratoryjnego, które pozwala na kontrolowane badania zarówno zachowań agresora, jak i ofiary.

Kwestią etyczną jest kwestia, w jakim stopniu dobrostan zwierzęcia jest zagrożony, gdy jest poddany testowi rezydent-intruz. Badania pokazują, że w przypadku rezydenta, zaangażowanie się w zachowania agresywne i wygrywanie walki jest bardzo satysfakcjonujące, dlatego rezydent nie odczuwa cierpienia. Jednak, aby zaszła wspomniana interakcja wymagany jest również przeciwnik. W przypadku intruza (ofiary) zachowania obronne i uległość należą do naturalnych zachowań radzenia sobie z dominacją. Przegrana i ujarzmienie wywołują adaptacyjną reakcję behawioralną i fizjologiczną, mającą na celu przyjęcie podrzędnej pozycji w grupie społecznej. Z tego punktu widzenia, wstępna odpowiedź behawioralna intruza podczas pokonania prowadzi do dobrego przystosowania zwierzęcia, a nie do jego cierpienia. Dopiero powtarzające się narażenie na dominującą i społeczną izolację po pokonaniu może prowadzić do stanu, który wykracza poza zdolności adaptacyjne zwierzęcia. Interakcję należy również przerwać, gdy mieszkaniowiec wykazuje oznaki przemocy powodującej poważne rany, ugryzienia w wrażliwych częściach ciała. Badania stresu psychospołecznego nie powinny być mieszane ze stresem spowodowanym ciężkimi obrażeniami fizycznymi. Gdy rezydenci wykazują te oznaki przemocy, powinni zostać wykluczeni z eksperymentu (Koolhaas i in. 2013; Mikulecká i in. 2014).

5. Probówkowy test dominacji

Probówkowy test dominacji służy do pomiaru społecznej hierarchii u gryzoni. Test probówkowy to prosty i solidny test behawioralny, który stanowi wiarygodny miernik hierarchii społecznej, zachowań agresywnych oraz funkcji poznawczych u zwierząt np. myszy. Procedura testu składa się z trzech etapów: przyzwyczajenia, treningu przejścia przez probówkę i testu. Ranga społeczna każdego zwierzęcia jest określana na podstawie liczby zwycięstw, które zdobywa, konkurując z pozostałymi gryzoniami.

Na początku testu dwie myszy umieszcza się na przeciwległych końcach przezroczystej, wąskiej probówki (tuby). Następnie zwierzęta wchodzi z sobą w interakcję w środku probówki, zwierzę dominujące będzie wykazywać większą agresję i wypychać przeciwnika z tuby. Kiedy jedno zwierzę ma wszystkie cztery łapy na zewnątrz tuby, zostaje uznane jako zdominowane, podczas gdy zwierzę pozostające w tubie uznawane jest za wygraną (Rys.2). Liczba wygranych jest podawana jako procent całkowitej liczby dopasowań. Probówkowy test dominacji jest przydatny do identyfikacji deficytów w interakcjach społecznych u myszy, w tym szczepów transgenicznych, jak również do oceny działania nowych związków chemicznych pod kątem ich wpływu na funkcje poznawcze i zachowania społeczne (Fan i in. 2019).

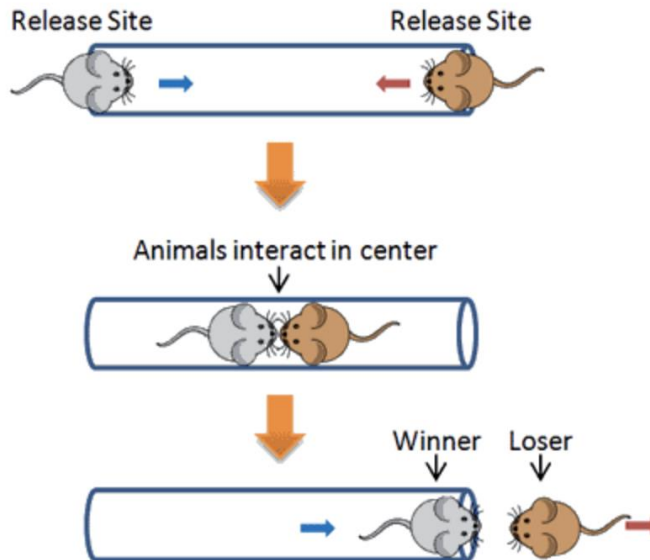
6. Test wokalizacji ultradźwiękowych

Myszy transgeniczne są coraz częściej używane jako genetyczne modele zwierzęce w różnych zaburzeniach psychiatrycznych, w których dochodzi do upośledzenia interakcji społecznych. Badania komunikacji społecznej w tych mysich modelach są bardzo interesujące i przydatne do zrozumienia mechanizmów mutacji genetycznych prowadzących do nietypowych dysfunkcji społecznych, oraz do testowania nowych terapii zaburzeń psychicznych (Hofer i in. 2002).

Gryzonie to zwierzęta społeczne i komunikują się ze sobą za pomocą sygnałów dźwiękowych, dotykowych, wizualnych i akustycznych, dlatego też są one odpowiednimi modelami do oceny interakcji społecznych. Wokalizacje ultradźwiękowe (USV, ang. *Ultrasonic vocalization*)

myszy są obecnie używane zastępczo do modelowania genetycznych podstaw deficytów komunikacji głosowej (Ferhat i in. 2016; Hofer i in. 2002).

Gryzonie prowadzą nocny tryb życia, gdyż w nocy są bardziej bezpieczne. Porozumiewanie się za pomocą USV jest wyrazem adaptacji, która zwiększa ich bezpieczeństwo, ultradźwięki nie są słyszalne dla większości drapieżników. Myszy emitują USV podczas różnych warunków, takich jak: opieka nad potomstwem (matka-młode) czy podczas interakcji pomiędzy dorosłymi osobnikami (Hofer i in. 2002).



Rys.2. Etapy próbkiowego testu dominacji z użyciem myszy jako modelu doświadczalnego. Umieszczenie zwierząt na wolnych końcach tuby. Interakcja społeczna pomiędzy osobnikami. Dominacja jednego zwierzęcia nad drugim i wycofanie się przegranego osobnika z urządzenia. (<https://med.stanford.edu/sbfnl/services/bm/si/tube-dominance.html>)

Młode zaczynają emitować ultradźwięki wkrótce po urodzeniu, w czasie izolacji od matki, są to wokalizacje separacyjne (ang. *separation calls*). W ten sposób przywołują matkę, wyzwalając różne zachowania opiekuńcze takie jak lizanie czy pochylanie się. Wokalizacje te mają zmienne parametry akustyczne, które ułatwiają matce zlokalizowanie zgubionego noworodka i przyniesienie go do gniazda. Im starsze młode, tym bardziej złożone są USV i tym więcej zmian częstotliwości w każdej wokalizacji. Najstarsze noworodki produkują wokalizacje przypominające zmienny dźwięk syreny alarmowej. To właśnie ta zmienność częstotliwości jest właściwym sygnałem dla matki (Brudzyński 2016; Hofer i in. 2002).

Dorośle osobniki nie emitują separacyjnych wokalizacji, gdyż ułatwiłyby one drapieżnikowi ich zlokalizowanie. Dorosłe gryzonie mają dwa podstawowe typy USV: wokalizacje alarmowe i afiliacyjne (Brudzyński 2016).

Wokalizacje alarmowe (ang. *alarm vocalizations*) są emitowane przez gryzonie w sytuacjach niebezpieczeństwa, zagrożenia np. podczas zbliżania się drapieżnika, w stresie wywołanym bardzo głośnym i niespodziewanym dźwiękiem lub kiedy jeden z walczących szczurów przegrywa i przyjmuje uległą postawę. Wokalizacje alarmowe są odzwierciedleniem negatywnych stanów emocjonalnych zwierząt, u ludzi korelują ze smutkiem i lękiem. Wokalizacje alarmowe ostrzegają jednocześnie inne osobniki stada o zagrażającym niebezpieczeństwie. Ten rodzaj USV stanowi system ostrzegawczy zwiększający przeżywalność wszystkich osobników w grupie, jest więc zatem wyższym poziomem reakcji obronnej. Wokalizacje alarmowe różnią się znacznie od

separacyjnych, są bardzo długo trwającymi ultradźwiękami (300 ms-3000 ms) o niskiej i stałej częstotliwości (20-26 kHz).

Badania zachowań społecznych gryzoni wykazały, że wprowadzenie drapieżnika w pobliżu nor gryzoni wywołuje emisję wokalizacji alarmowych przez pierwszego szczura-dominanta, co naśladują inne osobniki stada. Odegranie wokalizacji alarmowej z głośnika do osobników znajdujących się klatce, wywołuje spadek ich aktywności aż do całkowitego bezruchu (ang. *freezing response*). W badaniach laboratoryjnych wykorzystuje się różne bodźce awersyjne, które wywołują emisję wokalizacji alarmowych np. poprzez niespodziewane dmuchnięcie powietrza z wąskiej rurki (ang. *air puff*), głośny bodziec akustyczny, lub użycie bodźca elektrycznego przez metalowe pręty w podłodze klatki (ang. *foot shock*) (Brudzyński 2016).

Sytuacje związane z emisją tego typu USV są wyrazem stanów emocjonalnych u gryzoni, dlatego dźwięki te są szybciej i na dłużej zapamiętywane, a także bardziej odporne na zapomnienie. Ma to na celu zwrócenie większej uwagi na biologicznie istotne sytuacje, warunkujące przeżycie, a także ich trwalsze zapamiętanie.

Wokalizacje afiliacyjne (50 kHz) związane są pozytywnymi oddziaływaniami społecznymi. Emitowane są np. podczas zabawy z innymi osobnikami, współdziałania czy wspólnego jedzenia. Ten typ USV emitowany jest więc przez gryzonia w pozytywnych stanach emocjonalnych, u ludzi korelując z wyrazem radości i zadowolenia. Wokalizacje afiliacyjne zawierają się w częstotliwościach między 35 kHz, a 70 kHz, są krótkie (20-120ms), o bardzo wysokiej częstotliwości dźwięków, akustycznie skomplikowane i bardzo różnorodne. Mogą być emitowane w wielkich ilościach, przekraczając 90 wokalizacji na minutę.

Wokalizacje afiliacyjne dzielą się na:

- „płaskie” wokalizacje (ang. *flat calls*) - krótkie (10-100ms), o niezmienniej częstotliwości (35-40 kHz), nie ulegają modulacji
- wokalizacje z modulowaną częstotliwością (ang. *frequency-modulated calls*) - krótkie dźwięki, rytmicznie powtarzane.

Wokalizacje z modulowaną częstotliwością dotyczą stanów emocjonalnie przyjemnych np. pochłonięcie zabawą. Natomiast płaskie wokalizacje występują w innych sytuacjach, mniej emocjonalnych, np. wspólnego jedzenia. Płaskie USV spełniają rolę koordynującą społeczne zachowanie oraz rolę wokalizacji kontaktowych np. sygnalizacja zbliżania się, tutaj sygnał afiliacyjny zabezpiecza przed niespodziewanym obronnym atakiem rezydentów.

Modulowane wokalizacje zostały podzielone na dwie kategorie:

- stopniowane 50 kHz wokalizacje (ang. *step vocalizations*)
- wokalizacje z trylami (ang. *trill vocalizations*)

Wokalizacje stopniowane i z trylami trwają od 30-150 ms i mają średni zakres częstotliwości od 45-80 kHz. Wokalizacje z trylami pojawiają się w zachowaniach z wysoką motywacją, i w zachowaniach wysoce emocjonalnych, np. w sytuacjach zachowania seksualnego lub agresji (Brudzyński 2016).

Eksperymentator może ilościowo ocenić komunikację społeczną, rejestrując i mierząc liczbę, czas trwania, częstotliwość i amplitudę ultradźwięków. Aby nagrać taką komunikację każdego osobnika umieszcza się oddzielnie w specjalnej komorze, w której umieszczony jest mikrofon. Nagrania są później analizowane za pomocą odpowiedniego programu komputerowego.

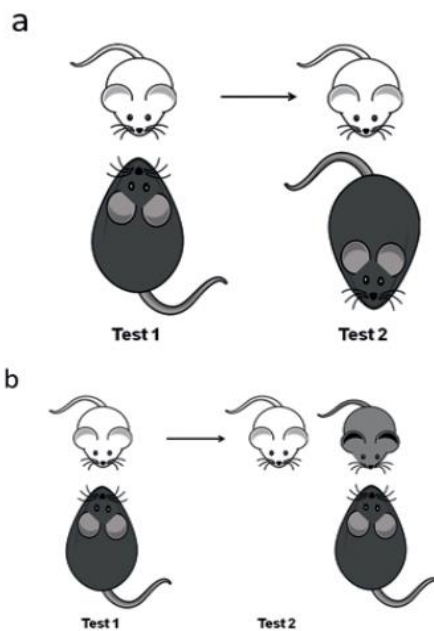
USV u myszy różni się w zależności od wieku, płci, stanu zdrowia i genotypu. W testach tych prowokuje się zachowania u zwierząt pod wpływem ultradźwięków np. zachowania przypominające opiekę nad młodymi pod wpływem wołania odizolowanych młodych osobników. Ułatwienie bliskości samic pod wpływem wokalizacji samców. Zwiększenie zachowań eksploracyjnych dorosłych samców pod wpływem wokalizacji samic (Ferhat i in. 2016).

Obecnie rosnące zainteresowanie emisją USV u gryzoni, prowadzi do poszukiwań nowych związków, które mogą wywołać specyficzne rodzaje wokalizacji. Związki te mogą wpływać na zdefiniowane stany emocjonalne oraz dostarczyć ważnych narzędzi do badań stanów emocjonalnych i ich patologicznych zaburzeń u ludzi.

7. Pamięć społeczna

Pamięć społeczną u gryzoni można badać w teście rozpoznawania socjalnego (ang. *social recognition*). Test ten ocenia funkcje poznawcze, a dokładnie zdolność do rozróżniania nowego osobnika od osobnika już wcześniej spotkanego. W trakcie wielokrotnych ekspozycji na drugiego osobnika, zwierzę badane przyzwyczaja się do intruza, co wyraża się jego coraz niższym zainteresowaniem tym gryzoniem (Jacobs i in. 2016).

Omawiany test składa się z dwóch etapów. Na początku dorosłemu osobnikowi przedstawiany jest młody osobnik, w trakcie dwóch prób oddzielonych odstępem czasowym (ang. *Two-Trial Social Memory Test*) (Rys.3a). Test przeprowadzany jest w klatce domowej myszy badanej i trwa 5 minut. W próbie pierwszej dorosły osobnik wykazuje naturalne, duże zainteresowanie nowym zwierzęciem, które słabnie w próbie drugiej. Test ten może podlegać różnym modyfikacjom np. dodawaniu nowego młodego osobnika w drugiej próbie, co jest pomocne do oceny rozróżniania społecznego (ang. *Social discrimination*) (Rys.3b). U zwierząt występuje naturalna preferencja do nowości, co powoduje, że dorosłe zwierzę będzie interesować się bardziej nowym osobnikiem dodanym w drugiej próbie, niż tym, który był zaprezentowany w próbie pierwszej. Takie zachowanie świadczy o prawidłowym rozpoznaniu młodych osobników (Nikiforuk 2016).



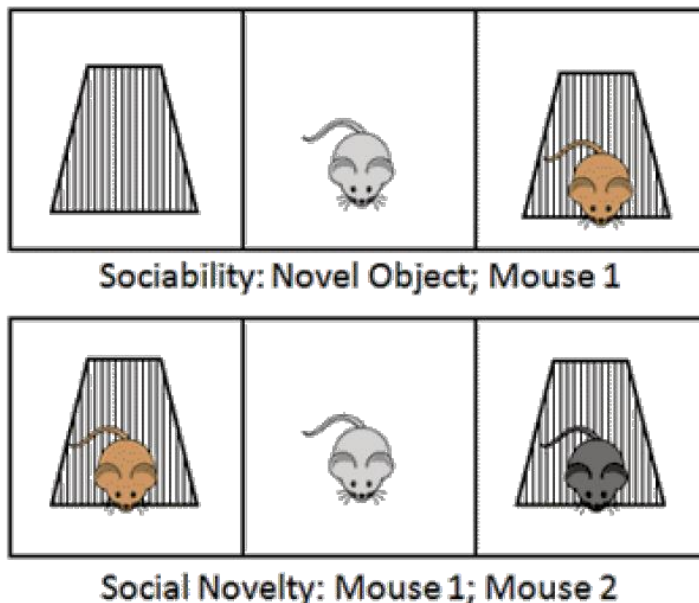
Rys.3. Test badający pamięć społeczną u myszy. **3a.** Rozpoznawanie społeczne: wprowadzenie nowego osobnika do klatki domowej myszy badanej. W czasie testu 1, duże zainteresowanie nowym osobnikiem, które spada przy kolejnej ekspozycji na to samo zwierzę (test 2). **3b.** Rozróżnianie społeczne: wprowadzenie nowego osobnika do klatki domowej myszy badanej (test 1). Dodanie kolejnego, nieznanego osobnika do klatki domowej (test 2) (Liu i in. 2017; Nikiforuk 2016).

8. Trzy-kompartментowy test towarzyskości i test nowości

Opracowano również test, który pozwala na ocenę towarzyskości i równocześnie preferencji do nowego osobnika (ang. *sociability and social novelty preference*). W tym przypadku aparat składa się z trzech pomieszczeń (ang. *three chamber test*), pomiędzy którymi znajdują się przejścia. W przedziale środkowym umieszcza się mysz badaną, w jednym z przedziałów drugiego osobnika (w osobnej, małej klatce), natomiast w wolnym przedziale umieszcza się tylko pustą klatkę (Rys.4).

Dokonuje się pomiaru czasu jaki spędza badana mysz w poszczególnym kompartmentach. Na podstawie różnic w czasie przebywania w przedziale zawierającym klatkę ze zwierzęciem w porównaniu do przedziału z pustą klatką, określana jest socjalność badanego zwierzęcia. W drugim etapie powyższego testu do pustej klatki wkłada się nowego osobnika. Parametrem mierzonym w tym rodzaju testu jest współczynnik dyskryminacji. Współczynnik dyskryminacji to wskaźnik pamięci społecznej, jest oparty o różnice w czasie przebywania w przedziale z nowym gryzoniem w stosunku do przedziału z osobnikiem prezentowanym wcześniej (Nikiforuk 2016).

Omawiany test służy do oceny procesów poznawczych, bada towarzyskość zwierząt i zainteresowanie nowością w modelach chorób ośrodkowego układu nerwowego. Test opiera się na naturalnej preferencji zwierzęcia do spędzania czasu z innym osobnikiem (towarzyskości) oraz wyższym zainteresowaniem nieznanym osobnikiem (zainteresowanie nowością) (Jacobs i in. 2016; Liu i in. 2017).



Rys.4. Trzy-kompartimentowy test towarzyskości i preferencji do nowego osobnika (<https://med.stanford.edu/sbfnl/services/bm/si/two-trial.html>).

Testy badające pamięć społeczną są przydatne w identyfikowaniu amnezji społecznej u myszy transgenicznych wykazujących objawy autystyczne lub inne deficyty interakcji społecznych, a także w identyfikowaniu nowych związków chemicznych, które mogą wpływać na pamięć społeczną.

9. Wnioski

W wielu chorobach psychicznych takich jak: schizofrenia, autyzm, depresja, choroba afektywna dwubiegunowa czy zaburzenia obsesyjno-kompulsywne dochodzi do zubożenia interakcji społecznych. Testy laboratoryjne przeprowadzane na gryzoniach, służące do oceny tych interakcji znalazły szerokie zastosowanie w badaniach zaburzeń neuropsychiatrycznych.

Testy te opierają się na założeniu, że myszy czy szczury są zwierzętami społecznymi. Wyrażone jest to poprzez liczne zachowania, które łatwo zaobserwować w warunkach laboratoryjnych np. silna tendencja do grupowania się, spanie w jednym rogu klatki. Gatunki tych zwierząt prezentują zachowania opisywane jako „przyjacielskie” (czołganie się pod lub nad sobą, skubanie, wachanie, odpoczywanie razem). Ponadto, myszy i szczury potrafią rozpoznawać przedstawicieli swojego gatunku i w zależności od płci czy wieku mogą prezentować różne zachowania społeczne. Prowadzi to do wniosku, że towarzyskość rozumiana jako skłonność do podejmowania „przyjacielskich” interakcji społecznych, jest zjawiskiem naturalnym dla badanych

gryzoni i zwiększa ich sprawność. Ograniczone interakcje społeczne są często opisywane w kategoriach nieprawidłowości, które są przydatne w modelowaniu zaburzeń neurobehawioralnych u ludzi.

Zachowania społeczne można badać w spopularyzowanym przez Sams-Dodda teście interakcji społecznych, w którym obserwuje się repertuar zachowań pary nieznanych sobie zwierząt. Testy interakcji społecznych znajdują szerokie zastosowanie w badaniu objawów takich jak asocjalność, wycofanie społeczne, agresja, jak również procesów kognitywnych (pamięć społeczna). Przedstawione w pracy testy umożliwiają poznanie i zrozumienie podstawowych mechanizmów zachowań społecznych u gryzoni laboratoryjnych. Testy te ulegają licznym modyfikacjom, które pozwalają na ocenę poszczególnych składowych interakcji społecznych, ale zazwyczaj należą do testów łatwych do przeprowadzenia, szybkich, jak również niewymagających skomplikowanej aparatury.

10. Literatura

- Berry RJ, Bronson FH (1992) Life history and bioeconomy of the house mouse. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 67 (4) : 519-550.
- Brudzyński S (2016) Tajemniczy kod wokalnego porozumiewania się szczurów. *Wszechświat*, t. 117, nr 4-6: 91-98.
- Fan Z, Zhu H, Zhou T i in. (2019) Using the tube test to measure social hierarchy in mice. *Nat Protoc* 14, 819–831.
- Ferhat AT, Torquet N, Le Sourd AM i in. (2016) Recording Mouse Ultrasonic Vocalizations to Evaluate Social Communication. *J Vis Exp*. Jun 5;(112):53871.
- Hofer MA, Shair HN, Brunelli SA (2002) Ultrasonic vocalizations in rat and mouse pups. *Curr Protoc Neurosci*. Feb;Chapter 8:Unit 8.14.
- Jacobs SA, Huang F, Tsien JZ I in. (2016) Social Recognition Memory Test in Rodents. *Bio-protocol* 6(9): e1804.
- Koolhaas JM, Coppens CM, de Boer SF i in. (2013) The resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress. *J Vis Exp*. 2013;(77):e4367. Published 2013 Jul 4. doi:10.3791/4367
- Liu Z, Chen Z, Shang C i in. (2017) IGF1-Dependent Synaptic Plasticity of Mitral Cells in Olfactory Memory during Social Learning. *Neuron*. Jul 5;95(1):106-122.
- Mikulecká A, Subrt M, Pařízková M i in. (2014) Consequences of early postnatal benzodiazepines exposure in rats. II. Social behavior. *Front Behav Neurosci*. May 8;8:169.
- Nikiforuk A (2016) Od laboratorium do kliniki: Ocena funkcji poznawczych w modelach zwierzęcych. *Wszechświat*, t. 117, nr 1–3: 32-38.
- Sams-Dodd F. (1999) Phencyclidine in the social interaction test: An animal model of shizophrenia with face and predictive validity. *Reviews in Neurosciences*.10:59–89.
- Siever LJ. (2008) Neurobiology of aggression and violence. *Am J Psychiatry*. 165(4):429-442.
- Spychalska K, Kucharska-Pietura K, Kielan K (2004) *Neurobiologia społecznego poznania w schizofrenii*. tom 1, nr 1, 9–16.
- Wilson CA, Koenig JI (2014) Social interaction and social withdrawal in rodents as readouts for investigating the negative symptoms of schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*, 24:759–73. <https://med.stanford.edu/sbfnl/services/bm/si/tube-dominance.html>
<https://med.stanford.edu/sbfnl/services/bm/si/two-trial.html>

2. *Helicobacter pylori* i świadomość na jej temat wśród młodych osób

Helicobacter pylori and awerness of it among young people

Marta Dąbrowska, Joanna Banasiewicz

Katedra Biochemii i Mikrobiologii, Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Opiekun naukowy: dr hab. Tomasz Stępkowski

Dąbrowska Marta: marta.dabrowska98@gmail.com

Słowa kluczowe: zapalenie żołądka, *Helicobacter*, nowotwory, układ pokarmowy

Streszczenie

Helicobacter pylori jest bakterią, która występuje w dwunastnicy i w końcowym odcinku (tzw. dno) żołądka u ponad połowy populacji ludzi na świecie. Jej obecność w większości przypadków zaczyna się objawiać dopiero, gdy odczuwalne są poważne dolegliwości bólowe. Może powodować wiele groźnych chorób, w tym chorobę wrzodową układu pokarmowego, nowotwory żołądka i chłoniaki typu MALT. Zakażenia znacznie częściej obserwuje się w krajach rozwijających się (nawet do 70% populacji) niż w krajach rozwiniętych (ok. 30% populacji). Najpowszechniejszym sposobem rozprzestrzeniania się jest droga pokarmowa, zwykle we wczesnym dzieciństwie, przed 10 rokiem życia. Przeprowadzone wśród młodzieży badania ankietowe wykazały znaczne niedostatki wiedzy na temat tego gatunku bakterii, które w przyszłości mogą przyczyniać się do zbyt późnego rozpoznania choroby, a w konsekwencji do rozwoju niebezpiecznych powikłań.

1. Wstęp

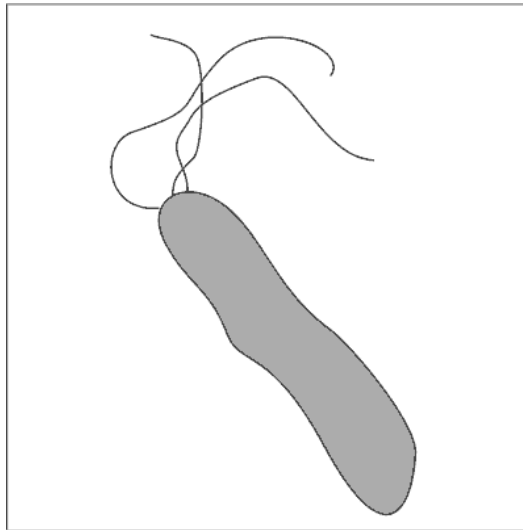
Helicobacter pylori jest Gram-ujemną, względnie beztlenową bakterią zaliczaną do pałeczek, która występuje u ludzi, powodując szereg groźnych dla zdrowia dolegliwości. Osiąga zwykle do 5 μm długości i od 0,5 do 1 μm szerokości. Występujący na jej powierzchni glikokaliks warunkuje jej hydrofobowość. W kwaśnym środowisku żołądka warstwa ta częściowo ulega zniszczeniu, co wspomaga adhezję bakterii do komórek nabłonkowych, a to z kolei ułatwia pobieranie substancji odżywczych oraz ogranicza przemieszczanie. Obecność 4-6 biegunowo ułożonych rzęsek umożliwia poruszanie się w środowisku bytowania. Najbardziej rozpowszechnioną formą morfologiczną jest spiralna (pałeczkowata). Jej kształt jest także często opisywany jako helikalny, stąd również jej nazwa rodzajowa – *Helicobacter* (Rys. 1). W razie niesprzyjających warunków może wytwarzać formy przetrwalnikowe (kokoidalne), jednak w organizmie człowieka praktycznie nie bytuje w takiej postaci. Do wzrostu w warunkach laboratoryjnych potrzebuje zwiększonego stężenia dwutlenku węgla, zmniejszonego stężenia tlenu, oraz temperatury w granicach 36°C - 42°C (Gieralowiec 2016). Szacuje się, że zasiedla błonę śluzową żołądka i dwunastnicy u około 50 do (według szacunków WHO) nawet 70% populacji (Jagusztyn-Krynicka i in. 2005). Było to możliwe dzięki przystosowaniu się (np. dzięki wytwarzaniu ureazy, rozkładającej mocznik do amoniaku, który następnie może zredukować kwas solny) do kwaśnych warunków panujących w tych miejscach.

2. Przegląd literatury

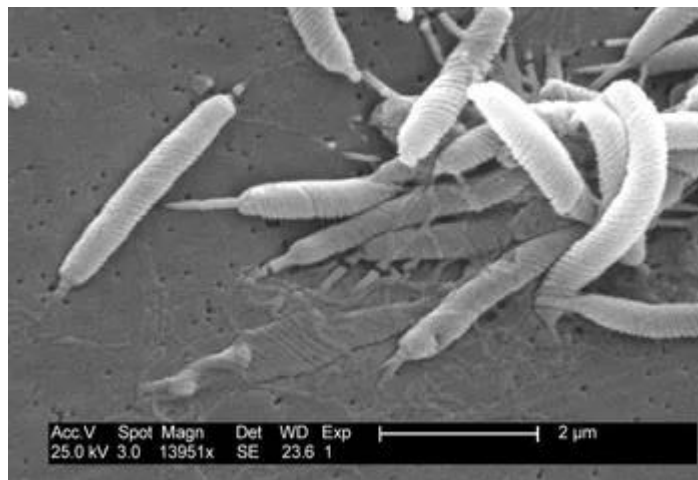
2.1 Rys historyczny

Pierwsze wzmianki o chorobotwórczej, spiralnej bakterii zamieszkującej żołądek ssaków pojawiły się około roku 1875. Georg Bottcher wraz z Michel'em Letulle powiązali jej obecność z występowaniem choroby wrzodowej. W 1983 roku dwóch australijskich badaczy Barry Marshall i Robin Warren ponownie zajęło się tym tematem. Im pierwszym udało się wyhodować kolonie *Helicobacter pylori* w warunkach *in vitro*. Ich doświadczenia, oraz wnikliwe badania (m.in. wypicie przez Marshall'a zawiesiny zawierającej *H. pylori*, co spowodowało u niego zapalenie żołądka) opisujące związek między powyższą bakterią i zapaleniem żołądka oraz dwunastnicy, a w następstwie chorobą wrzodową, zostały w 2005 roku nagrodzone Nagrodą Nobla w dziedzinie medycyny

i fizjologii (Marshall i Warren 1984). Ich odkrycie wpłynęło na postrzeganie i leczenie zapalenia żołądka, m.in. do terapii zakażeń *H. pylori* została włączona antybiotykoterapia. Obecnie szacuje się, że *Helicobacter* może być przyczyną nawet od 80 do 90% chorób wrzodowych układu pokarmowego, a u od 5% do 10% przypadków może powodować nowotwory żołądka i dwunastnicy.



Rys. 1. Schematyczna budowa komórki *Helicobacter pylori*.



Rys. 2 *Helicobacter pylori*, obraz spod mikroskopu elektronowego ([https://www.microscopemaster.com/helicobacter-pylori.html#gallery\[pagegallery\]/0/](https://www.microscopemaster.com/helicobacter-pylori.html#gallery[pagegallery]/0/))

2.2 Epidemiologia i drogi zakażenia

Odsetek ludzi zakażonych *H. pylori* jest znacznie wyższy w krajach rozwijających się niż w krajach rozwiniętych (od ok. 30 do ponad 70%, WHO). Czynniki mającymi główny wpływ na taki stan rzeczy są przede wszystkim wiek, położenie geograficzne, predyspozycje genetyczne oraz dostępność i poziom higieny w danym regionie. W latach 2002-2003 prowadzono w Polsce badania wśród różnych grup wiekowych dotyczące związku między statusem społecznym a zakażeniami *H. pylori*. Wyniki wykazały, że w niższych klasach społecznych, z ograniczonym dostępem do zaplecza sanitarno-higienicznego, zakażeń jest więcej. Obecność *Helicobacter* wykryto u 32% dzieci (do 18 roku życia) i 84% osób dorosłych, ogółem u 58% badanych (Łaszewicz i in. 2014).

Dokładne drogi zakażenia nie są do końca poznane. Uważa się, że jednak głównym źródłem zakażeń jest spożywanie wody i pożywienia skażonego *H. pylori*. Niemowlaki do 6 miesiąca życia mogą wraz z pokarmem matki otrzymać przeciwciała. Szacuje się jednak, że do większości infekcji dochodzi w późniejszym dzieciństwie, do 10-11 roku życia.

Istnieje kilka możliwych dróg zakażeń *H. pylori* (Gielarowiec 2016):

1) Droga oralno-oralna - może mieć miejsce ze względu na obecność tej bakterii we florze bakteryjnej jamy ustnej. Przekazywanie sobie pożywienia rękami, jedzenie wspólnymi sztućcami lub pałeczkami zwiększa to ryzyko.

2) Droga gastryczno-oralna - ma miejsce zazwyczaj u dzieci. Nie mają one do końca wyrobionego „odruchu” higieny, a częściej niż osoby dorosłe dotykają błon śluzowych, np. ust czy nosa. Bardzo często występują u nich również wymioty i refluks, co już bezpośrednio naraża na kontakt z bakteriami. Co ciekawe, *Helicobacter* została również wykryta w powietrzu wydychanym podczas wymiotowania przez pacjentów. Ta droga zakażeń może tłumaczyć częste zapalenia żołądka wśród osób poddawanych badaniu endoskopowemu w niewielkim odstępie czasu.

3) Droga fekalno - oralna - jest mniej prawdopodobna, ponieważ *H. pylori* ginie podczas kontaktu z żółcią. W związku z tym jej przeżycie w jelitach jest praktycznie niemożliwe.

2.3 Diagnostyka i leczenie

Diagnostyka w kierunku *H. pylori* obejmuje metody inwazyjne i nieinwazyjne. Ich wybór zależy od głównie od wieku, objawów i stanu klinicznego pacjenta (Bartnik i in. 2014; Gieralowiec 2016)

Metody nieinwazyjne:

test ELISA na przeciwciała

Testem tym wykrywane są przeciwciała klasy IgG oraz IgA w surowicy badanej osoby. Są one nastawione przeciwko specyficznemu antygenowi *Helicobacter pylori* - CagA. Test ten jest dość czuły, tani i szybki. Wykorzystywany jest głównie w badaniach przesiewowych. Jego wadą jest jednak to, że nie wykryje on zmian chorobowych w żołądku oraz to, że po zakażeniu przeciwciała mogą utrzymywać się w surowicy od 6 do nawet 12 miesięcy. Uproszczone testy na przeciwciała można coraz częściej kupić w aptekach lub drogeriach.

test oddechowy ze znakowanym węglem ¹³C lub ¹⁴C

Jego czułość wynosi nawet do 95%. Test ten opiera się na reakcji rozkładu mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla przez bakteryjną ureazę. U pacjenta mierzy się stężenie CO₂ w wydychanym powietrzu. Zaletą testu jest możliwość kontrolowania postępów leczenia na bieżąco.

Metody inwazyjne:

test ureazowy

Polega na pobraniu małego wycinka śluzówki żołądka i umieszczeniu go na podłożu zawierającym mocznik. Zmiana zabarwienia z żółtego na czerwony świadczy o pozytywnym wyniku testu i tym samym o obecności *Helicobacter pylori* u pacjenta. Badanie to może jednak dawać wynik fałszywie ujemny np. przy występowaniu krwawienia w układzie pokarmowym do 14 dni przed pobraniem wycinka.

badanie histopatologiczne

Polega na odpowiednim zabarwieniu wycinka pobranego w trakcie gastroskopii. Do barwienia używa się eozyliny i hematoksyliny, czasem również Giemsy lub barwienia immunohistochemicznego. Przygotowany preparat jest następnie oglądany przez lekarza pod względem obecności i liczby bakterii, stanu śluzówki żołądka, zapalenia i ewentualnej dalszej diagnostyki.

Leczenie opiera się głównie na antybiotykoterapii. U osób uczulonych na penicylinę zamiennie stosuje się metronizadol. Leki pierwszego rzutu obejmują też inhibitory pompy protonowej. Leczenie trwa zazwyczaj od 7 do 14 dni. Jej skuteczność oscyluje w granicach 93% (Kenneth E.L. i in. 2010).

3. Świadomość społeczna - wyniki badania

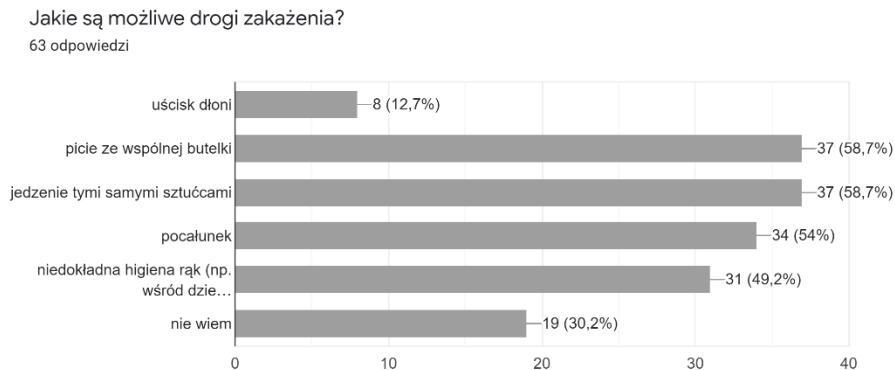
W ramach niniejszej pracy przeprowadzone zostało badanie ankietowe na temat świadomości młodych osób co do *Helicobacter pylori* (Google Formularze, aplikacja internetowa). W badaniu wzięły udział 62 osoby między 17 a 34 rokiem życia. 61,3% osób badanych nadal jest w trakcie studiów, 35,5% uzyskało już wykształcenie wyższe. Większość osób kształci się lub ukończyło naukę na kierunkach technicznych. Część osób kształci się na kierunkach humanistycznych lub muzycznych. Nieznaczna część (4 osoby) studiuje na kierunku lekarskim lub pokrewnym.

W przeprowadzonej ankiecie postawiono pytania o ogólną wiedzę na temat *H. pylori*, możliwe drogi zakażenia, diagnostykę w kierunku obecności *H. pylori* u badanych osób bądź ludzi z ich bliskiego otoczenia oraz najczęstsze objawy świadczące o infekcji tym gatunkiem bakterii.

Nieco poniżej 50% badanych prawidłowo wskazało odpowiedź na pytanie czym jest *Helicobacter*. 31,1% wybrało odpowiedź „nie wiem”, a 21,3% osób wskazało błędną odpowiedź. W zestawieniu z informacją o obecności tej bakterii w przewodzie pokarmowym u ponad połowy populacji, wyniki te mogą być dość zaskakujące.

Większość osób biorących udział w badaniu poprawnie wskazała natomiast możliwe drogi zakażenia *H. pylori* (Rys. 3). Wskazuje to na dość dobrą wiedzę młodych ludzi na ten temat, mimo nieznanomości dokładnie opisywanego gatunku bakterii.

Wykres przedstawia stosunek odpowiedzi udzielonych na pytanie dotyczące możliwych dróg zakażenia *H. pylori*. Pytanie wielokrotnego wyboru.



Rys. 3. Wyniki internetowej ankiety przeprowadzonej w dniach 21-22.12.2020.

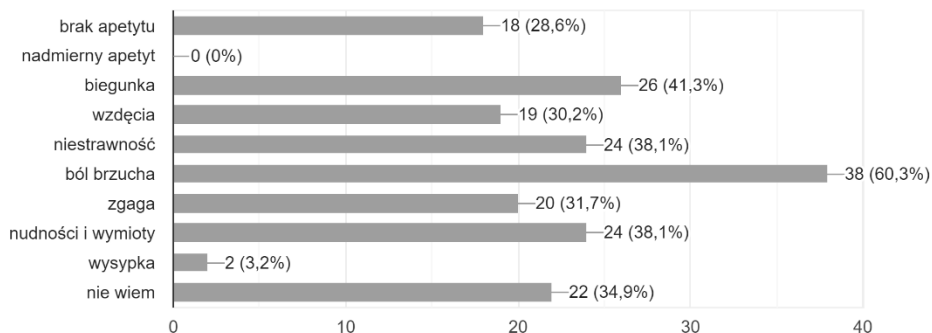
Jeżeli chodzi o diagnostykę zakażenia tą bakterią, 38 osób wskazało, iż nigdy nie byli poddawani jakimkolwiek testom w kierunku obecności w ich organizmach *Helicobacter*. 7 osób osobiście lub osoby z ich najbliższego otoczenia miały wykonywaną jakąkolwiek diagnostykę z końcowym wynikiem negatywnym. 9 osób osobiście lub ktoś z ich najbliższego otoczenia miało wykonywaną jakąkolwiek diagnostykę laboratoryjną z wynikiem pozytywnym. Wyniki ankiety pokrywają się z tezą o obecności *H. pylori* u ponad 50% populacji ludzi na świecie.

Na pytanie o najczęstsze objawy świadczące o możliwym zakażeniu *H. pylori* większość ankietowanych odpowiedziało poprawnie (Rys. 4). Nikt nie wskazał nadmiernego apetytu, a 2 osoby wskazały na wysypkę, która jest dość rzadkim symptomem infekcji tą bakterią. 22 osoby (35%), w tym te, które we wcześniejszym pytaniu zadeklarowały u siebie pozytywny wynik diagnostyki, nie wiedziały jakie są objawy zakażenia *H. pylori*. Może to świadczyć o niewystarczającej wiedzy na ten temat lub o braku dostępu do niej. W przyszłości może to skutkować zbyt późną diagnozą lub nietrafnym rozpoznaniem objawów i tym samym rozwojem niebezpiecznych powikłań.

Wykres przedstawia stosunek odpowiedzi udzielonych na pytanie dotyczące najczęstszych objawów świadczących o możliwym zakażeniu *H. pylori*. Pytanie wielokrotnego wyboru.

Jakie objawy najczęściej świadczą o możliwym zakażeniu?

63 odpowiedzi



Rys. 4. Wyniki internetowej ankiety przeprowadzonej w dniach 21-22.12.2020.

4. Podsumowanie i wnioski

Helicobacter pylori jest prawdopodobnie najbardziej rozpowszechnionym patogenem występującym w żołądkach ludzi na wszystkich kontynentach. Szybkie rozpoznanie objawów i prawidłowa diagnostyka to podstawa zapobiegania dalszym bolesnym i groźnym w skutkach powikłaniom, będącym konsekwencją nieleczonych infekcji. Świadomość na temat m.in. możliwych dróg wnikania i objawów zakażenia *H. pylori* wśród osób młodych pokrywa się z ogólnymi informacjami dostępnymi głównie w internecie. Dalsze, rzetelne kształcenie młodzieży w tym zakresie wydaje się być naprawdę potrzebne. Nie powinno ono również stanowić większego problemu, zwłaszcza, że w dzisiejszych czasach dostęp do informacji i różnych metod kształcenia jest znacznie łatwiejszy niż jeszcze 20 lat temu.

5. Literatura

- Iwańczak B, Iwańczak F. (2002) Zakażenie *Helicobacter pylori* u dzieci. *Nowa Pediatria* 3/2002: s. 137-141.
- Bartnik W, Celińska-Cedro D, Dzieniszewski J i in. (2014) Wytyczne Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii dotyczące diagnostyki i leczenia zakażenia *Helicobacter pylori*. *Gastroenterologia Praktyczna* 2: 33-41.
- Cheng-Yen K, Bor-Shyang S, Jiunn-Jong W. (2016) *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomed J* 39: 14-23.
- Megraud F, Lehours P, Vale FF (2016) The history of *Helicobacter pylori*: from phylogeography to paleomicrobiology. *HostePathogen Interactions Unit* 22(11): 922-927.
- Krawczyk KA, Górska EB, Jankiewicz U i in. (2013) *Helicobacter pylori* jako jeden z czynników wywołujących chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy. *Medycyna Rodzinna* 1/2013: s. 27-31.
- Gielarowiec K (2016) *Helicobacter pylori* – charakterystyka drobnoustroju, patogenеза i mikrobiologiczna diagnostyka zakażeń. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 68: 213 – 223.
- Kenneth EL, McColl MD (2010) *Helicobacter pylori* Infection. *J Med* 362: 1597-604.
- Jagusztyn-Krynicka E, Godlewska R, Łaniewski P. (2005) *Helicobacter pylori* - patogen roku 2005. *KOSMOS* 54: 307-19.

- Łaszewicz W, Iwańczak F, Iwańczak B. (2014) Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in Polish children and adults depending on socioeconomic status and living conditions. *Adv Med Sci* 59: 147-50.
- Marshall BJ, Warren JR. (1984) Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 323: 1311-5.
- Percival Andersen L, Lone R. (2009) *Helicobacter pylori* - coccoid forms and biofilm formation. *FEMS Immunol Med Microbiol* 56: 112-5.
- Rudnicka K, Graczykowski M, Tenderenda M i in. (2014) Formy morfologiczne *Helicobacter pylori* i ich przypuszczalna rola w transmisji zakażeń. *Postepy Hig Med. Dosw* 68: 227-37.
- Yamamoto Y, Friedman H, Hoffman PS (2002) *Helicobacter pylori* infection and immunity. *Springer Science + Business Media* 1-15.

3. Najczęstsze choroby przenoszone drogą płciową

The most common sexually transmitted infections

Marta Dąbrowska, Joanna Banasiewicz

Katedra Biochemii i Mikrobiologii, Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Opiekun naukowy: dr hab. Tomasz Stępkowski

Dąbrowska Marta: marta.dabrowska98@gmail.com

Słowa kluczowe: choroby weneryczne, wenerologia, układ płciowy

Streszczenie

Choroby weneryczne to nic innego jak choroby przenoszone głównie drogą kontaktu płciowego. Zne są już od setek lat. Umiarli na nie zarówno zwykli ludzie jak i potężni władcy znani z ksiązek historycznych. Dzieli się na bakteryjne, wirusowe, grzybicze i pasożytnicze. Ten temat jest w wielu środowiskach wciąż uznawany za tabu (również w Polsce). Brak edukacji seksualnej oraz ograniczony dostęp do antykoncepcji znacząco zwiększają odsetek chorych osób. Poczucie wstydu i stygmatyzacja chorych osób stanowczo utrudniają podjęcie decyzji o zgłoszeniu swoich objawów lekarzowi. Zbyt późno podjęta diagnostyka i leczenie choroby wenerycznej prowadzą do bardzo groźnych powikłań, a nawet i śmierci. Wczesne wykrywanie zapobiega dalszemu rozwojowi choroby i daje szansę na pełny powrót do zdrowia. Niniejsza praca stanowi przegląd wybranych chorób przenoszonych drogą płciową, uwzględniając wywołujące je czynniki etiologiczne, drogi zakażenia, objawy oraz ich leczenie.

1. Wstęp

Choroby przenoszone drogą płciową dzieli się na bakteryjne, wirusowe, grzybicze i pasożytnicze. Szacuje się, że towarzyszyły ludzkości już od starożytności. Kultura Babilonu nakazywała współżycie młodych dziewcząt z różnymi mężczyznami, aby zyskać ślubne błogosławieństwo bogini Isztar. Takie zachowania oczywiście sprzyjały rozprzestrzenianiu się chorób w całej tamtejszej społeczności. Mimo postępu medycyny, choroby przenoszone drogą płciową nie zostały całkowicie wyeliminowane. Badania pokazują, że w ostatnich latach zbierają one coraz większe żniwo. Wzrost zakażeń, np. w Europie i krajach rozwiniętych (np. USA, Australia), można przypisać zjawisku globalizacji i łatwiejszym zawieraniem znajomości między obcymi ludźmi, a tym samym łatwiejszym znalezieniem wielu partnerów seksualnych. Oczywiście nie każdy taki kontakt musi kończyć się zakażeniem i dalszą chorobą, jednak warto pamiętać o odpowiedniej antykoncepcji.

2. Choroby wywołwane przez bakterie

2.1 Kiła

Kiła, znana pod inną nazwą jako syfilis, jest chorobą wywołwaną przez krętka bladego (łac. *Treponema pallidum*). Jest on opisywany jako Gram-ujemna, względnie beztlenowa, spiralna bakteria. W ciele człowieka rozmnaża się błyskawicznie, bardzo szybko pokonując barierę osocza i węzłów chłonnych. Zakażenie odbywa się głównie przez kontakt z narządami płciowymi nosiciela lub między matką a płodem w czasie ciąży przez łożysko. Dzieci zarażone w taki sposób po urodzeniu chorują na tzw. kiłę wrodzoną. Ta dzieli się na wczesną (gdy objawy pojawiają się do 2 roku życia), oraz późną (objawy pojawiają się po 2 roku życia). Na ciele chorego dziecka zauważalna jest ciemna, plamisto-grudkowa, często łuszcząca się wysypka, powiększone węzły chłonne. Dość często odnotowuje się również żółtaczkę. W badaniu morfologicznym krwi można zaobserwować anemię hematolityczną, małopłytkowość oraz zaburzenia krzepliwości. Widocznym na pierwszy rzut oka objawem jest deformacja kości. U dzieci z kiłą wczesną uwydatnione zostaje czoło, a część przymostkowa obojczyka pogrubiona (Lipska i Konarska 1999).

Pierwsza epidemia syfilisu odnotowana została podczas wojny o Neapol pod koniec XV wieku. Według podań, w tym samym czasie kiła przybyła na teren Polski wraz z kobietą powracającą z Rzymu. Choroba ta miała być przyczyną zgonu chociażby króla Jana Olbrachta i Aleksandra Jagiellończyka. Jej leczenie opierało się na wcieraniu w powstałe rany i owrzodzenia maści bazującej na rtęci (Rys. 1), a następnie umieszczaniu chorego na kilka chwil w piecu.



Rys. 1. Dawne sposoby leczenia z dzisiejszej perspektywy wydają się być nieco szokujące. W pierwszej kolejności stosowano zwykle maść rtęciową oraz ciepło (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b1/400Behandlung_der_Syphilis.jpg).

Obecnie leczenie, jak to przy chorobach bakteryjnych, opiera się na podawaniu pacjentowi antybiotyków (m.in. penicyliny) domięśniowo przez około 2 tygodnie. Ważne jest, aby jak najszybciej rozpocząć terapię. Spowolni to rozwój choroby w jej dalsze, poważniejsze stadia, które wymagają hospitalizacji.

Według danych Głównego Urzędu Statystycznego w Polsce rośnie liczba zachorowań na kiłę. W roku 2009 zapadalność wśród kobiet (15 –60 lat) wynosiła 12,1 na 100 tys. osób, a wśród mężczyzn (15 – 60 lat) 36 na 100 tys. osób. 2018 roku współczynniki te wzrosły kolejno u kobiet do 13, a u mężczyzn do 56,8 przypadków na 100 tys. osób.

2.2 Rzeżączka

Spowodowana jest Gram-ujemną bakterią, tzw. dwoinką rzeżączki (łac. *Neisseria gonorrhoeae*) zwaną także gonokokiem. Jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych na świecie chorób przenoszonych drogą płciową. Statystycznie częściej występuje u mężczyzn, ale może być to również spowodowane tym, iż u osób tej płci częściej występują objawy choroby, więc i częściej jest ona diagnozowana.

Zakażenie może odbyć się także w trakcie porodu, dlatego diagnostyka w kierunku nosicielstwa rzeżączki jest standardowym badaniem w trakcie ciąży. Cesarskie cięcie znacznie ogranicza ryzyko transmisji z matki na dziecko. Objawy choroby różnią się od płci pacjenta. U kobiet ma ona początkowo łagodniejszy przebieg. Pojawiają się upławy, obfite miesiączki i zaburzenia cyklu. Późniejszy etap obejmuje powstawanie ropnych nacieków w gardle, a w gorszych przypadkach przewlekłe stany zapalne jajowodów i bezpłodność. U mężczyzn natomiast pierwsze objawy to ropny wyciek z cewki moczowej, ból przy oddawaniu moczu, czasem połączony z krwimoczem.

Leczenie opiera się na podawaniu penicyliny domięśniowo. Najnowsze badania jednak donoszą o coraz bardziej postępującym uodparnianiu się dwoinki na stosowane antybiotyki. Ważne jest, aby chorobę wykryć we wczesnej fazie, wtedy leczenie będzie skuteczne (Serwin i in. 2014b)

Przypadki zakażeń w Polsce (Według danych GUS z 2018 roku) są jednak znacznie rzadsze (1 przypadek na 100 tys. mieszkańców) w porównaniu z resztą Europy Zachodniej (20 przypadków

na 100 tys. mieszkańców). Statystyki te jednak mogą nie być dokładne ze względu na to, iż w Polsce choroby weneryczne nadal są tematem tabu, przez co duża część osób je ukrywa.

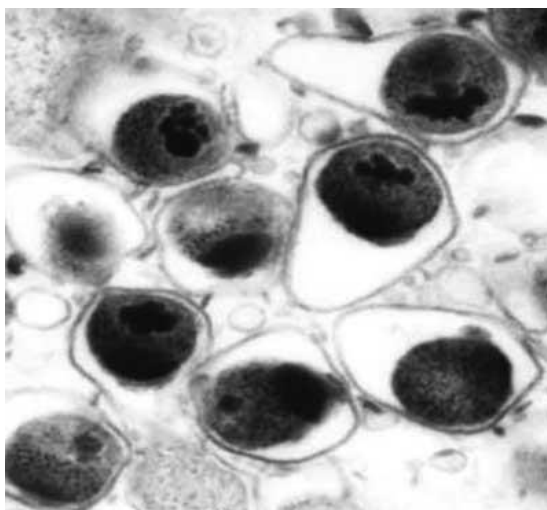
2.3 Chlamydia

To potoczna nazwa na chorobę wywoływaną przez Gram-ujemne bakterie z rodzaju *Chlamydia* (Rys. 2). Chorobę weneryczną wywołuje głównie *Chlamydia trachomatis*, a samych jej serotypów jest 15. Mogą one wywoływać nie tylko choroby przenoszone typowo drogą płciową. Wśród innych schorzeń warto wymienić choroby oczu (jaglica, zapalenie spojówek), zapalenie szyjki macicy, zapalenie cewki moczowej, a także zapalenie płuc u noworodków. Pierwsze wzmianki o symptomach przypominających jaglicę pochodzą już z 1500 r. p.n.e. Światowa organizacja Zdrowia (WHO) podaje, że corocznie na choroby o etiologii chlamydialnej zapada nawet około 90 mln osób (Osiński 2010).

Najważniejsze drogi zakażenia to oczywiście kontakt płciowy z zakażonym partnerem. Po wnikięciu do organizmu przez uszkodzoną śluzówkę lub skórę, bakterie namnażają się w komórkach gospodarza, a następnie rozprzestrzeniają się po całym organizmie poprzez układ krwionośny. Jest to najczęstsza przyczyna zapalenia narządów rodnych u kobiet. Szacuje się, że może być powodem nawet 50% nadżerek kobiecych narządów rodnych, a także poronień i problemów z zajściem w ciążę (Żak-Prelich i in. 2000).

Zakażenie najczęściej pozostaje bezobjawowe. Niepokój jednak mogą wzbudzić takie symptomy jak pieczenie w okolicach intymnych, częstomocz. Nieleczona może wywołać zapalenie najądrzy, gruczołu krokowego, zapalenia szyjki macicy i przydatków, a to w dalszej perspektywie może spowodować niepłodność.

Zakażenie można skutecznie wyleczyć antybiotykami, zwykle podawanymi doustnie, np. azytromycyną, doksycyliną, erytromycyną lub ofloksacyną.



Rys. 2. Zdjęcie *Chlamydophila pneumoniae* spod mikroskopu elektronowego. Bakteria ta wywołuje choroby układu oddechowego (Górska i in. 2013).

3. Choroby wywoływane przez wirusy

3.1 AIDS (Zespół nabytego upośledzenia odporności)

To choroba wywoływana przez ludzkiego wirusa niedoboru odporności HIV (ang. *Human Immunodeficiency Virus*). Jest to retrovirus należący do podrodziny

Orthoretrovirinae, do rodzaju *Lentivirus*. Atakuje komórki posiadające receptor CD4, głównie limfocyty T helper. Ze względu na budowę różniamy dwa typy wirusa: HIV-1 i HIV-2. Następnie możemy podzielić je na podtypy: HIV-1 – podtypy M (ten z kolei dzieli się na podtypy

oznaczone literami A-D, F-H, J oraz K), N, O i P. W Europie, Ameryce Północnej i Południowej oraz Australii dominuje podtyp B, natomiast w Indiach i Afryce podtyp C.

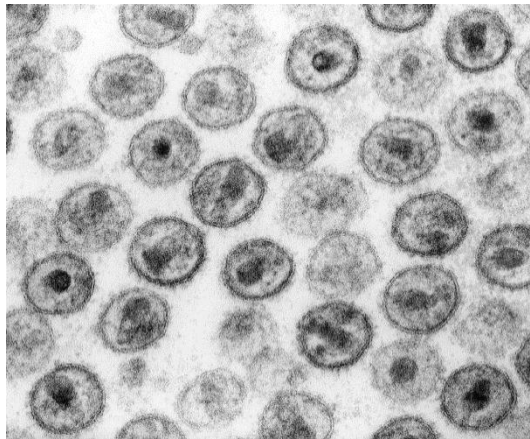
HIV-2 ma ich znacznie mniej, ponieważ są oznaczone literami od A do H.

Według szacunków WHO z 2015 roku na świecie żyje około 36,7 miliona osób zakażonych wirusem HIV.

Wirion ma kształt kulisty i średnicę około 100-150 nm. Osłonka lipidowa i kapsyd otaczają materiał genetyczny w postaci RNA (Rys. 3). Cechą charakterystyczną dla tego typu wirusów jest bardzo duża ilość i tempo mutacji tego wirusa, dzięki obecności odwrotnej transferazy (Górska i in. 2000).

Za materiał zakaźny uważa się krew, preejakulat, spermę, śluzową wydzielinę z pochwy, mleko oraz tkanki nieutrwalone formaliną. Inne wydzieliny (ślina, mocz, płwociny, wymioty), które nie miały bezpośredniego kontaktu i nie są zanieczyszczone krwią, nie stanowią zagrożenia (Chawla i in. 2014).

Pierwsze objawy mogą pojawić się po kilku dniach i trwać nawet do kilku tygodni po zakażeniu. Jest to tzw. ostra choroba retrowirusowa. Objawia się charakterystyczną plamkową wysypką przypominającą różyczkę, powiększonymi węzłami chłonnymi, przewlekłym osłabieniem i nawracającymi stanami gorączkowymi. Później wirus przechodzi w stan, gdy nie daje żadnych objawów. Typ HIV-2 ma znacznie dłuższy czas utajenia od zakażenia do rozwoju AIDS (ok. 20-35 lat) niż typ HIV-1, u którego ten okres wynosi około 10 lat. Upośledzenie odporności może prowadzić do rozwoju takich chorób jak przewlekłe zapalenie płuc, gruźlica, kandydoza, owrzodzenia skóry, toksoplazmoza i liczne nowotwory. Nie istnieje niestety skuteczna szczepionka przeciw wirusowi HIV ani terapia prowadząca do całkowitego wyleczenia chorego, który nieleczony umiera zwykle w przeciągu dwóch lat. Bardzo ważna jest profilaktyka, taka jak stosowanie jednorazowych sprzętów medycznych (np. igieł), zaufani partnerzy seksualni a także stosowanie prezerwatywy.



Rys. 3. Wirus HIV-1, widok spod mikroskopu elektronowego.

(<https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=948>).

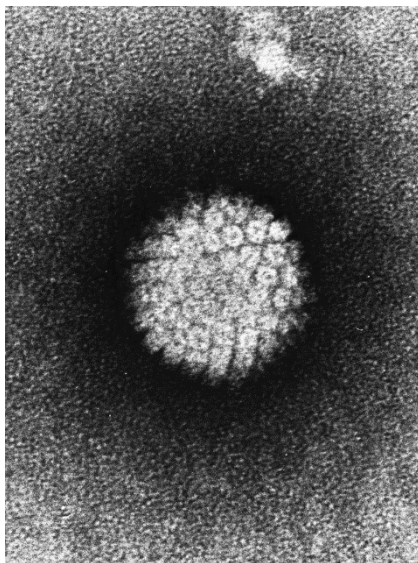
3.2 HPV (wirus brodawczaka ludzkiego)

Należy on do rodziny Papillomawirusów. Różnicuje się ponad 120 jego typów, z czego tylko część może powodować rozwój nowotworów. Według różnych przypuszczeń szacuje się, że nosicielem różnego typu HPV jest ponad 50% światowej populacji, jednak u części z tych osób może się on nigdy nie objawić. Zakażenie i transmisja wirusa opiera się głównie na kontakcie z objętym zmianami dermatologicznymi naskórkiem, oraz u osób aktywnych seksualnie przez kontakt płciowy. Niektóre odmiany mogą również przenieść się z matki na dziecko podczas porodu. Materiałem genetycznym tego wirusa o kolistym kształcie jest DNA, na które składa się około 8000 par zasad (Rys. 4).

Ze względu na onkogenność wirusa możemy wyróżnić grupę niskiego i wysokiego ryzyka. Grupa pierwsza obejmuje głównie HPV typu 1 i 2, które wywołują niegroźne zmiany na skórze, takie

jak brodawki i kurzajki. Typy oznaczone numerami 6, 11, 42, 43, 44 są przenoszone drogą płciową i mogą wywoływać tzw. kłykciny kończyste. Są one raczej niegroźne, jednak ze względu na leczenie objawowe i miejscowe w 90% mogą one nawracać.

Typy 16 i 18 są bardziej niebezpieczne. Są one przyczyną około 2/3 przypadków nowotworów szyjki macicy. W 2006 roku na rynek została wprowadzona szczepionka przeciw tym odmianom wirusa brodawczaka ludzkiego. W 2015 roku została ona zmodernizowana, dzięki czemu chroni przed większą ilością odmian HPV. Niestety w Polsce jest ona refundowana tylko do 12 roku życia (Stanley i in. 2006).



Rys. 4. Obraz wirusa HPV spod mikroskopu elektronowego.

(https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=File:Human_papilloma_virus.jpg).

4. Inne choroby

4.1 Rzęsistkowica

To choroba pasożytnicza układu moczowo-płciowego wywoływana przez pierwotniaki z rodzaju *Trichomonas*. Są to jednokomórkowe organizmy zwykle bytujące drogach moczowo-płciowych u człowieka, ale także u innych ssaków. Rzęsistkowicę powoduje natomiast rzęsistek pochwy (łac. *Trichomonas vaginalis*). Częściej można spotkać go u kobiet (ok. 70% przypadków), ale występuje także u mężczyzn (10-20%). Przenoszony jest w trakcie kontaktu seksualnego, ale również przez użycie tego samego ręcznika co osoba zakażona, kąpiel w tej samej wodzie lub rzadziej przez korzystanie z publicznych toalet bez zachowania zasad higieny.

Objawami u kobiet są żółtozielonkawe upływy, świąd i pieczenie okolic krocza i cewki moczowej, częste oddawanie moczu i parcie na pęcherz. U mężczyzn to podwyższona temperatura ciała, ból i obrzęk prącia, ropna wydzielina z cewki moczowej. Ponieważ *Trichomonas vaginalis* żywi się nabłonkiem, prowadzi to do przerwania jego integralności, a tym samym ułatwione zostaje wnikanie takich wirusów jak HIV oraz HPV (Serwin i in. 2013). Leczenie opiera się na zastosowaniu antybiotykoterapii, zwykle w postaci metronidazolu.

5. Podsumowanie i wnioski

Wiele chorób układu płciowego, mimo rozwoju medycyny, nadal jest poważnym problemem w wielu krajach. Stygmatyzacja osób borykających się z tymi dolegliwościami skutkuje późnym wykryciem i zwiększającą się liczbą zakażeń. Aby ograniczyć rozprzestrzenianie się bakterii, wirusów i innych mikroorganizmów odpowiedzialnych za choroby weneryczne, powinno się

wprowadzać w szkołach prawdziwą edukację seksualną, aby od dziecka uczyć młodych ludzi, jak rozmawiać na ten temat bez uprzedzeń. Dostęp do antykoncepcji mechanicznej również wśród niższych klas społecznych zapobiegnie wielu zakażeniom i szybkiemu rozprzestrzenianiu się chorób w tych środowiskach.

6. Literatura

- Chawla S, Sahoo SS, Jain R i in. (2014) HIV: is a vaccine the answer? *Hum Vaccin Immunother* 10(1): 238-240.
- Chechowski J. (2002) Wczesna postać kiły wrodzonej – omówienie na przykładzie przypadku. „Postępy Neonatologii,”. Suplement II: , s. 231–234.
- Diagnostyka i leczenie rzeżączki: komentarz grupy ekspertów Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. *Przeg. Dermatol* 2014, 101,179-180.
- Fredlund H, Falk L, Jurstrand M i in. (2008) Molecular genetic methods for diagnosis and characterisation of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae: impact on epidemiological surveillance and interventions. *APMIS* 112: 771–84.
- Górska EB, Edyta Galoch E, Jankiewicz U i in. (2013), Chlamydia pneumoniae jako przyczyna chorób układu oddechowego, *Medycyna Rodzinna*, s.3: 99-105.
- Górska R, Radzikowski T, Zaremba M (2000) Zakażenie HIV i zespół nabytego upośledzenia odporności. *Nowa Stomatologia* 3: 45-50.
- Lipska E, Konarska Z (1999). Kiła wrodzona. „*Nowa Pediaatria*” 5, s.: 45–49.
- Majewski S, Pniewski T, Goyal-Stec M (2006). Rola wirusów brodawczaka w rozwoju zmian łagodnych i złośliwych okolicy narządów płciowych. *Zakażenia* 2: 73-78.
- Osiński M (2010) Zakażenia chlamydialne jako interdyscyplinarny problem kliniczny. *Rys historyczny, mikrobiologia, immunologia. Medycyna Rodzinna* 2: 46-49.
- Serwin AB, Koper M (2013) Rzęsistkowica – istotny czynnik ułatwiający zakażenie ludzkim wirusem upośledzenia odporność. *Przegł Epidemiol* 67: 131 – 134.
- Serwin AB, Koper M, Unemo M (2014a) Rzeżączka w XXI wieku – sytuacja na świecie i w Polsce. *Przegł Epidemiol* 68: 127 – 131.
- Serwin AB, Majewski S, Żaba R i in. (2014b) Diagnostyka i leczenie rzeżączki: komentarz grupy ekspertów Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. *Przegł Dermatol* 101: 179-180.
- Stanley M (2006) Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine* 24: S16-S22.
- Sulkowska, E (2015) Kiła – nowa diagnostyka starej choroby. *J. Transf. Med.* 8: 157–159.
- Żak-Prelich M, Królikowska E., Broniarczyk-Dyła G. (2000) Leczenie zakażeń układu płciowo-moczowego wywołanych przez Chlamydia trachomatis, *Nowa Medycyna* 2000: 5.

4. Zmiany nowotworowe u pacjentów pediatrycznych

Cancerous lesions in pediatric patients

Katarzyna Drelich ⁽¹⁾, Olga Pustelniak ⁽¹⁾, Magdalena Woźniak ⁽²⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Radiologii Dziecięcej UM w Lublinie

⁽²⁾ Zakład Radiologii Dziecięcej UM w Lublinie

Katarzyna Drelich: k.drelich1111@gmail.com

Słowa kluczowe: guzy złośliwe, populacja pediatryczna, diagnostyka obrazowa

Streszczenie

Nowotwory dziecięce są drugą, co do częstości przyczyną śmierci wśród populacji pediatrycznej, zaraz po wypadkach, urazach oraz zatruciach. Strukturami, w których najczęściej występują nowotwory złośliwe u dzieci są: układ krwionośny, tkanka nerwowa i tkanki miękkie. Najbardziej licznymi nowotworami wieku dziecięcego są białaczki. Na drugim miejscu znajdują się chłoniaki, następnie nowotwory ośrodkowego układu nerwowego oraz inne wewnątrzczaszkowe.

Częstość występowania nowotworów różni się ze względu na miejsce występowania. Do najczęstszych nowotworów krwi zalicza się ostrą białaczkę limfoblastyczną oraz ostrą białaczkę szpikową. Pośród nowotworów tkanki limfatycznej pierwsze miejsce zajmuje chłoniak Hodgkina. Najczęściej spotykane guzy ośrodkowego układu nerwowego u dzieci to astrocytoma, medulloblastoma oraz ependymoma. Neuroblastoma oraz retinoblastoma wyróżniają się wśród nowotworów autonomicznego układu nerwowego. Pośród guzów występujących w jamie brzusznej można wyróżnić guza Wilmsa oraz hepatoblastoma. Nowotwory kości zwykle występują w wieku nastoletnim i najczęstsze z nich to mięsak kościopochodny oraz mięsak Ewinga.

Ważną rolę w diagnostyce onkologicznej spełniają badania radiologiczne, które pozwalają na zobrazowanie guzów wewnątrz ciała pacjenta. Najczęściej stosowaną metodą wśród populacji pediatrycznej jest badanie ultrasonograficzne, posiadające liczne zalety, przede wszystkim brak inwazyjności. Wśród innych badań obrazowania nowotworów u dzieci znajdują zastosowanie takie, jak tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny, scyntygrafia oraz pozytronowa tomografia emisyjna.

1. Wprowadzenie

Nowotwory dziecięce są drugą, co do częstości przyczyną śmierci wśród populacji pediatrycznej. Na pierwszym miejscu znajdują się nieszczęśliwe wypadki, urazy oraz zatrucia. Nowotwory u dzieci znacznie różnią się od tych występujących wśród populacji dorosłej. Pierwszą różnicą, którą można zauważyć jest fakt, że choroby nowotworowe u dorosłych występują znacznie częściej niż u dzieci. Kolejną istotną różnicą jest budowa histopatologiczna. U dorosłych większość stanowią nowotwory nabłonkowe, natomiast u dzieci prawie wszystkie mają charakter nienabłonkowy. Strukturami, w których najczęściej występują nowotwory złośliwe u dzieci są: układ krwionośny, tkanka nerwowa i tkanki miękkie. U dorosłych dominują: rak płuc, piersi, jelita grubego oraz żołądka. Pośród populacji pediatrycznej występują konstytucjonalne nieprawidłowości genetyczne lub genetycznie uwarunkowane zespoły chorobowe predysponujące do rozwoju raka. Charakterystyczna jest tendencja złośliwych zmian nowotworowych, spotykanych u płodów i noworodków, do samoistnej remisji lub do przekształcania się w struktury dojrzałe (Kumar et al. 2014).

Częstość występowania nowotworów wieku dziecięcego różni się ze względu na płeć oraz wiek. Według Międzynarodowej Klasyfikacji Nowotworów Dziecięcych (International Classification of Childhood Cancer, ICCC) do najczęstszych nowotworów zalicza się białaczki. Na drugim miejscu znajdują się chłoniaki, natomiast trzecie zajmują nowotwory ośrodkowego układu nerwowego oraz różne nowotwory wewnątrzczaszkowe i wewnątrzkręgowo. Częstość występowania nowotworów u chłopców jest wyższa niż u dziewczynek. Dzieci płci męskiej częściej posiadają chłoniaki, białaczki lub guzy mózgu. Natomiast w przypadku płci żeńskiej częściej obserwuje się zarodkowe guzy

gonadalne, raki kory nadnerczy oraz raki tarczycy. W pierwszym roku życia u dzieci występują najczęściej guzy embrionalne, takie jak: neuroblastoma, nephroblastoma oraz retinoblastoma. U dzieci do 4 roku życia występuje najwięcej przypadków ostrej białaczki limfoblastycznej. W wieku nastoletnim diagnozowane są przede wszystkim chłoniaki ziarnicze, guzy kości oraz nowotwory tkanek miękkich (Chybicka 2013).

1.1 Nowotwory krwi

Białaczka to nowotwór szpiku kostnego, który wytwarza trzy rodzaje komórek krwi. W chorobie tej szpik kostny produkuje dużą liczbę nowotworowych białych krwinek. Leukocyty w organizmie człowieka służą do obrony przed infekcją.

Ostra białaczka limfoblastyczna (acute lymphoblastic leukemia – ALL) jest najczęstszym nowotworem wieku dziecięcego. Powstaje w wyniku złośliwej transformacji komórek progenitorowych B i T w szpiku kostnym w komórki białaczkowe. Mechanizmy leżące u podstaw tej transformacji nie są do końca znane. Odsetek wyleczeń ostrej białaczki limfoblastycznej przekracza 90% u dzieci, jednak nadal pozostaje bardzo ważną przyczyną zachorowalności i śmiertelności u dzieci i dorosłych (Iacobucci i Mullighan 2017). Szczyt zachorowań występuje pomiędzy 2 a 5 rokiem życia, częściej chorują chłopcy niż dziewczynki. Do najczęstszych objawów choroby należą: bóle kończyn dolnych, bóle brzucha, objawy szczyki małopłytkowej oraz powiększenie obwodowych węzłów chłonnych (Chybicka 2013).

Ostra białaczka szpikowa (acute myeloid leukemia – AML) jest chorobą tkanki krwiotwórczej charakteryzującą się nieprawidłową proliferacją komórek progenitorowych linii mieloidalnej, powodującą niedostateczną produkcję prawidłowych dojrzałych krwinek. Stanowi około 15–20% przypadków ostrej białaczki w dzieciństwie i odpowiada za około 30% zgonów w tym przedziale wiekowym (de Lima et al. 2016). Predyspozycje do rozwoju AML zależne są od wielu czynników osobniczych i środowiskowych. Do czynników środowiskowych należą: promieniowanie jonizujące, picie alkoholu i palenie tytoniu przez matkę w ciąży, środki chemiczne i cytostatyki. Do czynników wrodzonych należą: aberracje chromosomalne, wrodzone zespoły nieprawidłowości szpikowych i zaburzenia regulacji różnicowania komórek.

1.2 Nowotwory tkanki limfatycznej

Chłoniak to choroba nowotworowa tkanki limfatycznej i śródnamionkowo-siateczkowej. Do najczęściej występujących chłoniaków u dzieci należą: chłoniak Hodgkina oraz chłoniaki niezziarnicze.

Chłoniak Hodgkina jest chorobą nowotworową układu chłonnego. Stanowi on ok. 6% wszystkich nowotworów wieku dziecięcego (Chybicka 2013). Choroba ta może się rozwinąć w każdym miejscu, w którym znajdują się tkanka chłonna, a także w innych narządach. Dokładna przyczyna występowania tej choroby nie jest do końca znana, jednak w różnych publikacjach wiązana jest z różnymi czynnikami środowiskowymi, w tym z chemikaliami oraz lekami. Najpowszechniejszym czynnikiem wiążącym występowanie i rozwój tego nowotworu jest zakażenie wirusem Epsteina-Barr (EBV) (Mehreen et al. 2019). Najbardziej charakterystycznym objawem chłoniaka Hodgkina jest powiększenie węzłów chłonnych, najczęściej w rejonie szyjno-nadobojczykowym.

Nieziarnicze chłoniaki złośliwe (Non-Hodgkin's Lymphoma – NHL) stanowią ponad połowę wszystkich chłoniaków dziecięcych. Można je podzielić na 4 typy: chłoniaki limfoblastyczne, chłoniak Burkitta, chłoniak rozlany z dużych komórek B oraz chłoniak anaplastyczny z dużych komórek (Mărginean et al. 2018). W patogenezie NHL istotne znaczenie mają czynniki genetyczne, środowiskowe oraz infekcyjne.

1.3 Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego

Pierwotne nowotwory ośrodkowego układu nerwowego są najczęstszymi nowotworami litymi u dzieci oraz zaraz po białaczkach drugimi najczęściej występującymi nowotworami wśród populacji pediatrycznej. Przyczyny powstawania guzów mózgu są nadal nie do końca poznane, jednak zwiększone ryzyko występowania tych nowotworów obserwowane jest przy znacznych

niedoborach odporności oraz chorobach genetycznych. Najczęstszymi nowotworami OUN u dzieci są: gwiaździki, rdzeniaki i wyściółczaki.

Gwiaździki (astrocytoma) stanowią grupę pierwotnych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. Ich nazwa pochodzi od gleju gwiaździstego, z którego się wywodzą. Astrocytoma jest wiodącym nowotworem OUN u dzieci. Glejaki o niskim stopniu złośliwości odpowiadają za ok. jedną trzecią przypadków guzów OUN. Natomiast glejaki wyższego stopnia występują rzadziej i stanowią 7-11% przypadków nowotworów OUN po okresie niemowlęcym. Istnieje wiele typów histologicznych gwiaździaków, które różnią się od siebie szybkością postępowania, rokowaniem oraz średnim czasem przeżycia. Możemy wyróżnić gwiaździka włosowatokomórkowego, który wykazuje I stopień złośliwości oraz gwiaździka włóknikowego, który posiada II stopień złośliwości. Gwiaździkami o wysokim stopniu złośliwości jest gwiaździk anaplastyczny (stopień III wg WHO) oraz glejak wielopostaciowy (stopień IV wg WHO) (Isaacs H Jr 2016).

Rdzeniak zarodkowy (medulloblastoma) stanowi niemal 20% wszystkich dziecięcych guzów mózgu. Jest on uznawany za najczęstszy złośliwy guz mózgu u dzieci. Najczęściej lokalizuje się on w mózdzku. Można wyróżnić kilka typów rdzeniaka zarodkowego: klasyczny medulloblastoma, dysplastyczny/guzkowy, z rozległym wzrostem guzkowym, anaplastyczny oraz medulloblastoma wielokomórkowy (Khatua et al. 2018). Zgodnie ze stosunkowo szybkim tempem wzrostu u pacjentów z rdzeniakiem zarodkowym objawy zwykle rozwijają się w ciągu tygodni lub miesięcy. Często występują objawy przedmiotowe i podmiotowe dysfunkcji mózdzku i podwyższonego ciśnienia śródczaszkowego (ICP). Klasyczne objawy zwiększonego ICP obejmują drażliwość, letarg, nudności i wymioty, poranne bóle głowy, anoreksję i zmiany zachowania. Oznaki zajęcia mózdzku mogą się różnić w zależności od lokalizacji zmiany (Millard i De Braganca 2016).

Wyściółczak złośliwy (ependymoma) to nowotwór, który lokalizuje się w ośrodkowym układzie nerwowym. Wyściółczaki powstają z ependymy wyściełającej komory mózgu oraz światła kanału rdzenia kręgowego. Komórki wyściółki wytwarzają płyn mózgowo-rdzeniowy. Guzy te można podzielić na nadnamiotowe, podnamiotowe oraz rdzeniowe. Każdej lokalizacji nowotworu towarzyszą inne objawy kliniczne. U dzieci guzy występują głównie wewnątrzczaszkowo, natomiast u dorosłych przede wszystkim w obrębie kręgosłupa. Do objawów klinicznych tego nowotworu należą: bóle głowy, nudności, wymioty, powiększenie obwodu głowy, zmiany nastroju, osobowości, zaburzenia koncentracji, niedowład połowiczny, porażenia spastyczne i parestezje.

1.4 Nowotwory autonomicznego układu nerwowego

Nerwiak zarodkowy (neuroblastoma) to nowotwór złośliwy współczulnego układu nerwowego, pochodzący z komórek grzebieni nerwowych. Jest to jeden z najczęstszych nowotworów pozaczaszkowych wieku dziecięcego. Neuroblastoma może powstać w każdym miejscu należącym do współczulnego układu nerwowego. Najczęstszym pierwotnym miejscem rozwoju nerwiaka zarodkowego jest rdzeń nadnerczy (35%) i zwoje przykręgosłupowe (30-35%), a następnie śródpiersie w 20% (Papaioannou i McHugh 2005). Najczęstszymi objawami tego nowotworu są duże masy w jamie brzusznej, często wyczuwalne podczas badania palpacyjnego, mogące powodować zaparcia oraz wzdęcia. W innych przypadkach położenie guza w okolicach nadnerczowych może prowadzić do ucisku naczyń nerkowych oraz nadciśnienia. Niektóre nerwiaki zarodkowe klatki piersiowej mogą powodować skoliozę lub ucisk dróg oddechowych. Jeśli guz powstaje ze zwojów przykręgosłupowych może wchodzić do kanału kręgowego oraz prowadzić do ucisku i zaburzeń czucia (Swift et al. 2018).

Siatkówczak (retinoblastoma) jest najczęściej występującym nowotworem gałki ocznej u dzieci. Stanowi on od 2,5% do 4% wszystkich nowotworów wieku pediatrycznego. W około 40% przypadków siatkówczak dotyczy osób, które odziedziczyły mutację jednego z alleli genu RB1. Rozpoznanie tego nowotworu następuje przeciętnie w 2 roku życia, chociaż może on być stwierdzony nawet w momencie urodzenia. Do objawów pozwalających na rozpoznanie omawianego guza można zaliczyć: zaburzenia widzenia, zez, białawy odbłask źrenicy, bolesność lub tkliwość gałki ocznej (Kumar et al. 2014).

1.5 Nowotwory jamy brzusznej

Nerczak płodowy inaczej nephroblastoma lub guz Wilmsa jest najczęstszym nowotworem pierwotnym nerki u dzieci. Stanowi on ok. 6 % nowotworów u dzieci. Po wodonerczu i wielotorbielowatości dysplastycznej nerki jest najczęstszą przyczyną powstania masy w lokalizacji nerkowej u dziecka. Szczyt zachorowalności na ten nowotwór przypada na 3-4 rok życia (Dumba et al. 2015). Ryzyko rozwoju guza Wilmsa występuje w trzech grupach wrodzonych nieprawidłowości rozwojowych. Należą do nich pacjenci z zespołem WAGR, z zespołem Denysa-Drasha oraz populacja z zespołem Beckwitha-Wiedemanna. Podczas badania palpacyjnego w obrębie brzucha nerczak płodowy jest często wyczuwalny ze względu na swoje duże rozmiary. Może on przekraczać linię środkową ciała i sięgać w dół do miednicy. Do rzadszych objawów należą wzrost temperatury ciała, bóle brzucha, krwimocz, a czasami nawet zaparcia wynikające z ucisku spowodowanego przez guz (Kumar et al. 2014).

Guzy wątroby u dzieci są stosunkowo rzadkie i stanowią około 1% wszystkich nowotworów złośliwych wieku dziecięcego. Wątrobiak zarodkowy (hepatoblastoma) jest najczęstszym złośliwym guzem wątroby u dzieci. Wywodzi się on z wielopotencjalnej komórki różnicującej się do hepatocytów i komórek nabłonka dróg żółciowych. Nowotwór ten najczęściej ujawnia się do 5 roku życia. Wątrobiak może obejmować jeden lub dwa płaty wątroby, daje przerzuty odległe (Feng et al. 2019).

1.6 Nowotwory kości

Pierwotne nowotwory kości występują najczęściej u starszych dzieci i nastolatków, ale mogą się rozwijać w każdym wieku. Stanowią ok. 5-7% chorób nowotworowych. Pierwotne nowotwory kości różnią się od przerzutowych. Najczęstsze nowotwory kości wieku dziecięcego to mięsak kościopochodny oraz mięsak Ewinga.

Mięsak kościopochodny (osteosarcoma) wywodzi się z pierwotnej tkanki mezenchymalnej budującej kości. Nowotwór ten wykazuje skłonność do występowania w przynasadach kości długich. Najczęściej lokalizuje się w dystalnej części kości udowej (43%), proksymalnej części kości piszczelowej (23%) lub w kości ramiennej (10%). Typowymi objawami są ból oraz obrzęk zajętej kości. Charakterystyczną cechą bólu tego nowotworu jest jego intensywność, szczególnie w nocy, wybudzający chorego ze snu. Cechą charakterystyczną dla samego nowotworu jest zdolność do wytwarzania kostniny (Isakoff et al. 2015).

Mięsak Ewinga stanowi 6-10% pierwotnych złośliwych nowotworów kości. Występuje najczęściej pomiędzy 10 a 20 rokiem życia. Nowotwór ten rozwija się z pierwotnych pozazwojowych komórek parasympatycznych cewy nerwowej. Najczęstszą lokalizacją mięsaka Ewinga są kości szkieletu osiowego, takie jak kości miednicy oraz kręgosłup. Może on występować również w trzonach kości długich kończyn górnych i dolnych. Ból jest dominującym symptomem tego schorzenia, ale towarzyszą mu obrzęk oraz objawy ogólne, takie jak gorączka, złe samopoczucie, utrata masy ciała (Chybička 2013).

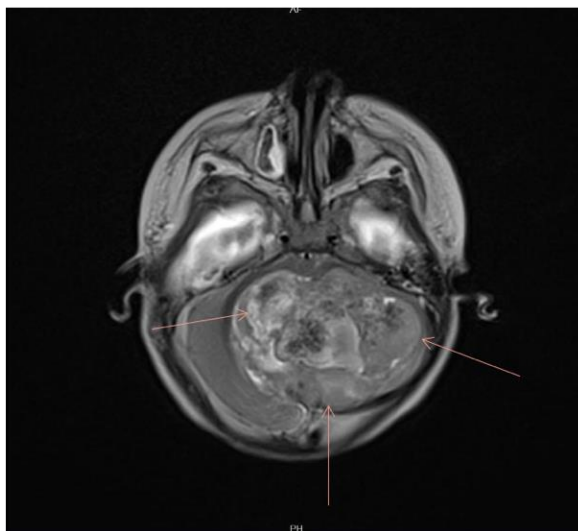
2. Diagnostyka

Diagnostyka obrazowa u pacjentów onkologicznych jest istotnym elementem w procesie oceny stanu zdrowia. Na podstawie badań obrazujących wnętrze ludzkiego ciała lekarz jest w stanie określić bądź podejrzewać przyczynę złego samopoczucia. Wszystkie badania obrazowe spełniają ważną rolę w rozpoznaniu nowotworów u dzieci. Diagnostyka obrazowa opiera się na kompleksowości wykonywanych badań, które wzajemnie się uzupełniają. Nie ma jednej skutecznej metody, która dokładnie i jednoznacznie obrazowałaby daną zmianę. Jednak zawsze rozstrzygającym badaniem jest biopsja oraz badanie histopatologiczne.

Pierwszym i najczęściej stosowanym narzędziem diagnostycznym jest USG. Metoda ta jest łatwo dostępna, nieinwazyjna oraz stosunkowo tania. Ponadto pozwala uzyskać obraz w czasie rzeczywistym, co jest dużą zaletą tego badania. Odpowiednio wykonane USG jest bezpieczne. U dzieci jest to metoda pierwszego wyboru do obrazowania zmian ze względu na brak negatywnego wpływu na organizm i bezpieczeństwo. USG jamy brzusznej i szyi pozwala na wykrycie hepatomegalii, splenomegalii i limfadenopatii, które są ważnymi symptomami w diagnostyce

białaczek oraz chłoniaków. Dodatkowo pozwala na wykrycie patologicznych mas w jamie brzusznej, które mogą pojawiać się w przebiegu nerwiaka zarodkowego. Ponadto badanie to jest uzupełniające w ramach diagnostyki stadium, monitorowania odpowiedzi na leczenie oraz kontroli remisji choroby po zakończeniu leczenia. Za pomocą ultrasonograficznego badania gałki ocznej można uwidocznić charakterystyczne dla siatkówczaka zwapnienia w obrębie guza. U noworodków w diagnostyce guzów mózgu badanie ultrasonograficzne przez ciemiączko ma znaczenie pomocnicze. Badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej metodą Dopplera jest nieinwazyjnym, powtarzalnym badaniem oceniającym lokalizację, wielkość oraz strukturę guza oraz zajęcie naczyń lub ich uciśnięcie przez guz, w takich nowotworach jak wątrobiak zarodkowy czy guz Wilmsa. Pozwala również na określenie unaczynienia zmiany rozrostowej (Chybicka 2013).

Badanie rezonansu magnetycznego (MR) jest badaniem nieinwazyjnym, bezpiecznym dla pacjenta. Umożliwia ono nie tylko precyzyjną ocenę stanu morfologicznego narządów, ale również ich czynności, a także strukturę molekularną (Pruszyński i Cieszanowski 2014). Zaletą badania MR jest brak wykorzystania promieniowania jonizującego, co jest niezwykle ważne podczas diagnostyki pacjentów pediatrycznych. Podawane środki kontrastujące w tym badaniu stanowią mniejsze ryzyko reakcji alergicznych i powikłań nerkowych niż w badaniu tomografii komputerowej. Wadą badania MR jest jego długi czas trwania, co wymaga sedacji u młodszych pacjentów. Kolejną przewagą badania metodą rezonansu magnetycznego jest zmniejszenie liczby artefaktów kostnych, możliwość wyboru płaszczyzn oraz dokładniejsze uwidocznienie rozległości masy guza. Ta metoda obrazowania wybierana jest przy ocenie guzów tylnego dołu czaszki, takich jak wyściółczak (Rys.1 i 2) oraz medulloblastoma (Rys.3) (Chybicka 2013).

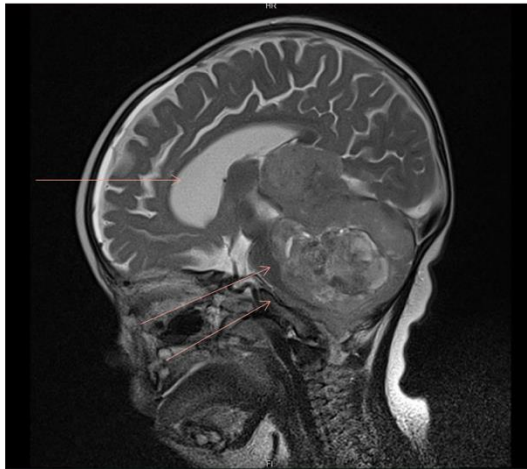


Rys. 1. Ependymoma w obrazie T1-zależnym w projekcji poprzecznej po podaniu kontrastu.

Badanie MR przy diagnostyce nowotworów kości jest precyzyjną metodą oceny zajęcia jamy szpikowej oraz stosunku guza do okolicznych tkanek miękkich.

Tomografia komputerowa (TK), podobnie jak rentgenodiagnostyka konwencjonalna, wykorzystuje zjawisko promieniowania X przenikającego przez ciało pacjenta (Pruszyński i Cieszanowski 2014). Jest to badanie często wykorzystywane do diagnostyki nowotworów. Jednak w przypadku pacjentów pediatrycznych nie jest to metoda pierwszego wyboru. Badanie to dobrze obrazuje zmiany w tkance kostnej nowotworów pierwotnych kości u dzieci. Jest to podstawowe badanie wykorzystywane w diagnostyce nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. Tomografia komputerowa w przebiegu diagnostyki siatkówczaka pozwala na określenie rozległości procesu nowotworowego, stwierdzenie nacieków pozagałkowych i zmian wewnątrzczaszkowych (Chybicka

2013). Badanie TK w diagnostyce nerwiaka zarodkowego, uwidacznia zwapnienia w guzie, które są charakterystyczne dla tego rodzaju zmian i umożliwiają diagnostykę różnicową (Rys.4).



Rys. 2. Ependymoma w obrazie T2-zależnym w projekcji strzałkowej.



Rys. 3. Obrazy T2-zależne w projekcji strzałkowej i poprzecznej, w tylnym dole czaszki patologiczna masa guza medulloblastoma, która przemieszcza ku przodowi struktury pnia mózgu.

Pozytonowa tomografia emisyjna (PET) jest techniką obrazowania, w której rejestruje się promieniowanie powstające podczas anihilacji pozytonów. Źródłem pozytonów jest podana pacjentowi substancja promieniotwórcza, ulegająca rozpadowi. Zaletą badania PET jest bardzo wysoka czułość, wadą natomiast stosunkowo niska rozdzielczość przestrzenna. Aby ją poprawić, stosuje się metody hybrydowe, czyli obrazowanie multimodalne (fuzyjne). Na wyniki obrazowania molekularnego uzyskane techniką PET nakłada się obrazy anatomiczne uzyskane techniką TK lub MR, charakteryzujące się znacznie wyższą rozdzielczością przestrzenną. Wady jednak nadal pozostają i są to ekspozycja pacjenta na promieniowanie jonizujące oraz wysoki koszt badania, znacznie ograniczające możliwość wielokrotnego stosowania takich badań obrazowych, np. w celu monitorowania skuteczności leczenia lub wykrywania wznowy choroby w bardzo wczesnym stadium, bez objawów klinicznych (Pruszyński i Cieszanowski 2014).

Technikę PET wykorzystuje się przy diagnostyce nowotworów mózgu. Podczas badania metabolizmu mózgu pozwala określić, czy w guzie znajdują się komórki żywe czy są to tylko zmiany martwicze (Chybicka 2013).

Jeszcze jedną bardzo ważną metodą obrazowania jest scyntygrafia. Polega ona na wprowadzeniu do organizmu pacjenta farmaceutyków znakowanych radioizotopami, rejestracji

promieniowania pochodzącego z tych izotopów oraz graficznym ich rozmieszczeniu. Scyntygrafię kości z użyciem izotopu technetu 99m powszechnie stosuje się w przypadku podejrzenia przerzutów do kości przy diagnostyce osteosarcoma, neuroblastoma oraz hepatoblastoma (Chybicka 2013). Scyntygrafia z użyciem MIBG (123-meta-jodo-benzylguanidyny) jest czuła i swoista dla nerwiaka zarodkowego, pomimo wychwytywania przez inne guzy neuroendokrynne, ponieważ inne nowotwory są niezwykle rzadkie wśród populacji pediatrycznej (Dumba et al. 2015).



Rys. 4. Badanie tomografii komputerowej w przebiegu diagnostyki nerwiaka zarodkowego. Uwidocznione zwapnienia w obrębie masy guza.

3. Podsumowanie

Nowotwory dziecięce znajdują się na drugim miejscu co do przyczyny zgonu w młodym wieku. Częstość występowania danych nowotworów różni się w zależności od miejsca oraz wieku. Ogólnie do najczęstszych nowotworów wieku dziecięcego należą białaczki, chłoniaki oraz nowotwory ośrodkowego układu nerwowego. W najmłodszej grupie dzieci, do pierwszego roku życia, najczęściej występują guzy embrjonalne, takie jak neuroblastoma, nephroblastoma oraz retinoblastoma. Natomiast młodzież w wieku nastoletnim najczęściej choruje na chłoniaki niezłośliwe oraz nowotwory kości. Bardzo dużą rolę w diagnostyce nowotworów spełniają badania obrazowe. Wszystkie z nich nawzajem się uzupełniają. Podstawową metodą obrazowania u pacjentów pediatrycznych jest ultrasonografia, ponieważ nie wykorzystuje promieniowania, jest szybka i przedstawia obraz w czasie rzeczywistym. Zarówno badanie rezonansu magnetycznego, jak i tomografii komputerowej ma wiele zalet, ale również wad. Jednak przewagę u pacjentów pediatrycznych wykazuje zastosowanie MR, ze względu na brak wykorzystania promieniowania jonizującego w odróżnieniu do badania TK.

4. Literatura

- Chybicka A. (2013). *Od objawu do nowotworu - Wczesne rozpoznawanie chorób nowotworowych u dzieci.* Warszawa, Edra Urban & Partner
- de Lima MC, da Silva DB, Freund AP et al. (2016) Acute Myeloid Leukemia: analysis of epidemiological profile and survival rate. *J Pediatr (Rio J)*. 92(3):283-9.
- Dumba M, Jawad N, McHugh K. (2015) Neuroblastoma and nephroblastoma: a radiological review. *Cancer Imaging*. 15(1):5.
- Feng J, Polychronidis G, Heger U et al. (2019) Incidence trends and survival prediction of hepatoblastoma in children: a population-based study. *Cancer Commun (Lond)*. 39(1):62.

- Iacobucci I, Mullighan CG. (2017) Genetic Basis of Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol.* 35(9):975-983.
- Isaacs H Jr. (2016) Perinatal (fetal and neonatal) astrocytoma: a review. *Childs Nerv Syst.* 32(11):2085-2096
- Isakoff MS, Bielack SS, Meltzer P et al. (2015) Osteosarcoma: Current Treatment and a Collaborative Pathway to Success. *J Clin Oncol.* 33(27):3029-35.
- Khatua S, Song A, Citla Sridhar D et al. (2018) Childhood Medulloblastoma: Current Therapies, Emerging Molecular Landscape and Newer Therapeutic Insights. *Curr Neuropharmacol.* 16(7):1045-1058.
- Kumar V, Abbas A.K, Aster J. (2014). *Patologia Robbinsa*. Wrocław, Urban & Partner
- Mărginean CO, Meliț LE, Horvath E et al. (2018) Non-Hodgkin lymphoma, diagnostic, and prognostic particularities in children - a series of case reports and a review of the literature (CARE compliant). *Medicine (Baltimore)* 97(8):e9802.
- Mehreen A, Wali RM, Sindhu II et al. (2019) Retrospective analysis of clinical features and treatment outcomes of children with Hodgkin's Lymphoma treated with different chemotherapy protocols at a tertiary care center in Pakistan. *J Pak Med Assoc.* 69(9):1266-1272.
- Millard NE, De Braganca KC. (2016) Medulloblastoma. *J Child Neurol.* 31(12):1341-53.
- Papaioannou G, McHugh K. (2005) Neuroblastoma in childhood: review and radiological findings. *Cancer Imaging.* 5(1):116-27.
- Pruszyński B, Cieszanowski A. (2014). *Radiologia - diagnostyka obrazowa, RTG, TK, USG, MR.* Warszawa, PZWL
- Swift CC, Eklund MJ, Kravaka JM et al. (2018) Updates in Diagnosis, Management, and Treatment of Neuroblastoma. *Radiographics.* 38(2):566-580.

5. Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego- obecne wyzwania diagnostyczne i terapeutyczne

Gastrointestinal stromal tumors- current diagnostic and therapeutic challenges

Martyna Janczewska, Joanna Kobak, Michał Korab, Jakub Radulski, Zuzanna Gwóźdź, Emilia Langa, Karol Bochyński, Norbert Nowak

II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Nowotworów Układu Pokarmowego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Opiekun naukowy: prof. dr hab. n. med. Andrzej Dąbrowski, prof. dr hab. n. med. Grzegorz Wallner

Martyna Janczewska: m.janczewska2002@gmail.com

Słowa kluczowe: GIST, epidemiologia, leczenie adjuwantowe, leczenie neoadjuwantowe

Streszczenie

Guzy podścieliskowe przewodu pokarmowego (GIST) są najczęstszymi nowotworami pochodzenia mezenchymalnego w układzie pokarmowym. Częstość ich występowania w populacji europejskiej wynosi średnio 10-15 przypadków/ milion osób/ rok. GIST lokalizuje się najczęściej w żołądku (60%) i w jelicie cienkim (35%). Cechą charakterystyczną guzów podścieliskowych przewodu pokarmowego jest ekspresja markera CD 117, co związane jest z mutacjami aktywującymi w genach kodujących receptory błonowe *KIT* i *PDGFRA*. Badanie patomorfologiczne jest podstawą diagnostyki nowotworów tego typu. Dzięki ocenie wielkości zmiany i ilości figur podziału w 50 dużych polach widzenia określa się złośliwość nowotworu. Badanie histochemiczne w kierunku wykrycia mutacji *KIT* lub *PDGFRA* potwierdza rozpoznanie i określa przebieg leczenia. Ważną rolę diagnostyczną pełni również endoskopia, ultrasonografia endoskopowa (EUS) i badania obrazowe, szczególnie CT z kontrastem. Podstawą leczenia jest lokalna resekcja guza drogą laparotomii lub laparoskopii. W zależności od lokalizacji, rozmiarów i stopnia zaawansowania nowotworu, można stosować również odpowiednią terapię neoadjuwantową lub adjuwantową. Lekiem pierwszego rzutu w farmakoterapii jest imatynib. Postępy leczenia należy regularnie monitorować w badaniach obrazowych, a następnie kontynuować diagnostykę po leczeniu, celem obserwacji możliwych nawrotów.

1. Wstęp

Guzy podścieliskowe przewodu pokarmowego (GIST, gastrointestinal stromal tumors), mimo iż stanowią 1-2% wszystkich nowotworów układu pokarmowego, paradoksalnie są w przewodzie pokarmowym najczęstszymi nowotworami o pochodzeniu mezenchymalnym. Powstają najczęściej w warstwie mięśniowej ściany żołądka czy jelit i wywodzą się najprawdopodobniej z prekursorów komórek śródmiąższowych Cajala (pełniących funkcję rozrusznika, odpowiadającego za ruchy perystaltyczne) (Parab i in. 2019; Rutkowski i Szumera-Ciećkiewicz 2018). Klinicznie GIST prezentują szerokie spektrum zmian- od niewielkich guzów o łagodnym przebiegu, wykrywanych przypadkowo podczas badań endoskopowych, zabiegów operacyjnych czy badań radiologicznych, po nowotwory bardzo agresywne, masywnie przerzutujące o rozmiarach > 20-30 cm. Guzy o wysokim ryzyku złośliwości czy jawnie złośliwe stanowią około 20-30% wszystkich zmian tego rodzaju (Judson i Demeteri 2007; Rutkowski i Szumera-Ciećkiewicz 2018; Miettinen i Lasota 2007).

Szacuje się, że zachorowalność na GIST wynosi średnio 10-15 przypadków na milion osób na rok, jednak dane te różnią się znacząco dla poszczególnych państw czy nawet regionów jednego państwa. Najwyższe wskaźniki zachorowalności, sięgające 22 przypadków/ milion/ rok obserwowano w Norwegii, Chinach (Hong-Kong, Shanghai) czy Korei, natomiast wskaźniki 4-5-krotnie niższe, wynoszące około 4,3 przypadków/ milion/ rok obserwowano w Kanadzie, Stanach

Zjednoczonych, Czechach, Słowacji czy w Chińskiej prowincji Shanxi. Rozbieżności te mogą być jednak związane z różnicami w kryteriach rozpoznania GIST, które ewoluowały na przestrzeni lat, raportowaniem w niektórych rejestrach tylko jawnie złośliwych przypadków czy pomijaniem w statystykach niewielkich, indolentnych zmian. Europejskie dane dotyczące zapadalności odpowiadają zasadniczo wartości medialnej- 10-15 przypadków/ milion/ rok (Søreide i in. 2016). Średni wiek pacjentów w momencie rozpoznania choroby wynosi 60 lat. Notowano przypadki u osób w wieku od 10 do 100 lat, jednakże 75% chorych w momencie rozpoznania ma ponad 50 lat (Søreide i in. 2016; Rutkowski i in. 2007).

GIST może lokalizować się w każdym odcinku przewodu pokarmowego. Najczęściej obserwowanym umiejscowieniem jest żołądek (60%) oraz jelito czcze i kręte (30%). Rzadszymi lokalizacjami są dwunastnica (5%), jelito grube i odbytnica (<5%), przełyk i wyrostek robaczkowy (<1%). Sporadycznie GIST obserwowano w krezce, sieci większej i mniejszej czy przestrzeni zaotrzewnowej. Około 20-25% GIST zlokalizowanych w żołądku oraz aż 40-50% GIST zlokalizowanych w jelicie cienkim wykazuje kliniczne cechy złośliwości. Przerzuty rozwijają się najczęściej w jamie brzusznej i wątrobie, rzadziej w kościach, tkankach miękkich czy skórze. Niezwykle rzadko przerzuty obserwuje się w węzłach chłonnych i płucach (Miettinen i Lasota 2007).

2. Opis zagadnienia

Cechą charakterystyczną nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego jest ekspresja markera CD117 (*KIT*), co związane jest w większości przypadków ze sporadycznymi mutacjami aktywującymi w genach kodujących receptory błonowe o aktywności kinaz tyrozynowych: *KIT* i *PDGFRA* (receptor α płytkopochodnego czynnika wzrostu, platelet-derived growth factor receptor α). Mutacje sporadyczne występują tylko w tkance nowotworowej. Całkowicie odmienny profil prezentuje rodzinna postać GIST, gdzie mutacje *KIT* czy *PDGFRA* są dziedziczne i występują we wszystkich komórkach organizmu. Skutkiem mutacji są funkcjonalne zmiany w białkach *KIT* i *PDGFRA*, prowadzące do niezależnej od ligandów konstytucjonalnej aktywacji receptorów. Końcowym rezultatem tej aktywacji jest zwiększenie proliferacji komórek oraz hamowanie ich apoptozy, co wyzwala proces nowotworzenia (Miettinen i Lasota 2007; Rutkowski i in. 2007).

Co ciekawe, 10-15% GIST nie wykazuje mutacji w genach *KIT* ani *PDGFRA*, a przypadki te mogą być związane z nerwiakowłókniakowością typu 1 (NF1, neurofibromatosis type 1) lub reprezentować zespoły związane z niedoborem dehydrogenazy bursztynianowej- triadę Carneya (GIST zlokalizowany w żołądku, chrząstniak płuca i przyzwojak pozanadnerczowy), niepodlegającą dziedziczeniu oraz dziedziczony autosomalnie dominująco zespół Carneya-Stratakisa (GIST, przyzwojak pozanadnerczowy, mutacja germinalna w jednym z genów podjednostek dehydrogenazy bursztynianowej). W przypadku NF1 nowotwór wykazuje predylekcję do jelita cienkiego, guzy są zazwyczaj mnogie, niewielkich rozmiarów i klinicznie indolentne, jednakże część pacjentów z NF1 rozwija złośliwą postać GIST (Rutkowski i Szumera-Ciekievicz 2018; Miettinen i Lasota 2007).

GIST manifestuje się najczęściej krwawieniami z przewodu pokarmowego, w tym smolistymi stolcami, krwawymi wymiotami i postępującą niedokrwistością. Ponadto wśród objawów obserwuje się chudnięcie, bóle, dyskomfort czy nawet zwiększenie rozmiarów brzucha- co wywołane jest efektem masy guza. W niektórych przypadkach mogą pojawić się objawy „ostrego brzucha” spowodowane pęknięciem guza czy niedrożnością przewodu pokarmowego. 15- 20% pacjentów z GIST nie ma żadnych objawów, a nowotwory te identyfikowane są wówczas przypadkowo podczas operacji wykonywanych z innych przyczyn lub pośmiertnych autopsji (Akahoshi i in. 2018; Miettinen i Lasota 2007).

W diagnostyce różnicowej guzów podścieliskowych przewodu pokarmowego należy uwzględnić mięśniaki i mięsaki gładkokomórkowe, nerwiaki osłonkowe (schwannoma), złośliwe guzy wywodzące się z osłonek nerwów obwodowych, pojedyncze guzy włókniste, zapalne guzy miofibroblastyczne, guzy neuroendokrynne, złośliwe międzybłoniaki czy naczyńniakomięsaki (PDQ® Adult Treatment Editorial Board 2020).

3. Przegląd literatury

3.1 Diagnostyka GIST

Nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego podlegają różnorodnej diagnostyce i ocenie predykcyjnej w zależności od formy, umiejscowienia i stadium zaawansowania. Podstawą diagnostyki wszystkich zmian tego typu jest ocena patomorfologiczna, która opiera się na odpowiednich badaniach histochemicznych, prowadzonych w kierunku odnalezienia mutacji w genach kodujących receptory błonowe *KIT* lub *PDGFRA*. Wykrycie ich wariantu jest niezwykle istotne, nie tylko ze względu na potwierdzenie diagnozy, ale pełni również istotną rolę predykcyjną co do odpowiedzi na leczenie.

Manifestacja kliniczna GIST warunkuje rozpoczęcie procesu diagnostycznego od przeprowadzenia badania endoskopowego. Około 15-30 % bezobjawowych pacjentów jest diagnozowanych dzięki badaniu endoskopowemu z innych wskazań. Najczęściej, w tym badaniu, zmiana ma obraz gładkiego, twardego wybrzuszenia z niezmienioną błoną śluzową. Nieregularne granice, obecność owrzodzeń czy powiększenie względem poprzedniego badania mogą świadczyć o zezłośliwieniu. Bardzo pomocną metodą w określeniu rodzaju zmiany jest ultrasonografia endoskopowa (EUS), która w odróżnieniu od tradycyjnej endoskopii, pozwala na uzyskanie obrazu o wysokiej rozdzielczości i uwidocznienie całej grubości ściany przewodu pokarmowego. EUS umożliwia dokładne zmierzenie prawdziwej wielkości guza. Zwykle GIST ma obraz hipoechogenicznej, zbitej masy. O dużym ryzyku złośliwości może świadczyć: wielkość powyżej 2cm, nieregularne granice, szybkie powiększanie się oraz heterogeniczny obraz (bezechowe przestrzenie, hiperechogeniczne ogniska). Pobranie biopsji standardowymi szczypcami endoskopowymi jest bardzo trudne, możliwe jedynie przy obecności owrzodzenia w świetle przewodu pokarmowego. Z tej przyczyny metodą najczęściej wybieraną jest biopsja igłowa pod kontrolą EUS, ma ona bardzo dobry stopień wykrywalności (62-93,4%), który zwiększa się wraz z wielkością zmiany (Akahoshi i in. 2018). Innymi metodami są: biopsja gruboigłowa przez powłoki lub laparotomia z biopsją wycinającą, bądź nacinającą (Rutkowski i in. 2011). Bioptat należy zabezpieczyć w 4% roztworze formaliny. Ważne jest także dodatkowe utrwalenie fragmentu świeżo pobranej tkanki w temperaturze co najmniej -80°C, w celu przeprowadzenia badań histochemicznych. Na podstawie pobranych wycinków patomorfolog sporządza raport synoptyczny, który musi obowiązkowo zawierać oceniane cechy nowotworu. Mikroskopowo opisywane są trzy typy komórek tworzących GIST: wrzecionowate (60-70%), o budowie epiteloidalnej (20%) oraz typ mieszany (5-10%). Ważnym elementem prognostycznym jest lokalizacja nowotworu, bowiem umiejscowienie w żołądku wiąże się z ok. 25% złośliwością, w jelicie cienkim z ok. 50%, a w przełyku i okrężnicy zdecydowana większość GIST to zmiany złośliwe. Agresywność nowotworu ocenia się na podstawie jego wielkości i indeksu mitotycznego. Wartościami granicznymi, jeżeli chodzi o wielkość są kolejno: 2, 5, 10 cm. Wielkość zmiany jest wprost proporcjonalna do ryzyka powstania nawrotów po leczeniu chirurgicznym. Indeks mitotyczny uznawany za niepomyślny wynosi więcej niż 5 figur podziału w 50 dużych polach widzenia (HPF, high-power field) (Guzińska-Ustymowicz i in. 2013). Ostatnie publikacje wskazują również na gorsze rokowanie, jeżeli występuje martwica tkanki nowotworu. Całościowe rokowanie wykazuje wówczas pogorszenie co do czasu przeżycia wolnego od choroby (DFS), czasu przeżycia wolnego od nawrotu choroby (RFS) i przeżycia całkowitego (OS). Ponadto martwica guza wskazuje na dużo gorsze rokowanie, niezależnie od innych wartości prognostycznych takich jak: lokalizacja, wielkość, czas od wykrycia, mutacje oraz pochodzenie etniczne (Yi i in. 2019). Badania podkreślają również znaczenie podwyższonego stosunku neutrofilów do limfocytów (NLR), gdzie wzrost NLR ma związek ze zmniejszonym stosunkiem DFS do RFS, co jednak nie wpływa na przeżycie całkowite. Zwiększony NLR ma istotny związek z umiejscowieniem nowotworu w żołądku, guzem pękającym i nawracającym z indeksem mitotycznym $>5/50$ HPF, o pośrednim lub wysokim ryzyku złośliwości, który częściej występuje u mężczyzn (Luo i in. 2018).

Zdecydowanie najważniejszym oznaczeniem preparatu histopatologicznego jest wykrycie mutacji *KIT* (antygen CD117) lub *PDGFRA*, która występuje w 95% GIST. Wysoce specyficzną próbą w ostatnim czasie stało się również barwienie przeciwciałem DOG1. Poza wymienionymi wyżej, w diagnostyce stosowany jest panel przeciwciał: CD34, SMA, h-Caldesmon, desmina,

cytokeratyna ogólna lub CK18, S100, HMB-45 i Melan A (Rutkowski 2018). Badanie genetyczne w celu oznaczeń dokładnych rodzajów mutacji *KIT* i *PDGFRA* jest niezmiernie ważne również ze względu na podjęcie decyzji co do leczenia pacjenta. Kwestia wpływu zmian genetycznych na odpowiedź leczenia I rzutu (imatynib) jest ogólnie przyjęta i przedstawia się następująco: mutacja *PDGFRA D842V* związana jest z dobrym rokowaniem, ale słabą odpowiedzią na leczenie imatynibem, dlatego w tym przypadku wskazana jest resekcja chirurgiczna bez terapii adjuwantowej. Mutacja *KIT* w egzonie 11 cechuje się dobrą odpowiedzią na leczenie I rzutu. Mutacja w egzonie 9 ma związek z gorszymi wynikami leczenia celowanego, co skutkuje zwiększeniem dawki. Nowotwory, w których nie wykrywa się ani mutacji *KIT* ani *PDGFRA* ("Wild type") źle reagują na leczenie, jednak stanowią niewielki odsetek GIST (<5%) (Casali i in. 2018). Nowe publikacje wskazują także na związek mutacji z odpowiedzią na leczenie sunitynibem, stosowanym w drugim rzucie. Pacjenci z mutacją *KIT* w egzonie 9 wykazują wówczas większą poprawę względem pacjentów z mutacją *KIT* w egzonie 11. Chorzy z oboma typami mutacji *KIT* wykazywali poprawę względem grupy pacjentów z mutacją *PDGFRA*. Pacjenci *KIT* i *PDGFRA* ujemni również wykazywali poprawę względem grupy chorych z mutacją *PDGFRA* (Tan i in. 2018).

Dużą wartość diagnostyczną i predykcyjną mają także badania obrazowe. Główną metodą jest przeprowadzenie tomografii komputerowej jamy brzusznej z kontrastem doustnym i dożylnym, które służy do oceny zaawansowania nowotworu oraz pomaga w zaplanowaniu leczenia chirurgicznego. Podobne zastosowanie ma również badanie rezonansem magnetycznym- MRI, szczególnie jeżeli zmiana zlokalizowana jest w odbytnicy. Nowe publikacje wskazują potencjalnie większą rolę badań obrazowych w diagnostyce GIST oraz ocenie odpowiedzi na leczenie. MRI jest pomocne w wykrywaniu różnic między GIST podatnymi, a opornymi na imatynib. Pozytonowa tomografia emisyjna z wykorzystaniem znacznika F-18 FDG jest wartościowym narzędziem diagnostycznym we wczesnej ocenie odpowiedzi na leczenie i we wczesnym wykryciu potencjału ześlizwienia GIST (Wei i.in 2018).

3.2 Leczenie GIST

Leczenie operacyjne

Terapią pierwszego rzutu w przypadku zmian lokalnych jest leczenie operacyjne, polegające na całkowitym wycięciu zmiany z zachowaniem ujemnego marginesu tkankowego (R0) oraz nienaruszoną strukturą nowotworu. Uszkodzenie guza może prowadzić do rozsiewu komórek nowotworowych do jamy otrzewnej oraz powstania przerzutu. Rozległość resekcji zależy od rozmiarów guza, jednak zaleca się lokalne usunięcie zmiany. Rozszerzenie zabiegu o okoliczne narządy jest zbyteczne (Poveda i in. 2017). W przypadku zajętego żołądka, preferowana jest resekcja klinowa, w innych lokalizacjach dąży się do resekcji odcinkowej. Usuwanie regionalnych węzłów chłonnych nie jest stosowane, ze względu na jedynie sporadyczne przerzuty do układu chłonnego. Reoperacje nie powodują wyleczenia, jednak przy podejrzeniu resekcji nieradykalnej (R1), jeśli możliwe jest ustalenie pierwotnej lokalizacji zmiany, można podjąć się ponownego wycięcia (w innym przypadku zalecana obserwacja lub leczenie farmakologiczne) (Rutkowski i Szumera-Ciećkiewicz 2018). Należy rozważyć wykonanie operacji metodą laparoskopową, jeżeli nowotwór jest odpowiednich rozmiarów (<5-8cm), w lokalizacji o łatwym dostępie, a operator ma doświadczenie w takich operacjach i jest w stanie wykonać zabieg z resekcją R0. Za stosowaniem dostępu laparoskopowego przemawia krótszy czas trwania operacji, mniejsza utrata krwi, mniejszy odsetek komplikacji i krótszy czas rekonwalescencji, przy czym tendencja do nawrotów i długotrwałe przeżycie jest porównywalne do operacji sposobem laparotomii (Chen i in. 2017; Rutkowski i Szumera-Ciećkiewicz 2018).

Leczenie adjuwantowe i neoadjuwantowe

Leczenie farmakologiczne w terapii GIST dopełnia leczenie chirurgiczne. Stosowane jest w przypadku dużego ryzyka nawrotu choroby, przy nieradykalnym wycięciu, uszkodzeniu torebki guza oraz w zaawansowanych przypadkach GIST, w których pełna resekcja jest niemożliwa lub znacznie utrudniona. Leczenie adjuwantowe imatynibem powinno trwać 3 lata od momentu resekcji pierwotnego ogniska. Taka terapia może przedłużyć czas przeżycia wolny od nawrotu choroby (RFS, relapse-free survival) i przeżycie całkowite (OS, overall survival) w porównaniu ze schematem

rocznej terapii (5-letnie RFS 65,6% vs. 47,9% oraz 5-letnie OS 92% vs. 81,7% dla - odpowiednio - 36-miesięcznej i 12-miesięcznej terapii imatynibem) (Joensuu i in. 2012). W przypadku nowotworów nieoperacyjnych lub o granicznej operacyjności możliwe jest rozpoczęcie leczenia od terapii neoadjuwantowej imatynibem z możliwością podjęcia zabiegu chirurgicznego po 6-12 miesiącach (w zależności od kontroli w badaniach obrazowych). Po leczeniu neoadjuwantowym, bez względu na przebieg zabiegu, należy kontynuować stosowanie leku w terapii adjuwantowej do łącznego, trzyletniego czasu trwania terapii (Rutkowski i Szumera-Ciećkiewicz 2018).

Imatynib

Metanosulfonian imatynibu stanowi przełom w praktyce klinicznej GIST. Wykorzystywany jest w leczeniu pierwszego wyboru w przypadku GIST przerzutowych, nieoperacyjnych, nawrotach po poprzednich operacjach oraz w leczeniu neoadjuwantowym i adjuwantowym. Standardowo podaje się 400mg imatynibu dziennie. Wyjątek stanowi GIST z mutacją *KIT* w eksonie 9, gdzie stosowaną dawką jest 800 mg/dzień. Zwiększona dawka bywa również stosowana w przypadku braku odpowiedzi na standardową ilość leku lub wtórne obniżenie wrażliwości. W przypadkach nieoperacyjnych GIST uznaje się za stosowne przyjmowanie imatynibu do czasu progresji nowotworu (przerwanie stosowania leku zazwyczaj skutkuje rychłą progresją). Jeśli progresja następuje po zwiększeniu dawki imatynibu do 800 mg, należy rozważyć zastosowanie leczenia II linii. (Nishida i in. 2016).

Sunitynib

Jest to inhibitor wielokinazowy działający na kinazy tyrozynowe receptora *KIT*, *PDGFRA*, naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu i *FLT3*, zarejestrowany jako lek drugiego rzutu. Stosowany zazwyczaj w przypadku oporności na imatynib (mutacja *KIT* w eksonie 9 lub „*Wild type*”) w schemacie 50mg na dzień - 4 tygodnie terapii, 2 tygodnie przerwy (Casali i In. 2018).

Regorafenib

Po potwierdzeniu progresji przy stosowaniu sunitynibu (lub jego nietolerancji), należy rozważyć podanie regorafenibu. Wykorzystuje się dawkę początkową 160mg dziennie w schemacie: 3 tygodnie terapii, 1 tydzień przerwy. Lek ten został zarejestrowany jako zalecana opcja terapeutyczna w III linii leczenia (Nishida i in. 2016).

Inne leki

W Polsce u chorych, u których imatynib i sunitynib okazały się nieskuteczne, w ramach programu lekowego można stosować sorafenib. W przypadku dalszej progresji zaleca się możliwość włączenia chorego do badań klinicznych z nowymi lekami. Inną możliwością jest próba ponownego stosowania imatynibu w dawce 400mg, jeśli pacjent wcześniej był wrażliwy na tę substancję (Rutkowski i Szumera-Ciećkiewicz 2018).

Ocena odpowiedzi na leczenie

Kliniczna odpowiedź na leczenie może pojawiać się w różnym tempie. Standardem jest ocena zmian w TK co 4 miesiące w początkowej fazie terapii. Ocenie powinien podlegać zarówno rozmiar guza jak i jego gęstość (wzrost guza przy obniżeniu jego gęstości może wskazywać na prawidłową odpowiedź na leczenie). Wykorzystuje się do tego kryteria Choi oraz RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors). Można również wykonać badanie rezonansem magnetycznym, ultrasonografią lub PET-FDG. Ostatnia z podanych metod jest bardzo czuła i pomaga w przypadku wątpliwości lub potrzeby wczesnej oceny odpowiedzi na leczenie (Poveda i in. 2017).

Obserwacja długofalowa

Obserwacja długofalowa pacjentów jest w znacznej mierze spersonalizowana. W niektórych ośrodkach pacjenci z grupy wysokiego ryzyka przechodzą rutynowe badania kontrolne w postaci TK lub MRI jamy brzusznej co 3–6 miesięcy podczas leczenia adjuwantowego, które trwa 3 lata. Następnie badania obrazowe wykonywane są co 3 miesiące przez 2 lata, po czym co 6 miesięcy przez 3 lata i corocznie przez kolejne 5 lat. GIST bardzo niskiego ryzyka prawdopodobnie nie

wymaga rutynowej kontroli, a przy nowotworach niskiego ryzyka można rozważyć kontrolę TK raz do roku (D'Ambrosio i in. 2017).

4. Podsumowanie i wnioski

Wydaje się, iż nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego są rzadką chorobą, jednak ze względu na powszechność diagnostyki endoskopowej, dostępność diagnostyki molekularnej oraz względne ujednoczenie kryteriów diagnostycznych częstość ich wykrywania znacząco wzrasta. Podstawą leczenia GIST jest resekcja chirurgiczna. Właściwa identyfikacja guzów podścieliskowych przewodu pokarmowego jest niezwykle istotna ze względu na dostępność specyficznej, celowanej molekularnie terapii inhibitorami kinaz tyrozynowych *KIT/PDGFR* stosowanej samodzielnie lub łącznie z resekcją chirurgiczną w zależności od lokalizacji i stopnia złośliwości GIST. Z nowych badań wynika, że genotypy GIST mogą być przydatne w szacowaniu odpowiedzi na leczenie w kolejnych rzutach terapii.

5. Literatura

- Akahoshi K, Oya M, Koga T i in. (2018) Current clinical management of gastrointestinal stromal tumor. *World J Gastroenterol* 24(26): 2806-2817.
- Casali P G, Abecassis N, Bauer S. et al. (2018) Gastrointestinal stromal tumours: ESMO–EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 29 (Supplement 4): iv68–iv78.
- Chen K, Zhang B, Liang YL et al. (2017) Laparoscopic Versus Open Resection of Small Bowel Gastrointestinal Stromal Tumors: Systematic Review and Meta-Analysis. *Chinese medical journal* 130(13): 1595–1603.
- D'Ambrosio L, Palesandro E, Boccone P et al. (2017). Impact of a risk-based follow-up in patients affected by gastrointestinal stromal tumour. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 78: 122–132.
- Guzińska-Ustymowicz K, Nasierowska-Guttmejer A, Czartoryska-Arlukowicz B (2013) Significance of cooperation between pathomorphologist and oncologist in the treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST) *Onkologia w praktyce klinicznej* 9(3): 89-96.
- Joensuu H, Eriksson M, Sundby Hall K et al. (2012) One vs three years of adjuvant imatinib for operable gastrointestinal stromal tumor: a randomized trial. *JAMA* 307(12): 1265–1272.
- Judson I, Demetri G (2007) Advances in the treatment of gastrointestinal stromal tumours. *Annals of Oncology*. 18 (Supplement 10): x20-4.
- Luo XF, Zhou LH (2017) Prognostic significance of neutrophil to lymphocyte ratio in patients with gastrointestinal stromal tumors: A meta-analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 477: 7-12.
- Miettinen M, Lasota J (2006) Gastrointestinal stromal tumors: review on morphology, molecular pathology, prognosis, and differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 130(10): 1466-1478.
- Nishida T, Blay JY, Hirota S et al. (2016) The standard diagnosis, treatment, and follow-up of gastrointestinal stromal tumors based on guidelines. *Gastric Cancer* 19(1): 3-14.
- Parab TM, DeRogatis MJ, Boaz AM et al. (2019) Gastrointestinal stromal tumors: a comprehensive review. *Journal of Gastrointestinal Oncology* 10(1): 144-154.
- PDQ® Adult Treatment Editorial Board. PDQ Gastrointestinal Stromal Tumors Treatment (Adult). Bethesda, MD: National Cancer Institute. Aktualizacja: 16.09.2020 <https://www.cancer.gov/types/soft-tissue-sarcoma/hp/gist-treatment-pdq> Dostęp: 20.12.2020
- Poveda A, García Del Muro X, López-Guerrero JA et al. (2017) GEIS guidelines for gastrointestinal sarcomas (GIST). *Cancer treatment reviews* 55: 107-119.
- Rutkowski P, Kulig J, Krzakowski M i in. (2011) Zasady postępowania diagnostyczno-terapeutycznego u chorych na nowotwory podścieliskowe przewodu pokarmowego (GIST). *NOWOTWORY Journal of Oncology* 1: 70-80.
- Rutkowski P, Szumera-Ciećkiewicz A (2018) Gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Oncol Clin Pract* 14: 487-496.

- Søreide K, Sandvik OM, Søreide JA et al. (2016) Global epidemiology of gastrointestinal stromal tumours (GIST): A systematic review of population-based cohort studies. *Cancer Epidemiology* 40: 39-46.
- Tan S, Chen P, Ji J, et al. (2018) Genomic Subtypes of GISTs for Stratifying Patient Response to Sunitinib following Imatinib Resistance: A Pooled Analysis and Systematic Review. *Hindawi Disease Markers* Volume Article ID 1368617, 9 pages
- Wei K, Pan B, Yang H et al. (2018) F-18 FDG PET, CT, and MRI for detecting the malignant potential in patients with gastrointestinal stromal tumors A protocol for a network meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Medicine* 97:16(e0389).
- Yi M, Xia L, Zhou Y et al. (2019) Prognostic value of tumor necrosis in gastrointestinal stromal tumor. *Medicine* 98:17(e15338).

6. Fluorescencja indukowana zielenią indocyjaninową- nowe możliwości w chirurgicznym leczeniu zaawansowanego raka jelita grubego

Indocyanine green induced fluorescence - new possibilities in the surgical treatment of advanced colorectal cancer

Martyna Janczewska⁽¹⁾, Emilia Langa⁽¹⁾, Jakub Radulski⁽¹⁾, Joanna Kobak⁽¹⁾, Karol Bochyński⁽¹⁾, Michał Korab⁽¹⁾, Zuzanna Gwóźdź⁽¹⁾, Norbert Nowak⁽²⁾

⁽¹⁾II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Nowotworów Układu Pokarmowego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

⁽²⁾II Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Nowotworów Układu Pokarmowego, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 w Lublinie

Opiekun naukowy: prof. dr hab. n. med. Andrzej Dąbrowski, prof. dr hab. n. med. Grzegorz Wallner

Martyna Janczewska: m.janczewska2002@gmail.com

Słowa kluczowe: nieszczelność zespolenia, węzły wartownicze, obrazowanie śródoperacyjne

Streszczenie

Rak jelita grubego (CRC) jest jednym z najczęściej rozpoznawanych nowotworów złośliwych na świecie. W zaawansowanym stadium często daje przerzuty do wątroby. W praktyce klinicznej, chirurgiczne leczenie raka jelita grubego i jego przerzutów stanowi duże wyzwanie z uwagi na utrudnioną identyfikację i obrazowanie przedoperacyjne ognisk przerzutów w wątrobie, ustalenie miejsca wykonania zespolenia jelita po resekcji guza, oraz wykrycie węzła wartowniczego (SLN).

Nowoczesną metodą, umożliwiającą śródoperacyjną wizualizację zmian nowotworowych w czasie rzeczywistym jest fluorescencja indukowana zielenią indocyjaninową (ICGFI).

Zastosowanie ICGFI pozwala chirurgowi uwidocznić mikroskopowe zmiany nowotworowe, nawet zmiany resztkowe i dokładnie wyznaczyć granicę nacieku nowotworowego w miększu wątroby, która jest niewidoczna gołym okiem bez zastosowania ICGFI.

Często spotykanym powikłaniem resekcji jelita grubego jest nieszczelność zespolenia. Wizualizacja z użyciem ICG (indocyanine green) uwidacznia granice dobrego ukrwienia końców jelita, dzięki czemu chirurg nie ma wątpliwości co do wybrania właściwego miejsca wykonania zespolenia, unikając martwicy a następnie nieszczelności zespolenia. Wpływa to na istotne zwiększenie całkowitego czasu przeżycia pacjentów (OS, overall survival).

Ponadto ICGFI umożliwia mapowanie węzłów chłonnych w czasie rzeczywistym, co pozwala na rozpoznanie SLN, kluczowe dla precyzyjnego określenia stadium zaawansowania nowotworu.

Na podstawie przeanalizowanej literatury można stwierdzić, że ICGFI znacząco poprawia wyniki chirurgicznego leczenia pacjentów z zaawansowanym CRC oraz przerzutami do wątroby.

1. Wstęp

Rak jelita grubego (CRC) jest trzecim najczęściej rozpoznawalnym nowotworem oraz drugą najczęstszą przyczyną zgonu z powodu raka na świecie (GLOBOCAN, 2020). Obserwuje się ciągły wzrost liczby zachorowań, rokowanie pacjentów z CRC w znaczącym stopniu zależy od występowania przerzutów odległych, które najczęściej lokalizują się w wątrobie (Van Der Vorst i in. 2013). Według najnowszych statystyk nawet 70% pacjentów z rakiem jelita grubego ostatecznie rozwija przerzuty do wątroby (van der Pool i in. 2012).

Leczenie CRC z przerzutami do wątroby uległo znaczącej poprawie w ciągu ostatniej dekady. Chorzy, którzy wcześniej byli uznawani za przypadki nieoperacyjne dzięki leczeniu nowoczesnymi schematami chemioterapeutycznymi, uzyskują zmniejszenie/regresję guza co pozwala na operacyjne wycięcie nowotworu. Osoby, u których przeprowadzono zabieg resekcji CRLM pięcioletni wskaźnik przeżycia wynosi od 36% do 60% (Van Der Vorst i in. 2013). Niestety,

mimo znacznej poprawy przedoperacyjnych metod obrazowania, wprowadzenia terapii neoadjuwantowej czy ulepszenia technik chirurgicznych, nawroty zdarzają się u 11% do 37,5% pacjentów po CRLM, należy podkreślić że do 85% nawrotów pojawia się w ciągu 2 lat od operacji (Van Der Vorst i in. 2013). Uważa się, że tak wysoki odsetek wczesnych nawrotów może wynikać z obecności niewielkich przerzutowych zmian nowotworowych niewidocznych „gołym okiem” w miększu wątroby, które są pomijane z powodu stosowania obecnych, niewystarczających przedoperacyjnych i śródoperacyjnych metod diagnostyki (Qi i in. 2019). Zastosowanie nowoczesnych metod obrazowania śródoperacyjnego podczas resekcji CRLM, w celu uniknięcia pozostawienia niewielkich zmian przerzutowych, może pomóc w zapobieganiu nawrotom choroby nowotworowej i poprawić wskaźniki wyleczeń.

Operacje resekcji CRC wiążą się z licznymi powikłaniami, wśród których jednym z najczęstszych jest nieszczelność zespolenia (AL). Wystąpienie AL wiąże się z pogorszeniem krótkoterminowych, jak i długoterminowych wyników leczenia pacjentów, a według niektórych badań jest związane ze zmniejszeniem całkowitego przeżycia (OS) i zwiększonym odsetkiem nawrotów miejscowych (LR) po resekcji raka jelita grubego (Renhui i in. 2018). Jak podaje piśmiennictwo, aż 32% chorych z nieszczelnością zespolenia umiera z powodu tego powikłania (Kudszus i in. 2010). Ponieważ słabe ukrwienie w miejscu zespolenia jest głównym czynnikiem ryzyka wystąpienia AL, kluczową rolę w wyborze miejsca do jego wykonania odgrywa określenie perfuzji końców zaspalanego jelita (Renhui i in. 2018). Dotychczas najczęściej stosowaną techniką była śródoperacyjna ocena wzrokowa, dokonywana przez chirurga. Niestety, biorąc pod uwagę częstość występowania AL, szacowaną nawet na 20% (Renhui i in. 2018), wzrokowa ocena chirurga wydają się być metodą niewystarczającą w tego rodzaju operacjach. Wprowadzenie nowoczesnych technik obrazowania śródoperacyjnego, może znacząco wpłynąć na poprawę wyników operacyjnego leczenia raka jelita grubego.

ICGFI znalazło swoje zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny operacyjnej, dzięki przydatności tej metody w polepszaniu wyników chirurgicznych w operacjach plastycznych, kardiochirurgicznych, wątrobowo-żółciowych i jelita grubego (Qi i in. 2019). Od niedawna również uznają się metodę ICGFI za przydatną w chirurgii onkologicznej jelita grubego i jego przerzutów do wątroby.

Zieleń indocyjaninowa może być używana do nawigacji w czasie rzeczywistym w trakcie hepatektomii, a także do wykrywania czynników wytwarzanych przez komórki rakowe i mapowania wartowniczych węzłów chłonnych (Qi i in. 2019). Wykorzystanie zieleni indocyjaninowej w różnych metodach obrazowania zdaje się zatem być obiecującą metodą w chirurgicznym leczeniu nowotworów, jak i może przyczynić się do zapobiegania niektórym powikłaniom leczenia operacyjnego w przypadku nowotworów układu pokarmowego.

2. Opis zagadnienia

Praca ma charakter przeglądowy. Jej celem jest ukazanie przydatności technik wykorzystujących fluorescencję zieleni indocyjaninowej w diagnostyce i leczeniu pacjentów z rakiem jelita grubego i jego przerzutami do wątroby. Skupiono się głównie na możliwościach wykrywania przerzutów do wątroby, wykrywania węzłów wartowniczych oraz na zmniejszeniu wskaźnika częstości przecieku zespolenia jelita grubego.

3. Przegląd literatury

3.1 Zieleń indocyjaninowa

Zieleń indocyjaninowa (ICG) jest rozpuszczalnym w wodzie anionowym, afilmowym barwnikiem cyjaninowym o masie cząsteczkowej 774,9 kDA (Moody i in. 1999). Podawany dożylnie ICG szybko wiąże się z białkami osocza i lipoproteinami, tworząc nanocząstkę. Barwnik ten jest metabolizowany wyłącznie przez wątrobę, w zależności od wydolności narządu, czas półtrwania ICG wynosi około 3-4 minuty (Moody i in. 1999). Widma emisyjne ICG w osoczu (830 nm) pozwalają na penetrację tkanek do 10-15 mm i uniknięcie autofluorescencji z tkanek endogennych. Atrybuty

amfifilowe i właściwości wiązania białek umożliwiają migrację barwnika w kanałach limfatycznych (De Grand i in. 2006).

W chirurgii wyróżniamy głównie dwa sposoby podawania ICG. Jedną z metod polega na podaniu dożylnym, a następnie obserwacji jego perfuzji podczas laparoskopii. Obraz w zakresie podczerwieni jest nakładany na spektrum światła widzialnego, dzięki czemu chirurg zyskuje możliwość obserwacji hybrydowego obrazu w czasie rzeczywistym. Wykorzystanie ICG opiera się na zasadach jego metabolizmu. W ciągu kilku minut od podaży dożylnej barwnik jest całkowicie usuwany z organizmu. W zdecydowanej większości ICG metabolizuje się w wątrobie i jest wydalany z żółcią. Właściwości te stwarzają duże możliwości zastosowania zieleni indocyjaninowej (Chao Zhang i in. 2019). Drugą opcją jest podanie ICG miejscowo, wokół guza. Będzie on płynął tą samą drogą, jaką sływa chłonka z ogniska nowotworowego, a pierwszym węzłem chłonnym na tej drodze będzie właśnie węzeł wartowniczy. Znacznik przedostaje się z miejsca podania do naczyń limfatycznych i drogą chłonki płynie do węzłów chłonnych regionalnych dla danego narządu i rozwijającego się w nim nowotworu (Abbaci i in. 2016).

3.2 Nieszczelność zespolenia

W metaanalizie przeprowadzonej na podstawie badań na 1177 pacjentach wykazano, że stosowanie śródoperacyjnej fluorescencji indukowanej ICG wiązało się z mniejszą częstością występowania AL po resekcji raka jelita grubego. Zakres zmniejszenia częstości występowania nieszczelności zespolenia wahał się od 4,0% do 12,0%, a procent operacji, które uległy zmianie planu chirurgicznego (tj. zmiana marginesów resekcji) wynosił od 4,7% do 19,0%. Autorzy, na podstawie przeanalizowanych danych, sugerują, że śródoperacyjne zastosowanie metody ICGFI ma związek z niższym wskaźnikiem AL w operacjach raka jelita grubego, prawdopodobnie dzięki precyzyjnemu wyznaczeniu miejsca zespolenia jelitowego (Renhui i in. 2018).

Badanie porównawcze przeprowadzone na grupie 956 chorych na raka jelita grubego, wykazało, że ryzyko wystąpienia AL było znacznie mniejsze w przypadku pacjentów, u których zastosowano metodę ICGFI podczas operacji resekcji raka okrężnicy lub odbytnicy. W grupie badanej 574 pacjentów było operowanych bez zastosowania metody ICGFI, powikłanie AL wystąpiło u 38 pacjentów. Grupę 382 pacjentów poddano operacji z użyciem fluorescencji, problem powikłania pooperacyjnego, w postaci AL dotyczył jedynie 9 pacjentów. Autorzy pracy zwracają szczególną uwagę na przydatność ICGFI w śródoperacyjnej ocenie miejsca zespolenia, poszerzeniu marginesów resekcji lub konieczności rewizji i wykonania ponownego zespolenia. Na zmianę planowanego stopnia zespolenia, ze względu na niską perfuzję końców jelit ujawnioną przez zielen indocyjaninową, zdecydowano się u 7,4% chorych. Według autorów o zmianie planu chirurgicznego decyduje się, jeśli hypoperfuzja jelit zostanie wykryta w obrazowaniu śródoperacyjnym, nawet jeśli jelito wydawało się dobrze ukrwione w ocenie wzrokowej. Ponadto żaden z pacjentów, u którego dokonano zmiany planu operacyjnego nie został poddany reoperacji resekcji lub poprawie zespolenia (Blanco-Colino i in. 2018).

Wyniki badań oceny perfuzji końców jelit podczas operacji resekcji nowotworu jelita grubego za pomocą metody ICGFI przeprowadzone na grupie 107 chorych, wykazały zalety tej metody w leczeniu pacjentów. Na podstawie intensywności fluorescencji zarejestrowanej w świetle podczerwonym (NIR), oceniano perfuzję okrężnicy po kolektomii, przed i po zakończeniu zespolenia. Perfuzja jelita była subiektywnie oceniana przez zespół chirurgiczny, który wskazywał jej poziom jako „odpowiedni” lub „niewystarczający”. Zespół chirurgiczny zdecydował się na dalszą re-resekcję, ze względu na niewystarczającą fluorescencję w planowanych obszarach resekcji u 4 z 107 pacjentów (3,7%) (Boni i in. 2016).

3.3 Obrazowanie wartowniczych węzłów chłonnych

Fluorescencja zieleni indocyjaninowej (ICG) w bliskiej podczerwieni (NIR) może okazać się przydatną techniką do wykrywania wartowniczych węzłów chłonnych (SLN) w raku jelita grubego (CRC) oraz umożliwić ewentualną ich biopsję (SLNB). 5-letnie przeżycie chorych na raka jelita grubego zależy od stopnia zaawansowania choroby w momencie postawienia rozpoznania. Waha się ono od 90% przy zdiagnozowaniu we wczesnym stadium, do 10% przy rozpoznaniu w stadium przerzutów odległych (Emile i in. 2017). Odnalezienie SLN prowadzi do dokładniejszego

określenia stopnia zaawansowania choroby, ze względu na możliwość wykrycia mikroprzerzutów, co jest ważnym czynnikiem prognostycznym. Mapowanie limfatyczne pomaga także w rozpoznaniu nieprawidłowego drenażu limfatycznego, co może mieć wpływ na radykalność limfadenektomii. Ogólna czułość, specyficzność i dokładność tej techniki jest wciąż trudna do określenia, gdyż parametry te różnią się w zależności od czynników technicznych. Zoptymalizowanie mapowania SLN za pomocą NIR ICG wymaga przeprowadzenia dużych, randomizowanych, dobrze zaprojektowanych badań tak, aby wnioski co do przydatności klinicznej tej metody były wiążące (Emile i in. 2017; Xiong i in. 2014).

Przegląd elektronicznych baz danych pod kątem badań dotyczących czułości i swoistości ICGFI pozwolił na wyłonienie 12 badań i 248 pacjentów. Na podstawie ich analizy statystycznej wykazano, że w przypadku wykorzystania techniki ICGFI do wykrywania SLN w raku jelita grubego (CRC) mediany czułości, swoistości i wskaźnika dokładności wynoszą odpowiednio: 73,7%; 100% i 75,7%. Średnia liczba węzłów chłonnych pobranych od pacjenta w zależności od badania wynosiła 9,7-32,9, natomiast średnia liczba dodatnich fluorescencyjnie SLN u pacjenta wynosiła 1,6-10,57. W sumie od 191 pacjentów (9 autorów) pobrano 3351 węzłów chłonnych, z czego 1175 miało histopatologicznie potwierdzone przerzuty. Obserwowano, iż 73% z nich było fluorescencyjnie dodatnich, a 27% fluorescencyjnie negatywnych (wyniki fałszywie negatywne). Mediany czułości fluorescencji, swoistości fluorescencji, pozytywnej wartości predykcyjnej i ujemnej wartości predykcyjnej wynosiły odpowiednio: 73,7%; 100%; 100% i 96,7%. Nie bez znaczenia okazał się również sposób podania zieleni indocyjaninowej. Najwyższą czułość (89%) i dokładność miała ICG podana w dawce 0,25 mg/kg, a nie w ustalonym stężeniu na 1 ml. Najwyższą czułość (100%) ma podanie ICG w iniekcji przedoperacyjnej, natomiast największą swoistość (100%) i dokładność (80,2%) ma wstrzyknięcie śródoperacyjne. Wykorzystanie fluorescencji NIR ICG oprócz detekcji wartowniczych węzłów chłonnych ma również inne zastosowania w chirurgii jamy brzusznej, między innymi pozwala na wykrywanie zajęcia otrzewnej w przebiegu CRC, czy na identyfikację moczowodu podczas mobilizacji i rozwarstwienia okrężnicy (Emile i in. 2017).

3.4 Przerzuty raka jelita grubego do wątroby

W chirurgii wątroby i dróg żółciowych metoda ICGFI jest wykorzystywana do wizualizacji anatomii dróg żółciowych, guzów wątroby i segmentów wątrobowych, w oparciu o właściwości barwnika i wydalanie go z żółcią po wchłonięciu wrotnym. Równocześnie z rozwojem cholangiografii fluorescencyjnej podjęto próby stosowania tej metody do identyfikacji guzów wątroby, opierając się na fakcie, iż zieleń indocyjaninowa gromadziła się w tkankach nowotworowych raka wątrobowokomórkowego (HCC) oraz w miększu wątroby wokół ognisk gruczolakoraka. Wraz z rozwojem laparoskopowych systemów obrazowania, technika ta zaczęła być stosowana klinicznie do identyfikacji podtorebkowych guzów wątroby podczas laparoskopowej hepatektomii, operacji otwartej, a także podczas operacji resekcji CRC w celu identyfikacji CRLM (Ishizawa i in. 2014).

W badaniu przeprowadzonym przez Naskaseko i in., wszyscy pacjenci poddani leczeniu chirurgicznemu guzów wątroby przeszli test retencji ICG. Postawiono hipotezę, że barwnik ICG pozostanie w tkankach nowotworowych nawet po wydaleniu ze zdrowego miększu wątroby, pozwalając na łatwą identyfikację guza podczas śródoperacyjnej wizualizacji. Stwierdzono, że metoda ICGFI, pozwoliła zidentyfikować wszystkie potwierdzone mikroskopowo nowotwory złośliwe pobranych wycinków. Autorzy badania wyróżnili trzy grupy, do których zakwalifikowali guzy wątroby: całkowita fluorescencja- w której wszystkie tkanki nowotworowe wykazywały jednolitą fluorescencję, częściowa fluorescencja- niektóre tkanki guza były uwidocznione dzięki fluorescencji oraz fluorescencja obręczy- tkanki nowotworowe nie były wybarwione przez fluorescencję, ale otaczający je miększ wątroby został wybarwiony. Powiązano typ fluorescencji z rodzajem tkanki nowotworowej. W grupie fluorescencji całkowitej znalazły się guzy HCC dobrze zróżnicowane, natomiast fluorescencja obręczy dotyczyła słabo zróżnicowanych HCC i CRLM (Naskaseko i in. 2018). Istnieje teoria, że typ fluorescencji obręczy występujący w guzach CRLM jest spowodowany przez otaczające guza niedojrzałe hepatocyty, które charakteryzują się zmniejszoną zdolnością do wydalania żółci (Van Der Vorst i in. 2013). Autorzy wyżej omówionego badania,

zwracają uwagę, że niezależnie od rodzaju guza, metoda ICGFI jest prosta i szczególnie przydatna do identyfikacji podtorebkowych guzów wątroby. Oprócz tego, jest ona przydatna w identyfikacji granic segmentów wątrobowych podczas anatomicznej hepatektomii (Ishizawa i in. 2018).

Autorzy pracy badawczej, której celem była ocena potencjału śródoperacyjnego obrazowania fluorescencyjnego NIR w poprawie onkologicznej resekcji przerzutów z jelita grubego do wątroby, przeprowadzili dwa badania- przedkliniczne, przeprowadzone na szczurach, oraz kliniczne, z udziałem pacjentów z CRLM. W badaniu przedklinicznym sprawdzano wpływ czasu wstrzyknięcia ICG przed zabiegiem chirurgicznym i dawki ICG na kontrast między fluorescencyjną obwódką wokół przerzutów do wątroby a prawidłową tkanką wątroby. Stwierdzono, że najwyższy współczynnik guza do wątroby (TLR), osiągnięto po podaniu dożylnym ICG 72 godziny przed operacją. Zwrócono uwagę, na to, że nawet bardzo małe przerzuty do wątroby, wielkości poniżej 1mm zostały zidentyfikowane za pomocą fluorescencji ICG. Wyniki badania przedklinicznego zostały zastosowane w badaniu klinicznym, w celu optymalizacji śródoperacyjnej identyfikacji przerzutów do wątroby za pomocą ICG. Zaobserwowano, że intensywność fluorescencji obręczy wokół CRLM była znacznie wyższa niż sygnał fluorescencji w zdrowym miększu wątroby. Za pomocą metody obrazowania fluorescencyjnego wykryto łącznie 71 zmian histologicznie potwierdzonych jako przerzuty, z których wszystkie znajdowały się <6,2 mm od powierzchni torebki wątroby. Stwierdzono, że 66 z 71 zmian zidentyfikowanych za pomocą fluorescencji ICG pokrywało się z konwencjonalnym obrazowaniem. Co najistotniejsze, u 5 pacjentów guzy CRLM zostały wykryte tylko i wyłącznie dzięki zastosowaniu metody ICGFI, nie były one widoczne w metodach konwencjonalnego obrazowania np. tomografii komputerowej (TK), śródoperacyjnej ultrasonografii (IOUS), ocenie wzrokowej czy podczas śródoperacyjnego badania palpacyjnego. Histologiczna ocena pobranych wycinków od tych 5 pacjentów, potwierdziła, że były to zmiany CRLM. Na podstawie wyraźnego fluorescencyjnego pierścienia ICG wokół zmiany, zidentyfikowano przerzut raka jelita grubego do wątroby, który w badaniach IOUS i TK rozpoznany był jako skomplikowana torbiel. Metoda ICGFI miała swoją wadę, ponieważ 26 CRLM zobrazowanych za przy użyciu konwencjonalnych metod, nie było uwidocznionych za jej pomocą. Wszystkie te zmiany były zlokalizowane głębiej niż 8 mm od torebki wątroby. Jednakże, wszystkie zmiany zlokalizowane powierzchownie, zostały zidentyfikowane za pomocą ICGFI (Van Der Vorst i in. 2013).

4. Podsumowanie

Leczenie raka jelita grubego stanowi duże wyzwanie dla współczesnej medycyny. Poszukując nowych metod chirurdzy koncentrują się głównie na aspektach takich jak leczenie operacyjne CRC i jego przerzutów, ustalenie miejsca wykonania zespolenia jelita po resekcji guza oraz wykrycie węzła wartowniczego.

Uważa się, że przerzuty do wątroby w około 50% przypadków zachowują resekcyjność, co zdecydowanie wpływa na rokowanie pacjentów. Wysoki odsetek wczesnych nawrotów w przypadku CRC może wynikać z obecności niewielkich, niewykrywanych przerzutowych zmian nowotworowych, które są pomijane przy użyciu obecnych przedoperacyjnych i śródoperacyjnych metod wykrywania. W związku z tym, zastosowanie technologii obrazowania śródoperacyjnego może zapobiec nawrotom guza i poprawić wskaźniki wyleczeń.

Dowiedzione zostały znaczące korzyści płynące z ICGFA, która dosłownie i w przenośni „rzuca światło” na kwestię nieszczelności zespolenia. Wykazano ogólne zmniejszenie wskaźnika przecieków, a w niektórych badaniach zastosowanie tej metody wpłynęło na zmianę planu zakresu operacji i marginesów resekcji.

ICGFA w bliskiej podczerwieni wydaje się być przydatną i bezpieczną metodą wykrywania wartowniczych węzłów chłonnych w raku jelita grubego. Odnalezienie SLN i możliwość wykrycia w nim mikroprzerzutów, odpowiada za dokładniejsze określenie stopnia zaawansowania choroby, który wpływa na 5-letnie przeżycie.

Obrazowanie fluorescencyjne ICG jest bezpiecznym i obiecującym narzędziem, które może okazać się niezwykle pomocne w codziennej praktyce klinicznej.

5. Literatura

- Abbaci M, Dartigues P, De Leeuw F, et al. (2019) Patent blue V and indocyanine green for fluorescence microimaging of human peritoneal carcinomatosis using probe-based confocal laser endomicroscopy. *Surgical Endoscopy* 30(12):5255-5265.
- Blanco- Colino R, Espin- Basany E (2018) Intraoperative use of ICG fluorescence imaging to reduce the risk of anastomotic leakage in colorectal surgery: a systematic review and meta-analysis. *Techniques in Coloproctology* 22: 15-23.
- Boni L, David G, at al. (2016) Indocyanine green-enhanced fluorescence to assess bowel perfusion during laparoscopic colorectal resection. *Surgical Endoscopy* 30: 2736-27424.
- De Grand AM, Lomnes SJ, Lee DS, at al. (2006) Tissue-like phantoms for near-infrared fluorescence imaging system assessment and the training of surgeons. *Journal of Biomedical Optics* 11 (1): 014007.
- Emile SH, Elfeki H, Shalaby M, et al. (2017) Sensitivity and specificity of indocyanine green near-infrared fluorescence imaging in detection of metastatic lymph nodes in colorectal cancer: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Surgical Oncology* 116(6):730-740.
- Ishizawa T, Masuda K, Urano Y, at al. (2014) Mechanistic background and clinical applications of indocyanine green fluorescence imaging of hepatocellular carcinoma. *Annals of Surgical Oncology* 21 (2): 440-448.
- Kudszus S, Roesel C, Schachtrupp A, et al. (2010) Intraoperative laser fluorescence angiography in colorectal surgery: a noninvasive analysis to reduce the rate of anastomotic leakage. *Langenbecks Arch Surgery* 395(8):1025-30.
- Moody ED, Viskari PJ, Colyer CL (1999) Non-covalent labeling of human serum albumin with indocyanine green: a study by capillary electrophoresis with diode laser-induced fluorescence detection. *Journal of Chromatography B* 729:55–64
- Nakaseko Y, Ishizawa T, Saiura A (2018) Fluorescence-guided surgery for liver tumors. *Journal of Surgical Oncology* 118(2): 324-331.
- Qi C, Zhang H, Chen Y, et al. (2019) Effectiveness and safety of indocyanine green fluorescence imaging-guided hepatectomy for liver tumors: A systematic review and first meta-analysis. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 28, 346–353.
- Renhui Shen T, Zhang Y (2018) Indocyanine green fluorescence angiography and the incidence of anastomotic leak after colorectal resection for colorectal cancer: A meta-analysis. *Diseases of the Colon and Rectum* 10: 1228- 1234.
- van der Pool AE, Damhuis RA, Ijzermans JN, et al. (2010) Trends in incidence, treatment and survival of patients with stage IV colorectal cancer: a population-based series. *Colorectal Disease* 14(1):56-61.
- van der Vorst J, Schaafsma B, Hutteman M, at al. (2013) Near-infrared fluorescence-guided resection of colorectal liver metastases. *Cancer* 119 (18): 3411-3418.
- Xiong L, Gazyakan E, Yang W, et al. (2014) Indocyanine green fluorescence-guided sentinel node biopsy: A meta-analysis on detection rate and diagnostic performance. *European Journal of Surgical Oncology* 40 (7): 843- 849.
- Zang C, Lin H, Fu R, et al. (2019) Application of indocyanine green fluorescence for precision sublobar resection. *Thoracic Cancer* 10 (4): 624-630.

7. Omekamtiw mekarbilu oraz wericiguat w leczeniu przewlekłej niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową

Omecamtiv mecarbil and vericiguat in chronic heart failure with reduced ejection fraction

Dominik Kurczyński, Kaja Pelar, Mariusz Kowaliński

Koło Studenckiego Towarzystwa Naukowego przy II Katedrze i Oddziale Klinicznym Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach.

Opiekun naukowy: dr hab. n. med. Andrzej Tomasik

Kurczyński Dominik: domkurczynski@gmail.com

Słowa kluczowe: HFrEF, leki, hospitalizacja

Streszczenie

Niewydolność serca stanowi znaczne obciążeniem społeczne, ma negatywny wpływ na jakość życia i wiąże się ze złym rokowaniem zarówno w perspektywie krótkoterminowej, jak i odległej. W ostatnim czasie dokonał się znaczny postęp w leczeniu niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową. Do terapii wprowadzono sakubityryl/walsartan, a wyniki badań nad flozynami wskazują na ich wysoką skuteczność w zmniejszaniu częstości hospitalizacji. Kolejnymi lekami, które mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu niewydolności serca ze zredukowaną frakcją wyrzutową są omekamtiw mekarbil oraz wericiguat. Omekamtiw mekarbil to lek inotropowy, będący selektywnym aktywatorem sercowej miozyny przyspieszającym konwersję kompleksu aktywno-miozyna do stanu związanego. Pozwala on na wydłużenie fazy skurczu, zwiększenie frakcji wyrzutowej oraz objętości wyrzutowej. Wericiguat to doustny stymulator rozpuszczalnej cyklicznej guanylowej (sGC), który uwalnia ją na działanie endogennego tlenku azotu.

Fizjologicznie tlenek azotu poprzez oddziaływanie na sGC powoduje syntezę cyklicznego guanozyno-monofosforanu (cGMP), który wywiera szereg korzystnych efektów, takich jak: rozkurcz naczyń, zahamowanie agregacji płytek krwi, działanie antyapoptotyczne i przeciwzapalne. Opublikowane badania trzeciej fazy nad omekamtiwem mekarbilu oraz wericiguatem wskazują, że leki te są skuteczne w zapobieganiu hospitalizacji z powodu niewydolności serca.

1. Wstęp

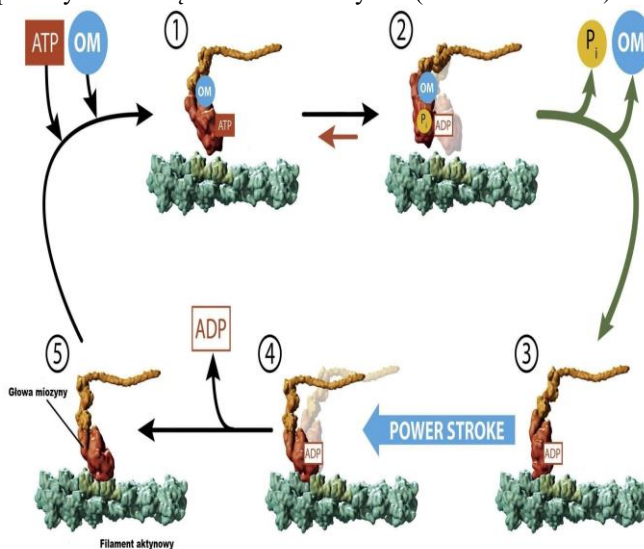
Niewydolność serca (*HF*) to zespół typowych objawów podmiotowych (tj. duszność, obrzęki kończyn dolnych, obniżenie tolerancji wysiłku), którym mogą towarzyszyć odchylenia w badaniu przedmiotowym (takie jak poszerzenie żył szyjnych, trzeszczenia nad płucami, obrzęki obwodowe), spowodowane zaburzeniami w budowie i/lub czynności serca, które powodują zmniejszony rzut serca i/lub zwiększone ciśnienia wewnątrzsercowe w spoczynku lub w trakcie wysiłku (Ponikowski i in. 2016). Niewydolność serca stanowi znaczne obciążeniem społeczne, ma negatywny wpływ na jakość życia i wiąże się ze złym rokowaniem zarówno w perspektywie krótkoterminowej, jak i odległej (Czech M i in. 2013). Wykazano, że HF jest najczęstszą przyczyną hospitalizacji wśród osób po 65. roku życia oraz stanowi przyczynę około 5% wszystkich przyjęć do szpitala (Bohdan i in. 2019). Terminologia stosowana w opisie HF opiera się na pomiarze LVEF (*Left Ventricular Ejection Fraction, frakcja wyrzutowa lewej komory*). Niniejszy artykuł dotyczy postępów w leczeniu niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową (*HFrEF, Heart Failure with reduced Ejection Fraction*) przyjmowaną jako LVEF mniejsza niż 40%.

2. Opis zagadnienia

Terapia niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową opiera się na lekach antagonizujących oś neurohormonalną, z klasycznym połączeniem inhibitorów konwertazy angiotensyny / blokerów receptora angiotensyny (ACEi / ARB), beta-blokerów (karwedilol, bisoprolol oraz długo działający bursztynian metoprololu) i antagonistów receptora

mineralokortykoidów (spironolakton oraz eplerenon). W ostatnim czasie dokonał się jednak znaczny postęp w leczeniu HFrEF. W badaniu PARADIGM-HF zastosowanie sakubitrylu/walsartanu pozwoliło na znaczne zmniejszenie śmiertelności oraz liczby hospitalizacji, a także na istotną poprawę jakości życia chorych w porównaniu z enalaprilem jako placebo (McMurray i in. 2014). Badanie to było pierwszym od dekady, w którym zastosowany lek okazał się skuteczny w leczeniu HFrEF. Wyniki te wpłynęły na wprowadzenie zmian w wytycznych leczenia niewydolności serca Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (Ponikowski i in. 2016). Sakubitryl/walsartan otrzymał rekomendację klasy IB u pacjentów z frakcją wyrzutową lewej komory poniżej lub równej 35%, którzy pozostają objawowi pomimo optymalnej terapii dostępnymi lekami. Podobnie optymistyczne dane dotyczą inhibitorów kotransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2). Leki te, pierwotnie rozpatrywane jako diabetologiczne, w badaniach nad bezpieczeństwem sercowo-naczyniowym wykazały się skutecznością w prewencji wtórnej niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych (szczególnie hospitalizacji z powodu niewydolności serca) u pacjentów z cukrzycą typu 2. (Zinman i in. 2015), (Neal i in. 2017). Wyniki badań DAPA-HF oraz EMPEROR-Reduced wskazują, że leki te są skuteczne również w leczeniu niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową zarówno u pacjentów z cukrzycą typu 2. jak i bez cukrzycy (McMurray i in. 2019), (Packer i in. 2020). W ostatnim czasie dapagliflozyna została dopuszczona przez amerykańską Agencję Żywności i Leków do leczenia HFrEF. Kolejnymi lekami, które mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową są omekamtiw mekarbil oraz wericiguat.

W ostrej niewydolności serca ze zredukowaną frakcją wyrzutową serce nie jest w stanie dostarczyć dostatecznej ilości krwi tkankom. Tradycyjnie ostry wzrost rzutu serca uzyskuje się za pomocą leków inotropowych zwiększających wewnątrzkomórkowy cykliczny monofosforan adenozyliny (cAMP), takich jak katecholaminy lub inhibitory fosfodiesterazy. Jednak środki te zwiększają zużycie tlenu w mięśniu sercowym, predysponują do zagrażających życiu arytmii oraz mogą aktywować szlaki sygnałowe prowadzące do przerostu i śmierci komórek (Maack i in. 2019). Stosowane dotychczas leki mające na celu poprawę funkcji skurczowej serca nie tylko okazały się nieskuteczne w zapobieganiu incydentom sercowo-naczyniowym, ale również mogą zwiększać odległą śmiertelność. (Bistola i in. 2019). Omekamtiw mekarbil należy do grupy leków inotropowych, jednak mechanizm jego działania znacząco różni się od klasycznych przedstawicieli tej klasy leków. Omekamtiw mekarbil to selektywny aktywator sercowej miozyny przyspieszający konwersję kompleksu aktyna–miozyna do stanu związanego (Rys.1). Pozwala on na wydłużenie fazy skurczu, zwiększenie frakcji wyrzutowej oraz objętości wyrzutowej serca bez niekorzystnego zwiększenia napływu jonów wapniowych do wnętrza kardiomiocytów (Psotka i in. 2017).



Rys. 1. Mechanizm działania omekamtiwu mekarbilu (Teerlink i in. 2020).

3. Przegląd literatury

W badaniach na zwierzęcych modelach ostrej pozawałowej niewydolności serca, omekamiw mekarbil wykazał się skutecznością w zwiększaniu minutowego rzutu serca, przy spadku częstości rytmu. W badaniu ATOMIC-HF, u pacjentów z ostrą niewydolnością serca i frakcją wyrzutowa lewej komory poniżej 40% omekamiw mekarbil, w porównaniu do placebo okazał się jednak nieskuteczny w łagodzeniu duszności. U chorych stosujących lek nie zaobserwowano również zwiększenia objętości wyrzutowej (Teerlink i in. 2016).

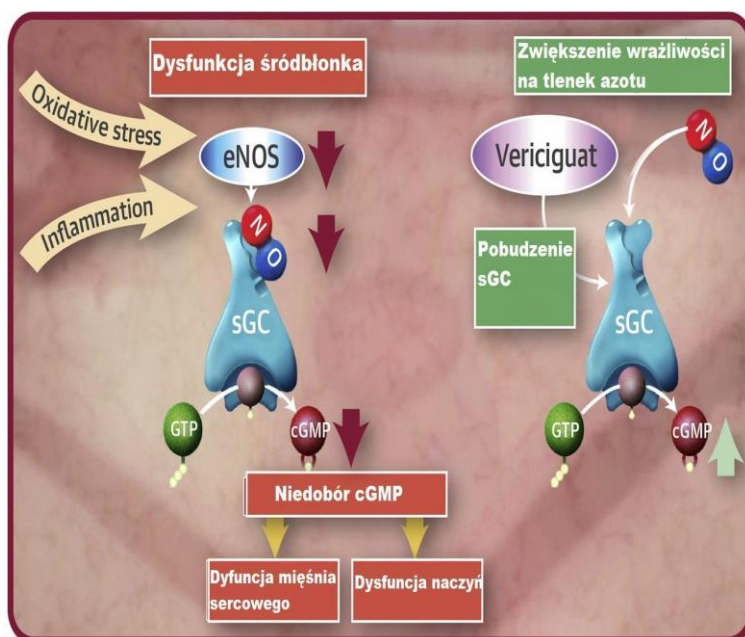
W badaniu drugiej fazy (COSMIC-HF) wykazano, że zastosowanie omekamiwu mekarbilu w grupie pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca i obniżoną frakcją wyrzutową, w porównaniu do placebo wiązało się z istotnym zwiększeniem objętości wyrzutowej (SV), zmniejszeniem wymiaru końcowoskurczowego (LVESd) oraz końcoworozkurczowego lewej komory (LVEDd) (Teerlink i in. 2016). Ponadto w grupie otrzymującej lek zaobserwowano zmniejszenie stężenia N-końcowego fragmentu propeptydu natriuretycznego typu B (NT-proBNP) oraz zwiększenie SET (systolic ejection time). Szczególnie istotna wydaje się poprawa SET, gdyż wyższe wartości tego parametru powiązane są z korzystniejszym rokowaniem w grupie pacjentów z HFrEF (Patel i in. 2020). W badaniu COSMIC-HF u pacjentów leczonych omekamiwem mekarbilu zaobserwowano większe stężenie troponiny sercowej (mediana 0.006 ng/ml (95% CI: 0-0.024 ng/ml). W dotychczasowych badaniach epidemiologicznych wyższe stężenia troponiny sercowych wiązały się z niekorzystnym rokowaniem (Teerlink i in. 2016).

W GALACTIC-HF zbadano wpływ omekamiwu mekarbilu na częstość hospitalizacji oraz śmiertelność sercowo-naczyniową w grupie pacjentów z HFrEF (Teerlink i in. 2020). W badaniu uczestniczyło 8256 pacjentów z frakcją wyrzutową lewej komory poniżej 35%. Średnia wieku wynosiła 66 lat, 62% pacjentów miało chorobę wieńcową; 40% cukrzycę typu 2 a 25% chorych było hospitalizowanych w momencie rejestracji. Leczenie omekamiwem mekarbilu, w porównaniu do placebo wiązało się z istotnym zmniejszeniem ryzyka wystąpienia zgonu sercowo-naczyniowego lub hospitalizacji/nagłej wizyty z powodu zaostrzenia niewydolności serca (37.0% vs 39.1% HR 0.92; 95%CI 0.86-0.99; p=0.03). Nie odnotowano istotnych różnic w śmiertelności sercowo naczyniowej pomiędzy grupami. Nie zaobserwowano również różnic pomiędzy częstością występowania działań niepożądanych pomiędzy badanym lekiem a placebo. Stosowanie omekamiw mekarbilu nie wiąże się z obniżeniem ciśnienia tętniczego. Wydaje się to szczególnie istotne ponieważ większość dostępnych leków stosowanych w leczeniu HFrEF może powodować objawową hipotensję, co często prowadzi do odstawienia leczenia przez chorego (Parwani i in. 2012). Podczas analizy badania wykazano, że efekt działania omekamiwu mekarbilu nie jest jednorodny u wszystkich pacjentów. Korzystne działanie leku zaobserwowano jedynie u chorych z frakcją wyrzutową lewej komory mniejszą niż mediana (28%) (Teerlink i in. 2020).

Vericiguat to doustny stymulator rozpuszczalnej cyklazy guanylowej. Wywiera on wpływ na szlak cyklicznego monofosforanu guanozyny (cGMP) poprzez bezpośrednią stymulację rozpuszczalnej cyklazy guanylanowej (sGC) w miejscu wiązania niezależnym od tlenu azotu. Uwrażliwia tym samym rozpuszczalną cyklazę guanylanową na endogenne tlenek azotu poprzez stabilizację interakcji tlenu azotu z miejscem wiązania (Follmann 2017), (Rys.2). Fizjologicznie tlenek azotu (NO) poprzez oddziaływanie na sGC powoduje syntezę cyklicznego guanozyno-monofosforanu (cGMP), który wywiera szereg korzystnych efektów, takich jak: rozkurcz naczyń, zahamowanie agregacji płytek krwi, działanie antyapoptotyczne i przeciwzapalne. W niewydolności serca dysfunkcja śródbłonna wraz z reaktywnymi formami tlenu zmniejszają biodostępność tlenu azotu, prowadząc do względnego niedoboru rozpuszczalnej cyklazy guanylanowej, a w konsekwencji zmniejszają stężenie cyklicznego guanozyno-monofosforanu (Carnicer i in. 2013).

Badanie fazy 2b SOCRATES-REDUCED obejmowało pacjentów z nasilającą się niewydolnością serca wysokiego ryzyka i obniżoną frakcją wyrzutową. U 456 pacjentów stosownie vericiguatu w dawce 1.25 mg, 2.5 mg, 5 mg oraz 10 mg przez 12 tygodni nie wiązało się z istotnym obniżeniem stężenia NT-proBNP, w porównaniu do placebo (Gheorghiadu i in. 2015). Przeprowadzona przez autorów analiza drugorzędowa wykazała jednak zależność między

zastosowaną dawkę wericiguatu a redukcją w stężeniu NT-proBNP. W badaniu trzeciej fazy VICTORIA oceniono skuteczność i bezpieczeństwo 10 mg wericiguatu w podobnej grupie pacjentów (Armstrong i in. 2020). Do badania włączono 5050 pacjentów z historią pogarszającej się niewydolności serca tj. hospitalizacja z powodu niewydolności serca w ciągu ostatnich 6 miesięcy lub dożylnie leczenie diuretykami bez konieczności hospitalizacji w ciągu ostatnich 3 miesięcy. Uczestnicy leczenia byli zgodnie z obowiązującymi wytycznymi, 60% pacjentów otrzymało potrójną terapię (beta-bloker, antagonistą receptora angiotensyny II) w połączeniu z inhibitorem konwertazy angiotensyny, antagonistą receptora angiotensyny II), a 15% otrzymywało sakubitril/walsartan. Ponadto 32% pacjentów miało wszczepialny kardiowerter-defibrylator, stymulator dwukomorowy serca lub oba urządzenia. Dodanie do terapii wericiguatu wiązało się z istotnym zmniejszeniem ryzyka wystąpienia zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych lub hospitalizacji z powodu niewydolności serca (35.5% vs 38.5% HR 0.90; 95%CI 0.82-0.98; p=0.02). W grupie otrzymującej wericiguat zaobserwowano łącznie 1223 hospitalizacji z powodu niewydolności serca (38.3 na 100 pacjentolat), natomiast w grupie placebo 1336 (42.4 na 100 pacjentolat) (HR 0.91; 95% CI 0.84-0.99; p=0.02). Zgon z jakiegokolwiek przyczyny wystąpił u 512 pacjentów (20.3%) w grupie otrzymującej wericiguat oraz u 534 pacjentów (21.2%) w grupie placebo (HR 0,95; 95% CI 0,84-1,07; p = 0.38). Wericiguat cechował się wysokim profilem bezpieczeństwa, jednak objawowa hipotensja oraz omdlenia częściej występowały w grupie przyjmującej lek niż placebo. Dodatkowo leczenie wericiguatem wiązało się z większym ryzykiem rozwinęcia anemii (7.6% vs 5.7%), w tym ciężkiej anemii (1.6% vs 0.9%).



Rys. 2. Mechanizm działania wericiguatu (Armstrong i in. 2018).

4. Podsumowanie

Starzenie się społeczeństwa oraz niewątpliwy progres w leczeniu chorób układu sercowo-naczyniowego powodują narastanie epidemii niewydolności serca w krajach Europy Zachodniej i USA. Pomimo znacznego postępu w leczeniu niewydolności serca z obniżoną frakcją wyrzutową śmiertelność oraz liczba hospitalizacji w tej grupie chorych pozostaje wysoka. Z uwagi na narastającą liczbę pacjentów z HF, a także związaną z tym liczbę hospitalizacji oraz koszty ponoszone przez społeczeństwo wdrażanie nowych terapii leczenia niewydolności serca jest szczególnie istotne. Badania nad omekamiwem mekarbilu oraz wericiguatem wskazują, że leki te są skuteczne w zapobieganiu hospitalizacji, jednak nie zmniejszają śmiertelności sercowo-naczyniowej.

5. Literatura

- Armstrong PW, Pieske B, Anstrom KJ et al. (2020) Vericiguat in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction *New England Journal of Medicine* 14;382(20):1883-1893.
- Bistola V, Arfaras-Melainis A, Polyzogopoulou E et al. (2019) Inotropes in Acute Heart Failure: From Guidelines to Practical Use: Therapeutic Options and Clinical Practice. *Cardiac failure review* 5(3), 133–139.
- Bohdan M, Tarnawska M, Woś M i in. (2019) Pacjent z niewydolnością serca i obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory po wypisie ze szpitala — co dalej? Patient with heart failure with reduced left ventricular ejection fraction after hospital discharge: what are the next steps? *Varia Medica* 3, (2), 122–130.
- Carnicer R, Crabtree M, Sivakumaran V et al. (2013) Nitric oxide synthases in heart failure. *Antioxidants & redox signaling*, 18(9), 1078–1099.
- Czech M, Opolski G, Zdrojewski T i in. (2013) The costs of heart failure in Poland from the public payer’s perspective. Polish programme assessing diagnostic procedures, treatment and costs in patients with heart failure in randomly selected outpatient clinics and hospitals at different levels of care: POLKARD. *Kardiologia Polska* 71(3): 224–232.
- Follmann M, Ackerstaff J, Redlich G et al. (2017) Discovery of the Soluble Guanylate Cyclase Stimulator Vericiguat (BAY 1021189) for the Treatment of Chronic Heart Failure. *Journal of medicinal chemistry* 60(12), 5146–5161.
- Gheorghiade M, Greene SJ, Butler J et al. (2015) Effect of vericiguat, a soluble guanylate cyclase stimulator, on natriuretic peptide levels in patients with worsening chronic heart failure and reduced ejection fraction: the SOCRATES-REDUCED randomized trial. *Journal of the American Medical Association* 314:2251-2262.
- Maack C, Eschenhagen T, Hamdani et al. (2019) Treatments targeting inotropy. *European Heart Journal* 21;40(44):3626-3644.
- McMurray JJ, Packer M, Desai AS et al. (2014) Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *New England Journal of Medicine* 11:993-1004.
- McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE et al. (2019) Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine* 381(21):1995-2008.
- Neal B, Perkovic V, Mahaffey K. et al. (2017) Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *The New England Journal of Medicine*, 377(7), 644–657.
- Packer M, Anker SD, Butler J et al. (2020) Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *New England Journal of Medicine* 8;383(15):1413-1424.
- Parwani P, Ryan J (2012) Heart failure patients with low blood pressure: how should we manage neurohormonal blocking drugs?. *Circulation. Heart failure* 5(6), 819.
- Patel PA, Ambrosy AP, Phelan M et al.. (2020) Association between systolic ejection time and outcomes in heart failure by ejection fraction. *European Journal of Heart Failure* 22(7):1174-1182.
- Ponikowski P, Voors AA, Anker SD et al. (2016) ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Journal of Heart Failure* 14;37(27):2129-2200.
- Psotka MA, Teerlink JR (2017) Direct Myosin Activation by Omecamtiv Mecarbil for Heart Failure with Reduced Ejection Fraction. *Handbook of experimental pharmacology* 243, 465–490.
- Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, McMurray JJV et al. (2020) Cardiac Myosin Activation with Omecamtiv Mecarbil in Systolic Heart Failure. *New England Journal of Medicine* Nov 13.
- Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJ et al. (2016) Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure (COSMIC-HF): a phase 2, pharmacokinetic, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 10;388(10062):2895-2903.

- Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJV et al. (2016) Acute Treatment With Omecantiv Mecarbil to Increase Contractility in Acute Heart Failure: The ATOMIC-AHF Study. *Journal of the American College of Cardiology* 29;67(12):1444-1455.
- Zinman B, Wanner C, Lachin J et al. (2015) Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *The New England Journal of Medicine* 373(22), 2117–2128.

8. Kardiomiopatia przerostowa a serce sportowca-epidemiologia, diagnostyka różnicowa i leczenie

Athlete's heart or hypertrophic cardiomyopathy-epidemiology, differential diagnosis and treatment

Dominik Kurczyński, Mariusz Kowaliński, Kaja Pelar

Koło Studenckiego Towarzystwa Naukowego przy II Katedrze i Oddziale Klinicznym Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach.

Opiekun naukowy: Dr hab. n. med. Andrzej Tomasiak

Kurczyński Dominik: domkurczynski@gmail.com

Słowa kluczowe: HCM, AHS, mavacamten

Streszczenie

Kardiomiopatia przerostowa (HCM) to choroba cechująca się pogrubieniem ściany lewej komory, które nie wynika jedynie z jej nadmiernego obciążenia. Choroba ta może być przyczyną niewydolności serca (HF), migotania przedsionków (AF) oraz nagłej śmierci sercowej (SCD). W przeciwieństwie do HCM, serce sportowca (AHS) to niepatologiczny stan powszechnie opisywany w medycynie sportowej, w którym serce ulega powiększeniu w wyniku powtarzającego się i znacznego obciążenia. W większości przypadków po zaprzestaniu intensywnych ćwiczeń zmiany te ulegają regresji. Podstawowym narzędziem w diagnostyce AHS pozostaje EKG, natomiast wśród sportowców u których podejrzewa się występowanie kardiomiopatii przerostowej wskazane jest wykonanie badania echokardiograficznego. Podczas gdy AHS nie wymaga leczenia, pacjent z HCM powinien być odpowiednio monitorowany i leczony, a czynniki ryzyka powinny zostać zidentyfikowane indywidualnie w celu prewencji nagłej śmierci sercowej.

1. Wstęp

Kardiomiopatia przerostowa (*hypertrophic cardiomyopathy* - HCM) to choroba cechująca się pogrubieniem ściany lewej komory, które nie wynika jedynie z jej nadmiernego obciążenia. Obraz kliniczny jest zróżnicowany, a do najczęstszych objawów podmiotowych należą duszność wysiłkowa, bóle dławicowe, kołatania serca oraz omdlenia. Główną przyczyną HCM jest mutacja genów kodujących białka strukturalne mięśnia sercowego. Szacuje się, że na tę chorobę cierpi ponad 0,2% populacji dorosłych (Semsarian 2015), co czyni ją jedną z najczęstszych genetycznie uwarunkowanych chorób serca. W przeciwieństwie do HCM, serce sportowca (*Athletic heart syndrome* - AHS) to niepatologiczny stan powszechnie opisywany w medycynie sportowej, w którym serce ulega powiększeniu w wyniku powtarzającego się i znacznego obciążenia serca. Stan ten jest powszechnie uznawany za nie pogarszający jakości życia lub zdrowia, jednak czasem pod tą jednostką może ukrywać się poważny stan chorobowy.

Opis zagadnienia

Diagnostyka HCM jest znacznie utrudniona u osób wyczynowo uprawiających sport. Ogół fizjologicznych zmian adaptacyjnych związanych ze zwiększonym obciążeniem serca u sportowców określany jest mianem serca sportowca (AHS). Do typowych cech AHS należą powiększenie sylwetki serca, obniżenie ciśnienia krwi oraz zmiany w EKG, najczęściej bradykardia zatokowa. Największy wpływ na charakter zmian adaptacyjnych serca ma rodzaj wykonywanej dyscypliny sportowej, z przewagą przerostu koncentrycznego przy wysiłku statycznym oraz przerostu ekscentrycznego przy wysiłku dynamicznym. Mimo swojego fizjologicznego charakteru zmiany te mogą w niektórych przypadkach wymagać różnicowania z HCM. Jest to szczególnie istotne ponieważ HCM pozostaje główną przyczyną nagłej śmierci sercowej (SCD) u sportowców, a postawienie właściwej diagnozy może pozwolić na skuteczną prewencję (Maron 2003). Celem niniejszego artykułu jest opisanie diagnostyki kardiomiopatii przerostowej u sportowców wyczynowych oraz przedstawienie nowych perspektyw w leczeniu HCM.

2. Przegląd literatury

2.1 Epidemiologia

Częstość występowania kardiomiopatii przerostowej w populacji młodych dorosłych oszacowano w badaniu CARDIA (Maron i in., 1995). Po przebadaniu 4111 osób w wieku od 23 do 35 lat rozpoznano u 7 pacjentów, a chorobowość określono jako 0.2%. Jednak z uwagi na postęp w diagnostyce (możliwość zdiagnozowania pacjentów z ujemnym wynikiem badania UKG przy pomocy CMR) i dostępności badań genetycznych, sugeruje się, że może ona wynosić nawet 0.5% (Semsarian 2015). W populacji dziecięcej częstość występowania jest nieznaną, jednak badania populacyjne szacują zapadalność na 0,27 - 0,47/100 000 rocznie (Moak 2012).

2.2 HCM - diagnostyka

Rozpoznanie HCM u dorosłych opiera się na stwierdzeniu grubości ≥ 15 mm jednego lub więcej segmentów ściany LV przy pomocy dowolnej metody (echokardiografia, CT lub CMR). Podejrzenie kardiomiopatii przerostowej mogą wzbudzać objawy takie jak bóle dławicowe, kołatania serca, duszność wysiłkowa lub omdlenia, a także nieprawidłowości w badaniu EKG występujące u 75-95% pacjentów z HCM (Maron 2013). Zalicza się do nich przede wszystkim cechy hipertrofii lewej komory, patologiczne załamki Q oraz nieprawidłowe załamki T (McLeod 2009). W badaniu fizykalnym układu sercowo-naczyniowego zwykle nie wykrywa się nieprawidłowości, z wyjątkiem kardiomiopatii przerostowej ze zwężeniem drogi odpływu lewej komory (LVOT), gdzie może być słyszalne tętno dwubitne i szmer skurczowy w okolicy lewego brzegu mostka, nasilający się przy manewrze Valsalvy.

U wszystkich pacjentów z podejrzeniem HCM powinno zostać wykonane badanie echokardiograficzne. Podstawowym parametrem, który należy ocenić, jest grubość ściany lewej komory we wszystkich segmentach. Należy również ocenić zastawkę mitralną i drogę odpływu lewej komory, ponieważ u około 30% pacjentów występuje zwężenie LVOT spowodowane skurczowym ruchem przedniego płata zastawki mitralnej w spoczynku, a u dalszych 30% zjawisko to występuje w trakcie wysiłku (Maron 2008). Dodatkowo należy ocenić powiększenie lewego przedsionka i funkcję rozkurczową lewej komory, która często jest upośledzona u pacjentów z HCM. W przypadku, gdy uzyskanie odpowiedniego okna diagnostycznego w badaniu echokardiograficznym jest niemożliwe, należy wykonać badanie rezonansu magnetycznego.

2.3 Serce sportowca - diagnoza

Przy rozpoznaniu AHS bierze się pod uwagę obraz kliniczny, EKG oraz wyniki badania echokardiograficznego.. W obrazie EKG mogą występować zmiany wynikające z niższego tętna, zwiększonego napięcia przywspółczulnego, zmniejszonego napięcia współczulnego, strukturalnych adaptacji serca i niejednorodności procesów repolaryzacji w mięśniu sercowym (Fagard 2003). Najczęstszą zmianą obserwowaną w EKG sportowców jest bradykardia zatokowa gdzie liczba uderzeń na minutę nie przekracza 60. U 1/3 sportowców może być obserwowany blok przedsionkowo-komorowy (AV) I stopnia. Rzadziej występujący blok AV II stopnia (Möbitz typu I lub Wenckebacha) pojawia się podczas odpoczynku i zanika podczas ćwiczeń. Bloki wyższego stopnia mogą wskazywać na chorobę serca i są wskazaniem do dalszej diagnostyki. Zmiany morfologiczne zespołu QRS mogą obejmować: zespół QRS wysokiego napięcia, zmiany w załawkach T ze ściany dolnej oraz bocznej (odzwierciedlający przerost LV), głęboką inwersję załamka T ze ściany przednio-bocznej i niepełny blok prawej odnogi pęczka Hisa (Huston 1985). Aby rozpoznać AHS konieczne jest wykluczenie innych zaburzeń powodujących podobne objawy (np. kardiomiopatię przerostową i rozstrzeniową lub chorobę niedokrwinną serca). Gdy wyniki uzyskane z innych metod diagnostycznych są niejednoznaczne, pomocne może być obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego serca (CMR).

2.4 HCM a Serce sportowca

Ponieważ pogrubienie ścian lewej komory może występować fizjologicznie w przypadku sportowców intensywnie trenujących i patologicznie w HCM, należy różnicować serce sportowca z kardiomiopatią przerostową. Pelliccia i wsp. po analizie wyników echokardiografii 974

sportowców, stwierdzili pogrubienie LV ≥ 13 mm jedynie u 16 uczestników badania (Pelliccia i in. 1991). Osoby, które uzyskały wynik w badaniu równy lub przekraczający 13 mm reprezentowały 3 dziedziny sportowe: wioślarstwo, kajakarstwo i kolarstwo z 22 dyscyplin sportowych uwzględnionych w badaniu (a więc dyscyplin o silnie wyrażonych obu składowych wysiłku). U sportowców innych dyscyplin nie stwierdzono przerostu mięśniówki. Górna granica grubości ściany lewej komory zanotowana w badaniu wynosiła 16 mm dlatego można przypuszczać, że sportowcy ze ścianami serca o grubości większej niż 16 mm mogą mieć pierwotne postacie patologicznego przerostu, takie jak kardiomiopatia przerostowa. W badaniu 3500 sportowców, Basavarajaiah i wsp. uzyskali porównywalny wynik 1,5% (53) badanych z pogrubieniem LV ≥ 13 mm (Basavarajaiah i in 2008). Średnia wartość wynosiła 13,6 mm. W tej grupie 50 z 53 miało poszerzoną jamę lewej komory z prawidłową funkcją rozkurczową, co wskazywało na fizjologiczny przerost lewej komory.

Największej czułości diagnostycznej wymagają sportowcy, których grubość ścian lewej komory mieści się w granicach 13-15 mm u mężczyzn i 11-13 mm u kobiet, a więc w szarej strefie pomiędzy fizjologiczną hipertrofią, a HCM. Według Marona i wsp. różnicowanie może ułatwić badanie echokardiograficzne z dokładną oceną charakteru powiększenia ścian oraz wymiarów końcoworozkurczowych lewej komory (Maron i in. 1995). Zarówno w HCM, jak i AHS największemu pogrubieniu ulega część przednia przegrody międzykomorowej, jednak symetryczne pogrubienie innych segmentów mięśniówki jest charakterystyczne dla AHS, hipertrofia w HCM natomiast zwykle jest heterogenna. Dodatkowo wymiar końcoworozkurczowy lewej komory >55 mm, występujący u około 38% sportowców wyczynowych (Spirito 1994), może znacznie ułatwić różnicowanie, ponieważ tej wielkości powiększenie jamy lewej komory występuje zwykle tylko w złym rokowniczo stadium końcowym HCM.

Kardiomiopatię przerostową może sugerować obecność skurczowego ruchu do przodu (SAM) zastawki mitralnej, który widoczny jest w echokardiografii spoczynkowej lub powysiłkowej. Śladowa niedomykalność zastawki mitralnej lub/i zastawki trójdzielnej jest powszechna u pacjentów z AHS i nie powinna być czynnikiem różnicującym. Ostatnim parametrem pomocniczym w echokardiogramie jest kształt fali dopplerowskiej, którego nieprawidłowości silnie sugerują kardiomiopatię przerostową, jednak wynik prawidłowy nie wyklucza rozpoznania HCM z powodu pseudo-normalnych wzorców przepływu (pseudo-normal flow patterns).

Mimo tego że masa mięśniowa lewej komory, grubość ścian i rozmiar komory w AHS są zwiększone, funkcja skurczowa i rozkurczowa serca pozostaje prawidłowa. Natomiast w HCM wskaźniki rozkurczowe mogą być nieprawidłowe. Zmiany te mogą ulegać regresji przez zmniejszenie treningu fizycznego u pacjentów z AHS, ale nie u osób z kardiomiopatią, co wykorzystuje się jako ostateczną próbę zróżnicowania AHS z HCM (Pelliccia, 2002). Jeśli po 3 miesięcznym wstrzymaniu nadmiernego obciążenia serca, przerost zmniejszy się o ≥ 2 mm będzie to zgodne z przebudową którą obserwuje się przy sercu sportowca. Brak regresji wskazuje na HCM. Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego serca (CMR) może zidentyfikować ogniskową hipertrofię niezidentyfikowaną w echokardiografii, szczególnie w koniuszku, przedniej ścianie i tylnej części przegrody międzykomorowej (Czibalmos 2019). Metoda ta pozwala na bardzo dokładne pomiary maksymalnej grubości ściany. CMR nie umożliwia natomiast dobrej oceny funkcji rozkurczowej. Opóźnione wzmocnienie w obrazowaniu po wstrzyknięciu środka kontrastowego (np. gadolinu) wynika z wychwycenia w obszarach objętych włóknieniem i bliznowacenia, szczególnie w segmentach ściany lewej komory i może wskazywać na HCM. Wadą tej techniki jest fakt, że zmiany te nie są obserwowane nawet u 60% pacjentów z HCM. Opóźnione wzmocnienie w CMR jest również widoczne w przypadku kardiomiopatii rozstrzeniowej bez niedokrwienia i może pomóc w odróżnieniu kardiomiopatii rozstrzeniowej z sercem sportowca.

2.5 Leczenie

Podczas gdy AHS nie wymaga leczenia, kroki podejmowane w celu leczenia HCM obejmują farmakoterapię i zabiegi chirurgiczne. Podstawowym zaleceniem jest powstrzymanie się od sportów wyczynowych oraz lekkoatletyki, a także abstynencja od używek. Ponieważ nagła śmierć sercowa jest najpoważniejszym powikłaniem HCM, szczególnie u młodych i bezobjawowych

pacjentów, należy rozważyć zabezpieczenie pacjenta przez wszczepienie kardiowertera-defibrylatora serca (ICD) określając indywidualne czynniki ryzyka. Farmakoterapia objawowego HCM polega na ścisłej kontroli za pomocą beta-adrenolityków lub antagonistów wapnia (werapamilu). Diuretyki i inhibitory ACE (lub antagoniści receptora AT) mogą być stosowane przy objawach zastoju lub współistniejącym nadciśnieniu tętniczym. Amiodaron jest stosowany w celu zapobiegania nawrotom migotania przedsionków. Leczenie przeciwzakrzepowe obejmuje warfarynę, dabigatran, rivaroxaban lub apixaban. W kardiomiopatii przerostowej ze zwężoną drogą odpływu lewej komory (HOCM) stosuje się głównie leczenie beta-blokerami lub werapamilem, które poprawiają wypełnienie LV poprzez wydłużenie czasu trwania rozkurczu. Azotany, inhibitory ACE, antagoniści wapnia typu nifedypiny są przeciwwskazane jako środki zmniejszające obciążenie wstępne lub następcze i utrudniające wypływ krwi. Jeśli farmakoterapia HOCM jest niewystarczająca, standardowymi metodami leczenia pozostają: chirurgiczna miektomia i przezskórna ablacja przegrody (Prinz 2011).

Ze względu na brak danych, nie jest jasne, czy farmakoterapia jest wskazana u pacjentów bezobjawowych. Czynniki ryzyka powinny zostać określone dla każdego pacjenta indywidualnie. Zalecana jest ścisła kontrola nadciśnienia tętniczego i farmakoterapia z użyciem beta-blokerów.

Poza obecnie stosowaną terapią należy wspomnieć o leku mavacamten, który jest nowym farmaceutykiem, mogącym znaleźć zastosowanie w leczeniu HOCM. Lek ten jest pierwszym w swojej grupie selektywnym inhibitorem sercowej ATP-azy miozynowej, który powoduje zmniejszenie tworzenia poprzecznych mostków aktynowo-miozynowych, tym samym redukując kurczliwość mięśnia sercowego i poprawiając jego wykorzystanie energii. Skuteczność leku oceniano w badaniu EXPLORER-HCM (Olivotto 2020), w którym pacjenci z HOCM oraz niewydolnością serca NYHA II lub III przyjmowali lek lub placebo przez 30 tygodni. Punkt końcowy w postaci zwiększenia pVO_2 o $\geq 1,5$ ml/kg/min z poprawą o 1 lub więcej klasę czynnościową NYHA lub zwiększenia pVO_2 o ≥ 3 ml/kg/min bez poprawy klasy czynnościowej osiągnęło 37% (n=123) pacjentów w grupie badanej oraz 17% (n=128) w grupie kontrolnej. Dodatkowo spadek powysiłkowego gradientu w LVOT był znacznie większy w grupie stosującej mavacamten (średnio -47 mmHg), niż w grupie stosującej placebo (średnio -10 mmHg). Mavacamten był również dobrze tolerowany przez pacjentów. W trwającym badaniu VALOR-HCM zostanie również oceniona skuteczność leku u pacjentów w klasie czynnościowej NYHA IV.

2.6 Prognoza

W AHS zmiany EKG i strukturalne są asymptotyczne i nie wpływają niekorzystnie na zdrowie sportowca. W większości przypadków po zaprzestaniu intensywnych ćwiczeń zmiany te ulegają regresji. U 22% sportowców utrzymywało się znaczne powiększenie komory (Pelliccia 2002).

W przypadku HCM rokowanie jest niekorzystne. Mimo, iż śmiertelność z powodu HCM nie jest wysoka (około 1% w skali rocznej) to choroba może być przyczyną niewydolności serca, migotania przedsionków oraz nagłej śmierci sercowej.

Maron i wsp. wskazują, że u 10-20% pacjentów z HCM rozwija się ciężka niewydolność serca (NYHA III lub IV), z częstszym występowaniem u kobiet (Maron i in. 2013). Za najważniejsze czynniki predykcyjne wystąpienia niewydolności serca uznano zwężenie drogi odpływu lewej komory, migotanie przedsionków oraz dysfunkcję rozkurczowa lewej komory. W przypadku zwężenia drogi odpływu lewej komory znaczą poprawę rokowania zaobserwowano u pacjentów poddanych zabiegowi miektomii przegrody międzykomorowej (wskaźnik 10-letniej przeżywalności 83% vs. 61% w grupie pacjentów niepoddanych interwencji chirurgicznej).

Kolejnym powikłaniem kardiomiopatii przerostowej, na jakie wskazują Maron i wsp. jest migotanie przedsionków, które występuje u około 20% pacjentów z HCM, a więc czterokrotnie częściej niż w populacji ogólnej (Maron i in. 2013). Występowanie migotania przedsionków wiązano z wiekiem oraz znacznym powiększeniem lewego przedsionka. Dodatkowo migotanie przedsionków zwiększa ryzyko progresji niewydolności serca oraz udaru niedokrwiennego z chorobowością 6% oraz zapadalnością 0.8% rocznie. W celu zapobiegania incydentom zakrzepowo-zatorowym należy stosować w tej grupie pacjentów leki z grupy antagonistów witaminy K.

Najpoważniejszym obserwowanym powikłaniem jest jednak nagła śmierć sercowa. Maron (2003) po analizie 387 przypadków SCD u młodych sportowców stwierdził, że najczęstszą przyczyną zgonu była HCM, wykryta u 102 (26.4%) pacjentów. Maron i wsp. zwracają jednak uwagę, że ryzyko nagłej śmierci sercowej związanej z HCM maleje wraz z wiekiem i występuje rzadko u pacjentów po 60 roku życia mimo obecności czynników ryzyka (Maron i in. 2013). Najskuteczniejszą metodą prewencji SCD jest wszczepienie kardiowertera-defibrylatora.

3. Podsumowanie

HCM i serce sportowca dzielą istotne różnice obejmujące obserwowane objawy kliniczne, diagnostykę, leczenie i prognozę. Pomimo licznych trudności w diagnostyce ze względu na występowanie "szarej strefy", użycie większej liczby metod diagnostycznych z powodzeniem umożliwia postawienie prawidłowej diagnozy. EKG, echokardiografia i CMR stanowią ważne narzędzie do diagnozowania HCM i różnicowania jej od serca sportowca. Podstawowym narzędziem w diagnostyce AHS pozostaje EKG, natomiast wśród sportowców u których podejrzewamy możliwość istnienia kardiomiopatii przerostowej (grubość ścian lewej komory granicach 13-15 mm u mężczyzn i 11-13 mm u kobiet) wskazane jest wykonanie echokardiografii. Podczas gdy AHS nie wymaga leczenia, pacjent z HCM powinien być odpowiednio monitorowany i leczony a czynniki ryzyka zidentyfikowane indywidualnie dla każdego pacjenta aby uniknąć nagłej śmierci sercowej. Prawidłowe zabezpieczenie pacjenta umożliwia uchronienie go przed głównym powodem śmierci u pacjentów z kardiomiopatią przerostową.

4. Wnioski

Z badań przeprowadzonych na znacznej liczbie sportowców wynika że częstość występowania HCM u sportowców jest wyjątkowo rzadka. Prawdopodobnie HCM jest pierwotnym czynnikiem uniemożliwiającym takim osobom podejmowanie sportu jako kariery zawodowej.

5. Literatura

- Basavarajaiah S, Wilson M, Whyte G et al. (2008) Prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy in Highly Trained Athletes. Relevance to Pre-Participation Screening. *Journal of the American College of Cardiology* 51(10): 1033–1039.
- Czibalmos C, Csecs I, Toth A et al. (2019) The demanding grey zone: Sport indices by cardiac magnetic resonance imaging differentiate hypertrophic cardiomyopathy from athlete's heart. *PLoS ONE* 14(2).
- Fagard R (2003) Athlete's heart. *Heart* 89: 1455–1461.
- Huston T, Puffer JC, Rodney WM (1985) The Athletic Heart Syndrome. *New England Journal of Medicine* 313(1): 24–32.
- Maron BJ (2003) Sudden Death in Young Athletes. *New England Journal of Medicine* 349 (11): 1064–1075.
- Maron BJ, Gardin JM, Flack et al. (1995) Prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy in a General Population of Young Adults. *Circulation* 92(4): 785–789.
- Maron BJ, Maron MS (2013). Hypertrophic cardiomyopathy. *The Lancet* 381: 242–255.
- Maron BJ, Pelliccia A, Spirito P (1995) Cardiac Disease in Young Trained Athletes. *Circulation* 91(5): 1596–1601.
- Maron MS, Olivetto I, Zenovich AG et al. (2006) Hypertrophic cardiomyopathy is predominantly a disease of left ventricular outflow tract obstruction. *Circulation* 114(21): 2232–2239.
- McLeod CJ, Ackerman MJ, Nishimura RA et al. (2009) Outcome of Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy and a Normal Electrocardiogram. *Journal of the American College of Cardiology* 54(3): 229–233.
- Moak JP, Kaski JP (2012) Hypertrophic cardiomyopathy in children. *Heart* 98: 1044–1054.
- Olivetto I, Oreziak A, Barriales-Villa R et al. (2020) Mavacamten for treatment of symptomatic obstructive hypertrophic cardiomyopathy (EXPLORER-HCM): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet* 396(10253) : 759–769.

- Pelliccia A, Maron BJ, De Luca R et al. (2002) Remodeling of left ventricular hypertrophy in elite athletes after long-term deconditioning. *Circulation* 105(8): 944–949.
- Pelliccia A, Maron BJ, Spataro A et al. (1991) The Upper Limit of Physiologic Cardiac Hypertrophy in Highly Trained Elite Athletes. *New England Journal of Medicine* 324(5): 295–301.
- Prinz C, Farr M, Hering D et al. (2011) The diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy. *Deutsches Arzteblatt* 108:209–215.
- Semsarian C, Ingles J, Maron MS et al. (2015) New perspectives on the prevalence of hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* 65: 1249–1254.
- Spirito P, Pelliccia A, Proschan MA et al. (1994) Morphology of the “athlete’s heart” assessed by echocardiography in 947 elite athletes representing 27 sports. *The American Journal of Cardiology* 74(8): 802–806.

9. Biegunka indukowana chemioterapią - patofizjologia, obecne i przyszłe kierunki leczenia

Chemotherapy-induced diarrhea - pathophysiology, current and future treatment trends

Maksymowicz Jerzy, Środa - Pomianek Kamila

Katedra i Zakład Biofizyki i Neurobiologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Opiekun naukowy: dr hab. Kamila Środa - Pomianek

Maksymowicz Jerzy: jermaksymowicz@outlook.com

Słowa kluczowe: chemioterapeutyki, terapia przeciwnowotworowa, powikłania

Streszczenie

Chemioterapia stanowi jedną z podstawowych metod leczenia chorób nowotworowych. Jej zastosowanie znacznie poprawiło rokowanie pacjentów. Pomimo jej niezaprzeczalnych zalet niestety istotny problem kliniczny stanowi znaczna toksyczność leczenia chemicznego. Wiąże się to z objawami niepożądanymi, które w istotny sposób obniżają jakość życia chorych. Jednym z nich jest biegunka indukowaną chemioterapią CID (ang. chemotherapy-induced diarrhea). Chociaż częstość występowania CID jest trudna do oszacowania, uważa się, że dotyczy ona około 80% pacjentów poddanych działaniu chemioterapii. Mechanizmy leżące u podstaw CID, pozostają niejasne, aczkolwiek uważa się, że wynikają one z synergii nakładających się procesów patofizjologicznych, w tym zapalenia, dysfunkcji wydzielniczej, zaburzeń motoryki jak również zmian w unerwieniu przewodu pokarmowego. Obecne postępowanie medyczne CID zakłada głównie leczenie objawowe i nierzadko prowadzi do pogorszenia i tak już istniejących skutków chemioterapii wywołując szereg skutków ubocznych. Pojawiające się nowe schematy postępowania, stanowią obiecującą alternatywę leczenia CID.

1. Wstęp

Nowotwory stanowią główną przyczyną zgonów na świecie. Tylko w 2018 r. odnotowano około 18,1 mln nowych zachorowań oraz 6,2 mln zgonów na raka (Bray i in. 2018). Chociaż postęp w medycynie przyczynił się do udoskonalenia technik diagnozowania i leczenia nowotworów, oczekuje się, że w nadchodzących dziesięcioleciach obciążenie związane z chorobami nowotworowymi na świecie znacznie wzrośnie. Starzenie się populacji oraz styl życia w tym palenie tytoniu, brak aktywności fizycznej i nieodpowiednia dieta, zostały uznane za podstawowe czynniki przyczyniające się do wzrostu zachorowalności na całym świecie (Jemal i in. 2011).

Chemioterapię stosuje się na różnych etapach leczenia przeciwnowotworowego i chociaż znacznie poprawiła ogólną przeżywalność w wielu rodzajach nowotworów to cytotoksyczne efekty uboczne stanowią przeszkodę znacznie utrudniającą jej kliniczne zastosowanie (Kannarkatt i in. 2017). Objawy uboczne ze strony układu pokarmowego, takie jak nudności, wymioty, bóle brzucha, wzdęcia, owrzodzenia, zaparcia a w szczególności biegunka należą do najczęstszych przeszkód powodującymi opóźnienia a nawet przerwanie leczenia. Jednocześnie w znacznym stopniu obniżają jakość życia wielu pacjentów. Objawy uboczne stwierdzono u 40 % pacjentów otrzymujących chemioterapię w standardowych dawkach oraz u 100% otrzymujących chemioterapię wysokodawkową (McQuade i in. 2014).

2. Opis zagadnienia, przegląd literatury

Biegunka wywołana chemioterapią jest istotnym problemem klinicznym, który w istotny sposób wpływa na śmiertelność chorych na raka na całym świecie. Częstość występowania i nasilenie CID są bardzo zróżnicowane w zależności od chemioterapeutyku, sposobu podawania i dawkowania. Niektóre protokoły leczenia, szczególnie te zawierające 5-fluorouracyl i irynotekan, wiążą się ze

wysokim odsetkiem występowania biegunki, aż do 80%. U jednej trzeciej pacjentów występuje ciężka biegunka (stopień 3 lub 4) (Maroun i in. 2007). Trwała i ciężka biegunka może prowadzić do znacznego niedożywienia, odwodnienia - kacheksji i w konsekwencji do niewydolności nerek. Odwodnienie z powodu CID jest związane z przedwczesną śmiercią u około 5% pacjentów poddawanych leczeniu przeciwnowotworowemu (Rothenberg i in. 2001). Co więcej, chemioterapeutyki mogą również wywołać ciężkie zapalenia jelit prowadzące do zaburzeń klinicznych o potencjalnie zagrażających życiu konsekwencjach (McQuade i in. 2016).

U ponad 30% chorych na CID występuje znaczne obniżenie jakości życia. Uporczywa CID wiąże się z lękiem, depresją, izolacją społeczną oraz niską samooceną (Viele 2003), co podkreśla znaczenie zarówno wyjaśnienia podstawowych mechanizmów choroby, jak i poprawy skuteczności leczenia.

2.1 Patofizjologia

Biegunka stanowi częsty efekt uboczny działania irynotekanu, stosowanego w leczeniu raka okrężnicy. 50–80% pacjentów poddanych działaniu irynotekanu cierpi na ciężką biegunkę. Zmiany histologiczne, występujące w całym przewodzie pokarmowym w odpowiedzi na podanie irynotekanu, potwierdziły wyniki badań *in vivo* na zwierzętach. Odnotowano wyraźną ablację krypt, skrócenie kosmków oraz zanik nabłonka w jelicie cienkim i grubym (Gibson i in. 2003). Chociaż pacjenci nie są poddawani rutynowym badaniom endoskopowym uważa się, że CID jest w dużej mierze formą lub skutkiem ubocznym zapalenia błony śluzowej przewodu pokarmowego. Inicjacja zapalenia błony śluzowej jest wynikiem bezpośredniego i pośredniego oddziaływania chemioterapeutyków na szybko dzielące się komórki nabłonka przewodu pokarmowego, prowadząc do ich apoptozy. Dochodzi do aktywacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego kappa B (NFκB), następnie do wyrzutu prozapalnych cytokin, w tym m. in. interleukiny 1. Przyczyniają się one do powstania owrzodzeń i zapalenia nabłonka błony śluzowej przewodu pokarmowego (Gibson i in. 2003; Stringer 2009). Potwierdza to fakt, że w jelicie grubym po podaniu irynotekanu obserwuje się wzrost ekspresji cyklooksygenazy COX-2 (ang. cyclooxygenase 2), związany ze zwiększonym uwalnianiem prostaglandyny E2 (ang. PGE2-Prostaglandin E2) (Yang i in. 2005).

Kluczowy element patofizjologii wszystkich rodzajów biegunek stanowi zakłócenie równowagi wodno-elektrolitowej w przewodzie pokarmowym. Biegunka może być wynikiem działania siły osmotycznej, która działając w świetle przewodu pokarmowego, "wciąga" wodę do jelita, lub wyniku aktywnego stanu wydzielniczego w enterocytach. W pierwszym przypadku biegunka ma charakter osmolarny, co obserwuje się po spożyciu niewchłanialnych cukrów, np. takich jak laktuloza. Dla CID charakterystyczny jest drugi mechanizm. Poprzez uszkodzenie śluzówki dochodzi do wydzielania szeregu cytokin które wywołują hiperperystaltykę jelit oraz indukują nadmierne wydzielanie elektrolitów, w szczególności chlorków (Yang i in. 2005).

2.2 Mikrobiota jelitowa

Integralną rolę w homeostazie jelitowej odgrywają drobnoustroje jelitowe. Uważa się, że pełnią także istotną funkcję w rozwoju zapalenia błony śluzowej przewodu pokarmowego. Zachwianie naturalnej równowagi flory bakteryjnej chorego, poprzez zastosowanie chemioterapii, może mieć także istotny wpływ na skuteczność leczenia przeciwnowotworowego (Stringer 2009). Ponadto, mikrobiota bierze udział w metabolizmie cytostatyków, czego przykład stanowi przemiana irynotekanu. Irynotekan jest stosowany jako prolek (CPT-11), którego aktywacja zachodzi przez hydrolizę wiązania estrowego w aktywną formę (SN-38). Następnie SN-38 jest metabolizowany w wątrobie do nieaktywnej postaci glukuronidu SN-38 (SN-38G), a następnie eksportowany do okrężnicy. Tutaj SN-38G ulega hydrolizie w obecności bakteryjnej β-glukuronidazę (βG). Proces ten prowadzi do reaktywacji aktywnej postaci irynotekanu odpowiedzialnej za toksyczność jelitową. Biorąc pod uwagę kluczową rolę mikrobioty okrężnicy w wywoływaniu biegunki wywołanej irynotekaniem, hamowanie bakteryjnej βG w okrężnicy lub zapewnienie dodatkowego substratu dla tego enzymu stanowi wyzwanie współczesnej onkologii i mikrobiologii.

Jak zauważono w obecności irynotekanu liczba bakterii *Bacteroides spp.* maleje przy jednoczesnym wzroście liczby bakterii z rodzaju *Staphylococcus spp.*, *Clostridium spp.* i *E. coli.* (Stringer i in. 2009). Uważa się, że zmiany w mikrobiocie odgrywają ważną rolę nie tylko

w utrzymaniu homeostazy i integralności jelit, ale także w modulacji reakcji zapalnych poprzez interakcję z receptorami TLR (ang. toll-like receptors) i receptorami domenowymi oligomeryzacji nukleotydów, które aktywują transkrypcyjny czynnik NFκB. Jak wiadomo, prawidłowa proliferacja i różnicowanie nabłonka przewodu pokarmowego powracają po około 2 tygodniach po zakończeniu terapii. Natomiast zmiany funkcjonalne utrzymują się dłużej. Patofizjologia leżąca u podstaw tych trwałych zmian w funkcji przewodu pokarmowego obejmuje nie tylko mechanizm osmotyczny i zapalny ale także neurogeny. (McQuade i in. 2014). Chemioterapia indukując uszkodzenia jelitowego układu nerwowego ENS (ang. enteric nervous system) przyczynia się do zaburzeń motoryki przewodu pokarmowego i wystąpienia ciężkiej postaci biegunki. Do niedawna pomijano wpływ chemioterapeutyków na neurony jelitowe i dysfunkcję przewodu pokarmowego. Jednak dowiedziono, że przewlekłe leczenie cisplatyną powoduje utratę neuronów jelitowych, wzrost amplitudy skurczów fałdów błony śluzowej dna żołądka, a także biegunki (McQuade i in. 2014).

2.3 Aktualne metody leczenia CID

Zgodnie z "National Cancer Institute's Common Terminology Criteria for Adverse Effects grading system" CID może być sklasyfikowana jako:

1. Biegunka niepowikłana (stopień 1-2, bez powikłań) lub
2. Biegunka powikłana (stopień 3-4 z jednym lub więcej powikłaniami), w tym:
 - (A) Biegunka o wczesnym początku (<24 h po podaniu dawki leczenia chemioterapeutycznego)
 - (B) Biegunka o późnym początku (>24 h po podaniu dawki leczenia chemioterapeutycznego),
 - (C) Biegunka przewlekła (obecna przez >4 tygodnie) lub
 - (D) nieprzewlekła (obecna przez <4 tygodnie).

Niepowikłana postać CID może być leczona poprzez modyfikację diety oraz stosowanie standardowych leków przeciwbiegunkowych. Postać powikłana wymaga aplikacji wysokich dawek leków oraz hospitalizacji (McQuade i in. 2014). Zalecenia dotyczące postępowania w CID zostały opublikowane w 1998 r. zaktualizowane w 2004 r. (Benson i in. 2004) i zawierają wytyczne i oceny postępowania. Obecnie jedynymi lekami zalecanymi w zaktualizowanych wytycznych dotyczących leczenia są pochodne opioidów, takie jak: loperamid, oktreotyd oraz laudanum/nalewka z opium.

2.4 Loperamid

Loperamid to syntetyczny agonistą receptorów opioidowych μ w ścianie jelit. Wywiera hamujący wpływ na uwalnianie prostaglandyn i acetylocholino, a także zwiększa resorpcję wody i elektrolitów. Wysokie dawki loperamidu znajdują zastosowanie w łagodzeniu CID. Jego stosowanie prowadzi jednak do szeregu działań niepożądanych, takich jak silne zaparcia, bóle brzucha, zawroty głowy, wysypki, a także do pogorszenia już istniejących wzdęć, mdłości i wymiotów. Wysokie dawki loperamidu zwiększają częstość występowania porażennej niedrożności jelit. Pomimo tych poważnych działań niepożądanych, loperamid stanowi lek pierwszego rzutu w CID (McQuade i in. 2014).

2.5 Oktreotyd

Oktreotyd jest syntetycznym analogiem somatostatyny i hamuje wydzielanie hormonu wzrostu GH (ang. growth hormon) serotoniny i peptydów uwalnianych przez wewnętrzwydzielniczy układ żołądkowo-jelitowo-trzustkowy. Oktreotyd jest stosowany w leczeniu powikłanej CID oraz jako lek drugiego rzutu u pacjentów, którzy nie reagują na działanie loperamidu po 48 h, pomimo zwiększania dawki. Chociaż oktreotyd skutecznie zmniejsza objawy CID, u ponad 10% pacjentów występują skutki uboczne klasyfikowane jako ciężkie, w tym: bradykardia, ciężkie zaparcia, silne bóle brzucha, zaburzenia czynności tarczycy, kamica żółciowa, bóle i zawroty głowy (Stein i in. 2010).

2.6 Laudanum/ nalewka z opium

Nalewka z opium jest stosowana w biegunkach opornych na leczenie pierwszego rzutu. Podobnie jak loperamid jest agonistą receptorów opioidowych μ w obrębie przewodu pokarmowego. Hamując perystaltykę jelit, wydłuża czas pasażu oraz sprzyjają reabsorpcji płynów. Skuteczność Laudanum w leczeniu CID dotychczas nie jest poparta badaniami, jednak lek ten jest powszechnie

stosowany jako lek drugiego rzutu w przewlekłych i niepowikłanych biegunkach (Stein i in. 2010). Nalewka z opium wywołuje wiele działań niepożądanych, w tym euforię, nudności, wymioty, bolesne/trudne oddawanie moczu, napady drgawek i reakcje alergiczne. Ponadto, podawanie Laudanum może wiązać się z uzależnieniem psychologicznym i fizycznym, depresją oddechową oraz ciężkimi zaparciami.

2.7 Potencjalnie nowe terapie

Ponieważ obecnie stosowane terapie w leczeniu CID mają ograniczoną skuteczność i wiele działań niepożądanych, poszukiwanie i stosowanie nowych leków przeciwbiegunkowych jest niezbędne do poprawy jakości życia pacjentów cierpiących na nowotwory. Stosunkowo nowe i już stosowanych terapie wykorzystywane w leczeniu schorzeń takich jak IBS z dominującą biegunką (IBS-D) i przewlekła idiopatyczna biegunka, mogłyby znaleźć zastosowanie w leczeniu CID.

2.8 Inhibicja kanału chlorkowego

Chlor jest kluczowym jonom biorącym udział w wydzielaniu i wchłanianiu jelitowym. Nadmierna sekrecja jest napędzana przez aktywne wydzielanie chlorków, a następnie wtórny ruch wody i sodu do światła jelita. Pomimo braku silnych selektywnych inhibitorów napięciowo zależnych kanałów chlorkowych, hamowanie aktywności kanałów chlorkowych aktywowanych wapniem skutecznie ogranicza wydzielanie chlorku do światła przewodu pokarmowego. Wykorzystanie modelu mysiego z ciężką biegunką wydzielniczą wywołaną rotawirusem, w którym dokonano inhibicji kanałów chlorkowych aktywowanych wapniem stosując ekstrakt z czerwonego wina pozwoliło na zmniejszenie wydzielania płynu jelitowego, zmniejszając przy tym objawy biegunki (Ko i in. 2014).

2.9 Aktywacja receptora kannabinoidalnego

Mechanizm działania kannabinoidów opiera się na wiązaniu z dwoma głównymi receptorami sprzężonymi z białkiem G. Receptory CB1 i CB2 to receptory licznie występujące w układzie pokarmowym. Mimo, że ich aktywność jest zmienna w zależności od odcinka przewodu pokarmowego, stwierdzono, że aktywacja receptorów CB1 hamuje czynność skurczową mięśniówki okrężnicy. Jak dowiedziono dronabinol, jako nieselektywny agonista receptorów kannabinoidowych, spowalnia pasaż zarówno u osób zdrowych, jak i u pacjentów z biegunką związaną z IBS (IBS-D) (Wong i in. 2011). Ponadto jak wykazano w oparciu o badania z wykorzystaniem modelu szczurzego, niska dawka nieselektywnego agonisty receptorów kannabinoidowych WIN55,212-2 zmniejsza nasilenie biegunki wywołanej 5-fluorouracylem. (McQuade i in. 2014).

2.10 Probiotyki, antybiotyki i inhibitory β -glukuronidazy

Wraz z uznaniem, że mikrobiom odgrywa kluczową rolę w patofizjologii zapalenia błony śluzowej i rozwoju CID, zarówno antybiotyki, jak i probiotyki stały się obiecującymi opcjami terapeutycznymi. Dowiedziono, że podaż probiotyków obniża częstość występowania CID zarówno przy stosowaniu 5-fluorouracylu, jak irynotekanu (McQuade i in. 2014). Ponadto, dieta wzbogacona w błonnik, suplementacja *Lactobacillus rhamnosus* sprzyja zmniejszeniu objawów związanych z nasileniem biegunki stopnia 3/4 wywołanej toksycznością 5-fluorouracylu aż u 15% pacjentów leczonych z powodu raka jelita grubego. Jednocześnie wykazano, że w agresywnym leczeniu CID zalecana jest aplikacja doustnych antybiotyków, takich jak fluorochinolony (Benson i in. 2004; Maroun i in. 2007).

Analiza wyników badań przeprowadzonych z wykorzystaniem modelu mysiego, potwierdziła że selektywne hamowanie bakteryjnej β -glukuronidazy łagodzi indukowane przez cytostatyki uszkodzenie śluzówki przewodu pokarmowego. Ponadto, dowiedziono, że doustne podawanie silnych inhibitorów β -glukuronidazy bakteryjnej zmniejsza toksyczność irynotekanu (Wallace i in. 2010). Wyniki badań klinicznych udowodniły, że lek o nazwie handlowej Kampo Hangeshashinto (TJ-14), zmniejsza częstość występowania, jak i czas trwania indukowanego chemioterapią zapalenia błony śluzowej jamy ustnej u pacjentów z rakiem jelita grubego. Substancją aktywną TJ-14 stanowi bajkalina, będąca inhibitorem β -glukuronidazy (Matsuda i in. 2015).

W porównaniu grupą kontrolną u pacjentów leczonych TJ-14 stwierdzono zmniejszenie częstości występowania biegunki 3 i 4 stopnia (McQuade i in. 2014).

2.11 Pekтины

Pekтины stanowią główny składnik błonnika pokarmowego. Charakteryzują się wysoką adhezją do błony śluzowej jelita, tworząc w ten sposób barierę ochronną przed kolonizacją flory oportunistycznej. Prawie 90% pektyn podanych doustnie dociera do dystalnego fragmentu okrężnicy. Pekтины tworzą sprzyjające środowisko dla prawidłowego mikrobiomu i stanowią źródło składników odżywczych dla bakterii zamieszkujących okrężnicę. W wyniku bakteryjnego rozkładu pektyn powstają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, co prowadzi do przejściowego obniżenia pH w jelitach. Uważa się, że proces ten jest odpowiedzialny za hamowanie wzrostu szczepów patogennych przy jednoczesnym zachowaniu fizjologicznej flory jelitowej. Ponadto pektyny są w stanie wiązać związki organiczne, takie jak toksyny, działając ochronnie na śluzówkę jelit. Wyniki badań z udziałem badani 255 pacjentów pediatrycznych w wieku od 6 miesięcy do 6 lat stosujących doustnie ekstrakt pektyny z jabłka, potwierdziły istotne obniżenie częstości oddawania stolca, szczególnie w przypadkach, gdy biegunka nie ustępowała do trzeciego dnia leczenia (Becker i in. 2011). Wydaje się wysoce prawdopodobne, że zastosowanie pektyn jako dodatkowego źródła węglowodanów dostarczanych podczas leczenia irynotekaniem może zahamować proces hydrolizy SN-38G przez bakteryjną β G, a tym samym zwiększyć ograniczoną skuteczność terapii w leczeniu CID.

3. Wnioski

CID stanowi jeden z najczęstszych objawów niepożądanych związanych z chemioterapią. Przyczynia się do opóźnień w leczeniu, redukcji dawki, a przez to do obniżenia skuteczności leczenia, niekiedy do jego zaprzestania. Pomimo licznych badań klinicznych mających na celu ocenę skuteczności substancji terapeutycznych i/lub profilaktycznych w łagodzeniu CID, w aktualnych wytycznych zalecane są tylko trzy leki: loperamid, nalewka z opium i oktreotyd. Ponadto, obecnie wykorzystywanym metodom leczenia CID towarzyszą liczne współistniejące objawy niepożądane. Nowe terapie stanowią obiecującą alternatywę. Rozwój nowych metod leczenia CID jest niezbędny dla poprawy wyników klinicznych i jakości życia osób leczonych onkologicznie. Biorąc pod uwagę kluczową rolę mikrobioty w przebiegu biegunki, hamowanie aktywności bakteryjnej β G w okrężnicy lub zapewnienie dodatkowego substratu dla tego enzymu stanowi wyzwanie współczesnej onkologii i mikrobiologii.

4. Literatura

- Jemal A, Bray F, Center M et al. (2011) Global cancer statistics. *A Cancer Journal for Clinicians* 61(2): 69-90
- Becker B, Kuhn U, Hardewig-Budny B (2011) Double-blind, Randomized Evaluation of Clinical Efficacy and Tolerability of an Apple Pectin-Chamomile Extract in Children with Unspecific Diarrhea. *Arzneimittelforschung* 56(06): 387–393
- Benson AB, Ajani JA, Catalano RB et al. (2004) Recommended guidelines for the treatment of cancer treatment-induced diarrhea. *Journal of Clinical Oncology* 22: 2918–2926
- Dranitsaris G, Maroun J, Shah A (2005) Estimating the cost of illness in colorectal cancer patients who were hospitalized for severe chemotherapy-induced diarrhea. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 19: 83–87
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. (2018) Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *A Cancer Journal for Clinicians* 68(6): 394-424
- Gibson RJ, Bowen JM, Inglis MR et al. (2003) Irinotecan causes severe small intestinal damage, as well as colonic damage, in the rat with implanted breast cancer. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* 18: 1095–1100

- Kannarkatt J, Joseph J, Peter C, et al. (2017) Adjuvant Chemotherapy for Stage II Colon Cancer: A Clinical Dilemma. *Journal of Oncology Practice* 13(4): 233-241
- Ko EA, Jin BJ, Namkung W et al. (2014) Chloride channel inhibition by a red wine extract and a synthetic small molecule prevents rotaviral secretory diarrhoea in neonatal mice. *Gut* 63: 1120–1129
- Maroun JA, Anthony LB, Blais N et al. (2007) Prevention and management of chemotherapy-induced diarrhea in patients with colorectal cancer: a consensus statement by the canadian working group on chemotherapy-induced diarrhea. *Current Oncology* 14: 13–20.
- Matsuda C, Munemoto Y, Mishima H et al. (2015) Double-blind, placebo-controlled, randomized phase II study of TJ-14 (Hangeshashinto) for infusional fluorinated-pyrimidine-based colorectal cancer chemotherapy-induced oral mucositis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 76: 97–103
- McQuade RM, Bornstein J C, Nurgali K (2014) Anti-colorectal cancer chemotherapy-induced diarrhoea: current treatments and side-effects. *International Journal of Clinical Medicine* 5: 393–406.
- McQuade RM, Stojanovska V, Abalo R et al. (2016) Chemotherapy-Induced Constipation and Diarrhea: Pathophysiology, Current and Emerging Treatments. *Frontiers in Pharmacology* 7: 414.
- Rothenberg ML, Meropol NJ, Poplin EA et al. (2001) Mortality associated with irinotecan plus bolus fluorouracil/leucovorin: summary findings of an independent panel. *Journal of Clinical Oncology* 19: 3801–3807
- Stein A, Voigt W, Jordan K (2010) Review: chemotherapy-induced diarrhea: pathophysiology, frequency and guideline-based management. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 2: 51–63
- Stringer AM (2009) Chemotherapy-induced mucositis: the role of gastrointestinal microflora and mucins in the luminal environment. *The Journal of Supportive Oncology* 5: 259–267
- Stringer AM, Gibson RJ, Bowen JM et al. (2009) Irinotecan-induced mucositis manifesting as diarrhoea corresponds with an amended intestinal flora and mucin profile. *International Journal of Experimental Pathology* 90: 489–499
- Viele CS (2003) Overview of chemotherapy-induced diarrhea. *Seminars in Oncology Nursing* 19: 2–5
- Wallace BD, Wang H, Lane KT et al. (2010) Alleviating cancer drug toxicity by inhibiting a bacterial enzyme. *Science* 330: 831–835
- Wong BS, Camilleri M, Busciglio I et al. (2011) Pharmacogenetic trial of a cannabinoid agonist shows reduced fasting colonic motility in patients with nonconstipated irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 141: 1638–1647
- Yang X, Hu Z, Chan SY et al. (2005) Novel agents that potentially inhibit irinotecan-induced diarrhea. *Current Medicinal Chemistry* 12: 1343–1358

10. Zaburzenia mikrobiomu jelitowego a choroby neurodegeneracyjne

The gut microbiome disturbances and neurodegenerative diseases

Natalia Piekarczyk, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Uniwersytet Gdański

Opiekun naukowy: dr Dorota Myślińska

Natalia Piekarczyk: n.piekarczyk.578@studms.ug.edu.pl

Słowa kluczowe: bakterie jelitowe, dysbioza, choroba Alzheimera

Streszczenie

Bakterie jelitowe pełnią kluczowe funkcje dla zdrowia człowieka m.in. wspomagają pobór energii ze składników odżywczych z pokarmu, odpowiadają za biosyntezę niektórych witamin, chronią przed patogenami, czy biorą udział w dojrzewaniu układu immunologicznego. Przyjmuje się, że kolonizacja jelit następuje podczas porodu, podlegając w ciągu życia dynamicznym zmianom, zależnym od wielu zmiennych, w tym czynników środowiskowych, takich jak ćwiczenia fizyczne, dieta, stres, przebyte choroby i ich leczenie. Zmiany tego złożonego ekosystemu wiążą się z wieloma chorobami związanymi zarówno z metabolizmem organizmu, jak i układem pokarmowym – są to m. in. choroby zapalne jelit, otyłość, cukrzyca i insulinooporność. Warty uwagi jest również wpływ mikrobioty jelitowej na funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Dysbioza czyli stan, w którym równowaga składu mikrobioty jelitowej została zaburzona, prowadzi do wielu nieprawidłowości, co skutkuje przewlekłą reakcją zapalną w organizmie gospodarza i w konsekwencji może prowadzić do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, np. choroby Alzheimera.

1. Wstęp

Mikrobiota jelitowa człowieka składa się z około tysiąca gatunków drobnoustrojów i wytwarza biomasę powyżej 1,5 kg. Liczba komórek tych mikroorganizmów jest 10 razy większa niż liczba komórek budujących ludzki organizm. U zdrowego człowieka mikrobiom koduje ponad 100 razy więcej genów niż ludzki genom. W mikrobiocie jelitowej człowieka dominują typ *Firmicutes* (60–80%, bakterie Gram-dodatnie z ponad 200 rodzajami, z których najważniejsze to: *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Roseburia* i *Mycoplasma*) oraz typ *Bacteroidetes* (20–30%, bakterie Gram-ujemne z rodzajów *Bacteroides*, *Prevotella* i *Xylanibacter*). Mniej liczne są: *Actinobacteria* (mniej niż 10%, bakterie Gram-ujemne z rodzaju *Bifidobacterium*), *Proteobacteria* (mniej niż 1%, bakterie Gram-ujemne z rodzaju *Escherichia*, *Desulfovibrio* i *Enterobacteriaceae*) oraz *Verrucomicrobia* (z rodzaju *Akkermansia*, *Fusobacteria* i *Cyanobacteria*). Skład i liczebność tych mikroorganizmów różnią się w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego, w jelitach dominują gatunki beztlenowe i względnie beztlenowe. Niektórzy badacze stosują również podział drobnoustrojów jelitowych na trzy grupy ze względu na wpływ na organizm gospodarza: symbionty, które wykazują działanie prozdrowotne; patobionty, które mogą wywoływać procesy patologiczne; oraz mikroorganizmy komensalne – nie wykazujące cech patogenności. U zdrowych osób mikrobiom jelitowy stanowi na ogół stabilną strukturę pod względem jakościowym i ilościowym, jednak pewne czynniki takie jak stres, dieta, czy antybiotykoterapia mogą indukować zaburzenia mikrobioty zasiedlającej ludzkie jelita (Askarova i in. 2020). Mikroorganizmy jelitowe mają duży wpływ na układ odpornościowy, rozwój ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i zachowanie gospodarza, przede wszystkim dlatego, że wytwarzają niektóre neuroprzekazniki, neuromodulatory i neuroaktywne krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. short chain fatty acids, SCFA), a także amyloidy (Zhao i Lukiw 2015). Coraz częściej zwraca się uwagę na zależności pomiędzy zaburzeniami mikrobioty jelitowej a chorobami OUN. Mechanizmy, które mogą prowadzić do chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Alzheimera (ang. Alzheimer's disease, AD), zaczynają się od dysbiozy mikrobiomu jelitowego, rozwoju miejscowego i ogólnoustrojowego stanu zapalnego oraz rozregulowania osi

jelitowo-mózgowej. Zwiększona przepuszczalność bariery nabłonkowej jelit powoduje inwazję różnych bakterii, wirusów i ich neuroaktywnych produktów, które przyczyniają się do indukcji reakcji neurozapalnych w OUN. Wydaje się, że zapalny i infekcyjny charakter powstawania AD, z ważnym udziałem mikrobiomu jelitowego, może stanowić istotne uzupełnienie dominującej od dziesięcioleci w patogenezie AD hipotezy o kaskadzie amyloidowej.

2. Dysbioza mikrobiomu jelitowego i jej konsekwencje dla zdrowia gospodarza

Obustronna komunikacja między mikrobiomem a OUN przebiega z uwzględnieniem trzech szlaków komunikacji - neuronalnego, endokrynnego i immunologicznego. Droga neuronalna obejmuje rdzeń kręgowy, autonomiczny układ nerwowy (w szczególności nerw błędny), jelitowy układ nerwowy (ang. enteric nervous system, ENS) oraz stresową oś podwzgórze-przysadka-nadnercza (PPN). Udowodniono, że bakterie jelitowe mogą modulować stężenie cytokin prozapalnych, np. czynnika martwicy nowotworów alfa (TNF- α), interferonu gamma (IFN- γ), interleukiny 6 (IL-6), jak i przeciwzapalnych – przede wszystkim interleukiny 10 (IL-10). Dodatkowo, jak wcześniej wspomniano, organizmy wchodzące w skład mikrobioty jelitowej mogą wydzielać neuroprzekazniki i neuromodulatory, takie jak serotonina, kinurenina (metabolit szlaku tryptofanowego prowadzącego do powstania serotoniny), katecholaminy (noradrenalina, dopamina), acetylocholina i kwas gamma-aminomasłowy (GABA). Czynniki te prawdopodobnie uczestniczą w komunikacji zarówno między różnymi składowymi mikrobiomu, jak i pomiędzy gospodarzem i mikrobiotą (Vogt 2017). Ze względu na wielokierunkowość tych wspólnych oddziaływań, jakkolwiek nieprawidłowość w działaniu osi mikrobiom-jelita-mózg wiąże się z zaburzeniem homeostazy organizmu. Ostatnie badania wskazują, że zmiany składu bakterii jelitowych są związane z szeregiem dysfunkcji OUN, obejmujących nie tylko zachowania lękowe i zaburzenia depresyjne, ale także choroby neurodegeneracyjne (Angelucci i in. 2019).

Jednym z czynników prowadzących do upośledzenia komunikacji jelita-mózg jest dysbioza czyli stan, w którym równowaga składu mikrobioty jelitowej została zaburzona. Badania prowadzone z udziałem zwierząt pozbawionych bioty jelitowej (ang. germ free, GF), wystawionych na działanie antybiotyków i patogenów wskazują, że dysbioza prowadzi do szeregu zaburzeń funkcjonalnych i morfologicznych, co przekłada się na nieprawidłowości w behawiorze. Myszy GF podczas prowadzonych doświadczeń wykazywały zmniejszone wytwarzanie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) oraz synaptofizyny w korze mózgowej, hipokampie i ciele migdałowatym (Togini 2017). Dodatkowo zwierzęta GF wykazywały nadmierną reakcję na stres w odniesieniu do myszy wolnych od specyficznych patogenów (ang. specific pathogen free, SPF), która mierzona była stężeniem hormonu adrenokorykotropowego (ACTH) i kortykosteronu we krwi (Sudo i in. 2004). Wykazano również istotne zmiany w produkcji i poziomie wielu neuroprzekazników oraz ich receptorów obejmujące różne obszary mózgowia gryzoni GF. Ponadto niektóre z wyżej wymienionych skutków dysbiozy uległy złagodzeniu, bądź ustąpiły po poddaniu badanych zwierząt procedurze transferu bioty bakteryjnej poprzez przeszczep kału pochodzącego od myszy SPF. Podobne niekorzystne efekty dysbiozy zaobserwowano u zwierząt poddawanych antybiotykoterapii lekami o szerokim spektrum działania (Togini 2017). Wyniki wskazują, że podawanie tych substancji we wczesnym okresie życia może mieć ogromny wpływ nie tylko na skład i kształtowanie się mikrobiomu, ale także przyczynia się do rozwoju stanu zapalnego i zaburzeń metabolicznych w późniejszym okresie życia.

Badania podłużne (longitudinalne) 10000 osób, podczas których przez rok codziennie mierzono poziom samopoczucia oraz skład mikrobiomu jamy ustnej i jelitowej wskazują, że skład drobnoustrojów u badanych był względnie stabilny, jednakże, nagle wydarzenia w życiu każdego uczestnika miały znaczący wpływ na dynamikę mikrobioty, doprowadzając do jej natychmiastowych zmian w odpowiedzi na stresory. U osób podróżujących z krajów rozwiniętych do rozwijających się, zaobserwowano w badanych próbkach prawie dwukrotny wzrost stosunku bakterii z rodzaju *Bacteroidetes* do *Firmicutes*, który odwrócił się po powrocie badanych osób do rodzinnego kraju. Przebyta infekcja jelitowa skutkowała trwałym spadkiem ilości bakterii jelitowych, uznanych za stałe dla uczestnika, a dodatkowo zostały one zastąpione przez gatunki podobne genetycznie. Podczas dalszych obserwacji udało się ustalić, że nawet w okresach ogólnej stabilności bioty bakteryjnej,

proporcje składu wybranych rodzajów drobnoustrojów mogą wiązać się z określonymi zachowaniami gospodarzy. Suplementacja błonnika u badanych osób była pozytywnie skorelowana z około 15% wzrostem ilości bakterii jelitowych w badanych próbkach (David i in. 2014). Również inne badania prowadzone zarówno z wykorzystaniem zwierząt, jak i z udziałem ludzi sugerują, że cechy zachodniego stylu życia, za które uznaje się m.in. szeroko stosowaną antybiotykoterapię i dietę wysokotłuszczową; mają znaczący wpływ na kształtowanie mikrobiomu. Z kolei wystąpienie nieprawidłowości w trakcie rozwoju mikrobioty, może zwiększać podatność organizmu gospodarza na patogeny, otyłość i choroby autoimmunologiczne - coraz częściej diagnozowane w krajach rozwiniętych (Sochocka i in. 2019).

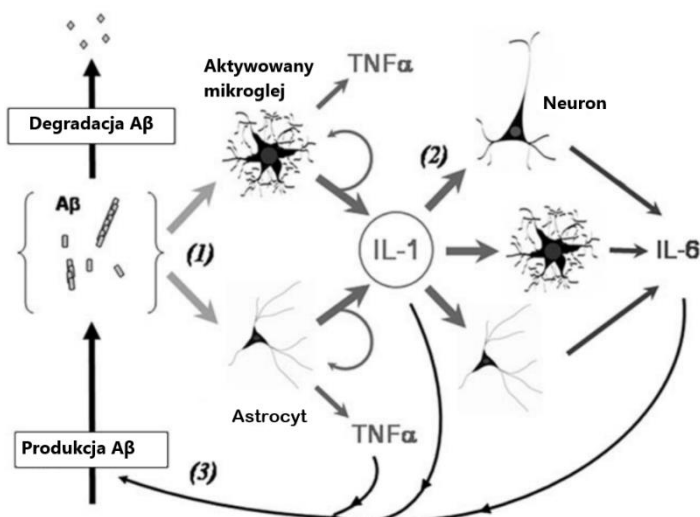
W ostatnich latach pojawiły się także dowody wskazujące na związek chorobotwórczych bakterii występujących w jamie ustnej (periopatogeny) ze zmianami w składzie mikrobioty jelitowej oraz zmianami zapalnymi w różnych tkankach i narządach gospodarza, w tym również w OUN (Kodukula 2017). U zdrowego człowieka w jamie ustnej dominują bakterie z rodzaju *Actinomyces* i *Streptococcus*. Pozostając w równowadze fizjologicznej, tworzą symbiotyczną społeczność mikrobiologiczną i nie wywołują objawów chorobowych u gospodarza. Jednak każde zaburzenie tego stanu równowagi może być przyczyną rozwoju choroby przyzębia (parodontozy), w której zauważa się obecność dysbiotycznych drobnoustrojów m. in. z rodzaju *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, i *Bacteroidetes*, a u pacjentów cierpiących na parodontozę, zaobserwowano, iż połykana przez nich ślina może zawierać znaczne ilości wymienionych bakterii (Sochocka i in. 2019). Samo zapalenie przyzębia, oprócz wywoływania zaburzeń bioty jelitowej, jest związane ze schorzeniami takimi jak choroby układu krążenia (miażdżycy), otyłość, infekcje dróg oddechowych, reumatoidalne zapalenie stawów i cukrzyca. Ponadto odpowiedź immunologiczna indukowana chorobą przyzębia, może przyczyniać się do powstania stanu neurozapalnego i rozwoju AD (Sochocka i in. 2017). U myszy, którym podano doustnie szczep *Porphyromonas gingivalis* zaobserwowano zmianę składu bakteryjnego w mikrobiocie jelitowej – liczba gatunków z rodzajów *Bacteroidetes* zmniejszyła się, podczas gdy liczba przedstawicieli *Firmicutes* znacznie wzrosła. Endotoksemia (ostre zakażenie organizmu wywołane obecnością drobnoustrojów we krwi), która wystąpiła u badanych gryzoni, doprowadziła do insulinooporności, wzrostu poziomu infiltracji tkanki tłuszczowej przez makrofagi, zwiększonej akumulacji tkanki tłuszczowej i wyższego stężenia trójglicerydów w osoczu. W tym samym badaniu autorzy wykazali również, że zakażenie *P. gingivalis* wywołało reakcję zapalną w wątrobie skutkującą wydzielaniem cytokin prozapalnych - TNF- α oraz IL-6 (Arimatsu i in. 2014). Wyniki wskazują, że przewlekłe zapalenie z niskim poziomem intensywności czynnika stymulującego (chroniczne infekcje) może prowadzić do ogólnoustrojowego stanu zapalnego, który następnie prowadzi do stałej, nadmiernej aktywacji mikrogleju oraz – w ostateczności – do zmian neurodegeneracyjnych (Sochocka i in. 2019).

3. Nieprawidłowości w mikrobiomie jelitowym jako podłoże patofizjologii chorób neurodegeneracyjnych na przykładzie choroby Alzheimera

Brak skutecznego leczenia AD wynika głównie z niepełnego zrozumienia przyczyn tej choroby. Obecnie istnieje kilka hipotez, które próbują wyjaśnić wczesne molekularne mechanizmy patogenezы AD polegające na akumulacji nieprawidłowych białek (np. hiperfosforylowanych form cytoszkieletowego białka tau, zewnątrzkomórkowych agregatów beta-amyloidu - A β), dysfunkcji mitochondriów, stresie oksydacyjnym, upośledzonej sygnalizacji insuliny, zaburzeniu homeostazy wapniowej, zaburzeniu równowagi neuroprzekaźników, a zwłaszcza stanom zapalnym w OUN przebiegającym z dysfunkcją mikrogleju.

Tkanka limfoidalna błony śluzowej jelit zawiera 70–80% komórek układu odpornościowego całego organizmu, uważa się więc ją za największy i najważniejszy narząd odpornościowy człowieka, który dodatkowo pozostaje w ciągłym bliskim kontakcie z ogromną liczbą mikroorganizmów (nawet 100 bilionów) ludzkiego mikrobiomu jelitowego. Powszechnie wiadomo, że bakterie wytwarzają i wydzielają szereg związków, które zwiększają przepuszczalność bariery jelitowej, ułatwiając kontakt mikrobiomu jelitowego z podśluzówkową tkanką limfatyczną. W rezultacie dochodzi do ogólnoustrojowej reakcji zapalnej, która upośledza funkcjonowanie bariery krew-mózg (ang. blood-

brain barrier, BBB) i sprzyja powstawaniu stanów zapalnych w OUN (Quigley 2017). Uważa się, że jednym z istotnych czynników w patogenezie AD jest przewlekły stan neurozapalny. W normalnych warunkach odpowiedź immunologiczna OUN jest inicjowana przez mikroglej, którego funkcje to m.in. rozpoznanie patogenu, rekrutacja komórek układu odpornościowego, usuwanie patogenu oraz naprawa uszkodzonej tkanki. Jednak w warunkach patologicznych, pod wpływem długotrwałego stanu zapalnego w układzie nerwowym, komórki glejowe pozostają w stanie aktywacji przez dłuższy czas, uwalniając cytokiny i cząsteczki neurotoksyczne, co przyczynia się do degeneracji tkanki nerwowej. Jako istotny element tego procesu wskazuje się podwyższone poziomy cytokin prozapalnych w surowicy głównie interleukin IL-1, IL-6, TNF- α i transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- β), ponieważ odgrywają główną rolę w stanach zapalnych układu nerwowego, obserwowanych u pacjentów z AD (Angelucci i in. 2019). IL-1 i TGF- β promują syntezę i przetwarzanie białka prekursorowego A β , sprzyjając w ten sposób jego ciągłemu odkładaniu się w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, co z kolei aktywuje odpowiedź immunologiczną mikrogleju i uwalnianie kolejnych cytokin (Rys.1). Patologiczne odkładanie się w tkance nerwowej OUN złożeń A β jest uważane za główną przyczynę chorób neurodegeneracyjnych (Cacquevel i in. 2004).



Rys. 1 Rola cytokin w patogenezie choroby Alzheimera (Cacquevel i in. 2004; zmodyfikowano).

Dysbioza mikrobiomu jelitowego może prowadzić do zaburzenia funkcjonowania bariery jelita-krew, co powoduje wnikanie do krwiobiegu patogenów, substancji toksycznych oraz innych czynników prozapalnych, co skutkuje ogólnoustrojowym stanem zapalnym organizmu, który z kolei zmniejsza szczelność BBB. Mikroorganizmy znajdujące się w jelitach produkują szereg metabolitów, w tym LPS i amyloidy funkcjonalne drobnoustrojów. Amyloidy charakteryzuje regularna struktura nierozgałęzionych włókien, tzw. β -harmonijka oraz wysoka oporność na proteolizę. Wiele gatunków bakterii produkuje i uwalnia te białkowe cząsteczki, które pośredniczą w ich procesach fizjologicznych (Pawłowska i Sobieszcańska 2017). Amyloidy mikrobiologiczne i mózgowie, mimo istotnych różnic na etapie ich tworzenia przez drobnoustroje oraz organizm człowieka, cechują się wspólnymi właściwościami fizyko-chemicznymi oraz strukturą wzorców molekularnych związanych z patogenami (ang. pathogen associated molecular patterns, PAMP). Oznacza to, że są rozpoznawane przez ten sam system błonowych receptorów Toll-like (TLR2 i TLR1), indukując odpowiedź immunologiczną – zwłaszcza produkcję cytokin prozapalnych IL-17 i IL-22. W wyniku upośledzenia BBB dochodzi do nieprawidłowej wymiany związków chemicznych między mózgiem a układem krążenia. Dodatkowo funkcja ochronna OUN zostaje zakłócona, co wiąże się z agregacją A β w mózgu i przewlekłą reakcją neurozapalną. Czynniki te są silnie związane z patofizjologią zaburzeń neurodegeneracyjnych (Quigley 2017). Udowodniono, że u transgenicznych mysich modeli

AD, w których organizmie występuje nadprodukcja białka prekursorowego A β prowadząca do wczesnego, nasilonego odkładania się A β w OUN, skład mikrobioty jelitowej różni się znacznie w porównaniu z nietransgenicznymi osobnikami. Gryzonie ze wspomnianą mutacją oraz dodatkowo pozbawione mikroorganizmów (GF), wykazywały również niższy poziom A β w porównaniu z osobnikami hodowanymi w sposób konwencjonalny. Ponadto transfer bioty jelitowej od myszy transgenicznych SPF do myszy transgenicznych GF silniej przyczyniał się do wywoływania patologii A β niż ten sam zabieg, w przypadku którego dawcą były myszy typu dzikiego (Kim i Jazwinski 2018).

Kolejnym aspektem łączącym mikrobiom jelitowy i patogenезę chorób neurodegeneracyjnych są dysfunkcje szlaków serotoninowych oraz oddziaływanie SCFA na OUN. Rozregulowanie kinureninowego szlaku tryptofanu zasugerowano jako główny czynnik przyczyniający się do rozwoju AD. Wykazano, że różne metabolity tryptofanu przedostają się przez BBB do mózgowia zarówno przez transport aktywny, jak i z udziałem dużego nośnika aminokwasów obojętnych, a także poprzez bierną dyfuzję. Należy podkreślić, że dysbioza mikrobioty jelitowej prowadzi do zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej i BBB, co skutkuje zwiększoną penetracją produktów pochodzących z mikrobiomu jelitowego do krwi, a następnie do OUN. Niekontrolowany napływ metabolitów tryptofanu do mózgowia może powodować nieprawidłowości m.in. wytwarzania serotonininy, a takie zaburzenia odnotowano u pacjentów z AD (Quigley 2017; Sochocka i in. 2019). Wśród najważniejszych metabolitów należących do SCFA wytwarzanych przez biotę jelit i modulujących funkcjonowanie OUN należy wyróżnić octan, maślan i propionian. Maślan wpływa na neurony cholinergiczne ENS, powodując zwiększoną perystaltykę jelit, podczas gdy propionian wydaje się zmniejszać perystaltykę i zwiększać wydzielanie w ENS. Octan może przenikać przez BBB i sygnalizować mózgowi uczucie sytości. Dodatkowo wpływa na mikroglej, a także zmniejsza przepuszczalność BBB. Maślan wykazuje również działanie neuroprotektcyjne, hamuje deacetylazę histonową, wpływając tym samym na funkcje wielu genów i białek komórkowych; oraz stanowi ważny substrat do wytwarzania energii, zwiększając tempo oddychania mitochondrialnego i produkcję ATP (Bourassa i in. 2016). W mysim modelu urazu mózgowia maślan sodu podany gryzoniom dootrzewnowo spowodował osłabienie deficytów neuronalnych, przywrócenie fizjologicznych właściwości BBB oraz zmniejszył obrzęk mózgu. Ten sam rodzaj SCFA zastosowany w mysim modelu AD wpłynął na poprawę uczenia się i pamięci zwierząt. U gryzoni tych wykazano zwiększenie ekspresji genów związanych z uczeniem się po leczeniu maślanem, prawdopodobnie na skutek oddziaływania tego związku na przywrócenie profilu acetylacji histonów (Govindarajan i in. 2011). Poprawie funkcji poznawczych sprzyja zwiększone stężenie hormonów jelitowych w osoczu, takich jak grelina, leptyna, glukagonopodobny peptyd-1 (GLP-1) i hamujący działanie żołądka glukozozależny peptyd insulinotropowy (GIP). Ten hormon peptydowy wydzielany w jelitach odgrywa rolę w modulowaniu funkcji neuronalnych, takich jak uczenie się i pamięć. Myszy, którym podawano probiotyczną mieszaninę wykazywały wyższy poziom wymienionych hormonów w osoczu, a dodatkowo udowodniono, że grelina przeciwdziała deficytom pamięci i zwyrodnieniom synaptycznym w zwierzęcych modelach AD. Leptyna działa jako czynnik neurotroficzny, wywierając efekt neuroprotektyjny przeciwko toksyczności wywołanej przez oligomery A β , czego dowiedziono w badaniach *in vitro* (Sochocka i in. 2019).

Badania longitudinalne próbek kału pobranych od osób w różnych grupach wiekowych wskazują na związane z wiekiem zmiany w składzie i zróżnicowaniu mikrobioty jelitowej. Mikrobiom jelitowy u osób starszych staje się bardziej zróżnicowany i podatny na zmiany (Kim i Jazwinski, 2018). Badania z wykorzystaniem gryzoni wykazały, że postępujące wraz z wiekiem zaburzenia wyższych funkcji poznawczych korelują ze zmianami bioty jelitowej myszy. Zmianom tym towarzyszy wzrost liczby przedstawicieli *Proteobacteria* i spadek ilości gatunków probiotycznych (Zhu i in. 2020). Wykazano również, że wysoki poziom cytokin prozapalnych u osób w podeszłym wieku wiąże się z zaburzeniem funkcji mikrobiomu - szczególnie dysfunkcjami w produkcji cząsteczek neuroaktywnych, przede wszystkim SCFA (Claesson i in. 2012). Ponadto stała aktywacja mikrogleju i związany z nią przewlekły stan zapalny mózgowia jest charakterystyczną cechą patologii AD i odgrywa kluczową rolę w starzeniu się i neurodegeneracji, a w dodatku procesy te mogą być regulowane przez mikrobiotę jelitową.

4. Podsumowanie

Postuluje się, że rozwój AD może rozpocząć się w jelitach, będąc ściśle związanym z brakiem równowagi mikrobioty jelitowej, czyli stanem dysbiozy. Przewlekłe infekcje obwodowe i dysbiotyczny mikrobiom jelit może prowadzić do wielu patologicznych zmian w różnych tkankach, także odległych od źródła zakażenia. Początkowo organizm jest w stanie walczyć z tymi zmianami, jednak wraz z wiekiem zmniejsza się poziom zdolności odpornościowych i regeneracyjnych. Wówczas zaczynają dominować procesy neurodegeneracyjne, prowadząc do klinicznych objawów demencji. Słuszność takiego podejścia potwierdza również fakt, iż w przypadku wielu zaburzeń neurodegeneracyjnych zmiany patologiczne w mózgowiu mogą rozpocząć się i postępować wiele lat przed pojawieniem się objawów choroby.

Wczesne badania z udziałem ludzi sugerują, że wzbogacenie składu mikrobioty probiotykami może prowadzić do zmian w funkcjonowaniu OUN, w tym do poprawy funkcji poznawczych. Niewątpliwie odbudowa mikrobiomu lub odpowiednio zaplanowana modulacja jego składu oraz interwencje dietetyczne w celu zwiększenia udziału gatunków probiotycznych i produkowanych przez nie neuroaktywnych metabolitów (np. SCFA) stanowią obiecujące strategie terapeutyczne w przypadku wielu chorób, w tym także zaburzeń OUN związanych z neurodegeneracją, takich jak AD.

5. Literatura

- Angelucci F, Cechova K, Amlerova J, et al. (2019) Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 16: 108.
- Arimatsu K, Yamada H, Miyazawa H, et al. (2014) Oral pathobiont induces systemic inflammation and metabolic changes associated with alteration of gut microbiota. *Sci Rep* 4: 4828.
- Askarova S, Umbayev B, Masoud AR, et al. (2020) The links between the gut microbiome, aging, modern lifestyle and Alzheimer's Disease. *Front Cell Infect Microbiol* 10: 104.
- Bourassa MW, Alim I, Bultman SJ, et al. (2016) Butyrate, neuroepigenetics and the gut microbiome: Can a high fiber diet improve brain health? *Neurosci Lett* 625: 56-63.
- Cacquevel M, Lebourrier N, Chéenne S, et al. (2004) Cytokines in neuroinflammation and Alzheimer's disease. *Curr Drug Targets* 5: 529-534.
- Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, et al. (2011) Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci USA* 108 Suppl 1: 4586-4591.
- David LA, Maurice CF, Carmody RN, et al. (2014) Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 505: 559-563.
- Govindarajan N, Agis-Balboa RC, Walter J, et al. (2011) Sodium butyrate improves memory function in an Alzheimer's disease mouse model when administered at an advanced stage of disease progression. *J Alzheimers Dis* 26: 187-197.
- Kim S, Jazwinski SM (2018) The gut microbiota and healthy aging: a mini-review. *Gerontology* 64: 513-520.
- Kodukula K, Faller DV, Harpp DN, et al. (2017) Gut microbiota and salivary diagnostics: the Mouth is salivating to tell us something. *Biores Open Access* 6: 123-132.
- Pawłowska BK, Sobieszkańska BM (2017) Amyloidy, białka powszechne wśród drobnoustrojów. *Post. Mikrobiol* 6: 77-87.
- Quigley EMM (2017) Microbiota-brain-gut axis and neurodegenerative diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep* 17: 94.
- Sochocka M, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, et al. (2019) The gut microbiome alterations and inflammation-driven pathogenesis of Alzheimer's disease - a critical review. *Mol Neurobiol* 56: 1841-1851.
- Sochocka M, Zwolińska K, Leszek J (2017) The infectious etiology of Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol* 15: 996-1009.
- Sudo N, Chida Y, Aiba Y, et al. (2004) Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 558: 263-275.

- Tognini P (2017) Gut microbiota: A potential regulator of neurodevelopment. *Front Cell Neurosci* 11: 25.
- Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, et al. (2017) Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Sci Rep* 7: 13537.
- Zhao Y, Lukiw WJ (2015) Microbiome-generated amyloid and potential impact on amyloidogenesis in Alzheimer's disease (AD). *J Nat Sci* 1: e138.
- Zhu F, Li C, Chu F, et al. (2020) Target dysbiosis of gut microbes as a future therapeutic manipulation in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci* 12: 544235.

11. Wpływ mikrobiomu na rozwój ośrodkowego układu nerwowego i zaburzenia jego funkcjonowania

The impact of microbiota on development of central nervous system and its dysfunction

Natalia Piekarczyk, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska

Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Uniwersytet Gdański

Opiekun naukowy: dr Dorota Myślińska

Natalia Piekarczyk: n.piekarczyk.578@studms.ug.edu.pl

Słowa kluczowe: bakterie jelitowe, spektrum zaburzeń autystycznych, schizofrenia

Streszczenie

Przez całe życie nasze mózgowie jest narażone na czynniki środowiskowe, które modulują połączenia synaptyczne i szlaki neuronalne, co ma późniejszy wpływ na zachowanie oraz procesy uczenia się. Tak zwane krytyczne okresy w rozwoju ośrodkowego układu nerwowego (OUN) to czas, w którym szlaki te są niezwykle plastyczne i mogą ulegać modulacjom w odpowiedzi na zmiany w organizmie. Najnowsze badania wskazują, że postnatalny rozwój mózgu przebiega równolegle wraz z dojrzewaniem mikrobiomu jelitowego. Kolonizacja układu pokarmowego przez drobnoustroje ma kluczowe znaczenie dla młodego osobnika, wpływając na kształtowanie się jego układu odpornościowego, zachodzące w organizmie przemiany metaboliczne i zachowanie homeostazy. Pierwsze komensale zasiedlające nowy organizm pochodzą od matki, a nawet nieznaczne zmiany w ich nabywaniu lub utrzymaniu we wczesnym okresie rozwoju mogą działać jako czynniki ryzyka wystąpienia różnorodnych zaburzeń, również nieprawidłowości w funkcjonowaniu OUN. Zbadanie wpływu oddziaływania mikrobiomu na dojrzewanie mózgowia może pozwolić na lepsze zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw zaburzeń neuropsychiatrycznych, co mogłoby się przyczynić do opracowania nowych środków prewencji oraz wspierania terapii tych zaburzeń z wykorzystaniem drobnoustrojów jelitowych.

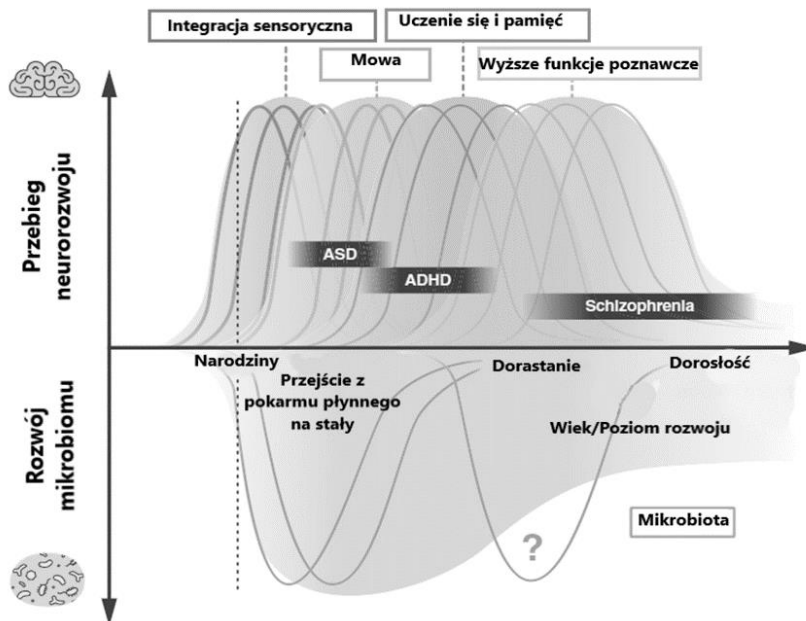
1. Wstęp

Światło przewodu pokarmowego człowieka zasiedlane jest przez ogół mikroorganizmów, na które składa się około 4 milionów genów odpowiadających za różne funkcje, mające w głównej mierze modulujący wpływ na komórki gospodarza. Mikrobiota poprzez oś mikrobom-jelita-mózg oddziałuje również na czynność ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Komunikacja ta odbywa się obustronnie dzięki neuronalnym, endokrynnym i immunologicznym szlakom sygnalizacji. Czynniki endogenne i egzogenne, zaburzające funkcjonowanie i skład ludzkiego mikrobiomu, mogą prowadzić do szeregu zaburzeń, począwszy od tych o podłożu metabolicznym, a kończąc na schorzeniach układu nerwowego. Badania z wykorzystaniem zwierząt pozbawionych drobnoustrojów jelitowych (ang. germ free, GF) dowodzą, iż formowanie mikrobioty następuje równolegle z rozwojem neurologicznym, a okresy krytyczne w kształtowaniu zarówno mikrobiomu, jak i OUN przebiegają niemalże równolegle (Rys. 1). Pozwala to na sformułowanie hipotezy, że stan zdrowia i zachowanie danego osobnika na późniejszych etapach jego życia może być wynikiem wpływu różnych czynników na drobnoustroje komensalne już podczas kolonizacji i ich wczesnego rozwoju.

2. Rozwój mikrobiomu i ośrodkowego układu nerwowego

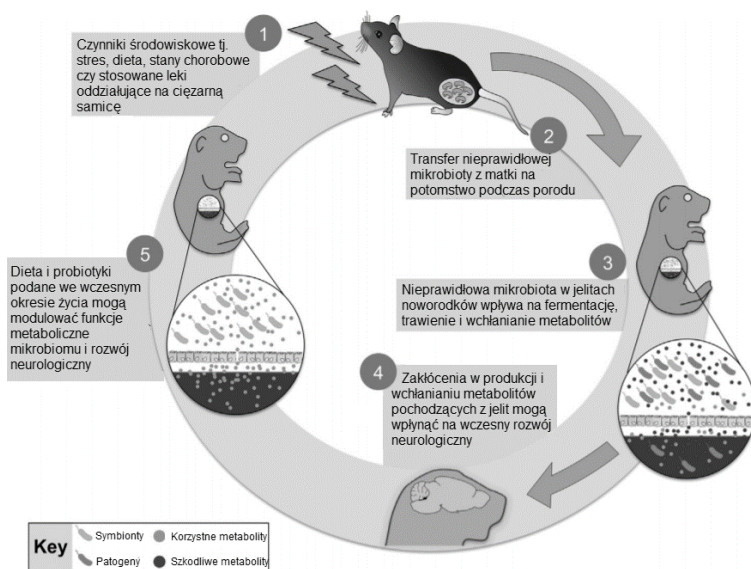
Rozwój mikrobiomu odbywa się w ciągu całego życia każdego człowieka, a jego skład podlega dynamicznym zmianom. Przyjmuje się, że pierwsza kolonizacja układu pokarmowego następuje w momencie narodzin, jednakże ostatnie postępy w technologii sekwencjonowania DNA pozwoliły zwiększyć możliwości wykrywania bakterii zarówno w tkankach matki, jak i potomstwa. W smółce (pierwszy stolec po urodzeniu) 23 noworodków wykryto bakterie, których skład

i różnorodność – niezależnie od sposobu narodzin dziecka (cesarskie cięcie lub poród pochwowy) – nie różniły się między sobą. Dodatkowo, analizując skład mikroorganizmów w smótkach, stwierdzono jego podobieństwo do składu bakterii występujących w płynie owodniowym, co sugeruje, że do zasiedlenia jelit doszło jeszcze w macicy matki, prawdopodobnie w wyniku spożycia płynu owodniowego przez płód. Wskazuje to na możliwy poziomy transfer materiału genetycznego bakterii z matki na dziecko drogą krwiopochodną przez łożysko. Pod względem mikrobiologicznym scharakteryzowano również samo łożysko. Po przeanalizowaniu 320 próbek, dowiedziono, iż ma ono swój własny mikrobiom, obejmujący niepatogenne bakterie z typu *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* oraz *Fusobacteria*. Skład ten wykazuje największe podobieństwo do mikrobioty jamy ustnej (Walker i in. 2017). Przedstawione dane sugerują, że kolonizacja układu pokarmowego zachodzi już w życiu płodowym, jednakże niezbędne są dalsze badania, aby potwierdzić tę hipotezę.



Rys. 1. Punkty krytyczne w rozwoju neuronalnym mózgowia, a stopień rozwoju mikrobioty na tle zaburzeń psychicznych pojawiających się na różnym etapie życia (Cowan i in. 2019; zmodyfikowano).

Sposób przyjścia na świat jest jednym z kluczowych czynników, które mają wpływ na dalsze kształtowanie mikrobiomu. U noworodków, które urodziły się poprzez cesarskie cięcie, wśród gatunków drobnoustrojów dominują te, przypominające swym składem mikrobiom skóry matki, tj. *Staphylococcus*, *Corynebacterium* i *Propionibacterium spp.* Natomiast u dzieci urodzonych poprzez poród waginalny, zauważa się przewagę *Lactobacillus*, *Prevotella* lub *Sneathia spp.*, które występują w pochwie matki. Rozbieżności te mają wpływ na rozwój mikrobiomu w późniejszym życiu i utrzymują się również u dorosłych ludzi (Cowan i in. 2019). W kolejnych dniach po narodzinach liczba i różnorodność drobnoustrojów zwiększa się, a gatunki tlenowe i fakultatywne (względnie beztlenowe) wypierane są przez beztlenowce. Kształtowanie mikrobiomu zachodzi do około 2 roku życia, a na ten proces wpływ ma wiele czynników takich jak czynniki genetyczne, środowiskowe, stres, dieta, stany chorobowe czy stosowane leki - w tym antybiotyki (Rys.2). Okresowi temu towarzyszy również intensywna synaptogeneza w mózgowiu. Postnatalny rozwój neurologiczny i formowanie mikrobioty jelitowej przebiegają równocześnie, co sugeruje ich dwukierunkowe oddziaływanie pomiędzy sobą przez całe życie osobnika.



Rys. 2. Wpływ transferu mikrobioty pomiędzy matką a potomstwem na dojrzewanie i rozwój OUN (Jašarević i in. 2015; zmodyfikowano).

Bakterie jelitowe mogą pośrednio modulować oś stresową podwzgórze-prysadka-nadnercza (PPN), działając na nerw błędny, którego stymulacja prowadzi do jej aktywacji; oraz poprzez liczne cząsteczki sygnałowe produkowane przez komensale, wśród których znajdują się neuroprzekaźniki o działaniu modulującym aktywność neuronalną (neuromodulatory, np. serotonina czy dopamina). U zwierząt GF zaobserwowano wyższy poziom hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) i kortykosteronu (KORT); u ludzi jego odpowiednikiem jest kortyzol) podczas reakcji stresowej w odniesieniu do myszy wolnych od określonych patogenów (ang. specific pathogen free, SPF). Reakcji tej towarzyszyło zmniejszone wytwarzanie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w korze mózgowej i hipokampie. Neurotrofina ta stymuluje przeżywanie neuronów oraz ich różnicowanie się, a także odgrywa istotną rolę we wzroście oraz uplastycznieniu synaps. Doustne podawanie myszom GF pojedynczego szczepu bakterii *Bifidobacterium infantis* przywróciło równowagę w kontrolowaniu reakcji stresowej przez oś PPN. Dodatkowo, dokonany na wczesnym etapie rozwoju myszy GF transfer bioty bakteryjnej poprzez przeszczep kału pochodzącego od myszy SPF, przyczynił się do przywrócenia prawidłowego funkcjonowania osi PPN u zwierząt GF (Sudo i in. 2004). Co ciekawe, zaobserwowano, że gryzonie SPF są wrażliwsze na stres spowodowany separacją matczyną we wczesnym okresie życia. Separacja od matek powoduje głębokie i długotrwałe zmiany w rozwoju OUN, szczególnie w odpowiedzi organizmu na stres, i może służyć jako model do badania zaburzeń psychicznych wywoływanych stresem, np. depresji. U młodych, które zostały odsadzone od samicy, odnotowano podniesiony poziom KORT we krwi i zmiany w mikrobiocie jelitowej, podczas gdy zwierzęta GF poddane takiej samej procedurze nie wykazywały żadnych istotnych zmian. Może to sugerować wpływ zaburzeń mikrobiomu na powstawanie nieprawidłowości w systemach związanych z reakcją stresową, która stanowi istotny mechanizm pozwalający organizmowi na adaptację do nowych warunków środowiska czy radzenie sobie z zagrożeniem. Suplementacja szczepami *Lactobacillus* i *Bifidobacterium infantis* doprowadziła do zmniejszenia poziomu KORT we krwi zwierząt SPF (Cowan i in. 2019).

U myszy SPF po suplementacji bakteriami *Lactobacillus rhamnosus* zauważono spadek stężenia receptorów dla kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) w korze przedczołowej i ciele migdałowatym, oraz wzrost ich stężenia w hipokampie. Dodatkowo odnotowano obniżoną reakcję organizmu na stres, przejawiającą się spadkiem poziomu KORT. Podawanie probiotyków doprowadziło też do poprawy wyników w testach behawioralnych. U badanych zwierząt

obserwowano mniej zachowań depresyjnych i lękowych. Myszy poddane wagotomii (przecięciu nerwu błędnego), u których przeprowadzono te same testy, mimo suplementacji, nie wykazały takich efektów. Podkreśla to rolę nerwu błędnego w komunikacji pomiędzy mikrobiomem a OUN (Bravo i in. 2011). Ponadto w prądkowiu myszy GF zauważono zmniejszony poziom synaptofizyny – białka istotnego dla uwalniania neurotransmiterów i synaptogenezy. Wskazuje to na obniżenie poziomu plastyczności synaps i może być związane z brakiem komensali jelitowych (Heijtz 2010). U samców myszy GF długotrwały brak mikrobioty może wywołać 130% wzrost serotoniny (5-HT) oraz obniżenie poziomu BDNF w układzie serotonergicznym hipokampa. Wzrost 5-HT w tym obszarze mózgu koreluje ze zmniejszeniem zachowań lękowych w teście jasnego-ciemnego pomieszczenia (light-dark box). Wysoki poziom 5-HT w hipokampie utrzymuje się po poddaniu zwierząt zabiegowi przeszczepu mikrobioty jelitowej od myszy SPF, mimo cofnięcia niespecyficznych zachowań lękowych. Warto zauważyć, że zmiany poziomu serotoniny są specyficzne dla płci, co może wynikać z ochronnego wpływu żeńskich hormonów płciowych na OUN u samic (Clarke i in. 2013). Brak drobnoustrojów u myszy GF koreluje ze zwiększoną objętością ciała migdałowatego i hipokampa, przy zachowaniu standardowych rozmiarów mózgowia oraz specyficznych dla tych obszarów zmian morfologicznych. Ponadto brak bioty skutkowało zmniejszeniem gęstości kolców dendrytycznych i skróceniem samych dendrytów w neuronach badanych struktur. Również u gryzoni SPF, którym podawano antybiotyki zaraz po porodzie w celu sterylizacji układu pokarmowego, odnotowano zmniejszenie zachowań lękowych, deficyty pamięci i nieprawidłowy behavior w socjalnym teście przekazywania preferencji pokarmowych (ang. social transmission of food preference, STFP). Podkreśla to znaczenie mikrobiomu oraz jego wpływu na funkcjonowanie OUN w kluczowych okresach rozwoju. Nawet u dorosłych myszy krótkotrwała antybiotykoterapia z wykorzystaniem leków o szerokim spektrum działania może ograniczyć intensywność zachowań lękowych i zmniejszyć wydzielanie BDNF w hipokampie (Tognini 2017).

Mikrobiom ma również wpływ na wzrost i rozwój mikrogleju. Bakterie komensalne są zdolne do modulowania reakcji immunologicznej organizmu – w tym reakcji neurozapalnej, która stanowi podłoże wielu zaburzeń OUN. W mózgowiach myszy GF wykazano większy udział niedojrzałych komórek mikroglejowych, w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej. Dodatkowo, odpowiedź immunologiczna tych komórek indukowana wystawieniem na wzorce molekularne związane z patogenami (ang. pathogen associated molecular patterns, PAMP) obecnymi w strukturach komórkowych bakterii, charakteryzowała się zmniejszonym wydzielaniem cytokin i chemokin, a także obniżoną ekspresją genów odpowiedzialnych za różnicowanie, aktywację i transformację komórek. Podobne wyniki uzyskano w badaniach z wykorzystaniem gryzoni poddawanych antybiotykoterapii lekami o szerokim spektrum działania. Próby rekolonizacji układu pokarmowego poprzez podawanie wybranych szczepów bakterii nie przyniosły efektów terapeutycznych, jednakże suplementacja mieszaniną krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (ang. short chain fatty acids; SCFA) rozpuszczonych w wodzie pitnej, doprowadziło do normalizacji składu komórek mikrogleju (Tognini 2017). SCFA wytwarzane są przez bakterie komensalne podczas beztlenowej fermentacji węglowodanów złożonych, które nie zostały strawione we wcześniejszych odcinkach przewodu pokarmowego. W Tab. 1. wymieniono przykłady nieprawidłowości neurofizjologicznych spowodowanych zaburzeniami mikrobioty jelitowej charakterystycznych dla danej struktury OUN.

Badania myszy GF wskazują modulujący wpływ mikrobioty na przepuszczalność bariery krew-mózg (ang. blood-brain barrier; BBB) oraz bariery jelita-krew w ciągu całego życia zwierząt. Utrata integralności BBB u zwierząt GF wiąże się ze zmniejszoną produkcją białek kładyny-5 i okludyny odpowiedzialnych za tworzenie połączeń szczelinowych łączących błony sąsiednich komórek. Transfer mikrobioty poprzez przeszczep kału pochodzącego od myszy SPF, nawet u dorosłych myszy, spowodował poprawę funkcjonowania BBB (Cowan i in. 2019). Dalsze badania, w których dokonano monokolonizacji myszy GF szczepami bakteryjnymi produkującymi SCFA, wykazały normalizację przepuszczalności BBB u tych zwierząt, co sugeruje ważną rolę tego rodzaju metabolitów bakteryjnych w utrzymaniu integralności połączeń międzykomórkowych (Liśkiewicz i in. 2018). Zarówno u ludzi, jak i na modelu zwierzęcym zaobserwowano zwiększoną przepuszczalność bariery jelitowej pod wpływem stresu przewlekłego i ostrego, niezależnie od jego

charakteru (psychicznego czy fizycznego). W badaniach z wykorzystaniem myszy poddanych długotrwałemu stresowi zaobserwowano zwiększony wychwyty bakterii jelitowych w węzłach chłonnych, co świadczyć może o osłabieniu bariery pomiędzy układem pokarmowym a układem limfatycznym. Przedostanie się bakterii poza światło jelit może doprowadzić do stanu zapalnego w organizmie, a ten, trwający przewlekle, powiązany jest z zaburzeniami OUN, takimi jak stany lękowe czy depresja (Herman 2019).

Tab. 1. Przykłady nieprawidłowości neurofizjologicznych spowodowanych zaburzeniami mikrobioty jelitowej w wybranych strukturach mózgowia gryzoni (Voung i in. 2017).

Opuszka węchowa	Ubytki mikrogleju
Kora przedczołowa	Modyfikacje transkryptomu Ubytki mikrogleju Zwiększona mielinizacja Zmniejszone wytwarzanie neurotrofin
Hipokamp	Modyfikacje transkryptomu Ubytki mikrogleju Zwiększona objętość wybranych regionów Zmniejszona długość dendrytów i liczba kolców dendrytycznych Zwiększony poziom serotoniny Nieprawidłowości w stężeniu neurotrofin i receptorów dla neuroprzekaźników
Mózdzek	Modyfikacje transkryptomu Ubytki mikrogleju
Prążkowie	Modyfikacje transkryptomu Zwiększone przewodnictwo neurochemiczne Zmniejszone wytwarzanie neurotrofin i synaptofizyny
Ciało migdałowe	Modyfikacje transkryptomu Zwiększona objętość Zwiększona długość dendrytów i liczba kolców dendrytycznych Nieprawidłowości w stężeniu neurotrofin
Podwzgórze	Wzmocniona odpowiedź osi stresowej PPN Podwyższony poziom kortykoliberyny Zmniejszona liczba komórek wydzielających oksytocynę

3. Rola mikrobiomu w powstawaniu zaburzeń neurorozwojowych

Zaburzenia neurorozwojowe to upośledzenie rozwoju mózgowia o różnym nasileniu, objawiające się często współistniejącymi nieprawidłowościami w zakresie funkcjonowania społecznego, zachowania oraz funkcji poznawczych. Procesy i mechanizmy, które leżą u podstaw wspomnianych deficytów poznawczych i behawioralnych, pozostają nadal niejasne, jednak badania z wykorzystaniem zwierząt SPF i GF wskazują na ważną rolę mikroorganizmów komensalnych w rozwoju tych zaburzeń.

Zaburzenia ze spektrum autyzmu (ASD) charakteryzują się dużym zróżnicowaniem pod względem symptomów oraz dotkliwości deficytów wpływających na codzienne funkcjonowanie

i dalszy rozwój człowieka. Efektem tych zmian są trwałe, poważne trudności w inicjowaniu i utrzymywaniu relacji społecznych oraz komunikowaniu się, a także ograniczone i powtarzalne wzorce zachowań. Początek zaburzeń występuje zazwyczaj we wczesnym dzieciństwie (Dinan i Cryan 2017). Wykazano, że infekcje i stres oddziałujące na organizm matki w trakcie ciąży zwiększają ryzyko wystąpienia ASD czy schizofrenii, jak również innych zaburzeń behawioralno-poznawczych u potomstwa. (Borre i in., 2014). W badaniach nad ciężarnymi myszami poddanyymi immunizacji obwodowej, wykazano nieprawidłowe reakcje społeczne i powtarzające się, stereotypowe zachowania motoryczne u potomstwa. U niektórych osobników zaobserwowano również obniżony poziom wokalizacji ultradźwiękowej, która stanowi istotny sposób komunikacji u gryzoni. Badanie histopatologiczne mózgowia ujawniło zaburzenia w warstwowej budowie kory mózgowej, które korelowały ze zwiększonym poziomem matczynej interleukiny 17A (IL-17A) wydzielanej przez limfocyty pomocnicze Th17. Interleukina ta wspomaga odpowiedź przeciwbakteryjną, poprzez pobudzenie komórek nabłonka, śródbłonka, fibroblastów oraz makrofagów do wytwarzania innych cytokin np. interleukiny 6, interleukiny 8, czynników martwicy nowotworów (TNF) oraz czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów (ang. granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF). Ponadto, wraz z innymi cytokinami, wzmacnia ona wydzielanie GM-CSF (ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) oraz wpływa na dojrzewanie komórek dendrytycznych (Gołąb i in. 2011). Sugeruje się, że komórki Th17 i wytwarzane przez nie cytokiny odgrywają ważną rolę w ASD, ponieważ podwyższone poziomy IL-17A wykryto w surowicy krwi dzieci z tymi zaburzeniami. Aby upośledzić stymulację układu odpornościowego przez mikrobiom, w tym regulowanie różnicowania i wytwarzania różnych rodzajów komórek T, samicom myszy podano wankomycynę w celu sterylizacji układu pokarmowego, aby oszacować wpływ IL-17A na rozwój funkcji OUN nowego pokolenia. Odnotowano mniejszą ilość komórek Th17 w jelicie cienkim oraz obniżony poziom IL-17A w surowicy matek i noworodków. Nie potwierdzono jednak obecności charakterystycznych zmian w budowie kory mózgowej w badaniu histopatologicznym mózgowia potomstwa (Choi i in. 2016). Dalsze badania potomstwa wykazały zwiększoną przepuszczalność jelit związaną ze zmianą ekspresji genów odpowiedzialnych za tworzenie ścisłych połączeń międzykomórkowych (ang. tight junctions). Odnotowano również zmiany w składzie drobnoustrojów jelitowych obejmujących rodzaje *Clostridia* i *Bacteroidia*. Obie te zmiany przypominają objawy występujące u osób cierpiących na ASD (Tognini 2017). U pacjentów z ASD zidentyfikowano również mutacje i delecje białek SH3 oraz wielu powtórzeń ankirynowych z rodziny genów SHANK, które odgrywają rolę w synaptogenezie OUN. Sauer i współpracownicy, wykorzystując mysi model typu knock-out z delecją genu Shank3, zaobserwowali wytwarzanie tego białka w nabłonku przewodu pokarmowego, zwiększony poziom lipopolisacharydu *Escherichia coli* (składnika błony komórkowej tej bakterii) w wątrobie oraz wzrost stężenia IL-6 i aktywowanych astrocytów, co wskazuje na możliwość indukcji fenotypu ASD przez mechanizmy obwodowe (Sauer i in. 2019). W próbkach kału pobranych od dzieci ze zdiagnozowanym ASD wykryto zmniejszoną liczebność bakterii produkujących maślany (np. *Ruminococcaceae*, *Eubacterium*, *Lachnospiraceae* i *Erysipelotrichaceae*), co związane jest ze zmniejszoną produkcją SCFA (Liu i in. 2019).

Zaburzenia schizofreniczne cechują się zakłóceniami myślenia i spostrzegania oraz niedostosowanym i splecionym afektem, a z czasem u chorego mogą powstawać deficyty poznawcze. Przewidywana długość życia chorych na schizofrenię jest o 15 lat krótsza niż osób zdrowych, nie tylko ze względu na próby samobójcze związane z tą chorobą psychiczną, ale także ze względu na to, że można ją uznać za zespół metaboliczny ze znaczącym wpływem na układ sercowo-naczyniowy. Początek zaburzeń schizofrenicznych występuje najczęściej we wczesnej dorosłości, między 18 a 35 rokiem życia (Akbarian 2014). Badania sugerują, że dziedziczność odgrywa istotną rolę w rozwoju schizofrenii, jednak w ciągu ostatnich 30 lat badacze skupili się na związku między immunizacją a schizofrenią. Badania nad limfocytami pomocniczymi T wykazały, że schizofrenia jest przewlekłą chorobą zapalną, a nieprawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego jest nie tylko czynnikiem ryzyka rozwoju choroby, ale także jej progresji. Wiele procesów, na które wpływ mają zaburzenia mikrobiomu jelitowego, np. dysfunkcje czynności BBB, zwiększenie infiltracji limfocytów T, aktywacja mikrogleju; stanowi także podłoże patologiczne schizofrenii. W celu

modelowania tego schorzenia wykorzystuje się m.in. fenicyklidynę (PCP) – związek chemiczny, którego działanie farmakologiczne polega na blokowaniu otwartego kanału receptora N-metylo-D-asparaginowego (NMDA) dla glutaminianu (neuroprzekaźnika pobudzającego), co skutkuje silniejszą depolaryzacją neuronu. Podawana myszom PCP wywołuje wzrost aktywności lokomotorycznej i deficyty poznawcze, np. zaburzenia rozpoznawania i lokalizacji nowego obiektu czy zaburzenia pamięci przestrzennej. U gryzoni, którym podawano wielokrotnie PCP, zaobserwowano również zmiany składu mikrobioty, które skorelowane były z deficytami pamięci. Podanie badanym osobnikom ampicyliny (antybiotyk β -laktamowy o szerokim spektrum działania) spowodowało, że wspomniane zaburzenia pamięci nie występowały (Dinan i Cryan 2017). Innym modelem zwierzęcym schizofrenii jest immunizacja ciężarnej samicy we wczesnych stadiach ciąży oraz badanie zmian u potomstwa na poziomie behawioralnym i neurochemicznym. Wykazano, że infekcja w czasie ciąży może prowadzić do nieprawidłowości w mikrogleju podczas procesów rozwoju i dojrzewania OUN płodu. Należy podkreślić, że funkcjonowanie mikrogleju może być modulowane również przez mikrobiotę jelitową. Uwrażliwienie komórek mikroglejowych na tak wczesnym etapie życia może wywoływać ich nieadekwatnie zwiększoną reaktywność w okresie dojrzewania i wczesnej dorosłości osobnika, a to z kolei może skutkować zaburzeniami poznawczymi i behawioralnymi. Stanowi to „mikroglejową hipotezę” patogenezy schizofrenii, która sugeruje, że istniejąca nadreaktywność mikrogleju, nieprawidłowości w tzw. przycinaniu synaps (ang. pruning) oraz zmniejszone wytwarzanie neurotrofin upośledzające czynność istoty szarej mózgu prowadzą do rozwoju tej choroby (Gumusoglu i Stevens 2019). Kolejnym dowodem wskazującym na powiązania pomiędzy zaburzeniami mikrobiomu a schizofrenią są wyniki badań przeprowadzonych z udziałem osób cierpiących na tę chorobę. W próbkach kału pacjentów leczonych różnymi lekami przeciwpsychotycznymi z powodu wystąpienia pierwszego epizodu psychotycznego wykazano zwiększoną liczebność bakterii *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* oraz zmniejszoną liczebność drobnoustrojów z rodzaju *Bacteroides* w porównaniu ze zdrowymi osobami stanowiącymi grupę kontrolną. Podgrupa pacjentów, u których skład mikrobiomu różnił się najsilniej w odniesieniu do grupy kontrolnej, wykazała słabą odpowiedź po 12 miesiącach standardowego leczenia farmakologicznego (Schwarz i in. 2018). W innym badaniu na podstawie analizy próbek kału stwierdzono, że w mikrobiomie jelitowym pacjentów, u których wystąpił pierwszy epizod psychotyczny występuje znacząco niższa liczebność bakterii *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* i *Escherichia coli*, przy jednoczesnym wzroście liczebności bakterii *Clostridium coccoides* (Yuan i in. 2018) Przytoczone dane sugerują, że zmiany składu mikrobioty jelitowej mogą być powiązane ze schizofrenią.

4. Podsumowanie

Zwiększająca się liczba wyników badań dotyczących wpływu komensali jelitowych człowieka na jego zdrowie i zachowanie przyczynia się do lepszego zrozumienia ich roli w rozwoju OUN i kształtowaniu jego funkcji. Okresy rozwojowe mikrobiomu i układu nerwowego silnie ze sobą korelują, a zaburzenia w formowaniu się mikrobioty na wczesnym etapie rozwoju człowieka mogą przyczyniać się do zaburzeń neurorozwojowych i psychicznych. Wykorzystanie w badaniach zwierząt GF, wystawionych na działanie patogenów, poddanych antybiotykoterapii lub suplementacji probiotykami pozwala na lepsze zrozumienie komunikacji mikrobiom-jelita-mózg i mechanizmów prowadzących do wymienionych zaburzeń neuropsychiatrycznych. Pomimo trudności w interpretacji wyników badań na modelach zwierzęcych w odniesieniu do ludzi, wiedza na temat efektów zmian w składzie mikrobioty jelitowej może przyczynić się do polepszenia metod leczenia wielu powszechnych chorób OUN. Uzyskane wyniki otwierają również nowe możliwości w kontekście opracowania środków prewencji i wspierania terapii zaburzeń neuropsychiatrycznych.

5. Finansowanie

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2019/35/N/NZ4/00908 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

6. Literatura

- Akbarian S (2014) Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci* 16: 405-417.
- Borre YE, O'Keeffe GW, Clarke G, et al. (2014) Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol Med* 20: 509–518.
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, et al. (2011) Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Natl Acad Sci USA* 108:16050–16055.
- Cho GB, Yim YS, Wong H, et al. (2016) The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science* 351: 933–939.
- Clarke G, Grenham S, Scully P, et al. (2013) The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry* 18: 666–673.
- Cowan CSM, Dinan TG, Cryan JF (2019) Annual Research Review: Critical windows – the microbiota-gut-brain axis in neurocognitive development. *J Child Psychol Psychiatry* 61: 353-371.
- Dinan TG, Cryan JF (2017) Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *J Physiol* 595: 489–503.
- Gołąb J, Jakóbsiak M, Lasek W i in. (2011) *Immunologia*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 126.
- Gumusoglu SB, Stevens HE (2019) Maternal inflammation and neurodevelopmental programming. A review of preclinical outcomes and implications for translational psychiatry. *Biol Psychiatry* 85: 107-121.
- Herman (2019) Zastosowanie suplementacji probiotykami w profilaktyce i leczeniu zaburzeń depresyjnych i lękowych – przegląd dotychczasowych badań. *Psychiatr Pol* 53: 459-473.
- Jašarević E, Howerton CL, Howard CD et al. (2015) Alterations in the vaginal microbiome by maternal stress are associated with metabolic reprogramming of the offspring gut and brain. *Endocrinology* 156: 3265-3276.
- Liśkiewicz PJ, Pełka-Wysiecka J, Wroński M i in. (2018) Flora jelitowa a patomechanizm powstawania zaburzeń afektywnych i lękowych - aktualny stan wiedzy i dalsze perspektywy. *Psychiatria* 15: 70-75.
- Liu S, Li E, Sun Z et al. 2019 Altered gut microbiota and short chain fatty acids in Chinese children with autism spectrum disorder. *Sci Rep* 9: 287-296.
- Sauer AK, Bockmann J, Steinestel K et al. Altered intestinal morphology and microbiota composition in the autism spectrum disorders associated SHANK3 mouse model. *Int J Mol Sci* 20: 2134.
- Schwarz E, Maukonen J, Hyytiäinen T et al. (2018) Analysis of microbiota in first episode psychosis identifies preliminary associations with symptom severity and treatment response. *Schizophr Res* 192: 398-403.
- Sudo N, Chida Y, Aiba Y et al. (2004) Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *J Physiol* 558: 263-275.
- Tognini P (2017) Gut microbiota: a potential regulator of neurodevelopment. *Front Cell Neurosci* 11: 25-34.
- Walker RW, Clemente JC, Peter I et al. (2017) The prenatal gut microbiome: Are we colonized with bacteria in utero? *Pediatr Obes* 12 Suppl 1: 3–17.
- Warner BB (2019) The contribution of the gut microbiome to neurodevelopment and neuropsychiatric disorders. *Pediatr Res* 85: 216–224.
- Yuan X, Zhang P, Wang Y et al. (2018) Changes in metabolism and microbiota after 24-week risperidone treatment in drug naïve, normal weight patients with first episode schizophrenia. *Schizophr Res* 201: 299-30.

12. Rola wybranych adipocytokin oraz stresu oksydacyjnego w patogenezie niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby

The role of selected adipocytokines i oxidative stress in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis

Anna Piórkowska, Karolina Szewczyk-Golec, Marlena Budek, Jarosław Nuszkiewicz

Katedra Biologii i Biochemii Medycznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu
Opiekun naukowy: dr hab. n. med. Karolina Szewczyk-Golec

Anna Piórkowska: ania.grabas@interia.pl

Słowa kluczowe: adipokiny, choroby wątroby, NASH, NAFLD, stan zapalny

Streszczenie

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (NAFLD) to narastający problem zdrowotny na całym świecie oraz istotny czynnik ryzyka zgonu wśród chorych obciążonych chorobami wątroby, jak i kardiometabolicznie. Istotnie wzrastająca częstość występowania tego schorzenia oraz jego gwałtowna progresja do niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (NASH), wymaga nowego podejścia terapeutycznego opartego na dogłębnym zrozumieniu i analizie jego patogenety w celu powstrzymania postępu choroby do zaawansowanego zwłóknienia, marskości oraz raka wątroby. Adipocytokiny (adipokiny) to polipeptydy, wytwarzane przez adipocyty, które wykazują działanie auto-, para- i endokryne na tkanki i narządy. Działające prozapalnie adipokiny, a ponadto narastająca w otyłości insulinooporność są centralnym mechanizmem prowadzącym do lipotoksyczności, endoplazmatycznego stresu oksydacyjnego, zaburzeń autofagii, a w konsekwencji do uszkodzenia i śmierci hepatocytów, które następnie generują stan zapalny, aktywację komórek gwiaździstych wątroby i postępujące zwłóknienie, a tym samym stymulują progresję choroby. W niniejszym przeglądzie podsumowane zostaną aktualne dane dotyczące patogenety NAFLD, ze szczególnym uwzględnieniem wybranych adipocytokin oraz stresu oksydacyjnego. Lepsze zrozumienie patogenety NAFLD/NASH będzie miało swoje implikacje terapeutyczne w przyszłości.

1. Wstęp

Definicja niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby (nonalcoholic fatty liver disease – NAFLD) obejmuje stłuszczenie wątroby w badaniach obrazowych lub w badaniu histologicznym oraz niewystępowanie przyczyn wtórnego nagromadzenia tłuszczu w wątrobie, takich jak spożywanie znacznych ilości alkoholu, przyjmowanie leków powodujących stłuszczenie lub choroby dziedziczne (Brunt et al. 2011). NAFLD obejmuje zarówno niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NAFL; stłuszczenie proste), jak i rozwijające się na jego podłożu niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (NASH; stłuszczenie wątroby z przewlekłym i postępującym zapaleniem wątroby, uszkodzeniem balonowatym hepatocytów, zwłóknieniem wątroby lub bez niego) (Anstee et al. 2013). Nielezione NASH prowadzi do zwłóknienia, marskości i raka wątrobowokomórkowego (Sanyal et al. 2019). Główne czynniki ryzyka NAFLD to: otyłość (zwłaszcza trzewna), cukrzyca typu 2, dyslipidemia, zespół metaboliczny, a także zespół policystycznych jajników (Yki-Järvinen 2014). Pacjenci z NAFLD wykazują zwiększoną ogólną śmiertelność w porównaniu do populacji ogólnej, związaną głównie z cukrzycą typu 2 oraz czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego (Athiros et al. 2015), natomiast chorzy z NASH mają również zwiększoną śmiertelność z powodu postępu zwłóknienia, marskości wątroby i raka wątrobowokomórkowego (Negro 2020). Pomimo, że w ostatnim czasie wiedza na temat mechanizmów komórkowych i molekularnych leżących u podstaw rozwoju choroby znacznie się poszerzyła, wieloczynnikowa patogeneta NAFLD nadal nie jest poznana wystarczająco (Arciello et al. 2013). Niniejszy przegląd podsumowuje i integruje aktualną wiedzę o patogenecie NAFLD i jej

postępie oraz przedstawia nowe spostrzeżenia otwierające możliwość ukierunkowania określonych ścieżek patofizjologicznych w leczeniu omawianej choroby.

2. Patogeneza niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby

NASH to choroba zapalna, niosąca za sobą ryzyko progresji do włóknienia, marskości wątroby i raka wątrobowokomórkowego (Negro 2020). Zapalenie rozwija się wówczas, gdy nadmierny napływ wolnych kwasów tłuszczowych do hepatocytów przewyższa fizjologicznie mechanizmy adaptacyjne, prowadząc do powstawania reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *reactive oxygen species*), stresu siateczki endoplazmatycznej oraz dysfunkcji wątrobowokomórkowych (Masarone et al. 2018). W wyniku opisanej lipotoksyczności następuje immunologiczna i apoptotyczna aktywacja komórek, powodując ich śmierć, co jest jednym z najważniejszych zdarzeń w inicjacji zwłóknienia i marskości wątroby (Guicciardi i Gores 2005).

Obciążenie komórek przez nadmiar wolnych kwasów tłuszczowych angażuje również mitochondria, które je utleniają (Roy et al. 2017). Proces ten również powoduje nadprodukcję ROS, która przekracza normalne mechanizmy antyoksydacyjne, prowadząc do nasilania się stresu oksydacyjnego (Di Meo et al. 2016). Z kolei stres oksydacyjny skutkuje uszkodzeniem DNA, zaburzeniem struktury błony fosfolipidowej poprzez peroksydację lipidów oraz wydzielaniem cytokin prozapalnych, jak czynnik martwicy nowotworów α (TNF α , ang. *tumor necrosis factor α*), interleukina 6 (IL-6) i interleukina 1 β (IL-1 β), prowadząc do dalszego nasilania stanu zapalnego tkanki (Birben et al. 2012).

Szczególnym przykładem cytokin są adipocytokiny- aktywne biologiczne substancje, wytwarzane i wydzielane przez komórki tkanki tłuszczowej (adipocyty), które wykazują działanie auto-, para- oraz endokrynnie na tkanki i narządy (Coelho et al. 2013). Najważniejsze z nich to leptyna, adiponektyna, adypsyna, rezystyna, wisfatyna i TNF α . Wykazano, że niektóre z tych adipokin, takie jak leptyna i adiponektyna, czy TNF α odgrywają istotną rolę w NAFLD (Adolph et al. 2017).

Leptyna jako hormon ma niezwykle szeroki zakres działania w organizmie człowieka (Kelesidis et al. 2010). Bierze udział w regulacji uczucia głodu i sytości (Tremblay i Bellisle 2015). Transportowana z krwią dostaje się do mózgu, wywołując uczucie sytości (Ahima i Antwi 2008). Działa hamująco na przekaźnik pobudzający łaknienie – neuropeptyd Y (Kalra 2008). W modelu mysim wykazano nasilenie fibrogenyzy po podaniu leptyny (Leclercq et al. 2002). Leptyna może aktywować wyciszone dotychczas komórki gwiaździste wątroby (stymulując tym samym podziały komórkowe, syntezę kolagenu i generowanie ROS) i nasilać produkcję transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- β , ang. *transforming growth factor β*) przez komórki Kupffera.

Adiponektyna, peptyd wydzielany przez komórki tłuszczowe, wywiera nie tylko korzystny wpływ na metabolizm glukozy i lipidów, ale również ma bezpośrednie wazoprotekcyjne i antymiażdżycowe działanie na śródbłonek naczyń (Yamauchi et al. 2003). Obniżenie stężenia adiponektyny w surowicy obserwowano w otyłości, cukrzycy typu 2, nadciśnieniu tętniczym, chorobie wieńcowej, udarze mózgowym, a wysokie wartości adiponektyny notowano u ludzi długowiecznych (Daimon et al. 2003). Jak wykazano, adiponektyna ma działanie przeciwzapalne oraz zapobiega stłuszczeniu i włóknieniu hepatocytów (Moller i Berger 2003). Poziom adiponektyny w organizmie człowieka maleje proporcjonalnie do nasilenia stłuszczenia hepapatocytów (Flechtner-Mors et al. 2014). Adiponektyna poprzez aktywację kinazy proteinowej (AMPK, ang. *activated protein kinase*) i receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów α (PPAR α , ang. *peroxisome proliferator-activated receptor*) prowadzi do zmniejszenia insulinooporności w wyniku redukcji ilości trójglicerydów w mięśniach i wątrobie (Kim i Lee 2010). Ponadto adiponektyna hamuje sygnalizację kompleksu białkowego NF- κ B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) śródbłonna i działające prozapalnie cytokiny, takie jak IL-6 i TNF α , przy jednoczesnym stymulowaniu wytwarzania cytokin przeciwzapalnych, takich jak interleukina 10 (IL-10) (Makki et al. 2013). Uwzględniając wymienione mechanizmy działania adiponektyny można stwierdzić, że może mieć kluczowe znaczenie w progresji NAFLD (Whitehead et al. 2006).

Podwyższony poziom TNF α również ma zasadnicze znaczenie w rozwoju NAFLD, wiąże się z otyłością i insulinoopornością w badaniach zarówno w modelach zwierzęcych jak i ludzkich (Willebrords et al. 2015). Ponadto obserwowano zwiększoną produkcję TNF α w hodowlach komórek

krwi obwodowej pobieranych od chorych z NASH (Guerra Ruiz et al. 2007). Myszy z genetycznym niedoborem receptora TNF α okazały się odporne na wystąpienie NASH indukowanego przez dwie różne diety (Li et al. 2017). Ponadto sugerowano, że działanie profibrotyczne TNF α jest wspomagane przez aktywację komórek Kupffera (Tomita et al. 2006).

Nadal niejasny jest wpływ IL-6 (cytokiny wydzielanej przez adipocyty, komórki układu odpornościowego i śródbłonna) na rozwój NAFLD (Ouchi et al. 2011). Wstępne doniesienia potwierdziły hepatoprotekcyjne działanie IL-6 w stłuszczonej wątrobie, polegające na hamowaniu stresu oksydacyjnego i zapobieganiu dysfunkcji mitochondriów (Kovalovich et al. 2000). Wydaje się jednak, że jest to paradoksalny efekt krótkotrwałej ekspozycji na IL-6, gdyż długotrwałe narażenie na omawianą interleukinę może uwrażliwić wątrobę na uraz i śmierć komórek apoptotycznych (Jin et al. 2006). Pozostaje do wyjaśnienia, czy podwyższony poziom IL-6 w przewlekłym uszkodzeniu wątroby przyczynia się do powstania stanu zapalnego, czy też stanowi odpowiedź przeciwzapalną.

3. Ścieżki terapeutyczne

W chwili obecnej podstawą wszystkich interwencji terapeutycznych jest zmiana stylu życia, dieta i ćwiczenia fizyczne, które mają udowodnione działanie odwracające stłuszczenie wątroby, stan zapalny, NASH, a nawet zwłóknienie hepatocytów (Rinella 2015). Docelowa utrata masy ciała musi wynosić około 5-10% pierwotnej masy ciała, aby osiągnąć korzyść kliniczną i histopatologiczną (Romero-Gómez et al. 2017). Wykonywanie ćwiczeń (aerobowych lub beztlenowych) powinno być zalecane wszystkim osobom z NAFLD (Molina-Molina et al. 2018).

Uwzględniając poznane mechanizmy patogenezy NAFLD można wyróżnić różne ścieżki terapeutyczne mające następujące punkty uchwytu dla potencjalnych leków: zapobieganie stłuszczeniu, redukcja stanu zapalnego, hamowanie włóknienia, czy też hamowanie apoptozy.

Z racji tego, że insulinooporność ma zasadnicze znaczenie w patogenezy NAFLD podjęto próby leczenia metforminą, jednakże poza utratą masy ciała, nie osiągnięto żadnych innych korzyści w leczeniu NAFLD (Shields et al. 2009). Agoniści PPAR γ , tiazolidynodiony, mają korzystne, przeciwzwłóknieniowe działanie (Kenneth Cusi et al. 2016). Potwierdzono redukcję stłuszczenia i włóknienia hepatocytów oraz stanu zapalnego w przypadku stosowania pioglitazonu i witaminy E (Kenneth Cusi et al. 2016). Adiponektyna ma działanie hepatoprotekcyjne w modelach zwierzęcych, a jej podanie może okazać się korzystne u osób z NASH (Finelli i Tarantino 2013). Ponadto stwierdzono, że pioglitazon, który znacznie poprawia zmiany charakterystyczne dla NASH, zwiększa również stężenie adiponektyny (Belfort et al. 2006).

W modelach zwierzęcych wykazano, że agoniści receptora glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1 *ang. glucagon-like peptide-1*) jak: eksanetyd i liraglutyd oraz inhibitory dipeptydylopeptydazy 4 (DPP-4 *ang. Dipeptidyl Peptidase-4*) redukują stłuszczenie hepatocytów oraz stan zapalny (Armstrong et al. 2016). Innym kierunkiem w sposobie leczenia może być bezpośrednie zadziałanie na kluczowe enzymy antyoksydacyjne takie jak desaturaza stearylo-CoA (SCD1 *ang. Stearoyl-CoA desaturase-1*) lub acetylotranferazę diacyloglicerolu (DGAT *ang. Diglyceride acyltransferase*), jednak terapie te wymagają jeszcze wielu badań (Ferramosca et al. 2017).

Jak już wyjaśniono, adipokiny są cząsteczkami kluczowymi w patogenezy i postępie NAFLD. Ponieważ nie ma skutecznej specyficznej terapii dla NASH, stosowanie leków bezpośrednio ukierunkowanych na adipokiny wydaje się być obiecującą opcją terapeutyczną (Emmanuel Tsochatzis et al. 2009). Do tej pory przetestowano stosunkowo niewiele leków w tym kierunku.

Pentoksyfilina, niespecyficzny inhibitor TNF α , została zastosowana w badaniu obejmującym 20 chorych z NASH w dawce dobowej 1200 mg (Adams et al. 2004). Po 12 miesiącach odnotowano znaczny spadek aktywności aminotransferaz w surowicy krwi, ale nie uzyskano wyników badań. Znaczny odsetek chorych nie tolerował leku z powodu nudności i objawów żołądkowo-jelitowych. Poprawę histologiczną udokumentowano u 9 chorych leczonych mniejszą dawką pentoksyfiliny, w innym, niedawno przeprowadzonym badaniu, w którym nie zgłoszono działań niepożądanych (Sanjaya Satapathy et al. 2007).

Infliksymab jest przeciwciałem monoklonalnym, które selektywnie i silnie blokuje TNF α (Belhassan et al. 2013). W modelach eksperymentalnych na zwierzętach redukuje on stan zapalny

w NASH, dlatego jego badanie u ludzi mogłoby być interesujące (Koca et al. 2008). Szkodliwe działanie infliksymabu u chorych na alkoholowe zapalenie wątroby jest jednak powodem do obaw i utrudnieniem w zbadaniu skuteczności infliksimabu w leczeniu NAFLD (Naveau et al. 2004).

4. Podsumowanie

NAFLD jest coraz istotniejszym problemem zdrowotnym na całym świecie, dotykającym do 30% ogółu populacji (Satapathy i Sanyal 2015). W populacjach wysokiego ryzyka, te z dużym rozpowszechnieniem cukrzycy typu 2 i otyłością, częstość występowania NAFLD może wynosić nawet 90% (Williams et al. 2011). Częstość występowania NAFLD wzrasta wraz z częstością występowania otyłości, ponieważ, jak omówiono w przeglądzie, ich kluczowe patomechanizmy są powiązane z insulinoopornością (Wang et al. 2015). Dotychczas przeprowadzono wiele badań ukierunkowanych na konkretne patomechanizmy choroby, wiele z tych eksperymentów jest w toku lub ich wyniki są opracowywane. Ponieważ NAFLD jest złożonym zaburzeniem, konieczne może być połączenie kilku mechanizmów terapeutycznych (Friedman et al. 2018).

5. Literatura

- Adams L et al. (2004) A pilot trial of pentoxifylline in nonalcoholic steatohepatitis. *American Journal of Gastroenterology*.
- Adolph T et al. (2017) Adipokines i non-alcoholic fatty liver disease: Multiple interactions. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Ahima R Antwi D. (2008) Brain Regulation of Appetite i Satiety. *Endocrinology i Metabolism Clinics of North America*.
- Anstee Q et al. (2013) Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nature Reviews Gastroenterology i Hepatology*.
- Arciello M et al. (2013) Environmental pollution: A tangible risk for NAFLD pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Armstrong M et al. (2016) Liraglutide safety i efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): A multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *The Lancet*.
- Athyros V et al. (2015) Cardiovascular risk across the histological spectrum i the clinical manifestations of non-alcoholic fatty liver disease: An update. *World Journal of Gastroenterology*.
- Belfort R et al. (2006) A Placebo-Controlled Trial of Pioglitazone in Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis. *New England Journal of Medicine*.
- Belhassan M et al. (2013) Infliximab infusion time in patients with inflammatory bowel diseases: Is longer really safer? *Clinics i Research in Hepatology i Gastroenterology*.
- Birben E et al. (2012) Oxidative stress i antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*.
- Brunt E et al. (2011) Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score i the histopathologic diagnosis in NAFLD: Distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*.
- Coelho M et al. (2013) Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ. *Archives of Medical Science*.
- Daimon M et al. (2003) Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese population: The Funagata study. *Diabetes Care*.
- Emmanuel Tsochatzis et al. (2009) Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: From pathogenesis to implications in diagnosis i therapy. *Mediators of Inflammation*.
- Ferramosca A et al. (2017) Antioxidant dietary approach in treatment of fatty liver: New insights i updates. *World Journal of Gastroenterology*.
- Finelli C, Tarantino G (2013) What is the role of adiponectin in obesity related non-alcoholic fatty liver disease? *World Journal of Gastroenterology*.
- Flechner-Mors M et al. (2014) Association of adiponectin with hepatic steatosis: A study of 1,349 subjects in a random population sample. *BMC Research Notes*.

- Friedman S et al. (2018) Mechanisms of NAFLD development i therapeutic strategies. *Nature Medicine*.
- Guerra Ruiz A et al. (2007) Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels i liver TNF-alpha gene expression in obese patients: Evidence for the potential role of endotoxin in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Obesity Surgery*.
- Guicciardi M, Gores G (2005) Apoptosis: A mechanism of acute i chronic liver injury. *Gut*.
- Jin X et al. (2006) Paradoxical effects of short- i long-term interleukin-6 exposure on liver injury i repair. *Hepatology*.
- Kenneth Cusi et al. (2016) Long-term pioglitazone treatment for patients with nonalcoholic steatohepatitis i prediabetes or type 2 diabetes mellitus a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*.
- Kalra S (2008) Disruption in the leptin-NPY link underlies the pandemic of diabetes i metabolic syndrome: New therapeutic approaches. *Nutrition*.
- Kelesidis T et al. (2010) Narrative review: The role of leptin in human physiology: Emerging clinical applications. *Annals of Internal Medicine*.
- Kim S, Lee W (2010) AMPK-dependent metabolic regulation by PPAR agonists. *PPAR Research*.
- Koca S et al. (2008) The treatment with antibody of TNF- α reduces the inflammation, necrosis i fibrosis in the non-alcoholic steatohepatitis induced by methionine- i choline-deficient diet. *Inflammation*.
- Kovalovich K et al. (2000) Increased toxin-induced liver injury i fibrosis in interleukin-6- deficient mice. *Hepatology*.
- Leclercq A et al. (2002) Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *Journal of Hepatology*.
- Li M et al. (2017) Fatty acids promote fatty liver disease via the dysregulation of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase/hydrogen sulfide pathway. *Gut*.
- Makki K et al. (2013) Adipose Tissue in Obesity-Related Inflammation i Insulin Resistance: Cells, Cytokines, i Chemokines. *ISRN Inflammation*.
- Masarone M et al. (2018) Role of oxidative stress in pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease. *Oxidative Medicine i Cellular Longevity*.
- Di Meo S et al. (2016) Role of ROS i RNS Sources in Physiological i Pathological Conditions. *Oxidative Medicine i Cellular Longevity*.
- Molina-Molina E et al. (2018) Exercising the hepatobiliary-gut axis. The impact of physical activity performance. *European Journal of Clinical Investigation*.
- Moller D, Berger J (2003) Role of PPARs in the regulation of obesity-related insulin sensitivity i inflammation. *International Journal of Obesity*.
- Naveau S et al. (2004) A Double-Blind Randomized Controlled Trial of Infliximab Associated with Prednisolone in Acute Alcoholic Hepatitis. *Hepatology*.
- Negro F (2020) Natural history of NASH i HCC. *Liver International*.
- Ouchi N et al. (2011) Adipokines in inflammation i metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*.
- Rinella M (2015) Nonalcoholic fatty liver disease a systematic review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*.
- Romero-Gómez M et al. (2017) Treatment of NAFLD with diet, physical activity i exercise. *Journal of Hepatology*.
- Roy J et al. (2017) Physiological role of reactive oxygen species as promoters of natural defenses. *FASEB Journal*.
- Sanjaya Satapathy et al. (2007) Beneficial effects of pentoxifylline on hepatic steatosis, fibrosis i necroinflammation in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Gastroenterology i Hepatology (Australia)*.
- Sanyal A et al. (2019) The Natural History of Advanced Fibrosis Due to Nonalcoholic Steatohepatitis: Data From the Simtuzumab Trials. *Hepatology*.
- Satapathy S, Sanyal A (2015) Epidemiology i Natural History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Seminars in Liver Disease*.

- Shields W et al. (2009) The effect of metformin i standard therapy versus standard therapy alone in nondiabetic patients with insulin resistance i nonalcoholic steatohepatitis (NASH): A pilot trial. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*.
- Tomita K et al. (2006) Tumour necrosis factor α signalling through activation of Kupffer cells plays an essential role in liver fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Gut*.
- Tremblay A, Bellisle F (2015) Nutrients, satiety, i control of energy intake. *Applied Physiology, Nutrition i Metabolism*.
- Wang Z et al. (2015) Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease i its metabolic risk factors in women of different ages i body mass index. *Menopause*.
- Whitehead J et al. (2006) Adiponectin - A key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes, Obesity i Metabolism*.
- Willebrords J et al. (2015) Strategies, models i biomarkers in experimental non-alcoholic fatty liver disease research. *Progress in Lipid Research*.
- Williams C et al. (2011) Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease i nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound i liver biopsy: A prospective study. *Gastroenterology*.
- Yamauchi T et al. (2003) Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*.
- Yki-Järvinen H (2014) Non-alcoholic fatty liver disease as a cause i a consequence of metabolic syndrome. *The Lancet Diabetes i Endocrinology*.

13. Przełom w leczeniu cukrzycy- kanagliflozyna

A breakthrough in the treatment of diabetes- canagliflozin

Sochacki Rafał⁽¹⁾, Homa Katarzyna⁽¹⁾, Balawejder Anna⁽¹⁾, Parys Wioletta⁽²⁾

⁽¹⁾Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Analitycznej, Katedra Chemii Ogólnej i Analitycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

⁽²⁾Zakład Chemii Analitycznej, Katedra Chemii Ogólnej i Analitycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Sochacki Rafał: rafalsochacki@op.pl

Słowa kluczowe: Flozyny, SGLT2, Invokana, Diabetyk

Streszczenie

Cukrzyca typu 2 stanowi nawet 90% wszystkich przypadków cukrzycy. U jej podstaw leży insulinooporność lub/i zaburzenia wydzielania insuliny. Od wielu lat poszukuje się skutecznych leków w leczeniu tej choroby. Stosunkowo nową grupą leków są inhibitory kotransportera glukozy-sodowego 2 (SGLT2) tzw. flozyny, których przedstawicielem jest kanagliflozyna. Poprzez hamowanie SGLT2, kanagliflozyna zmniejsza wchłanianie zwrotne przefiltrowanej glukozy i obniża próg nerkowy dla glukozy (RTG), a tym samym zwiększa wydalanie glukozy z moczem, co zmniejsza podwyższone stężenie glukozy w osoczu. Uznawana jest za lek bardzo obiecujący w terapii cukrzycy typu 2, szczególnie u pacjentów z otyłością, ze względu na obniżanie masy ciała. W świetle dotychczas przedstawionych badań jest to substancja o wysokim bezpieczeństwie stosowania i niskim ryzyku działań niepożądanych. Dotychczas w Polsce jest zarejestrowany tylko jeden preparat zawierający tę substancję leczniczą. Możliwe jednak, że wkrótce zainteresowanie tą grupą leków zdecydowanie wzrośnie i w przyszłości zostanie zarejestrowanych więcej preparatów z kanagliflozyną i innymi inhibitorami SGLT2.

1. Wstęp

Kanagliflozyna jest stosunkowo nowym blokerem kotransportera glukozy-sodowego SGLT2, stosowanym doustnie. Jej nazwa chemiczna to: (1S)-hydrat (2:1), 1,5-anhydro-1-C-[3-[[5-(4-fluorofenyl)-2-]tienyl]metyl]-4-metylofenyl]-d-glucitol (<https://www.drugs.com/monograph/canagliflozin.html>).

Lek ten wykazuje właściwości zmniejszające stężenie hemoglobiny glikowanej w porównaniu do wartości wyjściowych. Oprócz tego udowodniono także, że kanagliflozyna wpływa pozytywnie na obniżenie poziomu glukozy w osoczu na czczo i masy ciała na początku badania. Jest więc to lek posiadający szczególnie ciekawy mechanizm działania, niezależny od wydzielania oraz działania insuliny, dzięki czemu kanagliflozyna jest tak szczególnie polecana w leczeniu cukrzycy typu 2.

Lek ten został wpisany do rejestru przez FDA, czyli Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków w roku 2013. Wtedy też mógł ruszyć duży projekt badania CANVAS, którego pomysł przeprowadzenia zrodził się już w 2009 roku, jednak pozyskiwanie uczestników do tego badania mogło się zacząć dopiero po oficjalnym zarejestrowaniu tego leku w bazie. Badanie CANVAS miało na celu zbadanie wpływu stosowania kanagliflozyny na rozwój chorób sercowo-naczyniowych (<https://www.kardiologia-i-diabetologia.pl/artukul/canagliflozyna-i-jej-dzialanie-kardioprotekcyjne>).

Przy stosowaniu tego leku, należy pamiętać, że kanagliflozyna jest tylko jedną z części pełnego programu leczenia. Oprócz tego ważna jest odpowiednia dieta, aktywność fizyczna, kontrola masy ciała, badanie glikemii oraz specjalistyczna opieka medyczna. Ważnym jest, aby zawsze postępować według zaleceń lekarza. (<https://www.drugs.com/mtm/canagliflozin.html>).

2. Przegląd literatury

2.1 Mechanizm działania

Kotransporter sodowo-glukozowy 2 (SGLT2) znajdujący się w proksymalnych kanalikach nerkowych odpowiada za większość reabsorpcji przefiltrowanej glukozy ze światła kanalików. Wykazano, że pacjenci z cukrzycą mają podwyższone wchłanianie zwrotne glukozy w nerkach, co może się przyczyniać do utrzymującego się podwyższonego stężenia glukozy (Janssen Inc. 2017).

Kanagliflozyna jest doustnym inhibitorem SGLT2. Poprzez hamowanie SGLT2, kanagliflozyna zmniejsza wchłanianie zwrotne przefiltrowanej glukozy i obniża próg nerkowy dla glukozy (RTG), a tym samym zwiększa wydalanie glukozy z moczem, co zmniejsza podwyższone stężenie glukozy w osoczu. Mechanizm ten zachodzi niezależnie od insuliny u pacjentów z cukrzycą typu 2. Zwiększone wydalanie glukozy z moczem przy hamowaniu SGLT2 przekłada się również na diurezę osmotyczną, której działanie moczopędne prowadzi do obniżenia skurczowego ciśnienia krwi. Zwiększenie wydalania glukozy z moczem powoduje utratę kalorii, a tym samym zmniejszenie masy ciała, co wykazano w badaniach pacjentów z cukrzycą typu 2 (JanssenInc. 2017).

W badaniach klinicznych zaobserwowano poprawę funkcji komórek beta trzustki oraz zwiększone wydzielanie insuliny przez wspomniane komórki spowodowane spożyciem mieszanego posiłku. Kanagliflozyna w dawce 300mg zapewnia większe zmniejszenie poposiłkowych wahań glukozy niż obserwowane przy dawce 100mg. Efekt ten może być spowodowany miejscowym hamowaniem jelitowego kotransportera SGLT1. Badania nie wykazały złego wchłaniania glukozy podczas stosowania kanagliflozyny (Janssen Inc., 2017).

2.2 Postacie dostępne w Polsce

Kanagliflozyna jest lekiem stosowanym doustnie. W Polsce występuje wyłącznie w preparacie *Invokana* w postaci tabletek powlekanych, w dawkach 100 lub 300 mg. Jest to lek dostępny na receptę. Producentem tego preparatu jest Janssen-Cilag (http://leki.urpl.gov.pl/files/48_Invokana_tabl_powl_100mg_CEN.pdf). Lek ten przyjmuje się zazwyczaj raz na dobę, przed pierwszym posiłkiem w ciągu dnia (<https://www.drugs.com/mtm/canagliflozin.html>).

2.3 Działania niepożądane

Inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2), takie jak kanagliflozyna, zwiększają diurezę, co może powodować zmniejszenie objętości krwi i obniżenie ciśnienia krwi. Działanie to może być silniejsze u osób w podeszłym wieku, pacjentów z zaburzeniami czynności nerek lub z bardzo dużym stężeniem glukozy we krwi. Jest mało prawdopodobne, aby inhibitory SGLT2 powodowały hipoglikemię, ale mogą przyczyniać się do hipoglikemii wywołanej przez inne leki przeciwcukrzycowe, takie jak pochodne sulfonilomocznika i insulinę.

Powszechnie zgłaszane działania niepożądane inhibitorów SGLT2 obejmują:

- bolesne oddawanie moczu,
- wielomocz,
- infekcje narządów płciowych dróg moczowych, takie jak zapalenie sromu i pochwy, zapalenie żołądki, urosepsa i odmiedniczkowe zapalenie nerek; wzrost częstości zakażeń może być związany ze zwiększonym stężeniem glukozy w moczu,
- dyslipidemia,
- zwiększony hematokryt,
- zwiększenie stężenia kreatyniny i mocznika we krwi,
- ostra niewydolność nerek wymagająca dializy,
- ból pleców, zaparcia, nudności, zawroty głowy, wysypka.

Skuteczność inhibitorów SGLT2 zależy od czynności nerek i oczekuje się zmniejszenia skuteczności u pacjentów z dysfunkcją czynności nerek. Ponadto ekspozycja jest zwiększona, co prowadzi do zwiększonej częstości występowania niekorzystnych skutków dla nerek i skutków ubocznych związanych ze zmniejszeniem objętości krwi.

Zaburzenia elektrolitowe związane z kanagliflozyną obejmują zwiększenie stężenia potasu, magnezu i fosforanów w surowicy. Zgłaszano reakcje nadwrażliwości, w tym anafilaksję i obrzęk

naczynioruchowy. Kanagliflozyna może zmniejszać gęstość mineralną kości i zwiększać ryzyko złamań. Pacjenci z grupy podwyższonego ryzyka powinni być monitorowani i poinformowani, aby zwrócili się o pomoc lekarską, jeśli wystąpią u nich nowy ból, wrzody lub infekcja nóg lub stóp (<https://www.medicinescomplete.com/#/content/martindale/26000-h?hspl=Canagliflozin#content%2Fmartindale%2F26000-h%2326000-a3-w>).

Przed rozpoczęciem leczenia kanagliflozyną należy wziąć pod uwagę czynniki pacjenta, które mogą zwiększać ryzyko konieczności amputacji (<https://www.drugs.com/monograph/canagliflozin.html>).

Podczas leczenia należy monitorować pacjentów pod kątem zakażeń, nowego bólu lub tkliwości lub owrzodzeń kończyn dolnych; odstawić kanagliflozynę, jeśli wystąpią takie powikłania (<https://www.drugs.com/monograph/canagliflozin.html>).

2.4 Interakcje

Głównym szlakiem metabolicznym eliminacji jest *O*-glukuronidacja; głównie glukuronidowany przez izoenzymy UGT1A9 i UGT2B4 disfosfoglukuronozylotransferazy urydyny (UGT) (www.janssenlabels.com).

Kanagliflozyna może wykazywać liczne interakcje z innymi lekami. Stosowanie jej z m.in:

- inhibitorami konwertazy angiotensyny (ACE) może zwiększać częstość objawowego niedociśnienia oraz powodować hiperkaliemię u pacjentów z umiarkowanymi zaburzeniami czynności nerek,
- paracetamolem może powodować zwiększenie pola powierzchni pod krzywą stężenia paracetamolu w czasie (AUC),
- cyklosporyną lub digoksyną powoduje zwiększenie pola powierzchni pod krzywą (AUC) cyklosporyny lub digoksyny oraz ich maksymalne stężenie w osoczu,
- diuretykami zwiększa ryzyko wystąpienia niedociśnienia tętniczego,
- hormonalnymi lekami antykoncepcyjnymi zwiększa ich pole powierzchni pod krzywą (AUC) i maksymalne stężenie etynyloestradiolu i lewonorgestrelu w osoczu przy równoczesnym zmniejszeniu pola powierzchni pod krzywą (AUC) kanagliflozyny i maksymalnego jej stężenie w osoczu,
- hydrochlorotiazidem powoduje zwiększenie AUC kanagliflozyny i maksymalnego jej stężenie w osoczu; zmniejszenie AUC hydrochlorotiazidu i maksymalnego jego stężenie w osoczu,
- fenobarbitalem, rytonawirem i fenytoiną może zmniejszać skuteczność kanagliflozyny z powodu zmniejszonej ekspozycji na równoczesne induktory glukuronylotransferazy (UGT),
- metforminą zwiększając maksymalne ich stężenia w osoczu,
- ryfampicyną zmniejsza AUC kanagliflozyny i maksymalne jej stężenie w osoczu. Zmniejszenie skuteczności kanagliflozyny występuje prawdopodobnie z powodu zmniejszonej ekspozycji na równoczesne induktory UGT,
- simwastatyną zwiększa AUC simwastatyny i maksymalne jej stężenie w osoczu,
- warfaryną nieznacznie zwiększa AUC R- i S-warfaryny i maksymalne jej stężenia w osoczu.

Testy glukozy w moczu (np. Test 1,5-anhydroglucitol) - Inhibitory SGLT2, do których należy kanagliflozyna zwiększają wydalanie glukozy z moczem i powodują fałszywie dodatnie wyniki testów glukozy w moczu na co trzeba uważać podczas wykonywania tego typu testów.

Induktory enzymów UGT

Jednoczesne stosowanie kanagliflozyny z induktorem enzymów UGT może zmniejszać skuteczność kanagliflozyny. Jeśli nie można uniknąć jednoczesnego stosowania z induktorem tych izoenzymów UGT, należy rozważyć zwiększenie dobowej dawki kanagliflozyny do 300 mg raz na dobę u pacjentów obecnie tolerujących 100 mg raz na dobę. (www.janssenlabels.com).

Niewydolność nerek

Działanie inhibitorów SGLT2 zmniejszające stężenie glukozy jest osłabione u pacjentów z pogarszającą się czynnością nerek. Dodatkowo inhibitory SGLT-2 zwiększają stężenie kreatyniny w surowicy i zmniejszają szacunkowy współczynnik przesączania kłębuszkowego eGFR. Czynność

nerek należy ocenić przed rozpoczęciem leczenia i regularnie monitorować u tych pacjentów. Stosowanie inhibitorów SGLT-2 u pacjentów z ciężkimi zaburzeniami czynności nerek, schyłkową niewydolnością nerek (ESRD) lub poddawanych dializie jest przeciwwskazane. Ze względu na mechanizm działania nie oczekuje się, że inhibitory SGLT2 będą skuteczne u pacjentów z tym stopniem dysfunkcji nerek (<https://www.drugs.com/disease-interactions/canagliflozin.html>).

Hipokaliemia, czyli zaburzenia elektrolitowe, w których pojawia się niedobór potasu

Kanagliflozyna może powodować hipokaliemię i należy ją stosować ostrożnie u pacjentów z predyspozycjami do tego stanu z powodu stosowania niektórych leków lub innych schorzeń. Po rozpoczęciu leczenia kanagliflozyną należy okresowo monitorować stężenie potasu w surowicy, szczególnie u pacjentów z zaburzeniami czynności nerek. (<https://www.drugs.com/disease-interactions/canagliflozin.html>).

Hiperlipidemia, czyli zaburzenie, w którym występuje wysoki poziom lipidów, tj. cholesterolu i/ lub trójglicerydów we krwi

Istnieją doniesienia o zależnym od dawki zwiększeniu stężenia cholesterolu LDL podczas stosowania inhibitorów SGLT2. Przed leczeniem i w trakcie leczenia należy monitorować poziom cholesterolu, a w razie potrzeby należy rozpocząć odpowiednią terapię (<https://www.drugs.com/disease-interactions/canagliflozin.html>).

Nadciśnienie tętnicze krwi

Inhibitory SGLT2 powodują skurcz objętości wewnątrznaczyniowej i po rozpoczęciu leczenia może wystąpić objawowe niedociśnienie, zwłaszcza u osób w podeszłym wieku, u pacjentów z zaburzeniami czynności nerek, niskim skurczowym ciśnieniem tętniczym lub stosujących leki moczopędne. Stan objętości należy ocenić i skorygować przed rozpoczęciem leczenia, a pacjentów należy monitorować w trakcie leczenia (<https://www.drugs.com/disease-interactions/canagliflozin.html>).

Wpływ na kości

Ze stosowaniem kanagliflozyny wiązano zmniejszenie gęstości mineralnej kości kręgosłupa biodrowego i lędźwiowego oraz zwiększenie ryzyka złamań, chociaż nie osiągnięto konsensusu co do związku przyczynowego (Mannucci i Monami 2017).

Inne badania wykazały częstość występowania złamań wynoszącą 1,1 (leki porównawcze, w tym placebo), 1,4 (kanagliflozyna 100 mg) i 1,5 (kanagliflozyna 300 mg) na 100 pacjentów. Złamania dotyczyły głównie kończyn dystalnych (ręka, nadgarstek, stopa i kostka) i wystąpiły już 12 tygodni po rozpoczęciu stosowania kanagliflozyny. Mechanizm tego efektu nie jest do końca znany. (Alba i in. 2016).

Martwicze zapalenie powięzi

Podczas stosowania inhibitorów kotransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2) zgłaszano martwicze zapalenie powięzi genitaliów lub krocza (zgorzel Fourniera). Cukrzyca jest znanym czynnikiem ryzyka zgorzeli Fourniera i zwykle występuje prawie wyłącznie u mężczyzn. Jednak dane europejskie i amerykańskie sugerują, że zgorzel Fourniera jest związana ze stosowaniem inhibitorów SGLT2 z większą liczbą przypadków zgłoszonych w krótszym okresie niż w przypadku innych leków przeciw cukrzycowych i dotyczyło to zarówno mężczyzn, jak i kobiet. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) zidentyfikowała 12 przypadków zgorzeli Fourniera od marca 2013 do maja 2018 roku u pacjentów przyjmujących inhibitor SGLT2, w porównaniu z jedynie 6 dodatkowymi przypadkami zgłoszonymi u pacjentów przyjmujących inne leki przeciw cukrzycowe w latach 1984-2018. Zgorzel Fourniera rozwijała się od 7 dni do 25 miesięcy po rozpoczęciu leczenia lekiem. (<https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-warns-about-rare-occurrences-serious-infection-genital-area-sgl2-inhibitors-diabetes>).

2.5 Wskazania do stosowania

Jako podstawowe zastosowanie kanagliflozyny można wskazać leczenie cukrzycy typu 2 u dorosłych, u których występuje niewystarczająca kontrola glikemii, jako terapia wspomagająca

ćwiczenia fizyczne i dietę. Lek ten zaleca stosować się w monoterapii, kiedy występują przeciwwskazania do używania metforminy lub jeśli metformina jest nietolerowana przez pacjenta, a także w leczeniu skojarzonym z innymi lekami przeznaczonymi do leczenia cukrzycy. (http://leki.urpl.gov.pl/files/48_Invokana_tabl_powl_100mg_CEN.pdf).

Kanagliflozyna stosowana jest także celem obniżenia ryzyka zgonu z powodu zawału serca, udaru, a także niewydolności serca u osób dorosłych z cukrzycą typu 2, u których zdiagnozowano również chorobę serca.

Powyższy lek jest także stosowany, aby zmniejszać ryzyko schyłkowej choroby nerek, a także hospitalizacji lub śmierci spowodowanej chorobą serca u osób dorosłych, którzy chorują również na choroby nerek, do których przyczyniła się cukrzyca typu 2.

Warto również zaznaczyć, że ta substancja lecznicza nie jest przeznaczona do leczenia cukrzycy typu 1. (<https://www.drugs.com/mtm/canagliflozin.html>).

2.6 Metody oznaczania

W literaturze naukowej wiele publikacji poświęconych jest oznaczaniu samej kanagliflozyny lub w połączeniu z metforminą oraz innymi lekami, zarówno w preparatach farmaceutycznych (tabletkach), jak również w próbkach biologicznych, co zostało przedstawione w Tab. 1. Do oznaczania kanagliflozyny zastosowano metody analityczne, takie jak: cienkowarstwowa chromatografia cieczowa (TLC), wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) oraz ultra sprawną chromatografię cieczową (UPLC) w połączeniu z różnymi detektorami, takimi jak: detektor UV-VIS, detektor z matrycą diodową (PDA, DAD), a także chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) oraz spektrofotometria UV-VIS.

Płytki chromatograficzne pokryte żelom krzemionkowym 60F₂₅₄ były stosowane jako faza stacjonarna w TLC (Kaur i in. 2016). W przypadku techniki HPLC, UPLC oraz LC najczęściej stosowano kolumny C18 (Singh i in. 2019; Zaghary i in. 2017; Saibaba i in. 2018).

Faza ruchoma złożona z mieszaniny acetonitrylu lub metanolu oraz różnych roztworów buforowych była często stosowana w HPLC, UPLC i LC (Zaghary i in. 2017; Saibaba i in. 2018). Natomiast w TLC stosowano trójskładnikową fazę ruchomą złożoną z rozpuszczalników organicznych takich jak: octan etylu, toluen, metanol (Kaur i in. 2016).

Zakres liniowości kanagliflozyny analizowanej przy użyciu metod chromatograficznych oraz spektrofotometrycznych wyrażony w ng plamka⁻¹, µg plamka⁻¹ lub ng ml⁻¹, µg ml⁻¹ zapewnił dobrą liniową zależność między polem powierzchni a stężeniem na krzywej kalibracyjnej, ze współczynnikiem korelacji $R^2 \geq 0.9950$ (Tab.1).

Niskie wartości granic wykrywalności (LOD) oraz granic oznaczalności (LOQ) wskazują na wysoką czułość proponowanych metod oznaczania kanagliflozyny (Tab.1)

Współczesne metody chromatograficzne stwarzają ogromne możliwości w aspekcie oznaczania kanagliflozyny. Umożliwiają prostą, szybką i wygodną analizę ilościową preparatów farmaceutycznych zawierających kanagliflozynę w laboratoriach analitycznych. Ponadto znalazły zastosowanie w oznaczaniu kanagliflozyny i jej metabolitów w płynach ustrojowych. Jest to niezwykle istotne, ponieważ służą do monitorowania stężenia leku w organizmie i ustalenia jego profilu farmakokinetycznego. Pozwalają m.in. na określenie jego rozmieszczenia w organizmie i szybkości przemian, dzięki czemu można dostosować odpowiednie dawkowanie i tym samym zagwarantować pacjentom skuteczność terapeutyczną i bezpieczeństwo wdrażanej farmakoterapii.

3. Podsumowanie

Kanagliflozyna jako inhibitor kotransportera glukozy-sodowego typu 2 jest bardzo obiecującym lekiem dla pacjentów z cukrzycą typu 2. W przeciwieństwie do wielu innych leków przeciwcukrzycowych nie sprzyja przybieraniu masy ciała. W świetle dotychczasowych badań wydaje się również być lekiem dobrze tolerowanym oraz bezpiecznym. Konieczne są jednak dalsze badania mające na celu długofalową analizę bezpieczeństwa tego leku.

Tab.1. Metody analityczne oznaczania kanagliflozyny

Związek	Matryca	Metoda analityczna/ Detekcja	Faza stacjonarna/ Faza ruchoma	Zakres liniowości Współczynnik determinacji (R ²)	Parametry analityczne		Ref.
					Granica wykrywalności LOD	Granica oznaczalności LOQ	
kanagliflozyna	tabletki	TLC 290 nm	żel krzemionkowy 60F ₂₅₄ toluen:octan etylu: metanol (2:2:1, v/v/v)	10-500 ng plamka ⁻¹ R ² = 0.9988	0.39 ng plamka ⁻¹	1.19 ng plamka ⁻¹	(Kaur i in. 2016)
kanagliflozyna	tabletki	spektrofotometria UV 290 nm HPLC-PDA 280 nm	- kolumna C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm) acetonitryl: kwas ortofosforowy (50:50, v/v)	5-50 μg mL ⁻¹ R ² = 0.9955 2-40 μg mL ⁻¹ R ² = 0.9971	0.00945 μg mL ⁻¹	2.86389 μg mL ⁻¹ 0.0028 μg mL ⁻¹	(Singh i in. 2019)
kanagliflozyna +chloro- wodorek metforminy	tabletki	HPLC-DAD 240 nm UPLC-DAD 240 nm	kolumna BDS Hypersil (C18) (2.1 × 100 mm, 3 μm) metanol:bufor fosforanowy (pH 3.2) (75:25, v/v) kolumnaHypersil® gold (C18) (2.1 × 50 mm, 1.9 μm) metanol:bufor fosforanowy (pH 3.2) (80:20, v/v)	1-50 μg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 0.5-90 μg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy) R ² = 0.9999 0.1-50 μg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 0.25-100 μg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy) R ² = 0.9999	0.7154 μg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 0.9327 μg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy)	2.1075 μg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 2.8263 μg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy) 1.406 μg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 1.862 μg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy)	(Zaghary i in. 2017)

Tab.1. Metody analityczne oznaczania kanagliflozyny (c.d.)

Związek	Matryca	Metoda analityczna/ Detekcja	Faza stacjonarna/ Faza ruchoma	Parametry analityczne			Ref.
				Zakres liniowości Współczynnik determinacji (R ²)	Granica wykrywalności LOD	Granica oznaczalności LOQ	
kanagliflozyna + dapagliflozyna + empagliflozyna + chlorowodorek metforminy	tabletki	HPLC-UV 225 nm	kolumna Lichrosorb 100-5NH ₂ (2.1 × 100 mm, 2.2 µm) bufor fosforanowy (pH 2.8):acetonitryl (18.5:81.5, v/v)	3.75-30 µg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 0.3075-2.46 µg mL ⁻¹ (dla dapagliflozyny) 0.3125-2.5 µg mL ⁻¹ (dla empagliflozyny) 12.5-100 µg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy) R ² = 0.999	0.135 µg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 0.077 µg mL ⁻¹ (dla dapagliflozyny) 0.069 µg mL ⁻¹ (dla empagliflozyny) 0.068 µg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy)	0.41 µg mL ⁻¹ (dla kanagliflozyny) 0.233 µg mL ⁻¹ (dla dapagliflozyny) 0.21 µg mL ⁻¹ (dla empagliflozyny) 0.206 µg mL ⁻¹ (dla chlorowodoru metforminy)	(Hassib i in. 2019)
kanagliflozyna	osocze ludzkie	LC-MS/MS	kolumna C18 (4.6 × 100 mm, 5 µm) octan amonu:metanol (15:85, v/v)	10.3-6019 ng mL ⁻¹ R ² ≥ 0.9950	-	10.4 ng mL ⁻¹	(Saibaba i in. 2018)

4. Literatura

- Alba M, Xie J, Fung Ai in. (2016) The effects of canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, on mineral metabolism and bone in patients with type 2 diabetes mellitus, *Current Medical Research and Opinion* 32(8): 1375-1385.
- Hassib ST, Taha EA, ElkadyEFi in. (2019) Validated liquid chromatographic method for the determination of (canagliflozin, dapagliflozin or empagliflozin) and metformin in the presence of (1-cyanoguanidine). *Journal of Chromatographic Science* 57(8): 697-707.
http://leki.urpl.gov.pl/files/48_Invokana_tabl_powl_100mg_CEN.pdf [Dostęp online 23.11.2020]
<https://www.drugs.com/disease-interactions/canagliflozin.html> [Dostęp online 22.11.2020]
<https://www.drugs.com/monograph/canagliflozin.html> [Dostęp online 22.11.2020]
<https://www.drugs.com/mtm/canagliflozin.html> [Dostęp online 23.11.2020]
<https://www.janssenlabels.com> [Dostęp online 23.11.2020]
<https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-revises-label-diabetes-drug-canagliflozin-invokana-invokamet> [Dostęp online 22.11.2020]
<https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-warns-about-rare-occurrences-serious-infection-genital-area-sgl2-inhibitors-diabetes> [Dostęp 22.11.2020]
<https://www.gov.uk/drug-safety-update/sglt2-inhibitors-reports-of-fourrier-s-gangrene-necrotising-fasciitis-of-the-genitalia-or-perineum> [Dostęp online 22.11.2020]
<https://www.janssenlabels.com/package-insert/product-monograph/prescribing-information/INVOKANA-pi.pdf> [Dostęp online 22.11.2020]
<https://www.kardiologia-i-diabetologia.pl/artykul/canagliflozyna-i-jej-dzialanie-kardioprotekcyjne> [Dostęp online 23.11.2020]
<https://www.medicinescomplete.com/#/content/martindale/26000-h?hspl=Canagliflozin#content%2Fmartindale%2F26000-h%2326000-a3-w> [Dostęp online 22.11.2020]
- Kaur I, Wakode S, Singh HP (2016) Development and validation of a stability-indicating high performance thin layer chromatography (HPTLC) method for estimation of canagliflozin in bulk and pharmaceutical dosage form. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 6(5): 51-57.
- Janssen Inc., 2017, Product Monograph "Invokana" canagliflozin tablets 100 mg and 300 mg as anhydrous canagliflozin.
- Mannucci E, Monami M(2017) Bone Fractures with Sodium-Glucose Co-transporter-2 Inhibitors: How Real is the Risk? *Drug Safety* 40: 115–119.
- RuanpengD, Ungprasert P, Sangtian J i in. (2017) Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors and fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Diabetes Metabolism Research and Reviews* 33(6).
- Saibaba SV, Pilli NR, Kumar BimireddyBPi in. (2018) A novel and rapid LC-MS/MS assay method for the determination of canagliflozin in human plasma by solid phase extraction technique and its application to a pharmacokinetic study. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 4: 131-138.
- Singh D, Bedi N, Tiwary K (2019) Comparison of UV spectrophotometric and HPLC method for estimating canagliflozin in bulk and a tablet dosage form. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 81(1): 39-44.
- Tang HL, Li DD, Zhang Jji in. (2016) Lack of evidence for a harmful effect of sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors on fracture risk among type 2 diabetes patients: a network and cumulative meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Obesity and Metabolism* 18(12):1199-1206.
- Zaghary WA, Mowaka S, Hendy MS (2017) Comparative liquid chromatographic study for concurrent determination of canagliflozin and metformin in combined tablets. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 12: 1-9.

14. Dylematy diagnostyczne autoimmunologicznych chorób pęcherzowych skóry

Diagnostic dilemmas of autoimmune bullous skin diseases

Marta Szepietowska, Bernadetta Nowak

Studenckie Koło Naukowe, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii UM we Wrocławiu

Opiekun naukowy: dr hab. n. med. Rafał Białynicki-Birula

Szepietowska Marta: marta.szepietowska0703@gmail.com

Słowa kluczowe: pemfigoid, linijna IgA dermatoza, pęcherzyca opryszczkowata

Streszczenie

Diagnostyka autoimmunologicznych chorób pęcherzowych niejednokrotnie stanowi wyzwanie. Niektóre schorzenia, jak np. linijna IgA dermatoza, pęcherzyca opryszczkowata czy odmiany pemfigoidu mogą manifestować się podobną morfologią zmian chorobowych. Kliniczny obraz schorzenie jest niewystarczający do postawienia ostatecznego rozpoznania, a diagnostyka tej grupy schorzeń opiera się o badania immunologiczne krążących czy też związanych autoprzeciwciał. W pracy przedstawiono rzadki przypadek pemfigoidu pęcherzowego u 53 letniej kobiety, u której wystąpiły zmiany rumieniowe z obecnymi nadżerkami, pęcherzykami i pęcherzami o dobrze napiętej pokrywie. Zmiany przybierały kształt girlandowaty, niektóre układały się obrączkowato. Obraz kliniczny nie był jednoznaczny, podejrzewano jedną z trzech chorób: pemfigoid pęcherzowy, linijną IgA dermatozę oraz pęcherzycę opryszczkowatą. Ostateczne rozpoznanie pemfigoidu pęcherzowego postawiono po wykonaniu badania immunoenzymatycznego ELISA, immunofluorescencji pośredniej oraz immunofluorescencji bezpośredniej. W pracy zwrócono uwagę na istotność badań immunologicznych umożliwiających rozpoznanie i rozróżnienie różnych autoimmunologicznych chorób pęcherzowych o zbliżonym obrazie klinicznym.

1. Wstęp

Choroby pęcherzowe o podłożu autoimmunologicznym występują w populacji stosunkowo rzadko i charakteryzują się powstawaniem wykwitów pęcherzowych i/lub pęcherzykowych w obrębie skóry (Jabłońska i Chorzelski 1994; Szepietowski i Baran 2019). Do rozwoju jednostek chorobowych dochodzi poprzez zainicjowanie reakcji autoprzeciwciał skierowanych przeciwko własnym antygenom organizmu, co prowadzi do wystąpienia reakcji zapalnych. Choroby pęcherzowe wykazują zróżnicowaną morfologię, jednakże w wielu przypadkach obraz kliniczny może być bardzo podobny. Niejednokrotnie kliniczne rozróżnienie linijnej IgA dermatozy pęcherzowej, pęcherzycy opryszczkowatej czy niektórych przypadków pemfigoidu jest praktycznie niemożliwe (Szepietowski i in. 1995; Szepietowski i in. 1996).

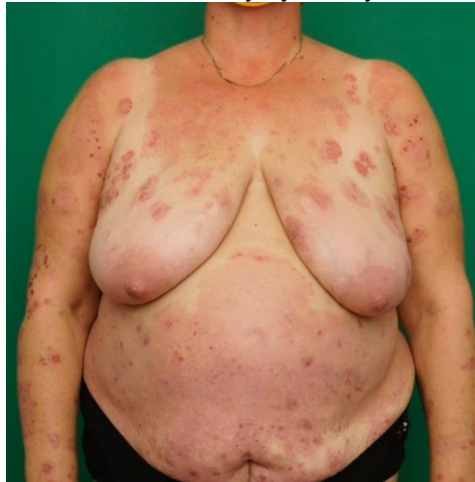
Dlatego też rozpoznanie stawiane jest po wykonaniu badania immunofluorescencyjnego wycinka skóry oraz po badaniach serologicznych wykrywających autoprzeciwciała za pomocą takich metod, jak metoda immunofluorescencji pośredniej, metoda immunoenzymatyczna (ELISA), immunoblotting oraz immunoprecypitacja (Witte i in. 2018; Di Lernia i in. 2020; Van Beek i in. 2020). Dokładne zróżnicowanie poszczególnych jednostek chorobowych jest kluczowe dla wprowadzenia skutecznej terapii. Leczenie autoimmunologicznych chorób pęcherzowych skóry polega przede wszystkim na zahamowaniu produkcji autoprzeciwciał oraz procesu zapalnego, poprzez zastosowanie leków immunosupresyjnych oraz sulfonów (Jabłońska i Chorzelski 1994; Szepietowski i Baran 2019).

W niniejszej pracy przedstawiono przypadek pemfigoidu pęcherzowego, który z powodu niejednoznacznego obrazu klinicznego, nastęrczył wiele trudności diagnostycznych. Ponadto omówiono na przykładzie opisanego przypadku dylematy odnoszące się do procedury diagnostycznej autoimmunologicznych chorób pęcherzowych skóry o podobnej morfologii zmian.

2. Opis przypadku

U 53. letniej kobiety pierwsze rumieniowate zmiany pojawiły się na prawym ramieniu. Pacjentka skarżyła się na bardzo uciążliwy świąd, którego nasilenie oceniła na 10 punktów w skali NRS (11 punktowa skala numeryczna - Numeral Rating Scale). Z powodu powyższych objawami zgłosiła się do lekarza rodzinnego, który zaordynował leczenie antybiotykiem – cefuroksymem 1g/dobę przez 7 dni. Leczenie to jednakże nie przyniosło efektu. Zmiany rozprzestrzeniały się obejmując znaczące obszary skóry, od kończyn górnych, poprzez tułów, kończyny dolne. Zmiany zlokalizowane były na owłosionej skórze głowy. Następnie chora została skierowana do dermatologa, który jednorazowo zalecił podanie dożylnie deksametrazonu w dawce 4mg i skierował pacjentkę do leczenia szpitalnego celem wykonania szczegółowej diagnostyki i dalszego leczenia.

Po sześciu tygodniach od wystąpienia pierwszych objawów pacjentka została przyjęta do Kliniki Dermatologii, Wenerologii i Alergologii we Wrocławiu. Przy przyjęciu badaniem fizykalnym stwierdzono rozległe, rozsiane girlandowato ułożone na skórze całego ciała zmiany rumieniowo-nadżerkowe z obecnymi pęcherzykami i pęcherzami z dobrze napiętą pokrywą. Niektóre ze zmian łączyły się z zlewne ogniska (Rys. 1 i Rys. 2). Część zmian, szczególnie pęcherze i nadżerki, układało się obrączkowo (Rys. 3). Zmianom nadal towarzyszył maksymalnie nasilony świąd skóry.



Rys. 1. Zmiany rumieniowe, pęcherzyki i pęcherze oraz nadżerki zlokalizowane na klatce piersiowej, kończynach górnych i połowkach brzusznych.

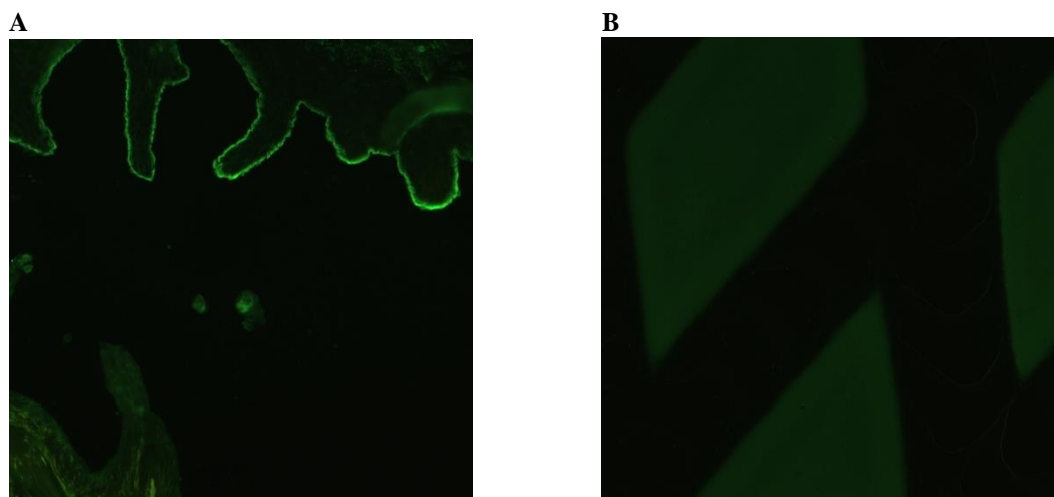


Rys. 2. Zmiany rumieniowe z licznymi nadżerkami o girlandowatym układzie.

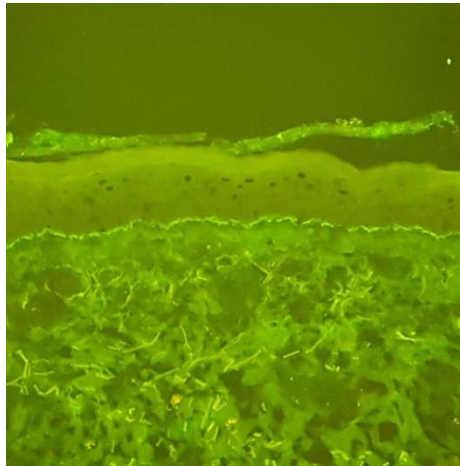


Rys. 3. Nadzěrki po pękniętych pęcherzykach i strupach zlokalizowane na rumieniowo zmienionej skórze, częściowo grupujące się obrączkowato.

W trakcie hospitalizacji pobrano surowicę pacjentki celem wykonania badania immunofluorescencji pośredniej i wykonano biopsję z pogranicza zmian chorobowych w celu przeprowadzenia badania immunofluorescencji bezpośredniej. W badaniu immunofluorescencji pośredniej z wykorzystaniem zestawu Euroimmun (Mozaika Dermatologiczna 7) wykazano obecność krążących przeciwciał w klasie IgG skierowanych przeciwko antygenom połączenia skórno-naskórkowego. W metodzie splitu skórno-przeciwciała te związane były w pokrywę wytworzonego pęcherza (Rys. 4A). Dodatkowo stwierdzono, że przeciwciała krążące łączą się z antygenem BP180 (Rys. 4B), reakcja z antygenem BP230 była ujemna. Badaniem immunoenzymatycznym ELISA potwierdzono obecność przeciwciał w klasie IgG skierowanych przeciwko antygenowi BP180 oraz stwierdzono ich wysokie miano (>200 RU/ml). W badaniu immunofluorescencji bezpośredniej biopsji skóry pobranej z obrzeża zmian chorobowych, uwidoczniło się liniowe złogi składowej C3 dopełniacza ułożone wzdłuż granicy skórno-naskórkowej (Rys. 5).



Rys. 4. Immunofluorescencja pośrednia: badanie wykazujące obecność krążących autoprzeciwciał w klasie IgG skierowanych przeciwko antygenom połączenia skórno-naskórkowego związanych z pokrywą wytworzonego pęcherza w metodzie splitu skórno-przeciwciała (A) oraz obecność autoprzeciwciał przeciwko antygenowi BP180 (B).



Rys. 5. Immunofluorescencja bezpośrednia: badanie wykazujące związane złogi składowej C3c dopełniacza ułożone linijnie na granicy skórno-naskórkowej.

Powyższe badania umożliwiły postawienie jednoznacznego rozpoznania pemfigoidu pęcherzowego. W dodatkowych badaniach laboratoryjnych stwierdzono podwyższoną wartość białka ostrej fazy CRP i mocznika, glukozurię oraz 2. krotnie glikemię na czczo o wartości 317 mg/dl i 356 mg/dl. Poziom hemoglobiny glikowanej wynosił 8,7%. W związku z powyższym u chorej dodatkowo rozpoznano cukrzycę typu II. Ponadto wykonano badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej, miednicy mniejszej oraz obwodowych węzłów chłonnych, w którym uwidoczniono nieznacznie powiększoną wątrobę oraz pęcherzyk żółciowy obkurczony na licznych złoгах. W trakcie pobytu w Klinice wdrożono leczenie ogólne metotreksatem w dawce cotygodniowej 15mg w iniekcjach podskórnych wraz z 15 mg kwasu foliowego podawanego doustnie jednorazowo każdego tygodnia dwa dni po iniekcji metotreksatu. W leczeniu miejscowym zastosowano preparat złożony z hydrokortyzonem i oksytetracykliną w aerozolu na zmiany pęcherzowe i nadżerkowe oraz propionian klobetazolu podłożu kremowym. Z powodu trudności w uregulowaniu cukrzycy, pacjentka została przekazana na Oddział Endokrynologii z zaleceniami kontynuowania leczenia dermatologicznego.

3. Dyskusja

Pemfigoid pęcherzowy, rozpoznany u naszej pacjentki, jest najczęstszą z autoimmunologicznych chorób pęcherzowych skóry, obejmującą 2/3 wszystkich przypadków tej grupy. Częstość występowania pemfigoidu pęcherzowego szacowana jest na 42,8/milion przypadków rocznie (Langan i in. 2008). Pemfigoid pęcherzowy dotyka najczęściej osoby starsze, po 70. roku życia, chociaż obserwowany jest również u osób młodszych (Alpsoy i in. 2015). Choroba ta cechuje się występowaniem swędzących wielopostaciowych zmian skórnych tj. pęcherzyków i pęcherzy różnej wielkości, z dobrze napiętymi pokrywami, umiejscowionymi zarówno na skórze pokrytej wykwitami rumieniowo-obrzękowymi oraz na skórze pozornie niezmienionej. Pemfigoid pęcherzowy może mieć różną manifestację kliniczną, niekiedy klinicznie może przypominać czy wręcz imitować inne jednostki chorobowe, w tym linijną IgA dermatozę oraz pęcherzyce opryszczkowatą (Daniel i Murrell 2019).

Linijna IgA dermatoza klinicznie i immunopatologicznie łączy cechy pemfigoidu pęcherzowego i opryszczkowatego zapalenia skóry (choroby Duhringa). Ta jednostka chorobowa może występować w każdej grupie wiekowej. W jej obrazie klinicznym obserwuje się zróżnicowane, pierścieniowate zmiany skórne o charakterze grudek, pęcherzyków i pęcherzy. Zmiany pęcherzykowo-pęcherzowe charakteryzują się dobrze napiętymi brzegami i pokrywami pęcherza. Powstają zarówno na podłożu zmian rumieniowo-obrzękowych jak i w skórze niezmienionej. Często występuje świąd, a zmiany grupują się przyjmując obrączkowate kształty (Jabłońska, Chorzelski 1994; Morán-Villaseñor i in. 2019).

Pęcherzyca opryszczkowata z kolei charakteryzuje się zmianami skórnymi upodobniającymi się również do opryszczkowego zapalenia skóry. Najczęściej występują zmiany grudkowo-pęcherzykowo-pęcherzowe, o układzie pierścieniowatym, zlokalizowane na rumieniowym podłożu. Pierwsze wykwity skórne, powodujące znaczny świąd, najczęściej pojawiają się w obrębie tułowia oraz proksymalnych częściach kończyn (Galvañ-Pérez Del Pulgar i in. 2016; Kridin 2018).

Rozpoznanie choroby pęcherzowej o podłożu autoimmunologicznym, włączając jednostki chorobowe omówione powyżej, opiera się o szczegółowe badania immunologiczne. Charakterystyczne dla pemfigoidu jest występowanie krążących i związanych przeciwciał w klasie IgG skierowanych przeciwko antygenom połączenia skórno-naskórkowego. W pemfigoidzie pęcherzowym występują przeciwciała skierowane przeciwko antygenowi BP180 i/lub BP230 (Daniel i Murrell 2019). Odmienne w liniowej IgA dermatozie pęcherzowej nie stwierdza się przeciwciał w klasie IgG, natomiast występują przeciwciała w klasie IgA skierowane przeciwko antygenom błony podstawnej naskórka, również przeciwko antygenowi BP180 (Szepietowski i in. 1996; Genovese i in. 2019). Pęcherzyca opryszczkowata jest chorobą o całkowicie odmiennej patologii zlokalizowanej wewnątrz naskórka z autoprzeciwciałami skierowanymi przeciwko desmogleinie 1 i lub desmogleinie 3 (Szepietowski i in. 1995; Witte i in. 2018).

W omawianym przypadku rozpoznanie postawiono po wykonaniu badań immunofluorescencji pośredniej i bezpośredniej oraz badania immunoenzymatycznego ELISA. Badania te umożliwiły definitywne wykluczenie liniowej IgA dermatozy, w której występują skierowane przeciwko składowym błony podstawnej przeciwciała klasy IgA, oraz pęcherzycę o klinicznym obrazie pęcherzycy opryszczkowej, w którym stwierdza się autoprzeciwciała przeciwko desmogleinie 1 bądź desmogleinie 3 – antygenom śródskórnym, a nie występują przeciwciała przeciwko antygenom połączenia skórno-naskórkowego. Dodatkowo potwierdzono rozpoznanie pemfigoidu pęcherzowego wykazując w badaniu immunofluorescencji bezpośredniej liniżne złogi składowej C3c dopełniacza wzdłuż błony podstawnej naskórka (Di Lernia i in. 2020).

4. Podsumowanie

Przedstawiony przypadek obrazuje trudności diagnostyczne autoimmunologicznych chorób pęcherzowych skóry. Wskazuje, że obraz kliniczny wielokrotnie jest niewystarczający do poprawnego rozpoznania choroby i podkreśla kluczową rolę badań immunologicznych w diagnostyce tych schorzeń. Nadmienić należy, że poprawna diagnostyka przekłada się na zastosowania adekwatnej terapii, co umożliwia prowadzenie adekwatnej, skutecznej terapii.

5. Literatura

- Alpsoy E, Akman-Karakas A, Uzun S (2015) Geographic variations in epidemiology of two autoimmune blistering diseases: pemphigus and bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 307(4): 291-298
- Daniel BS, Murrell DF (2019) Review of autoimmune blistering diseases: the pemphigoid diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 33: 1685-1694
- Di Lernia V, Casanova DM, Goldust M i in. (2020) Pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid: update on diagnosis and treatment. *Dermatol Pract Concept* 10(3): e2020050
- Galvañ-Pérez Del Pulgar JI, Tercedor-Sánchez J, Jiménez-Gallo D i in. (2016) Pemphigus herpetiformis with autoantibodies to desmoglein 1 and 3. *Actas Dermosifiliogr* 107(9):785-786
- Genovese G, Venegoni L, Fanoni D i in. (2019) Linear IgA bullous dermatosis in adults and children: a clinical and immunopathological study of 38 patients. *Orphanet J Rare Dis* 14(1): 115
- Jabłońska S, Chorzelski T (1994) Choroby skóry dla studentów medycyny i lekarzy. PZWL, Warszawa: 222-223, 225-228, 236-238
- Kridin K (2018) Pemphigus group: overview, epidemiology, mortality and comorbidities. *Immunol Res* 66(2): 255-270
- Langan SM, Smeeth L, Hubbard R i in. (2008) Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris – incidence and mortality in the UK: population based cohort study. *BMJ* 337: a180

- Morán-Villaseñor E, Campos-Cabrera BL, Arteaga-Henríquez M i in. (2019) Different presentations of linear IgA disease in a father and daughter. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 33(7): e260-e261
- Szepietowski J, Baran W (2019) Terapia w dermatologii. PZWL, Warszawa: 234, 236-239
- Szepietowski J, Cuglewska A, Wąsik F i in. (1996) Linijna IgA dermatoza – rzadki przypadek z epizodami krwawień z nosa. *Post Med. Klin Dośw* 5(1): 51-57
- Szepietowski J, Wąsik F, Baranczewicz-Łosek M i in. (1995) Pemphigus herpetiformis – rzadka odmiana pęcherzycy. *Post Med. Klin Dośw* 4(2): 237-241
- Van Beek N, Schumacher N, Rose C, i in. (2020) Modern diagnostics of autoimmune bullous diseases. *Pathologie* 41(4): 317-325
- Witte M, Zillikens D, Schmidt E (2018) Diagnosis of autoimmune blistering diseases. *Front Med* 5: 296

15. Grzybica twarzy gladiatorów (tinea faciei gladiatorum): opis przypadku i przegląd piśmiennictwa

Tinea faciei gladiatorum: case report and literature review

Marta Szepietowska, Katarzyna Skinderowicz, Alicja Dąbrowska

Studenckie Koło Naukowe, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii UM we Wrocławiu

Opiekun naukowy: dr hab. n. med. Rafał Białyński-Birula

Szepietowska Marta: marta.szepietowska0703@gmail.com

Słowa kluczowe: grzybica skóry, dermatofity, *Trichophyton tonsurans*, zapasy

Streszczenie

Diagnostyka zakażeń grzybiczych niejednokrotnie stanowi wyzwanie, gdyż często przebiegają one w sposób nietypowy oraz mogą wykazywać podobieństwa do wielu innych schorzeń. Dotyczy to również grzybicy skóry, włączając w to rzadką kliniczną postać grzybicy gladiatorów. W pracy przedstawiono przypadek nawrotowej grzybicy twarzy gladiatorów u 11. letniego chłopca uprawiającego od wielu lat zapasy. Obraz kliniczny, szczególnie zmiany nawrotowej nastręczał trudności rozpoznawcze, co doprowadziło do błędnego rozpoznania opryszczki. Ostateczne rozpoznanie grzybicy postawiono po wykonaniu bezpośredniego badania mikologicznego zeszkrobiny pobranych z naskórka chorobowo zmienionego ogniska oraz hodowli. Przedstawiony przypadek zwraca uwagę na zwiększone ryzyko występowania zakażenia grzybiczego skóry wśród zapasników oraz konieczność wprowadzenia skutecznej profilaktyki. W pracy podkreślono również kluczową rolę badania mikologicznego w rozpoznaniu zakażenia grzybiczego.

1. Wstęp

Zakażenia grzybicze skóry są jednymi z najczęstszych chorób infekcyjnych skóry. Powodowane są przez trzy główne grupy grzybów: grzyby drożdżopodobne, grzyby pleśniowe oraz dermatofity, stanowiące zdecydowaną większość patogenów grzybicy skóry (Szepietowski 2001). Dermatofity zakażają keratynę budującą skórę, włosy i paznokcie; wyróżnia się trzy rodzaje dermatofitów: *Trichophyton*, *Microsporum* oraz *Epidermophyton* (Kovitwanichkanont i Chong 2019; Bhatia i Sharma 2014). Grzybyce występują głównie u dzieci, gdzie najczęściej spotykane są na skórze tułowia i głowy, u dorosłych natomiast zazwyczaj dotyczą stóp i paznokci (Szepietowski 2001). Postawienie rozpoznania może być problematyczne, ponieważ grzybyce mogą wykazywać kliniczne podobieństwo do wielu innych chorób, np. grzybica tułowia może być mylona z wypryskiem czy łuszczycą, grzybica głowy z łysieniem plackowatym, a grzybica paznokci ze zmianami dystroficznymi w obrębie aparatu paznokciowego (Ely i in. 2014).

Na rozprzestrzenianie się infekcji grzybiczych znaczący wpływ mają wzmożone migracje ludności i masowa turystyka (McPherson i in. 2008), (Havlickova i in. 2008). Czynniki zwiększającymi ryzyko występowania infekcji grzybiczych ponadto są: przewlekła niewydolność żylna, cukrzyca, zaburzenia układu odpornościowego, przewlekła antybiotykoterapia oraz predyspozycje genetyczne (Szepietowski 2001).

Wśród licznych odmian klinicznych grzybicy skóry wyróżnia się zakażenie charakterystyczne dla zapasników, określane mianem grzybicy gladiatorów (*tinea gladiatorum*). Grzybica gladiatorów wywołwana jest zazwyczaj przez antropofilne dermatofity z gatunku *Trichophyton tonsurans* lub *Trichophyton mentagrophytes*. Jest to jedna z najrzadszych form grzybicy, stanowiąca zaledwie 1,4% wszystkich zakażeń grzybiczych skóry (Bhatia i Sharma 2014). Dotyka ona głównie dzieci i młodzież uprawiającą zapasy, ale może występować również u sportowców dorosłych (Nenoff i in. 2014).

W niniejszej pracy przedstawiono rzadki przypadek grzybicy twarzy gladiatorów (*tinea faciei gladiatorum*), wywołanej przez *Trichophyton tonsurans*, mylonej w procesie diagnostycznym z opryszczką.

2. Opis przypadku

11. letni, ogólnie zdrowy, chłopiec zgłosił się z powodu zapalnej zmiany zlokalizowanej na prawym policzku. Chłopiec od 6 lat uprawiał zapasy. Pierwsza zmiana pojawiła się około 3 miesiące temu bezpośrednio po przyjeździe pacjenta z letniego obozu treningowego. Początkowo była to rumieniowa plama z drobnootrębiastym złuszczeniem, która w krótkim czasie uległa powiększeniu, przybierając obrączkowaty kształt z uniesionym zapalnym obrzeżem (Rys. 1).



Rys. 1. Obrączkowata zmiana rumieniowa z uniesionym zapalnym obrzeżem.

Chłopiec nie odczuwał świądu. Zgłosił się do dermatologa, który na podstawie obrazu klinicznego zasugerował rozpoznanie grzybicy skóry gładkiej i zalecił stosowanie preparatu cyklopiroksaminy w podłożu kremowym wraz z łączonym miejscowym preparatem zawierającym natamycynę, neomycynę i hydrokortyzon w maści. Oba preparaty były stosowane raz dziennie w odmierzonej porze dnia. Po 4. tygodniach leczenia zmiana całkowicie ustąpiła. Chłopiec powrócił do systematycznych treningów.

Po około miesiącu czasu w tej samej lokalizacji na prawym policzku ponownie pojawiła się zmiana, początkowo rumieniowo-złuszczająca, większa niż poprzednio, która szybko przybrała nieco odmienną morfologię. Była to zmiana w kształcie odwróconej litery „E”, składająca się z dwóch niedomkniętych okręgów. W obrębie okręgów występowały pojedyncze drobne pęcherzyki zawierające płyn surowiczy (Rys. 2). Zmianie towarzyszył miernie nasilony świąd.

Pacjent ponownie był konsultowany przez dermatologa w rejonie, który rozpoznał opryszczkę i rozpoczął leczenie doustne acyklowirem (dawka nie jest znana) oraz miejscowo erytromycyną w kremie. Przy braku poprawy i dalszym rozprzestrzenianiu się zmiany po około 10. dniach terapii powyższe leczenie zostało odstawione, a po kolejnym tygodniu chłopiec zgłosił się do innego ośrodka.

Przy przyjęciu stwierdzono owalne, 5 na 3 cm owalne ognisko rumieniowo-złuszczające umiejscowione w dolnej części policzka prawego. Zmiana miała wyraźny obrączkowaty kształt z ostro zapalnym brzegiem z masywnym złuszczeniem. W obrębie ogniska występowały pojedyncze

grudki, jednakże stan zapalny był znacząco mniejszy niż na obwodzie (Rys. 3). Pacjent uskarżał się na świąd o średnim nasileniu.



Rys. 2. Rumieniowa zmiana składająca się z dwóch niedomkniętych ostrozapalnych okręgów z obecnością drobnych pęcherzyków i złuszczenia.

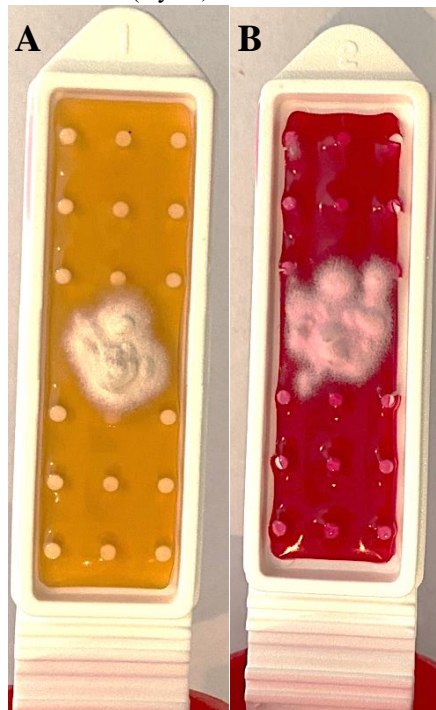


Rys. 3. Ognisko rumieniowo-złuszcające o owalnym kształcie z zasilonym stanem zapalnym i złuszczeniem na obwodzie.

Przeprowadzono badanie mikologiczne. W bezpośrednim badaniu mikologicznym zeszkrobiny naskórka ogniska, wykonanym w 10% roztworze wodorotlenku potasu (KOH) z dodatkiem dimetylosulfotlenku (DMSO), uwidoczniło się liczne nitkowate strzępki grzybni z nielicznymi zarodnikami. Dodatkowo pobrano materiał do badania hodowlanego. Wykorzystano zestaw do szybkiej diagnostyki dermatofitów, grzybów drożdżopodobnych oraz grzybów pleśniowych MYCAGAR® firmy Graso Biotech®. Płytkę do posiewu składa się z dwóch podłoży. Pierwsze podłoże to Sabouraud Dextrose Agar z dodatkiem chloramfenikolu do wzrostu wszystkich rodzajów grzybów. Po drugiej stronie płytki umieszczone jest podłoże Fungiset Agar z aktidionem i czerwieńią fenylową, przeznaczone do wzrostu i wstępnej izolacji dermatofitów. Hodowlę prowadzono w temperaturze pokojowej. Po 72. godzinach zaobserwowano zmianę zabarwienia podłoża Fungiset Agar z żółtego na kolor czerwony, wynikającą z alkalizacji podłoża, co potwierdza obecność dermatofitów.

Na podstawie powyższych badań rozpoznano grzybicę twarzy i wdrożono leczenie doustne terbinafiną w dawce 125 mg na dobę (ciężar ciała pacjenta – 43 kg) oraz miejscowe preparatem łączonym zawierającym izokonazol i diflukortolon w kremie. W ponownie zebranych wywiadach uzyskano informację, że podobne zmiany grzybicze występowały nawrotowo u starszych kolegów (chłopcy 15.-16. letni), którzy wspólnie przebywali i trenowali z pacjentem podczas wakacyjnego obozu treningowego. Po dwóch tygodniach leczenia uzyskano znaczącą poprawę stanu miejscowego. Świąd całkowicie ustąpił, stan zapalny uległ zredukowaniu, pozostały jedynie nieznaczne zmiany rezydualne. Zakończono powyższe leczenie, a terapię kontynuowano miejscowym preparatem terbinafiny w podłożu kremowym.

W tym też czasie uzyskano pełny wynik badania hodowlanego. Na obu podłożach pojawił się wzrost białokremowej, puszystej, dość płaskiej kolonii o nieznacznie postrzępionym brzegu. Środek kolonii wykazywał drobne pofałdowania i wzniesienia (Rys. 4 a i b). W badaniu mikroskopowym z mikrohodowli uwidoczniło się mikrokonidia różnego kształtu z obecnością mikrokonidii o maczugowatym kształcie (Rys 5).



Rys. 4. Białokremowa, puszysta hodowla z nieznacznie postrzępionym brzegiem i pofałdowaną powierzchnią w części centralnej. **A** – podłoże Fungiset Agar z aktidionem i czerwieńią fenylową; **B** - podłoże Sabouraud Dextrose Agar z chloramfenikolem.



Rys. 5. Mikroskopowy obraz mikrohodowli: liczne mikrokonidia, w tym w maczugowatym kształcie. Na tej podstawie zidentyfikowano wyhodowany dermatofit jako *Trichophyton tonsurans*. Po kolejnych dwóch tygodniach leczenia uzyskano całkowite wyleczenie.

3. Dyskusja

Zakażenia skóry są ważnym zdrowotnym problemem sportowców i częstą przyczyną przeszkód w treningach, szczególnie zapaśników. Ryzyko przenoszenia zakażeń skóry jest wyższe w sportach wysokokontaktowych, wliczając w nie zapasy niż przy dyscyplinach sportowych, przy uprawianiu których ryzyko kontaktu między sportowcami szacowane jest jako umiarkowane lub niskie (Ahmadinejad i in. 2013).

Zakażenia grzybicze, szczególnie te powodowane przez grzyby dermatofitowe, nierzadko spotyka się wśród zapaśników. Opisywano nawet lokalne masowe zakażenia, dotyczące szeregu sportowców razem trenujących i rywalizujących ze sobą (Hedayati i in. 2007; Aghamirian i Ghasian 2011). Mimo znanego zjawiska „grzybicy gladiatorów”, niejednokrotnie nietypowe kliniczne obawy choroby stanowią wyzwanie zarówno diagnostyczne, jak i terapeutyczne (Kermani i in. 2019). Z drugiej strony dość częste występowanie dermatofitozy wśród sportowców uprawiających tzw. sporty kontaktowe może wskazywać na brak istnienia odpowiednio zaprogramowanej, skutecznej profilaktyki lub na późną procedurę diagnostyczną czy też nieskuteczne leczenie. Wczesne rozpoznanie schorzenia, umożliwiające wdrożenie jak najszybciej skutecznego leczenia, jest kluczowe dla wyleczenia danego zawodnika, jak i opanowania całego ogniska chorobowego. Dodatkową trudnością są przypadki bezobjawowe, które stanowią źródło zakażenia dla innych zawodników. Należy podkreślić, że zakażony zapaśnik, nie tylko stanowi zagrożenie dla drugiego sportowca, ale zakażenie u niego samego może rozprzestrzeniać się, zajmując kolejne obszary skóry (Ilkit i in. 2010). Wiele badań jednoznacznie wskazuje, że właśnie bezpośredni kontakt skóry poszczególnych zawodników jest główną drogą przenoszenia dermatofitozy. Niektórzy zwracają jednak również uwagę na fakt, że maty zapaśnicze mogą być źródłem zakażenia u niektórych zawodników. Teoria ta nie jest jednak powszechnie akceptowana (Hedayati i in. 2007; Aghamirian i Ghasian 2011).

W odniesieniu do profilaktyki istotnym wydaje się zachowanie wszelakich zasad higienicznych przez sportowca po każdym treningu z dokładnym umyciem detergentem całego ciała. Ważne jest też częste pranie ubiorów sportowych. Zaleca się przeprowadzanie okresowych badań profilaktycznych zawodników pod kątem obecności zmian skórnych. Zakażeni zapaśnicy powinni być jak najszybciej identyfikowani, wykluczani z zajęć treningowych czy zawodów i poddawani leczeniu (Adams 2002). National Collegiate Athletic Association rekomenduje, że w przypadku zakażenia skóry gładkiej zawodnik może powrócić do uprawiania zapasów po 72. godzinach od zastosowania miejscowego lub ogólnego leczenia przeciwgrzybiczego, a w przy zakażeniu skóry głowy po dwóch tygodniach leczenia ogólnego preparatem przeciwgrzybiczym. W każdym z powyższych przypadków zalecane jest zakrywanie zainfekowanego obszaru skóry materiałem biookluzyjnym do czasu zakończenia efektywnego leczenia (Wilson EK i in. 2013). Rekomendacje te wydają się zrozumiałe, bowiem kluby i związki sportowe dążą do jak najszybszego powrotu ich zawodników do czynnego uprawiania sportu i udziału w zawodach. Jednak z punktu widzenia czysto medycznego wydaje się zdecydowanie korzystniejszym, kiedy to w pełni wyleczony zawodnik powraca do rywalizacji na macie zapaśniczej.

Analizując zdarzenia związane z chorobą u opisywanego przez nas pacjenta uwidacznia się szereg typowych elementów. Pierwsze zmiany chorobowe miały charakterystyczną morfologię dla grzybicy skóry gładkiej. Przebiegały pod postacią rumieniowego ogniska o obrączkowatych kształcie z nasilonym stanem zapalnym na obwodzie. Należy zaznaczyć, że przy grzybicy gladiatorów stan zapalny może być i bardziej nasilony z obecnością na obwodzie ogniska dużego nacieku, krost czy masywnego złuszczenia (Kohl i Lisney 2000). Rozpoznanie kliniczne nie nastręczało trudności. Natomiast atypowość zmiany nawrotowej, z występowaniem w obrębie ogniska pęcherzyków, skłoniło klinicystę do błędnego rozpoznania opryszczki i zbędnego leczenia pacjenta ogólnie preparatem acyklowiru. Podkreślenia wymaga, że rozpoznanie zakażenia grzybiczego, w tym grzybicy gladiatorów, nie może opierać się jedynie na obrazie klinicznym. Kluczowe jest potwierdzenie zakażenia w badaniu mikologicznym, zazwyczaj w bezpośrednim badaniu mikologicznym z następową hodowlą. Przeprowadzanie bardziej zaawansowanej diagnostyki mikologicznej z wykorzystaniem metod biologii molekularnej odnosi się jedynie do atypowych przypadków i nie należy do rutynowych procedur diagnostycznych (Kermani i in. 2019). U naszego pacjenta zakażenie grzybicze zostało udokumentowane w badaniu bezpośrednim i potwierdzone hodowlą, z której wyizolowano *Trichophyton tonsurans*. Właśnie ten antropofilny dermatofit jest najczęstszą przyczyną grzybicy gladiatorów. W badaniu obejmującym grupę zapaśników irańskich *Trichophyton tonsurans* był sprawcą zakażenia aż u 92.6% chorych. Pozostałe gatunki izolowane były znacznie rzadziej: *Trichotyton rubrum* (2.8%), *Trichophyton mentagrophytes* (1.75%), *Epidermophyton floccosum* (1.75%), *Trichophyton violaceum* (0.43%), *Trichophyton verrucosum* (0.43%) czy *Microsporum canis* (0.2%) (Bassiri-Jahromi i Khaksar 2008).

Grzybica skóry tułowia (tinea corporis) jest najczęstszą kliniczną manifestacją tinea gladiatorum. Jej odsetek szacowany jest na więcej niż 70% w zależności od populacji. Drugim co do częstości typem grzybicy gladiatorów jest grzybica głowy (Bassiri-Jahromi i Khaksar 2008). Niewątpliwie grzybica twarzy, należąca do grzybicy skóry gładkiej, rozpoznawana u naszego pacjenta, nie należy do częstych typów zakażenia dermatofitowego występującego wśród zapaśników.

Leczenie grzybicy gladiatorów nie odbiega od tego stosowanego w typowym leczeniu grzybicy skóry. Zależy od typu klinicznego grzybicy, jak i od rozległości zmian. Przy leczeniu zakażenia zlokalizowanego w obrębie owłosionej skóry głowy konieczne jest leczenie ogólne. W przypadku grzybicy skóry gładkiej, w tym grzybicy tułowia czy twarzy, niekiedy wystarcza leczenie miejscowe. Zleca się jednak stosowanie preparatów nowszych generacji, bowiem wydają się one bardziej skuteczne niż pochodne imidazolowe (Kohl i Lisney 2000). U chorych z bardziej nasilonym procesem grzybiczym, rozległymi wieloogniskowymi zmianami, nawrotowym przebiegiem choroby zaleca się wdrożenie leczenia ogólnego z wykorzystaniem terbinafiny, flukonazolu czy itraconazolu (Kohl i Lisney 2000). W opisywanym przypadku grzybicy nawrotowej twarzy pełne wyleczenie uzyskano po leczeniu przeciwgrzybiczymi preparatami miejscowymi w połączeniu z doustnie stosowaną terbinafiną.

4. Podsumowanie

Podsumowując, w niniejszej pracy przedstawiono rzadki przypadek grzybicy twarzy gladiatorów. Mamy nadzieję, że przybliżenie tematyki grzybicy gladiatorów zwróci uwagę, zarówno środowiska medycznego, jak i sportowego, na ten typ infekcji skóry. Żywimy nadzieję, że świadomość zwiększonego ryzyka zakażenia grzybiczego skóry w grupie zapasników przyczyni się do diagnozowania grzybicy we wczesnej fazie rozwoju zakażenia, ale także będzie stanowić podwaliny do prowadzenia akcji profilaktycznych.

5. Literatura

- Adams B B (2002) Tinea corporis gladiatorum. *J Am Acad Dermatol*, 47(2): 286–290.
- Aghamirian MR, Ghiasian SA (2011) A clinico-epidemiological study on tinea gladiatorum in Iranian wrestlers and mat contamination by dermatophytes. *Mycoses* 54(3): 248-53.
- Ahmadinejad Z, Razaghi A, Noori A i in. (2013) Prevalence of fungal skin infections in Iranian wrestlers. *Asian J Sports Med* 4(1): 29-33.
- Bassiri-Jahromi S, Khaksar AA (2008) Outbreak of tinea gladiatorum in wrestlers in Tehran (Iran). *Indian J Dermatol* 53(3): 132-6.
- Bhatia VK, Sharma PC (2014) Epidemiological studies on dermatophytosis in human patients in Himachal Pradesh, India. *SpringerPlus* 3:134.
- Ely JW., Rosenfeld S, Seabury Stone M (2014) Diagnosis and management of tinea infections. *Am Fam Physician* 90(10): 702-10.
- Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M (2008) Epidemiological trends in skin mycoses Worldwide. *Mycoses* 51 Suppl 4: 2-15.
- Hedayati MT, Afshar P, Shokohi T i in. (2007) A study on tinea gladiatorum in young wrestlers and dermatophyte contamination of wrestling mats from Sari, Iran. *Br J Sports Med* 41(5): 332-4.
- Ilkit M, Ali Saracli M, Kurdak H i in. (2010) Clonal outbreak of Trichophyton tonsurans tinea capitis gladiatorum among wrestlers in Adana, Turkey. *Med Mycol* 48(3): 480–485.
- Kermani F, Moosazadeh M, Hosseini SA i in. (2019) Tinea gladiatorum and dermatophyte contamination among wrestlers and in wrestling halls: a systematic review and meta-analysis. *Curr Microbiol* 77(4): 602-611.
- Kohl T D, Lisney M (2000) Tinea gladiatorum. *Sports Med* 29(6): 439–447.
- Kovitwanichkanont T, Chong AH (2019) Superficial fungal infections, *Aust J Gen Pract*, 48(10):706-711
- McPherson ME, Woodgyer AJ, Simpson K i in. (2008) High prevalence of tinea capitis in newly arrived migrants at an English-language school. *Med J Aust* 189(1): 13-16.
- Nenoff P, Kruger C, Ginter-Hanselmayer G, Tietz HJ 2014, Mycology – an update. Part 1: Dermatormycoses: causative agents, epidemiology and pathogenesis. *J Dtsch Dermatol Ges* 12(3): 188-209.
- Szepietowski J (2001) Grzybice skóry i paznokci Vademecum lekarza praktyka. *Medycyna Praktyczna*.
- Wilson EK, Deweber K, Berry JW in in. (2013) Cutaneous infections in wrestlers. *Sports Health* 5(5): 423-37.

16. Zespół Downa – praca pogładowa

Down Syndrom – review

Trochimiuk Anna⁽¹⁾, Buczyńska Angelika⁽²⁾

⁽¹⁾ Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych; Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁽²⁾ Centrum Badań Klinicznych; Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁽³⁾ Zakład Endokrynologii Ginekologicznej i Ginekologii Wieku Rozwojowego; Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Opiekun naukowy: dr hab. n. med. Monika Zbucka-Krętowska⁽³⁾

Trochimiuk Anna: anna.trochimiuk@umb.edu.pl

Słowa kluczowe: trisomia 21, badania prenatalne, aberracje chromosomalne

Streszczenie

Trisomia chromosomu 21, znana również jako Zespół Downa (DS), jest najczęściej występującą wrodzoną aberracją chromosomalną. Towarzyszy jej szereg nieprawidłowości metabolicznych, hormonalnych oraz neuronalnych. Pomimo posiadanej wiedzy o przyczynie DS, wpływ w/w rozregulowanych szlaków biologicznych na procesy rozwojowe płodu, pozostają nadal niejasne. Celem pracy jest podsumowanie aktualnej literatury z zakresu patogenezy trisomii 21 z szczególnym uwzględnieniem wykorzystania nowoczesnych metod analitycznych skupiających się na poszukiwaniu użytecznych diagnostycznie markerów screeningowych DS.

1. Wstęp

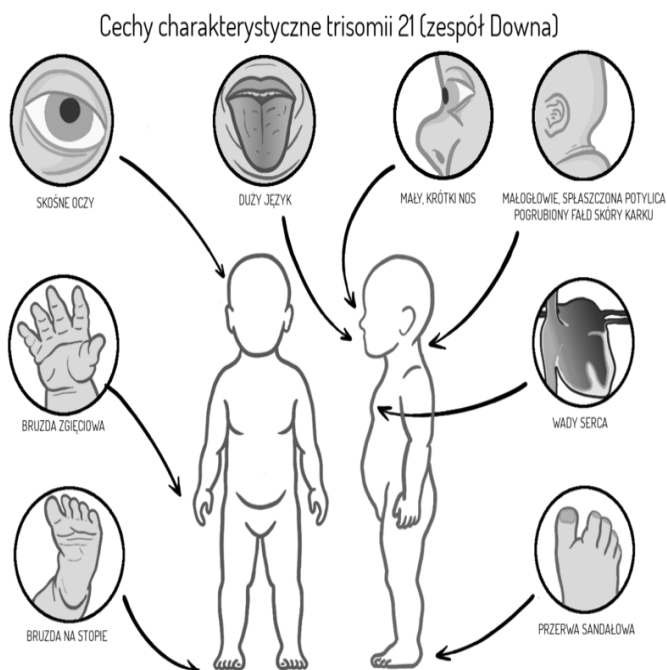
Zespół Downa (DS; *ang. Down Syndrome*), jest najczęstszą aberracją chromosomalną występującą u żywo narodzonych dzieci. Statystycznie, choroba ta występuje w stosunku 1:700 urodzeń na świecie (Buczyńska i in. 2020). Trisomia 21, będąca głównym powodem wystąpienia nieprawidłowości rozwojowych u tych pacjentów powstaje w skutek braku prawidłowego rozdziału chromosomów w czasie mejozy, gdzie dochodzi do duplikacji bądź translokacji całego chromosomu 21 lub jego części. Szczegółowa patogeneza, jak również okoliczności, w których zachodzą te procesy, pozostaje nieznana. Liczne badania naukowe udowodniły, iż obecność dodatkowego chromosomu 21, przyczynia się do zaburzeń wielu szlaków biologicznych, prowadzących do powstania wad rozwojowych u płodu (Charkiewicz i in 2015; Zbucka-Krętowska i in. 2018).

2. Opis zagadnienia

Fenotyp Zespołu Downa charakteryzuje się obecnością pojedynczej bruzdy dłoniowej, migdałowatego kształtu oczu z charakterystyczną zmarszczką nakątną, krótszych kończyn i niskim wzrostem. Ponadto osoby z tą przypadłością zmagają się z osłabionym napięciem mięśniowym oraz są szczególnie narażeni na wystąpienie ciężkiego zapalenia płuc, wad wrodzonych serca, wad kośćca, układu moczowo-płciowego, przewodu pokarmowego, problemów z wzrokiem czy słuchem. (Rys.1) Kluczowym problemem dzieci z DS jest niedorozwój intelektualny, spowodowany upośledzeniem umysłowym od lekkiego do zaawansowanego stopnia. Ponadto, trisomia 21 objawia się wcześniejszym wystąpieniem choroby Alzheimera, poprzez zwiększoną akumulację β -amyloidu w mózgu. Spowodowane jest to faktem, iż gen odpowiedzialny za syntezę prekursora amyloidu, znajduję się na chromosomie 21, co nasila jego akumulację i uszkodzenie komórek mózgowych (Tili i in. 2018).

Kobiety powyżej 35 roku życia wykazują wyższe ryzyko wystąpienia Zespołu Downa u płodu w porównaniu do młodszych kobiet. W celu oszacowania ryzyka wystąpienia aneuploidii u płodu stosuje się testy biochemiczne, zaliczane do metod nieinwazyjnych. Badania te są w pełni bezpieczne dla matki, jak również dziecka, jednakże uniemożliwiają kompleksową diagnostykę wad

wrodzonych płodu, w odróżnieniu do badań inwazyjnych. Z tego powodu poszukuje się nowych połączeń markerów screeningowych by podnieść ich wartość użyteczności diagnostycznej.



Rys.3. Zespół Downa - cechy charakterystyczne.

W skład nieinwazyjnych badań biochemicznych wchodzi badanie ultrasonograficzne (USG), oceniające przezierność tkankową, obecność kości nosowej, spektrum przepływu przez przewód żylny, zastawkę trójdzielną oraz kąt twarzowy płodu. Dodatkowo wykonuje się testy biochemiczne takie jak: badanie wolnej podjednostki beta ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (β hCG) (*ang. beta-human chorionic gonadotropin*) oraz ciążowe białko osocze A (PAPPA) (*ang. pregnancy associated plasma protein-A*). Badanie to charakteryzuje się skutecznością 91% połączoną z 5% ryzykiem otrzymania wyników fałszywie dodatnich. Przełomowym momentem diagnostyki nieinwazyjnej okazało się wprowadzenie testów genetycznych, opierających się na badaniu wolno krążącego, płodowego DNA płodu (ffDNA; *ang. free fetal DNA*) wykrywalnego w krwi matki, zaliczany do grupy nieinwazyjnych badań prenatalnych (NIPT; *ang. non-invasive prenatal testing*). Skuteczność tego badania określono na 99,8%, jednakże, jako metoda nieinwazyjna, w dalszym ciągu nie jest uznawana za metodę diagnostyczną, a dodatkowo obarczona jest wysokimi kosztami wykonania (Wanapirak i in. 2018; Zbucka-Kretowska i in. 2017, 2018).

Badania inwazyjne, takie jak amniopunkcja lub biopsja kosmówki, charakteryzuje się wyższą wykrywalnością i swoistością niż badania nieinwazyjne, jednakże wiążą się z 0,5-1% ryzykiem wystąpienia wad urodzeniowych u płodu, a nawet poronieniem (Parfieniuk i in. 2018). Porównanie metod nieinwazyjnych oraz inwazyjnych zostało przedstawione w Tab.1.

Płyn owodniowy pochodzi z tkanek maczynych, płodowych i łożyskowych, dlatego jego skład biologiczny jest skorelowany z procesami związanymi z dojrzewaniem płodu oraz wymianami biochemicznymi. Badania dowiodły, iż skład płynu owodniowego, w czasie II trymestru ciąży, jest porównywalny z składem jej osocza (Wanapirak i in. 2018). Podkreślając fakt, iż elementy biochemiczne pochodzące z krwi matki dyfundują poprzez łożysko, dostarczają składniki odżywcze niezbędnych do wzrostu i rozwoju płodu, a płód przekazuje zbędne produkty przemiany materii matce, stanowi to podstawę do poszukiwania nowych markerów screeningowych w krwi matki w celu podniesienia użyteczności diagnostycznej testów nieinwazyjnych.

Tab.1. Porównanie badań prenatalnych.

Cecha\badanie	<i>Amniopunkcja</i>	<i>NIPT</i>	<i>Test PAPPa + USG</i>
Diagnostyczne	+	-	-
Nieinwazyjne	-	+	+
Ryzyko poronienia	-	+	+
Czułość ponad 99%	+	+	-
Ubezpieczenie	-	+	-
Wcześniej określa płeć	+	+	-
Szeroki zakres działania	+	+	-

Inwazyjne i nieinwazyjne badania prenatalne dostarczają cenny materiał wykorzystywany w badaniach genetycznych. Gen związany z progresją Zespołu Downa -DYRK1A mapuje region krytyczny dla DS. na 21q22. Mutacje tego genu skutkują małogłowiec związany z niepełnosprawnością intelektualną lub autyzmem. Dysfunkcja ta została udowodniona na mysim modelu poprzez nadekspresję -DYRK1A, która naśladowała fenotypy zespołu Downa u ludzi oraz korelowała z w/w zaburzeniami.

Z względu, iż microRNA (miRNA), czyli krótkie niekodujące fragmenty RNA regulujące ekspresję genów, odgrywają kluczową rolę w epigenetycznej regulacji ekspresji, stało się ono celem badań ukierunkowanych na opracowanie nowych, nieinwazyjnych metod badań przesiewowych płodu (Zbucka-Kretowska i in. 2019). Ponadto nieprawidłowa ekspresja miRNA jest związana z rozwojem różnych chorób, takich jak nowotwory, choroby układu krążenia, zaburzenia metaboliczne, niepełnosprawność intelektualna i trisomia 21. Badania metodą reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (qRT-PCR) (*ang. quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction*) udowodniły związek pomiędzy nadekspresją miR-155, obecnego w tkance mózgowej noworodków z DS, a tendencją do wystąpienia chorób rozrostowych układu białokrwinkowego (Tili i in. 2018). Stwierdzono także, iż demencja związana z DS silnie koreluje z nadekspresją miR-155 przy równoczesnej redukcji wielu procesów funkcjonalnych w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), co może skutkować szybszym wystąpieniem tej choroby (Muchová i in. 2014). Dodatkowo analiza wolnokrążącego miRNA pozyskana z tkanki mięśnia sercowego płodu z potwierdzonym DS, udowodniła związek pomiędzy nadekspresją miR-99a-5p, let-7c-5p i miR-155-5p i miR-802, a wystąpieniem wad serca stwierdzonych podczas rozwoju trisomii 21 (Izzo i in. 2017). Dodatkowo, nagromadzenie mutacji somatycznego DNA w czasie rozwoju DS przyczynia się do zwiększenia nasilenia stresu oksydacyjnego, który dodatkowo nasila zaburzenia w ekspresji genów (Elton i in. 2013). Badania prowadzone przez zespół dr Zbuckiej-Krętowskiej i innych, wykazały, że 13 miRNA ulega zmienionej ekspresji u ciężarnych kobiet z zespołem Downa (Zbucka-Kretowska i in. 2019). Dodatkowo, badania prowadzone przez innych naukowców wykazały zaangażowanie pięciu miRNA swoistych dla chromosomu 21 stwierdzając podwyższone poziomy miR-99a i miR-3156 uzyskanego z osocza ciężarnych z potwierdzonym DS. u płodu w porównaniu do grupy kontrolnej (Kotlabova i in. 2013). Lim i in. opisali zmienioną ekspresję miRNA specyficznych dla łożyska, miR - 1973 i miR - 3196, które ulegały nadekspresji w łożysku trisomii 21 (Erturk i in. 2016). Dane te sugerują, że profilowanie miRNA może być obiecującą strategią w rozwoju nieinwazyjnych testów prenatalnych.

Dodatkowy chromosom 21, skutkuje wystąpieniem szeregu zmian w metabolomie matki. Badania metabolomiczne, charakteryzują się zastosowaniem najnowszych technik z zakresu analizy składu materiału biologicznego oraz jednoczesnego oznaczenia wielu substancji będącymi markerami procesów biochemicznych, które zachodzą w czasie rozwoju płodu. W pełni odzwierciedlają interakcję między wpływami genetycznymi i środowiskowymi, a zatem mogą dostarczyć informacji w celu wyjaśnienia patogenezy wystąpienia wad rozwojowych (Parfieniuk i in. 2018). Podczas prowadzonych badań, wykazano szereg różnic w stężeniach związków odpowiedzialnych za

prawidłowy metabolizm sfingolipidów, cykl kwasu foliowego, elementów składowych cyklu kwasu cytrynowego (TCA) oraz w procesie metylacji (Charkiewicz i in. 2015). Nieprawidłowości te, skutkują zaburzeniem wielu procesów takich jak: fosforylacja oksydacyjna, łańcuch transportu elektronów, utlenianie kwasów tłuszczowych, co skutkuje potencjalną zmniejszoną odpornością na stres oksydacyjny, nieprawidłową biosyntezą glutationu (będącego jednym z najważniejszych antyoksydantów), peroksydacją lipidów, zmianą stężenia aminokwasów oraz uszkodzeniem DNA/RNA, co prowadzi do rozwinięcia się wad rozwojowych obserwowanych w DS. Dodatkowo, badania te znalazły odzwierciedlenie w wprowadzaniu nowych markerów screeningowych DS. Udowodniono, iż jednoczesne oznaczanie stężenia linoleamidu i piperyny może być stosowane, jako wczesne biomarkery DS. Wykazany udział linoleamidu w przebiegu Zespołu Downa może być związany z udziałem tego białka w szlaku metabolizmu lipidów, w tym z procesem peroksydacji. Ponadto, badana piperyna wykazuje właściwości przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwgorączkowe oraz odgrywa kluczową rolę w procesie neuroprotekcji. W związku z powyższymi, piperyna może stanowić potencjalny punkt uchwytu przyszłych terapii medycznych (Charkiewicz i in. 2015; Parfieniuk i in. 2018).

Wyniki uzyskane z zastosowaniem wysokospecjalistycznych metod detekcyjnych mają przełożenie na kontynuację tych badania z wykorzystaniem metod biochemicznych, a szczególnie metod ELISA. Badania prowadzone w celu poszukiwania nowych markerów screeningowych udowodniły, iż stężenia Apolipoproteiny E (ApoE) w osoczu kobiet w ciąży z potwierdzonym DS u płodu były istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej. Wysoka czułość i swoistość wskazała na użyteczność przesiewową oznaczenia stężenia ApoE u matki w badaniach przesiewowych DS u płodu w okresie prenatalnym (Buczyńska i in. 2020). Kolejne badania przeprowadzone w osoczu otrzymanym od kobiet w ciąży z potwierdzonym zespołem Downa u płodu wykazało znaczny wzrost stężenia kilku czynników angiogennych i zapalnych oraz znaczący spadek stężenia 14 czynników angiogenezy, takich jak angiopoetyna 2, czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), Tie-2. Wybrane wyniki tych badań przedstawiono w tabeli 2 (Tab.2) (Zbucka-Kretowska i in. 2018).

Osoby z DS częściej cierpią z powodu licznych infekcji, zwykle górnych dróg oddechowych, charakteryzujących się zwiększonym nasileniem i przedłużonym przebiegiem choroby, które są przypisywane wadom układu odpornościowego. Nieprawidłowości układu odpornościowego związane z DS dotyczą łagodnej bądź umiarkowanej limfopenii komórek T i B, upośledzoną proliferację limfocytów T indukowaną mitogenem, zmniejszoną specyficzną odpowiedzią przeciwciał na immunizację oraz defekty chemotaksji neutrofilii. Badania prowadzone na grupie osób z DS potwierdziły wyższe stężenia IL1 β odzwierciedlające zwiększoną podatność na infekcje oraz zwiększoną częstość zaburzeń autoimmunologicznych, podczas gdy dodatni związek między IL1 β i białka tau w DS może dodatkowo wskazywać, że IL1 β jest związany z neurodegeneracją (Zhang i in. 2017). Dodatkowo, prowadzone badania ujawniły 213 statystycznie istotnych autoprzeciwciał zaangażowanych w patogenezę DS, których ekspresja uległa zmianie w grupie badanej z zespołem Downa u płodu. Wartość predykcyjna wprowadzanego panelu diagnostycznego wynosiła 100% (Charkiewicz i in. 2016). Ponadto, analiza szeregu chemokin, zaangażowanych w różne reakcje zapalne, okazała się również obiecującym panelem screeningowym DS. Wykazano znaczący spadek stężenia 4 chemokin w osoczu - HCC-4, IL-28A, IL-31 i MCP-2 oraz wzrost stężenia CXCL7 (NAP-2) oraz spadek stężenia 3 chemokin - ITAC, MCP-3, MIF i wzrost chemokin IP-10, MPIF-1, CXCL7 w płynie owodniowym ciężarnych z potwierdzonym DS u płodu (Laudanski i in. 2014).

Istnieje coraz więcej doniesień, wykazujących, iż osoby z DS są narażone na oddziaływanie zwiększonego stresu oksydacyjnego, zaangażowanego w występowanie i nasilenie szeregu patologii związanych z tą chorobą, a także na przyspieszone starzenie się oraz wystąpienie demencji (Muchová i in. 2014). Gen dysmutazy nadadtlenkowej (SOD1), który kodowany jest na chromosomie 21, wykazuje zwiększoną nadekspresję (w około 50% przypadków pacjentów), co skutkuje wzrostem stężenia reaktywnych form tlenu (ROS). Procesy te prowadzą do oksydacyjnego uszkodzenia DNA, białek i lipidów, dlatego stres oksydacyjny może odgrywać ważną rolę w patogenezie DS (Izzo et al. 2018). Badania pośmiertne *in vitro* wykazały, że stres oksydacyjny odgrywa ważną rolę w patogenezie wielu cech klinicznych DS (Barone i in. 2018). Podwyższone stężenie markerów stresu

oksydacyjnego- aldehydu dimalonowego (MDA; *ang. malondialdehyde*) oraz podwyższony poziom substancji reaktywnych w kwasie tiobarbiturowym (TBAR; *ang. thiobarbituric acid reactive substances*) obecne były w tkance mózgowej pozyskanej od osób z DS (Barone i in. 2017). Badanie wpływu stresu oksydacyjnego na procesy zachodzące podczas rozwoju nieprawidłowości obserwowanych w DS może przelożyć się wynalezienie kolejnych nowoczesnych markerów screeningowych, które umożliwią wcześniejsze określenie ryzyka wystąpienia DS u płodu.

Tab.2. Porównanie wybranych stężeń czynników angiogenetycznych w surowicy matki pomiędzy DS, a zdrowymi ciążami.

	Stężenie czynników angiogenetycznych, pg/mL		Grupa I vs. II P value	Zakres referencyjny	
	grupa I: grupa kontrolna	grupa II: ciąża z zespołem downa		min.	max.
Czynnik wzrostu fibroblastów 4 (FGF4)	2057,22±432,25	1463,79±542,97	0,0503	26,9	200000
Angiopoetyna 2	1126,70±245,40	630,02±131,80	0,0925	26,2	16000
Naskórkowy Czynniki Wzrostu (EGF)	13,97±0,73	9,82±0,94	0,0025	0,2	200
Kinaza tyrozynowa z domenami podobnymi do immunoglobulin (Tie1)	2036,23±316,55	1844,85±771,77	0,4286	233	-
czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF-D)	228,39±36,74	220,62±62,25	0,7168	24	80000
Cząsteczka adhezji komórek śródbłonna płytek-1 (PECAM-1)	965.23±111.41	705.38±103.91	0.0449	217,1	40,000

3. Przegląd literatury

W celu uzyskania najnowszych informacji na temat diagnostyki Zespołu Downa u płodu, główne źródło stanowiła baza danych PubMed. Uwzględniono 20 publikacji charakteryzujących się wartością Impact Factor (IF) wynoszącym minimum 1,5. Prace obejmowały swoją tematyką diagnostykę prenatalną DS poprzez zastosowanie wysokospecjalistycznych metod genetycznych, metabolomicznych jak i biochemicznych poszukających nowych potencjalnych nieinwazyjnych markerów screeningowych wystąpienia trisomii 21.

4. Podsumowanie

Zespół Downa spowodowany trisomią 21 chromosomu jest najczęściej występującą aberracją chromosomalną u płodów. Mimo nieustających badań prowadzonych w celu poznania zaburzonych procesów biologicznych, pełna patogeneza pozostaje nieznaną. Szereg publikacji podsumowujących wpływ dodatkowego chromosomu 21 zostało przeanalizowanych w tym artykule. Okazuje się, iż wystąpienie malformacji u płodu koreluje z zaburzoną transkrypcją, nasilonymi procesami metylacji DNA oraz nadekspresją genów, które przekładają się na szereg zaburzonych procesów biochemicznych, potwierdzonych metodami z zakresu metabolomiki oraz metodami biochemicznymi. Ponadto zaburzenia te potęgowane są wzrostem poziomu stresu oksydacyjnego.

Dostępne inwazyjne badania prenatalne, jak i nieinwazyjne, obarczone są wieloma problemami, od wyników fałszywie dodatnich, po wysokie koszty ich wykonania. Wprowadzenie kompleksowych badań, pozwoliłoby na dokładne poznanie nieprawidłowości występujących w Zespole Downa, co przełożyłoby się na wprowadzenie nowych markerów screeningowych, umożliwiających wczesną detekcję ryzyka wystąpienia DS u płodu.

5. Literatura

- Barone E, Andrea A Elizabeth HD (2018) Disturbance of Redox Homeostasis in Down Syndrome: Role of Iron Dysmetabolism. *Free Radical Biology and Medicine*: 84–93.
- Barone E, Elizabeth HD, Butterfield E (2017) HNE-Modified Proteins in Down Syndrome: Involvement in Development of Alzheimer Disease Neuropathology. *Free Radical Biology and Medicine*: 262–69.
- Buczyńska A, Sidorkiewicz I, Ławicki I (2020) The Significance of Apolipoprotein E Measurement in the Screening of Fetal Down Syndrome. *Journal of Clinical Medicine*: 3995.
- Charkiewicz K, Blachnio-Zabielska A, Zbucka-Kretowska A (2015) Maternal Plasma and Amniotic Fluid Sphingolipids Profiling in Fetal down Syndrome. *PLoS ONE*: 10.
- Charkiewicz K, Zbucka-Kretowska M, Goscik J (2016) Brief Communication: Maternal Plasma Autoantibodies Screening in Fetal down Syndrome. *Journal of Immunology Research* 2016.
- Elton Terry S, Selemon H, Shane M (2013) Regulation of the MIR155 Host Gene in Physiological and Pathological Processes. *Gene*: 1–12.
- Erturk B, Karaca E, Aykut A (2016) Prenatal Evaluation of MicroRNA Expressions in Pregnancies with down Syndrome. *BioMed Research International* 2016.
- Izzo A, Manco R, De Cristofaro T (2017) Overexpression of Chromosome 21 MiRNAs May Affect Mitochondrial Function in the Hearts of Down Syndrome Fetuses. *International Journal of Genomics* 2017.
- Izzo A, Mollo N, Nitti M (2018) Mitochondrial Dysfunction in down Syndrome: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets. *Molecular Medicine*: 24.
- Kotlabova K, Doucha J, Chudoba D (2013) Extracellular Chromosome 21-Derived MicroRNAs in Euploid & Aneuploid Prenancies. *Indian Journal of Medical Research*: 935–43.
- Laudanski P, Zbucka-Kretowska M, Charkiewicz K (2014) Maternal Plasma and Amniotic Fluid Chemokines Screening in Fetal down Syndrome. *Mediators of Inflammation*.
- Muchová J, Žitňanová I, Duračková Z (2014) Oxidative Stress and Down Syndrome. Do Antioxidants Play a Role in Therapy?. *Physiological Research*: 535–42.
- Parfieniuk E, Samczuk P, Kowalczyk T (2018) Maternal Plasma Metabolic Fingerprint Indicative for Fetal Down Syndrome. *Prenatal Diagnosis*: 876–82.
- Parfieniuk E, Zbucka-Kretowska M, Ciborowski M (2018) Untargeted Metabolomics: An Overview of Its Usefulness and Future Potential in Prenatal Diagnosis. *Expert Review of Proteomics*: 809–16.
- Tili E, Mezache L, Jacques Michaille J (2018) MicroRNA 155 up Regulation in the CNS Is Strongly Correlated to Down's Syndrome Dementia. *Annals of Diagnostic Pathology*: 103–9.
- Wanapirak Ch, Piyamomgkol W, Sirichotiyakul S (2018) Second-Trimester Maternal Serum Screening for Fetal Down Syndrome: As a Screening Test for Hemoglobin Bart's Disease: A Prospective Population-Based Study. *Prenatal Diagnosis*: 700–705.
- Zbucka-Kretowska M, Charkiewicz K, Czerniecki J (2018) Amniotic Fluid Angiogenic and Inflammatory Factor Profiling in Foetal Down Syndrome. *Fetal Diagnosis and Therapy*: 44–50.
- Zbucka-Kretowska M, Charkiewicz K, Goscik J (2017) Maternal Plasma Angiogenic and Inflammatory Factor Profiling in Foetal Down Syndrome. *PLoS ONE*: 12.
- Zbucka-Kretowska M, Niemira M, Paczkowska-Abdulsalam M (2019) Prenatal Circulating MicroRNA Signatures of Foetal Down Syndrome. *Scientific Reports*: 2394.
- Zhang Y, Che M, Yuan J (2017) Aberrations in Circulating Inflammatory Cytokine Levels in Patients with Down Syndrome: A Meta-Analysis. *Oncotarget*: 84489–96.

17. Współczesna terapia celowana w zróżnicowanym raku tarczycy

Contemporary targeted therapy in differentiated thyroid cancer

Trochimiuk Anna⁽¹⁾, Buczyńska Angelika^(1,2), Popławska-Kita Anna⁽¹⁾

⁽¹⁾Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Chorób Wewnętrznych; Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁽²⁾Centrum Badań Klinicznych; Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Opiekun naukowy: dr hab. n. med. Anna Popławska-Kita

Trochimiuk Anna: anna.trochimiuk@umb.edu.pl

Słowa kluczowe: ZRT, radiojod, ablacja, TKI

Streszczenie

Rak tarczycy zaliczany jest do najczęściej występujących nowotworów endokrynych na świecie. Pod względem etiologicznym dzieli się na zróżnicowane i niezróżnicowane nowotwory charakteryzujące się odmiennymi metodami leczenia. Najskuteczniejszym konwencjonalnym leczeniem zróżnicowanego raka tarczycy jest strumektomia w połączeniu z ablacją jodem promieniotwórczym I¹³¹ (RAI). W przypadku nieskuteczności leczenia, alternatywną metodą są inhibitory kinazy tyrozynowej (TKI), hamujące procesy rozwojowe komórek nowotworowych w trakcie kancerogenezy (rozwoju, proliferacji, apoptozy). Niniejsza praca podsumowuje najnowsze doniesienia oraz porównuje metody celowanego leczenia zróżnicowanego raka tarczycy.

1. Wstęp

Rak tarczycy jest najczęściej występującym rakiem endokrynym, rozpoznawany jest u ponad 550 000 osób rocznie (Ancker i in. 2019). Najbardziej narażone są kobiety, które stanowią około 75% wszystkich zachorowań. Współczynnik zapadalności wśród kobiet trzykrotnie przewyższa wartość u mężczyzn wynosząc 10,2 na 100 000 przypadków, w porównaniu do płci przeciwnej, występując u 3,1 na 100 000 chorych (Ancker i in. 2020a; Barrea i in. 2020). American Cancer Society szacuje, że w 2018r. odnotowano około 53 990 nowych przypadków raka tarczycy, co klasyfikuje go na piątym miejscu wśród najczęściej występujących raków (Huang i in. 2019). W początkowej fazie rozwoju nie wykazuje on charakterystycznych objawów klinicznych. Pacjenci zgłaszają obecność niewielkich guzków wyczuwalnych metodą palpacyjną, są one uwidaczniane przypadkowo podczas badania USG, tomografii komputerowej (CT) lub pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) przeprowadzanej w ramach diagnostyki innych chorób (Perri i in. 2018). W ciągu minionych 30 lat, z roku na rok odnotowuje się znaczny wzrost nowych zachorowań, co w przeciwieństwie do większości raków, dotyka coraz młodszą populację (Seib i Sosa 2019). Mediana wieku zapadalności na raka tarczycy wynosi 51 lat, a 43% przypadków występuje u pacjentów w przedziale wiekowym 45-64 lata.

Istotną kwestią determinującą zastosowane metody leczenia jest histologiczne pochodzenie guza (Viola i in. 2016). Rak tarczycy pod względem etiologicznym dzieli się na brodawkowy rak tarczycy (PTC; *ang papillary thyroid cancer*), pęcherzykowy rak tarczycy (FTC; *ang follicular thyroid cancer*), rak z komórek Hurthle'a (HCC; *ang hurthle cell carcinoma*), rak rdzeniasty (MTC; *ang medullary thyroid cancer*) oraz rak anaplastyczny (ATC; *ang anaplastic thyroid cancer*) (Ancker i in. 2020a). Dodatkowo można je podzielić pod względem zróżnicowania. Do zróżnicowanych raków tarczycy (ZRT) zalicza się PTC, FTC oraz HCC, które stanowią wiodącą grupę występujących raków i charakteryzują się mniej agresywnym charakterem progresji choroby (Ancker i in. 2020a). PTC stanowi ok 90% wszystkich przypadków, pacjenci dobrze odpowiadają na leczenie, osiągają bardzo dobre rokowania i ponad 10letnią przeżywalność utrzymującą się w granicach 80-95% (Ancker i in. 2020).

Leczenie ZRT odbywa się w oparciu o metodę totalnej chirurgicznej strumektomii w połączeniu z ablacją jodem radioaktywnym (RAI), w przeciwieństwie do niezróżnicowanych typów raka tarczycy, u których obserwuje się stale narastającą oporność na standardowe metody

leczenia (Ancker i in. 2020a). Do niezróżnicowanych typów raka należy ATC niezdolny do wychwytu radioaktywnego jodu I¹³¹. Według wytycznych Thyroid Association mianem niezróżnicowanego opornego ATC określa się nowotwór który nie powoduje kumulacji RAI lub gdy mimo jego znacznego wychwytu dochodzi do odległych przerzutów (Viola i in. 2016). W przypadku raków niejodochwytnych, najskuteczniejszą obecnie terapią jest zastosowanie inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKI) takich jak sunitynib, lenwatynib, pazopanib, wandetanib czy kabzantynib (Ancker i in. 2020).

2. Opis zagadnienia

Terapia ZRT polegająca na całkowitej strumektomii w połączeniu z terapią RAI poprzedzona jest stymulacją tarczycy endogennym TSH lub tyrogenem – alternatywną wysoce rekombinowaną ludzką tyreotropiną, zwiększającą wychwyt i skuteczność działania radioizotopu (Choudhury i Gupta 2018). Cechą terapii RAI jest wysoka swoistość względem komórek pęcherzykowych tarczycy oraz docelowych komórek nowotworowych. Wysokie stężenie TSH spowodowane podaniem tyrogeny jest niezbędnym etapem przyczyniającym się do skutecznej ablacji, ponieważ ukierunkowuje i nasila wychwyt RAI przez komórki pęcherzykowe tarczycy. Radioaktywny jod I¹³¹ przedostając się do komórek raka poprzez krótkofalową emisję promieni beta (1-2mm) nasila stres oksydacyjny, uszkadzając strukturę DNA, zaburza funkcje mitotyczne komórek prowadząc do apoptozy (Ibrahim i Busaidy 2017; Vos i in. 2015). Celem terapii jest zniszczenie resztkowych pozostałości guza po zabiegu chirurgicznym oraz zapobieganie odległym przerzutom i nawrotom choroby (Choudhury i Gupta, 2018). Najczęstszymi miejscami przerzutów są węzły chłonne, płuca, kości, mózg, wątroba i skóra (Narayanan i Colevas 2016). Bezwzględny przeciwwskazaniem do zastosowania RAI jest ciąża i karmienie piersią (Schmidbauer i in. 2017). Chociaż ablacja jest ogólnie dobrze tolerowaną terapią, niewykluczone że radiojod może jednocześnie oddziaływać na sąsiadujące zdrowe komórki, powodując potencjalnie skutki uboczne (Schmidbauer i in. 2017). Pacjenci leczeni radiojodem mogą cierpieć na nudności, zaburzenia smaku i węchu; może dochodzić do zapalenia żołądka, ślinianek oraz nawet do zaburzeń czynności szpiku kostnego (Schmidbauer i in. 2017). Obecnie, coraz częściej u pacjentów, u których zdiagnozowane zostały przerzuty raka tarczycy, rozwija się oporność na radioaktywny jod I¹³¹ (Narayanan i Colevas 2016). W wyniku tego procesu poszukiwano alternatywnej metody leczenia. Najlepiej poznaną klasą leków stosowanych w terapii przerzutów i opornych na leczenie standardową metodą są TKI.

W celu poznania podłoża genetycznego danej choroby i oceny możliwości terapeutycznych, wykonuje się testy genetyczne. W odniesieniu do raków tarczycy, istnieją liczne zaburzenia genetyczne, w tym ich szlaki sygnałowe odgrywające kluczową rolę w patogenezie guzów, będące bezpośrednią przyczyną rozwoju ZRT (Narayanan i Colevas 2016). Najczęściej występują mutacje białek w szlakach związane z RAF i PI3K oraz mutacja BRAF-V600E, występująca u około 45% chorych z PTC, mutacja RAS (KRAS, HRAS, NRAS) spotykana w przypadku FTC, liczne mutacje bądź delecje genu supresorowego guza PTEN, czy aberracje z genem RET nasilające proces kancerogenezy w MTC (Valerio i in. 2017). Badania wykazały, że mutacje RET/PTC często występują w PTC, natomiast mutacje punktowe RAS najczęściej występują u chorych z FTC i słabo zróżnicowanych rakach tarczycy. Poznanie zaburzeń na podłożu genetycznym stworzyło nowe perspektywy leczenia niezróżnicowanych, opornych na RAI raków tarczycy. Mutacja BRAF, silnie związana z PTC, objawia się w znacznie zmniejszonej ekspresji genów biorących udział w metabolizmie jodu, w tym genu dla tyreoglobuliny (TG) oraz peroksydazy tarczycowej (TPO) (Cabanillas i Habra 2016). Naturalnie zmniejsza to skuteczność terapii radiojodem. Do innych czynników, przyczyniających się do rozwoju guzów tarczycy zalicza się β-kateninę, gen TP53, dehydrogenazę izocytrynianową I, kinazę chłoniaka anaplastycznego i naskórkowy czynnik wzrostu (EGFR; *ang. epidermal growth factor receptor*) będących w trakcie licznych badań i analiz (Narayanan i Colevas 2016). U części pacjentów, leczonych z powodu PTC, zabieg ablacji jest niewystarczający i obserwuje się liczne przerzuty oraz nawroty choroby (Cabanillas i Habra 2016).

Oprócz zmienionych szlaków genetycznych, bezpośrednim zjawiskiem istotnym w patogenezie raka tarczycy jest proces angiogenezy (Narayanan i Colevas 2016). Ten fizjologicznie potrzebny organizmowi mechanizm jest wykorzystywany przez raka tarczycy do progresji

i przerzutowania. Czynniki wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF; *ang. vascular endothelial growth factor*) i jego receptory odgrywają znaczącą rolę w procesie wzrostu i proliferacji guzów, wiążą się z tworzeniem nowych naczyń krwionośnych oraz wzrostem komórek nowotworowych (Ancker i in. 2020). W porównaniu do prawidłowej tkanki tarczycy, poziom VEGF w komórce nowotworowej raka tarczycy jest znacznie podwyższony, co więcej, zwiększona jest w nich gęstość mikronaczyń (Narayanan i Colevas 2016). Wewnątrzkomórkowa aktywność receptora VEGF jest selektywnie blokowana przez kinazy tyrozynowe (Cabanillas i Habra 2016). Kinazy tyrozynowe są odpowiedzialne za hamowanie wzrostu, angiogenezy i limfangiogenezy guza pośrednio poprzez niedotlenienie tkanki (Valerio i in. 2017). Kontrolują sygnały mitogenne poprzez fosforylację bądź defosforylację wielu białek wewnątrzkomórkowych zaangażowanych w kaskadę transdukcji sygnału kinaz aktywowanych mitogenami (MAKP; *ang. mitogen-activated protein kinases*) prowadząc do niekontrolowanego wzrostu i proliferacji komórek (Valerio i in. 2017). Znaczenie kinazy tyrozynowej jako centralnego mediatora procesów rozwojowych komórki stanowił bazę do prowadzenia badań nad jej inhibitorami. Wieloletnie badania nad wykorzystaniem inhibitorów kinazy tyrozynowej, stanowią obecnie podstawę w terapii antyangiogennej w niezróżnicowanych rakach tarczycy.

TKI są to białka transbłonowe odpowiedzialne za kontrolę sygnałów międzybłonowych, pełniące rolę środków cytostatycznych hamujących wzrost komórek nowotworowych skuteczne w przypadku nowotworów opornych na RAI (Porcelli i in. 2019a). Mechanizm działania polega na jednoczesnym hamowaniu dwóch lub trzech ścieżek sygnałowych m.in. proliferacji, angiogenezy, apoptozy, blokując tym samym rozwój nowotworu z kilku stron jednocześnie uniemożliwiając kancerogenezę (Valerio i in. 2017). Pacjenci z ZRT opornym na RAI charakteryzują się obecnością miejscowych lub odległych przerzutów choroby, brakiem wychwytu radiojodu w guzach, znacznym pogłębieniem zaawansowania choroby w czasie 6-12 miesięcy po leczeniu I^{131} oraz progresją choroby u pacjenta którzy otrzymali dawkę jodu promieniotwórczego powyżej 600 mCi (Cabanillas i in. 2019). Kierunek leczenia determinują objawy kliniczne oraz tempo rozwoju nowotworu. (Narayanan i Colevas 2016) Leczenie zaczyna się od chirurgicznej resekcji guza pierwotnego wraz z przerzutami (Cabanillas i in. 2019; Narayanan i Colevas 2016). Agencja Food and Drug (FDA) w współprac z European Medical Agency (EMA) zatwierdziła i dopuściła do leczenia zaawansowanego nowotworu RAI-opornego - sorafenib i lenawatinib oraz w przypadku MTC - wanedetanib i kabozantynib. (Valerio i in. 2017). W celu doboru konkretnego TKI analizie podlega szereg czynników indywidualnych dla każdego chorego tj.: sprawność fizyczna pacjenta, wiek, płeć, obecność chorób współistniejących, zaawansowanie choroby, dostępność leków a także stopień tolerancji preparatu (Cabanillas i in. 2019). Do potencjalnie możliwych skutków ubocznych odczuwanych przez pacjentów należą np. nudności, biegunka, zaburzenia układu pokarmowego, osłabienie oraz nadciśnienie lub pacjenci mogą nie odczuwać ich wcale (Porcelli i in. 2019). Ponadto nie wszyscy pacjenci z opornym na RAI rakiem tarczycy wykazują dobrą odpowiedź na zastosowane leczenie. Niestety, pomimo początkowych skutecznych i pożądaných efektów, terapia TKI nie stanowi długoterminowej terapii i z czasem, dochodzi do mutacji genetycznych i organizm nabiera oporności. Dzieje się tak w skutek różnorodnych modyfikacji i progresji prowadzących do choroby wtórnej (Porcelli i in. 2019).

Lenwatinib jest doustnym, szeroko działającym TKI. Charakteryzuje się silnym działaniem antyangiogennym wobec VEGFR -1, -2, -3; EGFR -1, -2, -3 oraz RET co skutecznie hamuje rozwój słabo zróżnicowanych raków tarczycy (MTC i ATC) (Ancker i in. 2020b; Ceolin i in. 2019; Jerkovich i in. 2019). Ponadto, sprawdza się w przypadku obecności przerzutów do jelita grubego, w mięsaku oraz czerniakach (Cabanillas i in. 2019). Z kolei wanedetanib swoje skuteczne działanie zawdzięcza blokadzie receptorów naskórkowych czynników wzrostu, zmniejszeniu bądź nawet całkowitego zahamowaniu sygnałów proliferacyjnych, angiogenezy oraz apoptozy komórek nowotworowych. Stosowany zarówno u dorosłych jak i u dzieci (Cabanillas i in. 2019). Kabozantynib swoje działanie opiera na blokowaniu receptorów c-MET, RET i VEGF2 (Cabanillas i in. 2019). Podobnie jak wanedetanib, może powodować zmniejszenie lub całkowite zahamowanie charakterystycznych procesów rozwojowych raka (angiogeneza, proliferacja, i apoptoza) (Ancker i in. 2020; Ceolin i in. 2019). Jednakże ma znacznie silniejsze działanie angiogenne, dlatego nie należy go stosować u osób

bardziej wrażliwych, o obniżonej odporności oraz osób starych, ale za to może mieć lepszą w skuteczność w szybko postępujących rakach tarczycy (Ancker i in 2020b).

3. Przegląd literatury

Praca powstała w oparciu o kluczowe publikacje, w tym rekomendacje najnowszych sposobów leczenia raka tarczycy. Analizę literatury przeprowadzono przy użyciu bazy danych PubMed. Uwzględniono 20 publikacji po 2015 roku powyżej Impact Factor (IF)-1,5. Najwyższy IF wynosił 292,278 a najniższy 1,98. Publikacje swoją tematyką ujmowały sposoby leczenia raka tarczycy, zarówno wykorzystanie ablacji z zastosowaniem jodu promieniotwórczego jak również terapii TKI.

4. Podsumowanie

Terapia raka tarczycy, w zależności od stopnia zaawansowana odnosi satysfakcjonujące rezultaty, jednakże efekty uboczne farmakoterapii nie są do końca poznane. W przypadku zróżnicowanych raków tarczycy leczenie chirurgiczne w połączeniu z terapią radiojodem wpływa na dobre rokowanie, jednakże wpływ ablacji, poza skutecznym działaniem na komórki nowotworowe, znajduje się stale w trakcie badań oraz istnieje niewiele publikacji na ten temat. Natomiast TKI, jako skuteczna odpowiedź na niejodochwytne i zaawansowane rodzaje raków tarczycy, wpływają napodstawowe, poznane mechanizmy niezbędne do funkcjonowania komórek nowotworowych. Ich zakres działania jest w stanie zahamować postęp kancerogenenzy na kilka sposobów umożliwiając szybką reakcję i oczekiwane rezultaty. Kontynuacja badań na poziomie molekularnym, w tym dogłębna analiza mutacji genowych może umożliwić szybsze rozpoznanie stopnia zaawansowania raka tarczycy, przyspieszając zastosowanie terapii celowanej wchodzącej w skład nurtu medycyny personalizowanej.

5. Literatura

- Ancker OV, Krüger M, Wehland M (2019) Multikinase Inhibitor Treatment in Thyroid Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 21(1): 10.
- Ancker OV, Krüger M, Wehland M (2020a) Multikinase inhibitor treatment in thyroid cancer. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Barrea L, Gallo M, Ruggeri RM (2020) Nutritional status and follicular-derived thyroid cancer. An update. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*: 1–35.
- Cabanillas ME, Habra MA (2016) Lenvatinib: Role in thyroid cancer and other solid tumors. In *Cancer Treatment Reviews*: 47–55.
- Cabanillas ME, Ryder M, Jimenez C (2019) Targeted Therapy for Advanced Thyroid Cancer: Kinase Inhibitors and beyond. In *Endocrine Reviews*: 1573–1604.
- Ceolin L, Da Silveira Duval MA, Benini AF (2019) Medullary thyroid carcinoma beyond surgery: Advances, challenges, and perspectives. *Endocrine-Related Cancer*: 26(9).
- Choudhury PS, Gupta M (2018) Differentiated thyroid cancer theranostics: Radioiodine and beyond. In *British Journal of Radiology*: Vol. 91, Issue 1091.
- Huang J, Harris EJ, Lorch JH (2019) Treatment of Aggressive Thyroid Cancer. In *Surgical Pathology Clinics*: 943–950.
- Ibrahim EY, Busaidy NL (2017) Treatment and surveillance of advanced, metastatic iodine-resistant differentiated thyroid cancer. In *Current Opinion in Oncology*: 151–158.
- Jerkovich F, Falcone MG, Pitoia F (2019) The experience of an Endocrinology Division on the use of tyrosine multikinase inhibitor therapy in patients with radioiodine-resistant differentiated thyroid cancer. *Endocrine*: 632–638.
- Lukas J, Drabek J, Lukas D (2013) The epidemiology of thyroid cancer in the Czech Republic in comparison with other countries. *Biomedical Papers*: 266–275.
- Narayanan S, Colevas AD (2016) Current Standards in Treatment of Radioiodine Refractory Thyroid Cancer. In *Current Treatment Options in Oncology*: 30.

- Perri F, Giordano A, Pisconti S (2018). Thyroid cancer management: From a suspicious nodule to targeted therapy. *Anti-Cancer Drugs*, 29(6), 483–490.
- Porcelli T, Sessa F, Luongo C (2019a) Local ablative therapy of oligoprogressive TKI-treated thyroid cancer. In *Journal of Endocrinological Investigation*: 871–879.
- Schmidbauer B, Menhart K, Hellwig D (2017) Differentiated thyroid cancer—treatment: State of the art. In *International Journal of Molecular Sciences*: 6.
- Seib CD, Sosa JA (2019) Evolving Understanding of the Epidemiology of Thyroid Cancer. In *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*: 23–35.
- Valerio L, Pieruzzi L, Giani C (2017) Targeted Therapy in Thyroid Cancer: State of the Art. *Clinical Oncology*: 316–324.
- Vigneri R, Malandrino P, Vigneri P (2015) The changing epidemiology of thyroid cancer: Why is incidence increasing? In *Current Opinion in Oncology*: 1–7.
- Viola D, Valerio L, Molinaro E (2016) Treatment of advanced thyroid cancer with targeted therapies: Ten years of experience. *Endocrine-Related Cancer*: 23.
- Vos T, Barber RM, Bell B (2015) Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013. A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*: 743–800.