

**Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce**  
**Zagadnienia medyczne i prawne w teorii i praktyce**



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

Poznań 2024

**Redakcja naukowa**

dr hab. n. med. Zbigniew Pasięka, prof. UM w Łodzi

dr n. med. Karol Kłosiński

dr Jędrzej Nyćkowiak

**Wydawca**

Młodzi Naukowcy

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

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

**ISBN (całość 978-83-67991-20-9)**

**ISBN (wydanie online 978-83-67991-22-3)**

**ISBN (wydanie drukowane 978-83-67991-21-6)**

Data wydania: wrzesień 2024

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

**Spis treści**

<b>1. Złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych jamy nosa i zatok przynosowych – przegląd piśmiennictwa</b>	<b>7</b>
<i>Anna Bohdziewicz, Julia Wiśniewska, Karolina Piskadło-Zborowska, Nicola Dżaman, Antonina Ernst</i>	
<b>2. Wpływ leków przeciwcukrzycowych na masę ciała chorych</b>	<b>13</b>
<i>Grabowicz Sylwia, Małgorzata Zakłós-Szyda, Perlikowska Renata</i>	
<b>3. Zastosowania komórek nerwiaka niedojrzałego SH-SY5Y w poszukiwaniu nowych form terapii chorób neurodegeneracyjnych</b>	<b>19</b>
<i>Grabowicz Sylwia, Długosz-Pokorska Angelika, Perlikowska Renata</i>	
<b>4. Jak odżywia się młodzież? Zachowania oraz wybory żywieniowe uczniów na przykładzie tyskich licealistów.</b>	<b>25</b>
<i>Karolina Kozik</i>	
<b>5. Mikrobiom jelitowy - związek ze skutecznością i toksycznością immunoterapii nowotworów z użyciem komórek CAR-T</b>	<b>32</b>
<i>Magdziak Jakub, Zegarska Paulina, Gromadzka Grażyna</i>	
<b>6. PTSD a ciało - jak to wygląda u Polek i Polaków?</b>	<b>38</b>
<i>Michałowska Magdalena</i>	
<b>7. Diagnoza zaburzeń w stanie zdrowia po doświadczeniach traumatycznych i ucieleśnienie</b>	<b>46</b>
<i>Michałowska Magdalena</i>	
<b>8. Zastosowania modelu danio pręgowanego Tg(fli1a:EGFP) w badaniach biomedycznych</b>	<b>51</b>
<i>Jakub Semeniuk, Łukasz Kurach</i>	
<b>9. Aktualne wytyczne w leczeniu cukrzycy typu 2 - przegląd stosowanych leków</b>	<b>57</b>
<i>Jagoda Szponar, Łukasz Kurach</i>	
<b>10. Danio pręgowany jako model zwierzęcy w badaniach nad cukrzycą</b>	<b>64</b>
<i>Jagoda Szponar, Łukasz Kurach</i>	
<b>11. Wpływ substancji poli- i perfluorowanych na układ hormonalny ludzi i zwierząt</b>	<b>70</b>
<i>Szymków Paweł</i>	
<b>12. Niestandardowe metody leczenia otyłości</b>	<b>76</b>
<i>Wnęk Zuzanna, Witek Konrad, Śliz Magdalena, Krajewska Sabina, Nowak Natalia, Janikowska Grażyna</i>	
<b>13. Zastosowanie potencjometrii i konduktometrii w analizie farmaceutycznej</b>	<b>83</b>
<i>Zuzanna Wnęk, Konrad Witek, Magdalena Śliz, Natalia Lewicka, Sabina Krajewska, Katarzyna Karkoszka, Anna Tasak, Natalia Nowak, Grażyna Janikowska</i>	
<b>14. Regulacje prawne i etyczne eksperymentów medycznych w Polsce: analiza i perspektywy</b>	<b>89</b>
<i>Krzysztof Jabłoński</i>	
<b>15. Analiza problematyki medycznego oświadczenia pro futuro w polskim systemie prawnym</b>	<b>96</b>
<i>Tomasz Kandziora, Olga Białowąs, Jagoda Cholewa</i>	
<b>16. Podmioty uprawnione do dostępu do dokumentacji medycznej</b>	<b>102</b>
<i>Tomasz Kandziora</i>	
<b>17. Udzielanie świadczeń medycznych bez zgody</b>	<b>108</b>
<i>Kowalska Erwina</i>	

- 18. Problematyka klauzuli sumienia w polskim prawie medycznym w kontekście abortowania płodu i zapłodnienia pozaustrojowego** **114**  
*Kramer Dagmara, Fik Emilia, Chariton Weronika*
- 19. Rola farmaceuty w opiece zdrowotnej w świetle badań ankietowych** **120**  
*Ludwiczak Katarzyna Joanna*

Przedmowa

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

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

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

*Redakcja*



# **1. Złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych jamy nosa i zatok przynosowych – przegląd piśmiennictwa**

Malignant peripheral nerve sheath tumor of nasal cavity and paranasal sinus  
- review of literature

Anna Bohdziewicz<sup>(1)</sup>, Julia Wiśniewska<sup>(1)</sup>, Karolina Piskadło-Zborowska<sup>(1,2,3)</sup>, Nicola Dżaman<sup>(2,3)</sup>, Antonina Ernst<sup>(2,3)</sup>

<sup>(1)</sup> Oddział Otolaryngologii, Mazowiecki Szpital Bródnowski w Warszawie

<sup>(2)</sup> Zakład Otolaryngologii, Instytut Nauk Medycznych, Collegium Medicum UKSW w Warszawie

<sup>(3)</sup> Oddział Otolaryngologii, Międzyleski Szpital Specjalistyczny w Warszawie

Opiekun naukowy: dr n. med. K. Piskadło-Zborowska

Anna Bohdziewicz: bohdziewicz99@gmail.com

Słowa kluczowe: neurony, onkologia, głowa, otorynolaryngologia

## **Streszczenie**

Złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor, MPNST) występują rzadko i są zaliczane do agresywnych nowotworów. Cechuje je najwyższy odsetek lokalnych nawrotów spośród mięsaków oraz znacząca skłonność do naciekania tkanek i przerzutowania. Stanowią 4-5% wszystkich mięsaków i najczęściej występują w obrębie kończyn oraz tułowia. Dotychczas odnotowano jedynie kilka przypadków MPNST jamy nosowej, zatok przynosowych czy przedniej części podstawy czaszki. Celem pracy jest omówienie piśmiennictwa na temat MPNST, ze szczególnym uwzględnieniem guzów występujących w obrębie jamy nosa i zatok przynosowych. Obraz kliniczny MPNST jamy nosa i zatok przynosowych obejmuje niespecyficzne objawy (zatkany nos oraz wyciek z nosa), które mogą utrzymywać się przez lata, zanim wykryje się obecność guza. Za najlepszą metodę obrazowania, pozwalającą ocenić rozmiar i stopień naciekania guza, uznaje się rezonans magnetyczny. Wstępna diagnostyka histopatologiczna wykorzystuje biopsję otwartą lub gruboigłową, natomiast w identyfikowaniu nawrotów miejscowych lub przerzutów użyteczna jest biopsja aspiracyjna cienkoigłowa. Warto wspomnieć o diagnostyce immunohistochemicznej. Najczęściej używanym wskaźnikiem immunohistochemicznym jest białko S-100. Leczenie polega na resekcji guza, jednakże niejednokrotnie MPNST jest nieoperacyjny lub nie może zostać usunięty. W przypadku niepełnej resekcji warto rozważyć reoperację i/lub zastosowanie radioterapii oraz/lub chemioterapii uzupełniającej. Dokonane ostatnio postępy w zrozumieniu biologii MPNST mogą przyczynić się do opracowania nowatorskich opcji leczenia.

## **1. Wstęp**

Złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor (MPNST), dawniej określane jako malignant schwannoma lub neurofibrosarcoma) definiowane są jako guzy złośliwe wywodzące się z komórek nerwów obwodowych lub z komórek osłonek nerwowych, z wyjątkiem guzów rozwijających się z nanerwia (epineurium) lub z komórek obwodowego unaczynienia nerwów. Spośród nich większość to guzy rozwijające się z komórek Schwanna lub z pluripotencjalnych komórek grzebienia nerwowego (Yao i in. 2023). Celem pracy jest omówienie epidemiologii, patogenezy i symptomatologii MPNST. Zaprezentowano również szereg dostępnych metod diagnostycznych i terapeutycznych, wskazując na nowe opcje leczenia, które z dużym prawdopodobieństwem staną się w przyszłości coraz bardziej powszechne. Metodologię oparto o przegląd literatury, skupiając się przede wszystkim na publikacjach z okresu ostatnich 10 lat. Piśmiennictwo zebrano z wykorzystaniem bazy danych PubMed. Wyszukiwanie przeprowadzono, używając terminów MeSH: „malignant peripheral nerve sheath tumor”, „MPNST”, „therapies in MPNST”, „schwannoma” oraz „MPNST treatment”. We wstępie warto podkreślić, że postawienie diagnozy MPNST stanowi trudność dla klinicystów, a rokowanie zazwyczaj jest niekorzystne. Brakuje danych w literaturze dotyczących czynników prognostycznych

i długoterminowych wyników leczenia. Co więcej, złożoność i agresywność MPNST sprawiają, że skuteczne leczenie jest dużym wyzwaniem. Pomimo postępów w technikach obrazowania i diagnostyce histopatologicznej, wczesne wykrycie tych nowotworów pozostaje trudne, co często prowadzi do zaawansowanego stadium choroby w momencie rozpoznania. Dodatkowo, ze względu na rzadkość MPNST w populacji, przeprowadzenie dużych badań klinicznych nie należy do najłatwiejszych, a to ogranicza dostępność danych do tworzenia wytycznych opartych na dowodach. Przyszłe badania powinny skupić się na identyfikacji biomarkerów prognostycznych oraz ocenie nowych terapii, w tym immunoterapii, terapii celowanych i kombinacji różnych podejść terapeutycznych. Współpraca międzynarodowa oraz wielośrodkowe badania mogą okazać się kluczowe w gromadzeniu wystarczającej ilości danych, aby poprawić wyniki leczenia i rokowanie pacjentów z MPNST.

### **2. Opis zagadnienia**

Cechy budowy histologicznej umożliwiły podział MPNST na odmiany: odmiana klasyczna (najczęstsza), czyli wrzecionowatokomórkowa, odmiana pleomorficzna oraz odmiana nabłonkowa (epitelioidalna). Warto wspomnieć o najnowszych wytycznych, według których, aby móc zakwalifikować mięsaka do grupy złośliwych nowotworów osłonek nerwów obwodowych konieczne jest spełnienie co najmniej jednego z trzech kryteriów: 1) rozwój w granicach nerwu obwodowego 2) pochodzenie z osłonek nerwowych występującego wcześniej nowotworu łagodnego, zwykle neurofibromy 3) obecność zestawu cech histologicznych zróżnicowania komórek typu komórek Schwanna (Pała-Sadza i in. 2024). MPNST mogą występować sporadycznie w populacji ogólnej oraz mogą pojawiać się wtórnie jako wynik przebytej radioterapii z powodu innego nowotworu (zapadalność w populacji ogólnej 0,001%) (Hirbe i in. 2017). Najczęściej jednak dotyczą pacjentów z nerwiakowłókniakowością typu 1 (NF 1), zwaną również neurofibromatozą typu 1 lub chorobą von Recklinghausena (Binobaid i in. 2020). Neurofibromatoza typu 1 (NF1) jest dziedzicznym zespołem predysponującym do nowotworów, charakteryzującym się mutacjami w genie supresorowym NF1. Te mutacje są dziedziczone w sposób autosomalny dominujący i mają charakter progresywny, co oznacza, że objawy i ryzyko związane z chorobą nasilają się z czasem. Główną konsekwencją mutacji genu NF1 jest zwiększona aktywność szlaku sygnalizacyjnego Ras, prowadząca do niekontrolowanego wzrostu komórek i rozwoju różnych typów nowotworów. Wśród najczęściej występujących nowotworów związanych z NF1 są nerwiakowłókniki skórne oraz splotowate. Nerwiakowłókniki splotowate, charakteryzujące się większą złożonością, są pod wpływem odpowiednich czynników skłonne przekształcić się w złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych (Binobaid i in. 2020). Zwykle złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych pojawiają się u osób dorosłych (średni wiek zachorowania to 30-50 lat) (Yao i in. 2023), a jedynie pojedyncze przypadki dotyczą dzieci (Li i in. 2019). MPNST stanowią około 5% wszystkich mięsaków tkanek miękkich (Hirbe i in. 2017). Najczęstsza lokalizacja to tułów oraz kończyny (Stucky i in. 2012). Patogeneza pozostaje nie do końca poznana, przyczyny upatruje się w mutacjach różnych genów (James i in. 2016).

### **3. Przegląd literatury**

Jak wspomniano powyżej głowa i szyja nie należą do typowych lokalizacji MPNST. Analiza danych zabranych przez Fana i współpracowników, którzy objęli swoim badaniem 146 pacjentów chińskiej populacji z MPNST, wykazała, że jedynie 22,6% nowotworów umiejscowionych było w obrębie głowy i szyi. Pozostała większość występowała w obrębie tułowia oraz kończyn (Fan i in. 2014). Podobne wyniki opublikowane zostały przez Stucky i współpracowników, których badanie objęło 175 amerykańskich pacjentów z rozpoznaniem MPNST. Tylko 19% guzów umiejscowionych było w rejonie głowy i szyi, 45% w obrębie kończyn, a 34% w obrębie tułowia (Stucky i in. 2012). Analizy mechanizmów powstawania MPNST dowiodły, że wykazują one różnorodne zmiany genetyczne, które prowadzą do nieprawidłowej regulacji istotnych szlaków sygnałowych. Do białek związanych z patogenezą MPNST należą: neurofibromina 1, białko PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten), receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF1R



insulinlike growth factor 1 receptor), receptor naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR epidermal growth factor receptor) oraz kinazy białkowe aktywowane mitogenami (MAPK). Badania nad dokładnym określeniem kierunku tych szlaków przekazywania sygnałów stanowią aktywny obszar badań. Jednocześnie celowe zablokowanie lub modyfikacja poszczególnych etapów przekazywania stały się celem działania nowych leków (James i in. 2016). Do objawów klinicznych MPNST należą szybko rosnący, bolesny guz (najczęściej zgłaszany objaw przez pacjentów) oraz dysfunkcje nerwów czuciowych i ruchowych. Gwałtownie zwiększająca się masa nowotworu rozwija się w bliskim sąsiedztwie pni nerwowych, co prowadzi do miejscowej kompresji i wywołuje objawy neurologiczne. Warto wspomnieć, że zaburzenia układu nerwowego mogą występować na długo przed wykryciem guza, szczególnie w trudnych do oceny klinicznej lokalizacjach np. w klatce piersiowej (Czarnecka i in. 2019). Do głównych dolegliwości zgłaszanych przez pacjentów z MPNST w obrębie jamy nosowej i zatok przynosowych należą zaburzenia drożności nosa, wyciek śluzowo-ropnej lub krwistej wydzieliny z nosa oraz nieprzyjemny zapach z nosa (Li i in. 2019). Obecność tych niespecyficznych objawów można stwierdzić miesiące, a nawet lata przed pojawieniem się zauważalnej masy guza. Biorąc pod uwagę, że są one tożsame z objawami typowo występującymi w przebiegu innych schorzeń otorynolaryngologicznych m.in. w przewlekłym zapaleniu zatok przynosowych, postawienie diagnozy MPNST jest trudne i nierzadko opóźnione. Powszechnie wiadomo, że glikokortykosteroidy wykazują działanie terapeutyczne wobec polipów nosa i są szeroko stosowane zarówno w okresie nasilenia choroby podstawowej (przewlekłego zapalenia zatok przynosowych z polipami) jak i rutynowo przed funkcjonalną endoskopową operacją zatok. Jeżeli guzy nosa nie reagują dobrze na terapię sterydową oraz na leki zwężające naczynia krwionośne zawsze należy wziąć pod uwagę możliwość występowania MPNST (Li i in. 2019). Wykrywanie MPNST oraz ich różnicowanie z nowotworami łagodnymi (przede wszystkim łagodnymi nerwiakowłókniakami) stanowi wyzwanie dla klinicystów. Zarówno tomografia komputerowa (TK), jak i rezonans magnetyczny (RM) są wykorzystywane do określania anatomicznego rozmiaru jak i miejscowej inwazyjności tych nowotworów (James i in. 2016). Przy czym zdaniem wielu badaczy obrazowanie za pomocą rezonansu magnetycznego wydaje się najbardziej użyteczne do oceny rozprzestrzenienia guza przy planowaniu całkowitej resekcji chirurgicznej. Jednak nawet rezonans magnetyczny nie pozwala na jednoznaczne różnicowanie MPNST i zmian łagodnych (Derlin i in. 2013). Według Fernera i współpracowników takie możliwości daje jedynie pozytonowa tomografia emisyjna (PET, positron emission tomography) z fluorodeoksyglukozą, która jest szczególnie cenna w monitorowaniu łagodnych nerwiakowłókniaków u osób z NF1 (Ferner i in. 2008). Biopsja, mimo, że zdecydowanie rekomendowana do diagnozowania i klasyfikowania mięsaków tkanek miękkich, pozostaje kwestią sporną w przypadku podejrzenia MPNST. Istnieją obawy dotyczące wykonywania biopsji gruboigłowych lub otwartych w tych nowotworach ze względu na ryzyko uszkodzenia nerwów oraz nieznaną stopień różnicowania MPNST. MPNST to guzy składające się ze skupiska tkanek o różnym stopniu zróżnicowania, a biopsja skupia się jedynie na ograniczonym obszarze guza. Z tego powodu może być mniej czuła w porównaniu z natychmiastową resekcją, która dostarcza pełny przekrój materiału do badania histopatologicznego (Prudner i in. 2020). Z kolei biopsja aspiracyjna cienkoigłowa nie jest zalecana w diagnostyce zmiany pierwotnej, ale odgrywa istotną rolę w wykrywaniu nawrotów miejscowych lub przerzutów (Wakely i in. 2012). Do potwierdzenia diagnozy konieczne jest badanie histopatologiczne w połączeniu z analizą immunohistochemiczną. Typowe cechy histopatologiczne to wrzecionowate komórki ułożone w pęczki z rozległymi obszarami martwicy i zwiększoną liczbą komórek okołonaczyniowych. Natomiast kluczowe znaczenie w różnicowaniu MPNST i innych nowotworów ma barwienie immunohistochemiczne. Markery immunohistochemiczne guza, takie jak S100, Ki-67, enolaza swoista dla neuronów, P53, SMA, wimentyna, CD34 oraz delecje H3K27me2 są dobrymi wskaźnikami diagnostycznymi MPNST (Chen i in. 2021). Niejednokrotnie już w momencie diagnozy wielkość guzów przekracza 5 cm, a u około 50% chorych wykrywa się przerzuty w węzłach chłonnych lub przerzuty odległe (płuca, wątroba) (Farid i in. 2014). Dlatego, oprócz oceny zmiany pierwotnej, konieczne jest wykluczenie obecności przerzutów za pomocą standardowych technik obrazowania, takich jak ultrasonografia, badanie rentgenowskie czy tomografia komputerowa. W terapii choroby zlokalizowanej podstawowe znaczenie ma leczenie chirurgiczne - resekcja guza w granicach zdrowych tkanek. Warto wspomnieć,

że znaczący wpływ na dostęp chirurgiczny, a co za tym idzie na prawdopodobieństwo uzyskania negatywnych marginesów resekcji ma lokalizacja guza (James i in. 2016). Z uwagi na to, że MPNST w obrębie głowy i szyi sąsiadują z kluczowymi dla życia strukturami, uzyskanie radykalności leczenia operacyjnego w tym rejonie jest szczególnie utrudnione. Gdy na podstawie wykonanych badań obrazowych istnieje ryzyko nierezekcyjności guza można rozważyć przedoperacyjną chemioterapię lub radioterapię. Warto natomiast wspomnieć, iż dane dotyczące chemioterapii neoadiuwantowej w MPNST opierają się głównie na analizach retrospektywnych pojedynczych przypadków i serii przypadków klinicznych (Czarnecka i in. 2019). Brak jest randomizowanych badań z udziałem dużej liczby uczestników oraz metaanaliz. Podobnie w przypadku chemioterapii adiuwantowej, która również pozostaje przedmiotem dyskusji. Wyniki kilku retrospektywnych badań, angażujących niewielkie grupy pacjentów, którzy leczeni byli różnymi schematami chemioterapii nie wykazały korzyści płynących z poprawy przeżyć całkowitych. Z kolei radioterapia neoadiuwantowa może być przydatna w redukcji rozmiaru guza, co w konsekwencji umożliwia przeprowadzenie zabiegu operacyjnego w przypadku zmian pierwotnie nieerekcyjnych. Jednak zarówno przed jak i pooperacyjna radioterapia nie poprawiają przeżyć całkowitych w tej grupie chorych. Redukują natomiast ryzyko wznowy miejscowej (Prudner i in. 2020). Według danych, niezastosowanie radioterapii adiuwantowej wiąże się z 4,5-krotnie wyższym ryzykiem lokalnego nawrotu choroby [ryzyko względne (HR, hazard ratio) (Le guellec i in. 2016). Gdy mamy do czynienia ze zmianami nieoperacyjnymi i przerzutowymi dopuszczalne jest zastosowanie chemioterapii zawierającej leki cytostatyczne jak antracykliny i/lub ifosfamid. Włączani są do niej pacjenci, którzy przekroczyli 65 rok życia. Guzy duże, głęboko naciekające czy stwierdzenie zmian przerzutowych to główne wskazania do wdrożenia chemioterapii (Angelov i in. 2000). Aby móc przedstawić niektóre z nowych kierunków badań nad potencjalnymi, celowanymi lekami w terapii MPNST należy wytłumaczyć mechanizmy, które skłoniły badaczy do rozpoczęcia poszukiwań właśnie w tych obszarach. Dotychczasowe badania wykazały, że utrata funkcji neufibrominy aktywuje kinazy Ras (Rat sarcoma), co w konsekwencji przyczynia się do uruchomienia szlaków efektorowych: MAPK (Ras/Raf/MEK/Erk) oraz Akt/mTOR. Ścieżki te odpowiadają za regulację funkcji komórki m.in. reagowanie na bodźce zewnętrzne i są związane z transformacją nowotworową. Dane molekularne niosły przesłanki potencjalnych korzyści ze stosowania inhibitorów tych szlaków m.in. inhibitorów mTOR w leczeniu MPNST. Badania na liniach komórkowych dowiodły, że leki te hamowały zarówno proliferację, migrację jak i inwazyjność komórek MPNST (Engin i in. 2013). Natomiast ostatecznie nie przyniosły one klinicznych korzyści, co skłoniło badaczy do konieczności identyfikacji innych szlaków jako istotnych celów rozwoju leków przeciwnowotworowych (Prudner i in. 2020). Inne nieprawidłowości genetyczne wykryte w MPNST to m.in. mutacje składowych kompleksu represyjnego polikombinacji 2 (PRC2): EED, SUZ12 i RBBP4/7. Występują one w aż 70% MPNST, natomiast inne komponenty tego samego kompleksu są podwyższone. Aktualnie trwają badania nad zastosowaniem terapeutów ingerujących w opisane geny zarówno w monoterapii jak w terapiach skojarzonych leczenia MPNST (Prudner i in. 2020). To tylko niewielka część aktualnie trwających analiz nad nowoczesnymi terapiami leczenia MPNST. Nie podlega wątpliwości, że poznanie profilu genetycznego i ewolucji nowotworu MPNST przynosi nadzieję na skuteczniejsze terapie celowane. Złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych cechują się złym rokowaniem. Szereg badań dowodzi, że pięcioletni wskaźnik przeżycia wynosi 50-60%, natomiast mediana przeżycia to 6 lat (Yao i in. 2023). Aby móc wdrożyć diagnostykę oraz rozpocząć skuteczne leczenie niezbędna jest identyfikacja wskaźników prognostycznych. W tym celu można zastosować system oceny FNCLCC (French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group), czyli system oparty na trójstopniowej ocenie: różnicowania, aktywności mitotycznej oraz martwicy komórek nowotworowych (Coidre i in. 2001). Inny system kliniczno-patologiczny do oceny zaawansowania mięsaków tkanek miękkich, który można wykorzystać również w przypadkach MPNST to czterostopniowy system AJCC (American Joint Committee on Cancer). Jest on oparty na między innymi wielkości guza, oraz obecności lub braku przerzutów (Zou i in. 2009).

#### 4. Podsumowanie

Złośliwe nowotwory osłonek nerwów obwodowych (MPNST) są rzadkimi, agresywnymi guzami, które najczęściej dotyczą pacjentów z nerwiakowłókniakowatością typu 1 (NF1). Nie są znane skuteczne metody profilaktyki zarówno pierwotnej, jak i wtórnej. Pacjenci z MPNST mogą zgłosić się z objawami do specjalistów różnych dziedzin, nie tylko do otorynolaryngologów, ale również do dermatologów, ortopedów czy neurochirurgów. Z tego powodu istotne wydaje się posiadanie podstawowej wiedzy na temat tej jednostki chorobowej i pokierowanie pacjenta na drogę pogłębionej diagnostyki, która niejednokrotnie jest trudna i wymaga zaawansowanych technik obrazowania. Pomimo szeregu dostępnych badań, nie zawsze jesteśmy w stanie jednoznacznie zróżnicować zmiany złośliwe i łagodne. Kluczowe jest badanie histopatologiczne w połączeniu z analizą immunohistochemiczną. Standardem leczenia jest chirurgiczna resekcja, ale uzyskanie negatywnych marginesów jest w wielu przypadkach utrudnione ze względu na lokalizację guzów i ich skłonność do miejscowego naciekania. Radioterapia i chemioterapia mogą być stosowane jako uzupełnienie leczenia chirurgicznego, ale ich skuteczność jest ograniczona. Rokowanie dla pacjentów z MPNST jest na ogół niekorzystne, z pięcioletnim wskaźnikiem przeżycia wynoszącym 50-60%. Aktualne badania koncentrują się na identyfikacji nowych celów terapeutycznych dla działania leków, co daje nadzieję na skuteczniejsze terapie w przyszłości. Poznanie profilu genetycznego i ewolucji MPNST jest kluczowe dla opracowania nowych, celowanych metod terapeutycznych.

#### 5. Literatura

- Angelov L, Guha (2000) *A Peripheral Nerve Tumors Neuro Oncology Essentials* 1st edition New York Theme Publisher 43: p.4–444.
- Binobaid L Masternak MM (2020) Molecular targets for NF1-associated malignant peripheral nerve sheath tumor. *Rep Pract Oncol Radiother* 25(4): 556-561.
- Chen A, Wang T, Xu X (2021) Giant Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor of the Head and Neck: A Case Report and Literature Review. *Ear Nose Throat J* 100(5\_suppl): 624S-628S.
- Coindre JM, Terrier P, Guillou L et al. (2001) Predictive value of grade for metastasis development in the main histologic types of adult soft tissue sarcomas: a study of 1240 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. *Cancer* 91(10): 1914-1926.
- Czarnecka AM, Sobczuk P, Zdzienicki M et al. (2018) Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST). *Oncol Clin Pract* 14(6): 364-376.
- Derlin T, Tornquist K, Munster S et al. (2013) Comparative effectiveness of 18F-FDG PET/CT versus whole-body MRI for detection of malignant peripheral nerve sheath tumors in neurofibromatosis type 1. *Clin Nucl Med* 38(1): e19-25.
- Engin H, Bilir C, Tekin IO (2013) Prognostic significance of peripheral blood flow cytometry parameters in patients with non-metastatic breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 14(12): 7645-7649.
- Fan Q, Yang J, Wang G (2014) Clinical and molecular prognostic predictors of malignant peripheral nerve sheath tumor. *Clin Transl Oncol* 16(2): 191-199.
- Farid M, Demicco EG, Garcia R et al. (2014) Malignant peripheral nerve sheath tumors. *Oncologist* 19(2): 193-201.
- Ferner RE, Golding JF, Smith M et al. (2008) [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG PET) as a diagnostic tool for neurofibromatosis 1 (NF1) associated malignant peripheral nerve sheath tumours (MPNSTs): a long-term clinical study. *Ann Oncol* 19(2): 390-394.
- Hirbe AC, Gutmann DH (2017) The management of neurofibromatosis type 1-associated malignant peripheral nerve sheath tumors: challenges, progress, and future prospects. *Expert Opinion on Orphan Drugs* 5(8): 623–631.
- James AW, Shurell E, Singh A et al. (2016) Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor. *Surg Oncol Clin N Am* 25(4): 789-802.
- Le Guellec S, Decouvelaere AV, Filleron T et al. (2016) Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor Is a Challenging Diagnosis: A Systematic Pathology Review, Immunohistochemistry, and

- Molecular Analysis in 160 Patients From the French Sarcoma Group Database. *Am J Surg Pathol* 40(7): 896-908.
- Li Q, Pan H, Li L et al. (2019) Malignant peripheral nerve sheath tumor of the nasal cavity and nasopharynx in a child: A case report. *Medicine (Baltimore)* 98(4): e14223.
- Pala-Sadza A, Zajączkiewicz H, Banaś-Samson R i in. (2014) Rzadki przypadek złośliwego nerwiaka osłonkowego jamy nosa. *Pol Otorhino Rev* 3(4).
- Prudner BC, Ball T, Rathore R et al. (2020) Diagnosis and management of malignant peripheral nerve sheath tumors: Current practice and future perspectives. *Neurooncol Adv* 2(Suppl 1): i40-i49.
- Stucky CC, Johnson KN, Gray RJ et al. (2012) Malignant peripheral nerve sheath tumors (MPNST): the Mayo Clinic experience. *Ann Surg Oncol* 19(3): 878-885.
- Wakely PE, Jr., Ali SZ, Bishop JA (2012) The cytopathology of malignant peripheral nerve sheath tumor: a report of 55 fine-needle aspiration cases. *Cancer Cytopathol* 120(5): 334-341.
- Yao C, Zhou H, Dong Y et al. (2023) Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors: Latest Concepts in Disease Pathogenesis and Clinical Management. *Cancers (Basel)* 15(4).
- Zou C, Smith KD, Liu J et al. (2009) Clinical, pathological, and molecular variables predictive of malignant peripheral nerve sheath tumor outcome. *Ann Surg* 249(6): 1014-1022.

## 2. Wpływ leków przeciwcukrzycowych na masę ciała chorych

The effect of diabetes drugs on the body weight of patients

Grabowicz Sylwia<sup>(1)</sup>, Małgorzata Zakłós-Szyda<sup>(2)</sup>, Perlikowska Renata<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Katedra Biochemii i Chemii, Zakład Chemii Biomolekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>(2)</sup> Instytut Biotechnologii Molekularnej i Przemysłowej, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka

Opiekun naukowy: dr hab. Renata Perlikowska

Grabowicz Sylwia: sylwiagrabowicz.farm@gmail.com

Słowa kluczowe: agonści GLP-1, inhibitory DPPIV, inhibitory SGLT-2

### Streszczenie

Istnieje wiele metod leczenia cukrzycy typu 2 (ang. *type 2 diabetes*, T2D), które zastosowane kompleksowo pomagają w kontrolowaniu jej objawów. Lekiem pierwszego rzutu uważanym za bezpieczny i skuteczny jest metformina, która poprawia wyrównanie metaboliczne cukrzycy bez wywołania hipoglikemii. Pochodne sulfonilomocznika również zajmują ważną pozycję w zaleceniach światowych i polskich towarzystw naukowych. Powszechnie stosowana jest również terapia skojarzona metforminą z agonistą receptora peptydu glukagonopodobnego typu 1 (ang. *glucagon-like peptide-1*, GLP-1) lub inhibitorem kotransportera glukozy-sodowego (ang. *sodium-glucose transport protein 2*, SGLT-2). Obiecującą klasą doustnych leków przeciwcukrzycowych są także inhibitory enzymu proteolitycznego dipeptydylopeptydazy 4 (ang. *dipeptidyl peptidase-4*, DPPIV), którego substratem jest GLP-1. Zaangażowanie pacjenta w terapię, przestrzeganie zasad diety i regularna aktywność fizyczna także przynoszą pozytywne rezultaty. Dynamiczny rozwój farmakoterapii T2D niewątpliwie pomaga pacjentom w ich codziennym życiu, tym bardziej że dostępne leki wykazują wysoki profil bezpieczeństwa, co więcej sprzyjają redukcji masy ciała. Ten uboczny efekt wspomagający utratę masy ciała, w dużej mierze decyduje o popularności leków przeciwcukrzycowych, wśród osób otyłych lub z nadwagą, bez objawów T2D. Nowe strategie leczenia wciąż są przedmiotem licznych badań doświadczalnych i klinicznych, bowiem nie poznano wszystkich aspektów działania nowych terapii, a zwłaszcza odległych skutków ich stosowania.

### 1. Wstęp

Liczba zachorowań na cukrzycę typu 2 (ang. *type 2 diabetes*, T2D) rośnie, pomimo wielu działań profilaktycznych. Jest to choroba metaboliczna o złożonej i różnorodnej etiologii. W patogenezie tej choroby istotny wpływ ma podłoże zarówno genetyczne (cukrzyca monogenowa i wielogenowa), jak i epigenetyczne. Uwarunkowania genetyczne prowadzą do zaburzeń wydzielania i/lub działania insuliny. T2D jako choroba cywilizacyjna, jest determinowana stylem życia, czynnikami powodującymi chorobę są nieprawidłowe nawyki żywieniowe, siedzący tryb życia, otyłość oraz stres. Narażenie na stres zwiększa o 43% zachorowalność na T2D poprzez indukowanie insulinooporności pod wpływem wzrostu poziomu kortyzolu i adrenaliny (Lukashek i in. 2013).

Insulinooporność rozumiana jako spadek wrażliwości tkanek docelowych, głównie mięśni szkieletowych, wątroby i tkanki tłuszczowej, na działanie insuliny, jest kluczowym objawem towarzyszącym T2D. Następstwem insulinooporności jest nadprodukcja insuliny (hiperinsulinemia), która utrzymując się latami prowadzi do pojawienia się klinicznych objawów hiperglikemii na skutek upośledzenia funkcjonowania komórek  $\beta$ -trzustki.

Tkanka tłuszczowa, jako aktywny narząd wydzielania wewnętrznego, produkuje wiele substancji aktywnych hormonalnie (zwanymi adipokinami). Profil wydzielanych adipokin – (m.in. adiponektyny) ulega zmianie w hiperplastycznej bądź hipertroficznej tkance tłuszczowej zwiększając insulinooporność i działanie prozapalne, w konsekwencji przyczyniając się do rozwoju T2D. Z drugiej strony zaburzenie gospodarki węglowodanowej i insulinowej u pacjenta z T2D prowadzi do wzrostu ryzyka otyłości. Dodatkowo, stosowanie insulinoterapii oraz leków

przeciwcukrzycowych starszej generacji może prowadzić do przyrostu masy ciała bądź / i gromadzenia się tkanki tłuszczowej. Przykładem leków starszej generacji mogą być pochodne sulfonylmocznika, których działania niepożądane jak zwiększenie apetytu, zmniejszenia glikozurii, czy zwiększona retencja wody, przyczyniają się do zwiększenia masy ciała. Dlatego wiele nadziei pokłada się w opracowaniu nowych strategii terapeutycznych i leków. Biorąc pod uwagę dynamikę wzrostu, szacuje się że w 2030 roku będzie w Polsce 4,2 mln chorych na T2D (Kiełczykowska 2023). Warto zaznaczyć, że nadrzędnym celem terapii jest obniżenie stężenia glukozy we krwi i jego stabilizacja na poziomie fizjologicznym.

Metformina utrzymuje swoją pozycję jako preferowany lek pierwszego wyboru w leczeniu T2D od 2011 roku, kiedy to po raz pierwszy została uwzględniona na liście leków podstawowych Światowej Organizacji Zdrowia, natomiast zgodnie z obowiązującymi wytycznymi Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) powinna być stosowana od momentu rozpoznania T2D, a następnie na każdym etapie leczenia (pod warunkiem braku przeciwwskazań do jej stosowania) (PTD 2023). Terapia metforminą poprawia tolerancję glukozy i insulinowrażliwości, obniża hiperinsulinemię, zapobiega powikłaniom cukrzycy. Przy ścisłym przestrzeganiu przeciwwskazań do jej stosowania, metformina to lek stosunkowo bezpieczny i wolny od działań niepożądanych, z wyjątkiem objawów ze strony przewodu pokarmowego. Mechanizm jej działania opiera się przede wszystkim na aktywowaniu kinazy zależnej do AMP (ang. *adenosine monophosphate kinase*, AMPK) poprzez zmniejszanie syntezy ATP w mitochondriach, a także hamowanie glukoneogenezy w wątrobie (Goel 2022). Kinaza AMPK jest negatywnym regulatorem kinazy mTOR, odpowiedzialnym za wzrost i proliferację komórek w obecności insuliny. Innymi słowy, wzrost aktywności kinazy AMPK indukowanej przez metforminę hamuje działanie kinazy mTOR, co w rezultacie indukuje mechanizm przypominający restrykcję kaloryczną.

Obok metforminy, najczęściej stosowanymi lekami na T2D są pochodne sulfonylmocznika, dostępne w trzech generacjach substancji leczniczych, różniących się skutecznością, bezpieczeństwem i czasem działania. Leki te działają poprzez wiązanie się ze swoistymi receptorami znajdującymi się na komórkach  $\beta$  trzustki, przez co zwiększają wydzielanie insuliny. Ich działanie jest niezależne od stężenia glukozy we krwi, co sprawia, że zdarzają się przypadki niepotrzebnego wydzielania insuliny, a to skutkuje występowaniem hipoglikemii i rzutuje na odejście od leczenia tą grupą leków.

W terapii T2D, zwłaszcza u osób otyłych, u których stosowanie nefarmakologicznych metod leczenia nie zapewnia wystarczającej kontroli glikemii, stosuje się inhibitory  $\alpha$ -glukozydazy, enzymu degradującego oligosacharydy i polisacharydy do monocukrów w nabłonku jelita cienkiego. Wśród leków z tej grupy zarejestrowana w Polsce jest akarboza. Blokowanie enzymu, spowalnia wchłanianie jelitowe węglowodanów i obniża stężenie glukozy we krwi, głównie poposiłkowe, bez ryzyka hipoglikemii. Akarboza zmniejsza stężenie cholesterolu oraz triglicerydów, przeciwdziała gromadzeniu się tłuszczów w narządach. Podawanie akarbozy pacjentom z syndromem metabolicznym może zmniejszać masę ciała i otyłość brzuszną, a także redukować markery stanu zapalnego i sercowo-naczyniowego (Khalili i Safavipour 2020).

Intensywne poszukiwania skutecznych form terapii T2D umożliwiły wprowadzenie nowych grup leków, w tym: analogów glukagonopodobnego peptydu 1 (ang. *glucagon-like peptide-1*, GLP-1), inhibitorów dipeptydylopeptydazy IV (ang. *dipeptidyl peptidase-4*, DPPIV) oraz inhibitorów kotransporterów glukozowo-sodowych (ang. *sodium-glucose transport protein 1*, SGLT1 i *sodium-glucose transport protein 2*, SGLT2). Dalsze badania z zastosowaniem innowacyjnych technologii mogą przynieść nowe rozwiązania, ale również pozwolą ocenić wszystkie aspekty działania stosowanych terapii, zwłaszcza ich odległych skutków co pozwoli zminimalizować ryzyko ewentualnych powikłań lub interakcji między lekami.

## **2. Nowe terapie stosowane w cukrzycy typu 2**

Peptyd glukagonopodobny typu 1 (GLP-1) to najlepiej poznana endogenna inkretyna, wydzielana przez komórki L jelita w odpowiedzi na przyjmowanie składników odżywczych. Jako hormon żołądkowo-jelitowy w sytuacji podwyższonego stężenia glukozy hamuje wydzielanie glukagonu oraz stymuluje wydzielanie insuliny przez pobudzenie właściwych dla siebie receptorów.

Na skutek aktywacji tych receptorów poprawie ulega metabolizm glukozy, opróżnianie żołądka spowolnia, zwiększa się uczucie sytości, a apetyt jest hamowany z udziałem osi jelito-mózg (Hinnen 2017). Hormon ten odgrywa istotną rolę w łagodzeniu oporności na insulinę i produkcji lipoprotein o bardzo małej gęstości (ang. *very low density lipoprotein*, VLDL) poprzez wewnętrzny szlak sygnałowy jelito-wątroba (Khound i in. 2017). Przypisuje się mu również działanie ochronne na komórki wysp Langerhansa. Spadek aktywności endogennego GLP-1 (Calanna i in. 2013), to również efekt degradacji enzymatycznej pod wpływem dipeptydylopeptydazy 4 (DPPiV). Rozwiązaniem są otrzymywane na drodze syntezy analogi GLP-1, wykazujące działanie insulinotropowe, które dodatkowo podawane z inhibitorami DPPiV, wykazują dłuższą aktywność biologiczną (Gilbert i Pratley 2020). Zadaniem agonistów receptora GLP-1 jest naśladowanie działania endogennego GLP-1 w organizmie. Substancje te promuje zależne od glukozy wydzielanie insuliny, hamuje wydzielanie glukagonu i wykazuje działanie hipoglikemiczne. Na podstawie obserwacji dotyczących długoterminowej skuteczności i bezpieczeństwa stosowania GLP-1, widać wyraźnie większą redukcję odsetka hemoglobiny glikowanej (HbA1c), której wartość procentowa była utrzymywana na znacząco niższym poziomie (do ~1,7 %) w porównaniu do zaleceń wdrożenia zmian w stylu życia (kontrola diety lub aktywność fizyczna) (Piccini 2023). Badanie przeprowadzone przez Longato i wsp. (Longato 2021) wykazało, że u pacjentów, którzy przegrali leczenie agonistami GLP-1 zwiększyło się o 30–33% ryzyko chorób serca w porównaniu z pacjentami, którzy kontynuowali przyjmowanie leku.

Agoniści GLP-1 to pochodne o budowie peptydowej, w których zastosowano dodatkowe modyfikacje, celem poprawy ich aktywności biologicznej i przedłużenia czasu działania, to m.in. połączenie peptydu z cząsteczką albuminy (albiglutyd), z fragmentem przeciwciała IgG (dulaglutyd) lub z łańcuchami kwasów tłuszczowych (liraglutyd i semaglutyd). Spośród tej grupy leków biologicznych do tej pory amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) zatwierdziła eksenatyd (Byetta, Bydureon), liksysenatyd (Soliqua), liraglutyd (Victoza, Saxenda), dulaglutyd (Trulicity), semaglutyd (Ozempic), tirzepatyd (Mounjaro, Zepbound) (Wojtara 2023). Ponadto od roku 2008 FDA wymaga by nowe leki przeciwcukrzycowe były badane pod kątem wpływu na ryzyko sercowo-naczyniowe. W Polsce obecnie dostępne są następujące analogi GLP-1: liraglutyd, semaglutyd, dulaglutyd, eksenatyd, liksysenatyd (PTD 2023).

Warto zauważyć, że niektóre z tych leków mogą być stosowane zarówno w leczeniu T2D, jak i otyłości, głównego czynnika ryzyka T2D. Na przykład liraglutyd jest wskazany do leczenia otyłości jako uzupełnienie diety o obniżonej wartości kalorycznej i zwiększonym wysiłku fizycznym u dorosłych i dzieci po 10. rż. (Mazurek i in. 2023).

Wpływ agonistów GLP-1 na redukcję masy ciała spowodował wzrost popularności tych leków wśród osób bez rozpoznanej cukrzycy. Należy pamiętać, że stosowanie agonistów GLP-1 nie jest pozbawione skutków ubocznych, najczęściej występującymi są nudności, wymioty i biegunkę, występujące przede wszystkim na początku terapii. Badania sugerują również, że długotrwałe stosowanie tego typu leków u pacjentów z cukrzycą, u których ze względu na obciążenie chorobą ryzyko wystąpienia działań niepożądanych wzrasta, może prowadzić do poważniejszych skutków ubocznych ze strony przewodu pokarmowego (zapalenie dróg żółciowych, zapalenie trzustki, niedrożność jelit) (Sodhi i in. 2023). W obecnej chwili trudno ocenić prawdopodobieństwo wystąpienia działań ubocznych wynikających z zastosowania agonistów GLP-1 celem utraty masy ciała przez osoby bez rozpoznanej T2D, gdyż liczebność grupy i czas są niewystarczające do wyciągnięcia wniosków.

Biorąc pod uwagę aktywność enzymu DPPiV i konsekwentnie jego wpływ na krótki okres półtrwania GLP-1 (1-2 min.), jedna ze wspomnianej wyżej strategii zwiększenia stężenia i wydłużenia działania analogów należących do grupy leków inkretynowych opiera się na hamowaniu DPPiV (Saini i in. 2023). Obecnie w Polsce dostępne są inhibitory DPPiV (inaczej gliptyny), które różnią się budową chemiczną i profilem farmakokinetycznym, jak wildagliptyna i saksagliptyna (pochodne cyjanopirolidyny), linagliptyna i sitagliptyna (pochodne ksantyny), alogliptyna (pochodna nitrylowa) (Saini i in. 2023). Różnice w obrębie tej grupy leków dotyczą powinowactwa i selektywności względem białka DPPiV. W dawkach terapeutycznych wszystkie gliptyny powodują podobne (około 70-90%) zahamowanie aktywności DPPiV, dzięki czemu zapewniają zbliżoną

redukcję glikemii i odsetka HbA1c (Kapłon-Cieślicka i in. 2012). Najsilniejszą inhibicję i wybiórczość w stosunku do DPPIV wykazuje linagliptyna, w związku z tym stosowana jest w małej dawce dobowej (Kapłon-Cieślicka i in. 2012).

Antyhiperglikemiczne działanie gliptyn wynika z hamowania aktywności DPPIV, a co za tym idzie zwiększenia stężenia GLP-1 we krwi. Gliptyny nie regulują tempa opróżniania żołądka ani ośrodka sytości w podwzgórzu, aczkolwiek wykazano, że ich stosowanie wiąże się z poprawą funkcji komórek  $\beta$  trzustki (Lyu i in. 2017).

Główna różnica między analogami GLP-1 a inhibitorami DPPIV dotyczy sposobu ich podawania. Analogi GLP-1 są podawane we wstrzyknięciach podskórnych, natomiast gliptyny przyjmuje się doustnie. Z punktu widzenia pacjenta, u którego otyłość odgrywa istotną rolę w rozwoju choroby, terapia obiema grupami leków nie prowadzi do przyrostu masy ciała (a w przypadku analogów GLP-1 może nawet skutkować jej zmniejszeniem). Ponadto, ryzyko wystąpienia hipoglikemii podczas stosowania leków inkretynowych jest zminimalizowane.

Udział nerek w procesach regulujących homeostazę glukozy jest również istotny. U chorych, u których ta równowaga może zostać zaburzona, jednym z celów terapeutycznych T2D jest zwiększona reabsorpcja glukozy z moczu, a obiecującą grupą leków modyfikującą ten patomechanizm, są inhibitory kotransportera glukozy-sodowego 2 (SGLT2). Zarówno filtracja w kłębuszkach nerkowych i reabsorpcja glukozy w kanalikach nerkowych zachodzi z udziałem SGLT. Pierwszą substancją hamującą działanie SGLT była floryzyna, wyizolowana z kory korzeni jabłoni prawie 200 lat temu (Przybysławski i in. 2013), ale w związku z jej nieselektywnym hamowaniem SGLT i słabym wchłanianiem z przewodu pokarmowego nie znalazła zastosowania jako lek przeciwcukrzycowy. Dalsze badania umożliwiły otrzymanie syntetycznych inhibitorów SGLT2 o wysokiej selektywności (Xu i in. 2022). W Polsce dopuszczone do obrotu są cztery inhibitory SGLT2: dapagliflozyna, empagliflozyna, kanagliflozyna i ertugliflozyna. Kotransporter SGLT2 odpowiada za reabsorpcję 90% filtrowanej glukozy, podczas gdy kotransporter SGLT1 za reabsorpcję 10% przefiltrowanej glukozy (Buczowska-Otto 2014). Zablockowanie tego systemu transportowego np.: z udziałem odpowiednich inhibitorów, umożliwia bezpieczne zmniejszenie reabsorpcji glukozy prowadząc do glukozurii i obniżenia stężenia glukozy we krwi, bez ryzyka wystąpienia hipoglikemii. Leki te oprócz obniżenia glikemii w mechanizmie niezależnym od insuliny wpływają na zmniejszenie masy ciała, gdyż wydzielenie glukozy z moczem prowadzi do ujemnego bilansu energetycznego (Pereira i Eriksson 2019). Wpływ na utratę masy ciała, działanie moczopędne i zmniejszenie aktywności układu współczulnego inhibitorów SGLT2, powoduje obniżenie skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi odpowiednio o około 3–7 i 2 mmHg (Oliva i Bakris 2014). Badania sugerują, że inhibitory SGLT2 zmniejszają ryzyko śmiertelnych i niezakończonych zgonem zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz względne ryzyko hospitalizacji z powodu niewydolności serca (Pereira i Eriksson 2019). Ta grupa leków ma stosunkowo niewiele działań niepożądanych, dlatego wydaje się szczególnie atrakcyjna.

### **3. Efekty metaboliczne peptydów bioaktywnych**

Biologicznie aktywne peptydy należą do składników, które spożywane z żywnością lub w formie suplementów mogą mieć prozdrowotne właściwości. Uwalniane są z żywności, tj. z białek w niej zawartych, poprzez działanie odpowiednich enzymów proteolitycznych (Chelliah i in. 2021). Peptydy mające zastosowanie w terapii, otrzymywane są również metodami syntezy chemicznej, izolacji z materiału biologicznego, biosyntezy w komórkach organizmów modyfikowanych genetycznie, a także kombinacji powyższych. Wśród nich są analogi nowych celów terapeutycznych, takich jak amylina, leptyna, szlak receptora melanokortyny 4 (MC4R), antagoniści neuropeptydu Y, blokery receptora kanabinoidowego typu 1, inhibitory aminopeptydazy metioninowej 2 (MetAP2), czy inhibitory lipazy. Podejmowanie próby stworzenia nowego leku wiąże się z zastosowaniem modyfikacji chemicznych wyjściowych peptydów, których celem jest zwiększenie selektywności, stabilności, przepuszczalności przez błony biologiczne, lub wydłużenie okresu półtrwania. Ponadto oprócz monoterapii, dobre efekty obserwuje się przy zastosowaniu dwóch lub więcej klas leków obejmujących różne szlaki. Przykładem może być wskazanie do zastosowania inhibitora DPPIV wraz z metforminą, zapewniające redukcję odsetka HbA1c, przy niewielkim ryzyku hipoglikemii i co



najważniejsze braku przyrostu masy ciała. Obiecujące są również obserwacje dotyczące plejotropowego działania inhibitorów DPPIV, wykraczających poza regulację metabolizmu węglowodanów, terapia nimi wpływa bowiem korzystnie na działanie układu sercowo-naczyniowego (Subrahmanyan i in. 2021).

Spożywane białka (np. mleka, białka jaja kurzego, soi, kolagenów rybich) mogą być naturalnym źródłem peptydów hamujących DPPIV (Chelliah i in. 2021). Ostatnie badania przeprowadzone na mysim modelu cukrzycy potwierdziły hipoglikemiczne działanie peptydów pochodzących z orzecha włoskiego, czemu towarzyszyła aktywacja kinazy AMPK, redukcja kinazy mTOR oraz zmniejszenie poziomu markerów chronicznego stanu zapalnego (Hou i in. 2023). Inne doniesienia wykazują, że m.in. białka mleka mogą odgrywać znaczącą rolę w leczeniu T2D, w tym poprzez zmniejszenie apetytu lub regulację stężenia glukozy w osoczu. W niedawnych badaniach (Chelliah i in. 2021) przedstawiono prawdopodobny mechanizm działania przeciwożyłościowego poprzez regulowanie ekspresji jądrowego czynnika transkrypcyjnego regulowanego przez proliferatory peroksysomów (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor*, PPAR). Białko to występuje w różnych wariantach w tkance tłuszczowej i mięśniowej i jest jednym z regulatorów metabolizmu węglowodanów i lipidów na poziomie komórkowym. Dalsze badania pozwolą ocenić wartość takich składników w terapii T2D.

#### **4. Podsumowanie**

Możliwości farmakologicznego leczenia T2D przez lata ograniczały się do insuliny, metforminy oraz pochodnych sulfonilomocznika. Obecnie dostępne są nowe leki, które skuteczniej normalizują glikemię, zmieniają przebieg choroby, oddalają konieczność podawania insuliny, co więcej pozwalają na zmniejszenie masy ciała. Wiek XXI jest przesycony czynnikami indukującymi nowe przypadki zachorowań na T2D – stres, brak ruchu, niewłaściwa dieta, niewystarczająca ilość snu, przewlekły stan zapalny całego organizmu oraz insulinooporność. Biorąc pod uwagę że epidemia cukrzycy jest napędzana epidemią otyłości, kluczowa staje się utrata zbędnych kilogramów. Zmniejszenie masy ciała przekłada się nie tylko na redukcję ryzyka powikłań T2D, ale też ogólnej śmiertelności w jej przebiegu i co jest bardzo ważne dla chorych - wpływa na stabilizację dobowego poziomu glukozy we krwi.

Coraz więcej przesłanek wiąże prozdrowotny efekt z terapeutycznymi peptydami, które poprzez naśladowanie naturalnych peptydów występujących w organizmie i wzrost znaczenia dietoterapii, mogą odpowiadać za regulację produkcji insuliny, hamować działanie enzymów proteolitycznych, wpływać protekcyjnie na komórki produkujące insulinę. Szybka utrata masy ciała podczas stosowania np. analogów GLP-1 lub inhibitorów DPPIV jest ważnym argumentem podczas wyboru terapii. Jednak nie należy zapominać, że terapie tymi lekami wymagają dalszych badań i obserwacji w celu poznania i zminimalizowania potencjalnych skutków ubocznych.

#### **5. Literatura**

- Lukaschek K, Baumert J, Ladwig K-H i in. (2013) Relationship between posttraumatic stress disorder and type 2 diabetes in a population-based cross-sectional study with 2970 participants, *Journal of Psychosomatic Research* 74: 340-345.
- Kielczykowska A (2023) Ministerstwo Zdrowia: na podstawie dynamiki wzrostu ocenia się, że w 2030 r. będzie w Polsce 4,2 mln chorych na cukrzycę  
<https://naukawpolsce.pl/aktualnosci/news%2C99845%2Cministerstwo-zdrowia-na-podstawie-dynamiki-wzrostu-ocenia-sie-ze-w-2030-r> (dostęp 25.05.24).
- PTD (2023) Clinical recommendations for the management of people with diabetes 2024. Position of the Polish Diabetes Association. *Curr Top Diabetes*, 4: 1-158.
- Goel S, Singh R, Singh V, i in. (2022) Metformin: Activation of 5' AMP-activated protein kinase and its emerging potential beyond antihyperglycemic action. *Front. Genet.* 13:1022739.
- Khalili N, Safavipour A (2020) Evaluation of the Effects of Acarbose on Weight and Metabolic, Inflammatory, and Cardiovascular Markers in Patients with Obesity and Overweight. *Int J Prev Med.* 11:140.

- Hinnen D (2017) Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonists for Type 2 Diabetes. *Diabetes Spectr.* 30:202-210.
- Khound R, Taher J, Baker C, i in. (2017) GLP-1 Elicits an Intrinsic Gut-Liver Metabolic Signal to Ameliorate Diet-Induced VLDL Overproduction and Insulin Resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 37:2252-2259.
- Calanna S, Christensen M, Holst JJ (2013) Secretion of glucagon-like peptide-1 in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analyses of clinical studies. *Diabetologia* 56: 965–972.
- Gilbert MP, Pratley RE (2020) Glp-1 analogs and dpp-4 inhibitors in type 2 diabetes therapy: review of head-to-head clinical trials. *Frontiers in Endocrinology* 11: 178.
- Piccini G, Favacchio, Panico, C (2023) Time-dependent effect of GLP-1 receptor agonists on cardiovascular benefits: a real-world study. *Cardiovascular Diabetology* 22: 69.
- Longato E, Di Camillo B, Sparacino G, i in. (2021) Cardiovascular outcomes after initiating GLP-1 receptor agonist or basal insulin for the routine treatment of type 2 diabetes: a region-wide retrospective study. *Cardiovascular Diabetology* 20: 222.
- Wojtara M, Mazumder A, Syeda Y, i in. (2023) Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists for Chronic Weight Management. *Adv Med.* 20:9946924.
- Mazurek M, Białowas E, Dybała E, i in. (2023) Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) agonists in the treatment of obesity. *Journal of Education, Health and Sport* 13: 196-205.
- Sodhi M, Rezaeianzadeh R, Kezouh A, i in. (2023) Risk of Gastrointestinal Adverse Events Associated With Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists for Weight Loss. *JAMA* 330:1795–1797.
- Saini K, Sharma S, Khan Y (2023), DPP- 4 inhibitors for treating T2DM - hype or hope? an analysis based on the current literature. *Front. Mol. Biosci.* 10:1130625.
- Kapłon-Cieślicka A, Filipiak KJ (2012) Inhibitory peptydazy dipeptydylowej 4 w leczeniu cukrzycy typu 2. *Choroby Serca i Naczyń* 9:263–272.
- Lyu X, Zhu X, Zhao B, i in. (2017) Effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors on beta-cell function and insulin resistance in type 2 diabetes: meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep.* 7:44865.
- Buczkowska-Otto W (2014) Inhibitory sodozależnego kotransportera 2 glukozy- nowa grupa leków w leczeniu cukrzycy. *Forum Medycyny Rodzinnej* 8: 238–241.
- Przybyśławski B, Karbowski P, Rzeszotarski J, i in. (2013) Inhibitory kotransportera glukozy-sodowego 2 (SGLT2): nowa grupa doustnych leków przeciw cukrzycowych, *Diabet. Klin.* 2: 191–197.
- Xu B, Li S, Kang B, i in. (2022) The current role of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors in type 2 diabetes mellitus management. *Cardiovasc Diabetol* 21: 83.
- Pereira MJ, Eriksson JW (2019) Emerging Role of SGLT-2 Inhibitors for the Treatment of Obesity. *Drugs* 79:219-230.
- Oliva RV, Bakris GL (2014) Blood pressure effects of sodium-glucose co-transport 2 (SGLT2) inhibitors. *J Am Soc Hypertens.* 8:330–339.
- Chelliah R, Wei S, Daliri EBM, i in. (2021) The Role of Bioactive Peptides in Diabetes and Obesity. *Foods* 10: 2220.
- Subrahmanyam NA, Koshy RM, Jacob K, i in. (2021) Efficacy and Cardiovascular Safety of DPP-4 Inhibitors. *Curr Drug Saf.* 16:154-164.
- Hou W, Zhao F, Fang L, i in. (2023) Walnut-Derived Peptides Promote Autophagy via the Activation of AMPK/mTOR/ULK1 Pathway to Ameliorate Hyperglycemia in Type 2 Diabetic Mice. *Agric. Food Chem.* 71: 3751–3765.

### **3. Zastosowania komórek nerwiaka niedojrzałego SH-SY5Y w poszukiwaniu nowych form terapii chorób neurodegeneracyjnych**

Applications of SH-SY5Y neuroblastoma cells in the search for new forms of therapy for neurodegenerative diseases

Grabowicz Sylwia, Długosz-Pokorska Angelika, Perlikowska Renata

Zakład Chemii Biomolekularnej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Opiekun naukowy: dr hab. Renata Perlikowska

Grabowicz Sylwia: sylwiagrabowicz.farm@gmail.com

Słowa kluczowe: neuroprotekcja, neurodegeneracja, linie komórkowe,

#### **Streszczenie**

Choroby neurodegeneracyjne to szeroka i bardzo zróżnicowana grupa chorób, wśród których najczęściej występującymi są: choroba Alzheimera (AD), choroba Parkinsona (PD), choroba Huntingtona (HD), stwardnienie rozsiane czy stwardnienie zanikowe boczne (ALS) oraz wiele innych. Choroby te mają różny mechanizm powstawania, jak i towarzyszące im dolegliwości, natomiast cechą wspólną jest postępująca degeneracja i/lub śmierci komórek nerwowych. Niestety dostępne terapie, mają na celu złagodzenie objawów choroby, a rezultatem ich stosowania może być jedynie poprawa funkcjonowania pacjentów, bez wpływu na procesy patofizjologiczne. Skuteczniejsze opracowanie nowych strategii leczenia jest możliwe poprzez zrozumienie molekularnych, genetycznych i komórkowych mechanizmów neurodegeneracji. Służą temu zaawansowane modele *in vitro*, które pozwalają na bardziej dokładne śledzenie zmian degeneracyjnych oraz przewidywanie efektów nowych terapii. Modele te stanowią jednocześnie alternatywę dla badań na zwierzętach. Dlatego w artykule tym chcemy przyjrzeć się powszechnie wykorzystywanym metodom indukcji uszkodzeń neuronalnych z wykorzystaniem ludzkiej linii komórkowej nerwiaka niedojrzałego SH-SY5Y.

#### **1. Wstęp**

W miarę wydłużania się średniej długości życia rośnie liczba osób starszych, co prowadzi do wzrostu chorób związanych z wiekiem, do których zaliczamy choroby neurodegeneracyjne, jak: chorobę Alzheimera (AD), Parkinsona (PD), chorobę Huntingtona (HD), stwardnienie rozsiane, stwardnienie zanikowe boczne (SLA), oraz wiele innych. To nieuleczalne i wyniszczające schorzenia powodujące postępującą degenerację i/lub śmierć komórek nerwowych, co skutkuje zaburzeniami funkcji poznawczych (utrata pamięci), ruchowych (ataksje, drżenie i sztywność mięśni), utratę zdolności mowy i komunikacji (afazja), złym stanem emocjonalnym i psychicznym (depresja, lęk). Zasadniczym problemem skutecznego leczenia chorób neurodegeneracyjnych jest ich wieloczynnikowość (wpływ czynników genetycznych, środowiskowych i biologicznych) oraz wielofazowość procesu chorobowego (począwszy od trudnych do rozpoznania wczesnych zmian na poziomie molekularnym, aż po zaawansowaną i nie możliwą do zatrzymania degenerację neuronów). Wyzwaniem w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych jest również ograniczona zdolność leków do przekraczania bariery krew-mózg (z ang. *Blood-Brain Barrier*, BBB), która selektywnie kontroluje przepływ substancji z krwi do mózgu, chroniąc go przed toksynami i patogenami, ale jednocześnie utrudniając dostarczenie wielu potencjalnych terapeutyków. Postępy w dziedzinie nanotechnologii, biologii molekularnej i farmakologii oferują nowe możliwości, ale potrzebne są dalsze badania, aby opracować skuteczne i bezpieczne metody dostarczania leków do miejsca ich działania.

W związku z tym, że większość uszkodzeń neurodegeneracyjnych na poziomie komórkowym dotyczy stresu oksydacyjnego, dysfunkcji mitochondriów, ekscytotoksyczności, stanu zapalnego, agregacji białek patologicznych, a w konsekwencji apoptozy komórek. Modułacja tychże mechanizmów może zmniejszyć uszkodzenia neuronów i wspierać ich funkcjonowanie w warunkach patologicznych, co powinno poprawić jakość życia pacjentów z chorobami neurodegeneracyjnymi.

Neuroprotekcja to każde działanie, którego celem jest zapobieganie progresji zmian strukturalnych i/lub funkcjonalnych towarzyszących degeneracji neuronów i ewentualne wspieranie procesów naprawczych. W pierwszej kolejności powinno dotyczyć interwencji behawioralnych i środowiskowych, polegających na zmianach w stylu życia, regularnej aktywności fizycznej, treningu umysłowym. Działanie takie miało by charakter prewencyjny. Natomiast pacjenci z chorobami neurodegeneracyjnymi do lekarza trafiają zbyt późno. Niestety, pomimo intensywnych badań naukowych, nie opracowano do tej pory skutecznej strategii terapeutycznej a aktualnie stosowane terapie łagodzą jedynie nasilenie objawów bez likwidowania przyczyny choroby. Dlatego wciąż poszukuje się nowych metod leczenia chorób neurodegeneracyjnych, a jednym ze sposobów oceny potencjalnego działania neuroprotektynowych związków, jest analiza ich aktywności biologicznej przy użyciu modeli uszkodzeń neuronalnych z wykorzystaniem linii komórkowych. Modele zwierzęce *in vivo* stanowią cenne narzędzie badawcze, aczkolwiek ograniczenia wynikające z kosztów takich badań oraz różnic międzygatunkowych, skłaniają naukowców do poszukiwania innych metod badawczych, takich jak modele *in vitro*, które mogą precyzyjniej odzwierciedlać ludzkie warunki biologiczne. Alternatywą dla badań *in vivo*, stały się modele z użyciem komórek macierzystych (np.: indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPSC), które mogą być różnicowane do neuronów), neuronów izolowanych z ludzkiej tkanki mózgowej (z biopsji), czy trójwymiarowych organoidów mózgowych lub sferoidów. Spośród najnowszych technologii wymienia się coraz powszechniejsze systemy chipowe (Organ-on-a-Chip), czyli mikroprzepływowe układy, które umożliwiają hodowlę neuronów i innych typów komórek mózgowych w warunkach kontrolowanych (Amartumur i in. 2024). Jednakże preferowanym modelem w wielu badaniach biologicznych, których celem jest zrozumienie neurodegeneracji i przeciwdziałanie jej, są transformowane linie komórkowe przypominające neurony. Ich zaletą jest możliwość różnicowania w komórki o charakterze neuronów, astrocytów i oligodendrocytów. Oferują praktyczne (łatwość hodowli, stabilność genetyczna i fenotypowa), ekonomiczne (niski koszt hodowli w porównaniu z bardziej skomplikowanymi procedurami np.: komórek macierzystych) i techniczne korzyści (dostępność linii komórkowych, powtarzalność procedur i wyników). Linie komórkowe są powszechnie wykorzystywane w badaniach dotyczących poznania mechanizmów patogenezы chorób neurodegeneracyjnych, ich zastosowanie umożliwia obserwowanie bardzo wielu elementów procesu chorobowego, dlatego w niniejszym artykule chcielibyśmy scharakteryzować komercyjnie dostępną linię komórek nerwiaka niedojrzałego, SH-SY5Y.

## **2. Linie komórkowe stosowane w badaniu chorób neurodegeneracyjnych**

### **2.1 Linie komórkowe**

W badaniach *in vitro* chorób neurodegeneracyjnych wykorzystywane są modele oparte na neuropodobnych liniach komórkowych (ang. *neuronal-like cell lines*), takich jak komórki nerwiaka niedojrzałego (SH-SY5Y, w badaniach nad PD, AD, HD), neuroglioma (H4, w badaniach nad PD), śródmózgowia the Lund (LUHMES, w badaniach nad PD), czy teratokarcinoma (NT2, w badaniach nad PD) (więcej w: Slanzi i in. 2020, Słońska i in. 2017). Zastosowanie znalazły również nieneuronalne linie komórkowe (ang. *non-neuronal cell lines*), do których należą ludzkie embrionalne komórki nerki (HEK293, w badaniach nad PD, AD i HD), szczurze komórki guza chromochłonnego nadnercza (PC-12, w badaniach nad AD i HD), mysie komórki nerki (COS-7, w badaniach HD) czy ludzka linia komórek białaczki (THP-1, w badaniach AD) ((więcej w: Slanzi i in. 2020, Słońska i in. 2017). Pomimo tego, że istnieje kilka zastrzeżeń dotyczących wykorzystania komórek pochodzących z nowotworów złośliwych, wydaje się, że linie te są kluczowe w badaniach nad fizjologią, mechanizmami i procesami chorób lub zaburzeń, i są szeroko stosowane w procesach przesiewowych leków. Modele komórkowe *in vitro* oferują obiecujące narzędzie do poszukiwania nowych form terapii, tym bardziej że zastosowanie innowacyjnych metody hodowli 2D i 3D dało nowe możliwości charakteryzowania mechanizmów chorobowych, oraz testowania potencjalnych terapeutyków. Spersonalizowane metody leczenia nie są jeszcze opłacalne, ale modele 3D oparte na komórkach pochodzących od pacjentów przybliżają o kolejny krok perspektywy innowacyjnych form terapii (Slanzi i in. 2020).

Linia komórkowa SH-SY5Y (ATCC® CRL-2266™) jest niezwykle popularna w badaniach dotyczących poznania mechanizmów patogenezy chorób neurodegeneracyjnych. To podlinia pochodząca z biopsji przerzutowego guza kości SK-N-SH (ATCC® HTB-11™), który był poddawany trzykrotnemu klonowaniu: najpierw do SH-SY, następnie do SH-SY5, a ostatecznie SH-SY5Y. Komórki SH-SY5Y zostały zdeponowane w 1970 roku przez June L. Biedler [Kovalevich i Langford 2013]. Niezróżnicowane komórki SH-SY5Y nie posiadają wyraźniej struktury biegunowej, co oznacza że nie mają zróżnicowanych wypustek charakterystycznych dla neuronów, takich jak dendryty i aksony. Ich wypustki są skrócone i nieliczne. Komórki te mają tendencję do wzrostu w skupiskach i nieustannie proliferują. Cechą charakterystyczną hodowli SH-SY5Y jest współwystępowanie żywych komórek, zarówno adherentnych (przylegających do dna), jak i zawieszonych (nieprzylegających do dna, unoszących się), przy czym w większości badań wykorzystuje się populacje adherentne [Kovalevich i Langford 2013]. Co więcej, wyróżnia się dwa morfologicznie odrębne fenotypy: komórki przypominające neuroblasty, które określa się mianem „N” i komórki przypominające nabłonek czyli „S” [Encinas i in. 2000]. Komórki „N” wykazują cechy typowe dla niedojrzałych neuronów i reprezentują fenotyp katecholaminergiczny, co oznacza, że wykazują aktywność neuronalnych markerów enzymatycznych: hydroksylazy tyrozynowej (TH, EC 1.14.16.2, odpowiedzialnej za przekształcenie aminokwasu L-tyrozyny do dihydroksyfenyloalaniny, czyli DOPA) i  $\beta$ -hydroksylazy dopaminy (DBH, 1.14.17.1, uczestniczącej w syntezie amin katecholowych, hydrolizie dopaminy do noradrenaliny). Potrafią syntetyzować neurotransmitery, zarówno dopaminę, jak i noradrenalinę. Natomiast typ „S” nie wykazuje aktywności enzymatycznej i tym samym nie ma właściwości neuronalnych.

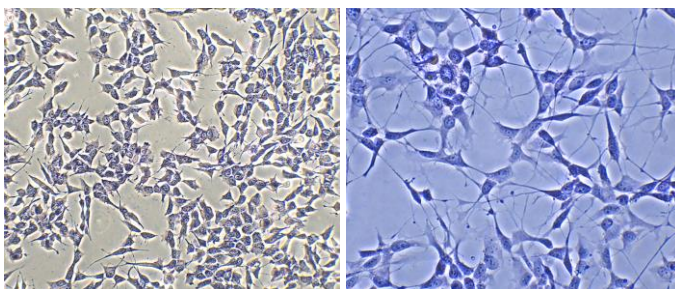
Jedną z ważniejszych cech komórek SH-SY5Y jest możliwość ich różnicowania do różnych fenotypów, w zależności od czynnika różnicującego [Agholme i in 2010]. Zróżnicowane komórki SH-SY5Y stają się morfologicznie bardziej podobne do neuronów pierwotnych, stają się dojrzałymi komórkami o wyraźnie spolaryzowanej budowie i piramidalnym kształcie, z losowo rozmieszczonymi, długimi, delikatnymi wypustkami, w zależności od metody indukcji różnicowania. Różnicowanie komórek SH-SY5Y powoduje również zahamowanie proliferacji, ponieważ podziały komórkowe zostają zatrzymane. Wzrasta także aktywność swoistej dla neuronów enolazy (NSE, EC 4.2.1.11) (Kovalevich i Langford 2013). Komórki SH-SY5Y mogą być różnicowane w stronę różnych fenotypów dorosłych neuronów, w tym cholinergicznym, adrenergicznym lub dopaminergicznym, w zależności od warunków hodowli, a metoda różnicowania wybrana do eksperymentów *in vitro* powinna być ostatecznie określona przez pożądany fenotyp po różnicowaniu.

Spośród metod różnicowania komórek SH-SY5Y, najczęściej stosowanym i skutecznym protokołem jest zastosowanie kwasu retinowego (RA), który jest pochodną witaminy A, znaną z silnych właściwości hamujących wzrost i promujących różnicowanie komórek. Kwas retinowy działając poprzez receptory jądrowe hamuje proliferację komórek, zmienia przewodnictwo sodowe komórek, zwiększa aktywność acetylocholinoesterazy (AChE) oraz usprawnia recykling pęcherzyków synaptycznych (Teppola i in. 2016). Dzięki różnicowaniu indukowanemu przez RA uzyskuje się komórki o bardziej dojrzałym fenotypie neuronopodobnym (cholinergicznym), charakteryzującym się markerami neuronalnymi, czyli zwiększoną aktywnością transferazy acetylocholinowej (ChAT) oraz ekspresją transportera monoaminowego (VMAT). Taka stymulacja komórek SH-SY5Y jest związana z tworzeniem i wydłużaniem wypustek neuronowych oraz indukcją enzymów specyficznych dla neuronów, neuroprzekazników i receptorów neuroprzekazników [Kovalevich

i Langford 2013]. Profil kanałów jonowych w komórkach po potraktowaniu ich RA również ulega zmianie, co przejawia się zwiększoną pobudliwością błony komórkowej (Toselli i in. 1996). Niektóre badania sugerują, że komórki zawieszonowe są bardziej skłonne do przylegania i różnicowania się w komórki typu „N” po różnicowaniu RA niż komórki adherentne obecne w niezróżnicowanych kulturach (Kovalevich i Langford 2013).

Innym, równie skutecznym modelem różnicowania jest indukcja zmian poprzez RA oraz 12-O-tetradekanoiloforbol-13-octanu (TPA) (Rysunek 1). Ester forbolu częściowo hamuje wzrost komórek, zwiększa aktywność NSE oraz ziarnistości neurosekrecyjnych w cytoplazmie. Zastosowanie wyłącznie TPA zwiększa 200-krotnie zawartość noradrenaliny w komórkach, dlatego

taki sposób różnicowania prowadzi do powstania głównie adrenergicznego fenotypu komórkowego (Kovalevich i Langford 2013). Jednoczesne zastosowanie RA i TPA powoduje ukierunkowanie zmian w stronę fenotypu dopaminergicznego, wykazującego znaczny wzrost ekspresji hydroksylazy tyrozynowej (TH), receptorów dopaminy podtypów 2 i 3 (D2R i D3R) oraz transportera dopaminy (DAT).



**Rys. 1.** Niezróżnicowane (lewy panel) i zróżnicowane (prawy panel) komórki SH-SY5Y po zastosowaniu kwasu retinowego (RA) oraz 12-O-tetradekanoiloforbol-13-octanu (TPA). Źródło: zbiór własny Perlikowska R.

Innym sposobem różnicowania jest indukcja zmian przy użyciu RA oraz odpowiednich neurotrofin, m.in. czynnika neurotroficznego pochodzenia mózgowego (BDNF), czynnika wzrostu nerwów (NGF), lub neurotrofiny-3 (NT-3). Kwas retinowy wzbudza ekspresję receptora kinazy tyrozynowej B (TrkB), który jest niezbędny do wiązania neurotrofin. W ten sposób, aktywacja TrkB przez BDNF promuje przeżycie neuronów, ich wzrost i plastyczność synaptyczną. Stymulacja ta indukuje zróżnicowane, zależne od czynnika neurotroficznego komórki podobne do neuronów, charakteryzujące się znaczącym wzrostem ekspresji genów synaptycznych i aktywności AChE (Teppola i in. 2016).

Ekspozycja komórek SH-SY5Y na cykliczny dibutyryl AMP (dbcAMP) skutkuje wydłużeniem neurytów, a także zwiększoną ekspresją markera różnicujących się neuronów, czyli neuronalnego białka związanego ze wzrostem (GAP43) (Kovalevich i Langford 2013). Ekspozycja na dbcAMP prowadzi do wzrostu aktywności TH oraz zawartości noradrenaliny w komórkach w sposób zależny od kinazy białkowej A (PKA). Różnicowanie z użyciem dbcAMP prowadzi do fenotypu morfologicznie podobnego do obserwowanego w komórkach różnicowanych RA i TPA, czyli adrenergicznego.

Antybiotyk staurosporyna, ma także zastosowanie przy różnicowaniu komórek SH-SY5Y, jednak wyniki badań podkreślają jej wpływ na wrażliwość komórek i ryzyko apoptozy, w związku ze zwiększeniem ekspresji białka p53 i zmniejszeniem ekspresji białka antyapoptotycznego Bcl-2 (Prince i Oreland 1997). Pozostałe metody różnicowania obejmują stymulację cholesterollem, witaminą D lub insuliną oraz hodowanie komórek na podłożu zaprojektowanym w celu promowania różnicowania i przeżycia neuronów (Kovalevich i Langford 2013).

## 2.2 Wybrane modele uszkodzeń neuronalnych *in vitro*

Zmiany patologiczne typowe dla chorób neurodegeneracyjnych: stres oksydacyjny, apoptoza, stan zapalny czy wewnątrzkomórkowa agregacja białek, można odtworzyć poprzez zastosowanie odpowiednich związków, indukujących uszkodzenia neuronalne lub poprzez modyfikacje genetyczne. Model *in vitro* imitujący zmiany typowe dla przebiegu PD obejmuje m.in. podanie 1-metylo-4-fenyl-pirydinium (MPP<sup>+</sup>), 6-hydroksydopaminy (6-OHDA) lub rotenonu. Związki te zaburzają wiele szlaków komórkowych, koncentrując się na dysfunkcji mitochondriów i stresie oksydacyjnym. Toksyna MPP<sup>+</sup> jest metabolitem 1-metylo-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropirydyny (MPTP), produktu ubocznego w syntezie 1-metylo-4-fenyl-4-propionoksy-piperydyny (MPPP), syntetycznego analogu heroiny, który powoduje ciężki parkinsonizm u ludzi po dożylnym wstrzyknięciu [Xicoy i in. 2017]. Ponieważ komórki SH-SY5Y nie mają mechanizmu przekształcania MPTP w MPP<sup>+</sup>, toksyna podawana jest bezpośrednio. Po wnikięciu do komórki, MPP<sup>+</sup> hamuje kompleks I łańcucha oddechowego, upośledzając oddychanie mitochondrialne

i zwiększając produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), ponadto powoduje przemieszczenie dopaminy (DA) do cytosolu, gdzie jest ona utleniana i generuje stres oksydacyjny. Z kolei, 6-OHDA jest neurotoksyną katecholaminergiczną, która po wnikięciu do neuronów przez transportery DA lub noradrenaliny (NA), gromadzi się wewnątrz komórki i wywołuje powstawanie ROS i chinonów katecholaminowych, prowadząc do stresu oksydacyjnego i śmierci komórki (Perlikowska i in. 2022). Ekspozycja na rotenon, wysoce lipofilowy insektycyd, który może bezpośrednio i niezależnie od transporterów wnikać do komórek, powoduje hamowanie kompleksu I, upośledzając oddychanie mitochondrialne, zwiększając produkcję ROS, oraz hamując aktywność proteasomalną. Opracowane są również modele ze stabilną transfekcją genu alfa-synukleiny w komórkach SH-SY5Y, bowiem białko to jest głównym składnikiem ciałek Lewy'ego, a zmiany w jego strukturze i agregacji są kluczowe w patogenezie PD i demencji (Xicoy i in. 2017).

Model *in vitro* uszkodzeń typowych dla przebiegu AD przewiduje m.in. podanie amyloidu beta ( $A\beta$ ), streptozotocyny, L-glutaminianu, skopolaminy, D-galaktozy, kwasu okadaikowego (OKA), lub lipopolisacharydu (LPS) celem indukcji stresu oksydacyjnego i śmierci komórkowej (Prajapat i in. 2023). Ekspozycja komórek na  $A\beta$  zmienia konformację białka tau i zwiększa jego fosforylację. Dochodzi również do aktywacji kinazy syntazy glikogenu  $3\beta$  (GSK3 $\beta$ ), co w konsekwencji prowadzić może do nadmiernej fosforylacji tau, zaburzeń neurogenezy i funkcji synaptycznych, oraz zwiększonej apoptozy neuronów, a także przewlekłego stanu zapalnego. Komórki SH-SY5Y wystawione na działanie  $A\beta$  wykazują zmniejszoną gęstość neurytów, zwiększoną hiperfosforylację tau, aktywację szlaku apoptozy, utratę żywotności komórek, zmianie ulega ich morfologia (de Medeiros i in. 2019). Streptozotocyna (STZ) używana jako antybiotyk, również zyskała zastosowanie w indukowaniu zmian typowych dla AD. Może ona modulować aktywność GSK3 $\alpha/\beta$ , zwiększać stres oksydacyjny, powodować depolaryzację błony mitochondrialnej oraz apoptozę, a także hiperfosforylację tau (Bagaméry i in. 2021). Kwas okadaikowego jako toksyna produkowana przez algi, tak jak scharakteryzowane powyżej związki, jest inicjatorem stresu oksydacyjnego i hiperfosforylacji białka tau, powoduje tworzenie splątków neurofibrylarnych i odkładania  $A\beta$  (Prajapat i in. 2023). Skopolamina jest antagonistą receptora muskarynowego acetylocholino, który powoduje zaburzenia funkcji poznawczych poprzez zwiększenie stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego i hamowanie neurotransmisji cholinergicznej. Ekspozycja komórek SH-SY5Y na działanie skopolaminy hamuje aktywność szlaku złożonego z kinazy-3-fosfatydyloinozytolu i kinazy białkowej B (PI3K/Akt), co aktywuje GSK3 $\beta$ , i skutkuje późniejszym uszkodzeniem neuronów/apoptozą poprzez zwiększenie hiperfosforylacji tau (Prajapat i in. 2023). Nadmierna aktywacja receptorów N-metylo-D-asparaginianowych (NMDA) przez neuroprzekaznik pobudzający, którym jest glutaminian, indukuje ekscytotoksyczność związaną z napływem  $Ca^{+2}$  i tlenku azotu (NO) do komórki. Glutaminian, aktywuje szlak sygnałowy kinazy c-Jun N-końcowej (JNK), który dodatkowo generuje kaspazę-3 i geny proapoptotyczne, prowadząc do apoptozy i śmierci komórek neuronowych (Bagaméry i in. 2021).

U podstaw neuroprotekcji oprócz działania antyoksydacyjnego czy antyapoptotycznego leżą również procesy przeciwzapalne, bowiem stan zapalny odgrywa kluczową rolę w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych.

W odpowiedzi na różne bodźce, dochodzi do aktywacji mikrogleju, który odpowiada za utrzymanie homeostazy, odpowiedź immunologiczną oraz procesy naprawcze w mózgu. Aczkolwiek jego przewlekła lub nadmierna aktywacja może potęgować neurotoksyczność i uszkadzać neurony. Dla przykładu, w AD białko  $A\beta$  aktywuje komórki glejowe do produkcji cytokin prozapalnych, takich jak interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukina-6 (IL-6) i czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), co prowadzi do stanu zapalnego i dalszego uszkodzenia neuronów (Peng i in. 2021). Hamowanie aktywowanego mikrogleju jest zatem jednym z ważniejszych celów terapeutycznym w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. Modele komórkowe *in vitro* oferują i w tym zakresie obiecujące narzędzie, z zastosowaniem dwu- i trzywymiarowych hodowli. Takie hodowle dokładniej odwzorowują środowisko mózgu i mogą skutecznie odtworzyć zachodzące zmiany, umożliwiają obserwacje interakcji między liniami komórkowymi oraz środowiskiem hodowli, tym samym zwiększają wartość translacyjną modelu.

### 3. Podsumowanie

Liczba osób dotkniętych chorobami neurodegeneracyjnymi stale rośnie ze względu na starzenie się populacji ludzkiej, a poważny wpływ takich chorób na jakość życia zwiększył obciążenie systemów opieki zdrowotnej na całym świecie. Złożoność chorób neurodegeneracyjnych wymaga wieloaspektowego podejścia w badaniach i terapii, które uwzględni indywidualne różnice, uwzględniające genotyp i specyficzne mechanizmy chorobowe każdego pacjenta. Kierunki przyszłych badań powinny opierać się na precyzyjnym poznaniu dokładnych biomarkerów pozwalających na wczesną diagnozę i monitorowanie postępu choroby. Celem jest też znalezienie sposobów zapewniających regenerację neuronów oraz ochronę istniejących komórek nerwowych przed dalszym uszkodzeniem. Innowacyjne technologie, takie jak terapie genowe, komórki macierzyste i nanotechnologia mogą otworzyć nowe możliwości terapeutyczne. Zastosowanie linii komórkowej SH-SY5Y stanowi podstawowy krok w eksperymentach dotyczących poszukiwania nowych możliwości terapeutycznych chorób neurodegeneracyjnych, po którym musi jednak nastąpić potwierdzenie wyników za pomocą bardziej złożonych modeli eksperymentalnych *in vitro* i *in vivo*.

### 4. Literatura

- Agholme L, Lindström T, Kågedal K, i in. (2010) An *in vitro* model for neuroscience: differentiation of SH-SY5Y cells into cells with morphological and biochemical characteristics of mature neurons. *J Alzheimers Dis.* 20(4):1069-82.
- Amartumur S, Nguyen H, Huynh T, I in. (2024) Neuropathogenesis-on-chips for neurodegenerative diseases. *Nat Commun*, 15:2219.
- Bagaméry F, Varga K, Kecsmár K, i in (2021). The impact of differentiation on cytotoxicity and insulin sensitivity in Streptozotocin treated SH-SY5Y cells. *Neurochem. Res.* 46, 1350–1358.
- de Medeiros LM, De Bastiani MA, Rico EP, i in (2019). Cholinergic differentiation of human neuroblastoma SH-SY5Y cell line and its potential use as an **in vitro** model for Alzheimer's disease studies. *Mol. Neurobiol.* 56, 7355–7367.
- Encinas M, Iglesias M, Liu Y, i in. (2000) Sequential treatment of SH-SY5Y cells with retinoic acid and brain-derived neurotrophic factor gives rise to fully differentiated, neurotrophic factor-dependent, human neuron-like cells. *J Neurochem.* 75(3):991–1003.
- Kovalevich J, Langford D. (2013). Considerations for the Use of SH-SY5Y Neuroblastoma Cells in Neurobiology. In: Amini, S., White, M. (eds) *Neuronal Cell Culture. Methods in Molecular Biology*, 1078.
- Perlikowska R, Silva J, Alves C, i in. (2022) The Therapeutic Potential of Naturally Occurring Peptides in Counteracting SH-SY5Y Cells Injury. *Int J Mol Sci.* 23(19):11778.
- Prajapat M, Kaur G, Choudhary G, i in. (2023) A systematic review for the development of Alzheimer's disease in *in vitro* models: a focus on different inducing agents. *Front Aging Neurosci.* 15:1296919.
- Prince JA, Orelan L. (1997) Staurosporine differentiated human SH-SY5Y neuroblastoma cultures exhibit transient apoptosis and trophic factor independence. *Brain Res Bull.* 43(6):515-23.
- Slanzi A, Iannoto G, Rossi B, I in. (2020) *In vitro* Models of Neurodegenerative Diseases. *Front Cell Dev Biol* 8:328.
- Słońska A, Cymerys J, (2017) Application of three-dimensional neuronal cell cultures in the studies of mechanisms of neurodegenerative diseases. *Postepy Hig Med Dosw* (online), 71:510-519.
- Teppola H, Sarkanen JR, Jalonen TO, i in. (2016) Morphological Differentiation Towards Neuronal Phenotype of SH-SY5Y Neuroblastoma Cells by Estradiol, Retinoic Acid and Cholesterol. *Neurochem Res.* 41(4):731-47.
- Toselli M, Tosetti P, Taglietti V. (1996) Functional changes in sodium conductances in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y during *in vitro* differentiation. *J. Neurophysiol.* 76:3920–3927.
- Xicoy H, Wieringa B, Martens GJ. (2017) The SH-SY5Y cell line in Parkinson's disease research: a systematic review. *Mol Neurodegeneration* 12:10.



#### **4. Jak odżywia się młodzież? Zachowania oraz wybory żywieniowe uczniów na przykładzie tyskich licealistów.**

How do adolescents eat? Behaviors and dietary choices of students based on the example of Tychy high school students.

Karolina Kozik

Zakład Żywienia Człowieka, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Opiekun naukowy: dr n. med. Beata Całtyniuk

Karolina Kozik: kckozik@gmail.com

Słowa kluczowe: zalecenia żywieniowe, częstotliwość spożycia, adolescencja

##### **Streszczenie**

Właściwy sposób żywienia jest jednym z kluczowych elementów warunkujących odpowiedni rozwój młodego człowieka. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania zdrowym odżywianiem w społeczeństwie. Celem pracy było zbadanie, jak w dzisiejszych czasach kształtuje się dieta młodzieży. Badanie zostało przeprowadzone w formie kontaktowej w grupie 514 uczniów I LO w Tychach za pomocą autorskiego, walidowanego kwestionariusza ankiety z wykorzystaniem kwestionariusza BSQFVF. Badani spełniali zalecenia dotyczące prawidłowej ilości posiłków w ciągu dnia, ograniczania żywności przetworzonej oraz mięsa czerwonego. Natomiast zalecenia dotyczące spożycia ryb, produktów pełnoziarnistych, regularności posiłków oraz spożycia śniadań nie zostały spełnione. Istnieje potrzeba propagowania właściwych nawyków żywieniowych wśród adolescentów.

##### **1. Wstęp**

Okres adolescencji jest momentem, w którym młodzież zaczyna przejmować kontrolę nad swoimi wyborami żywieniowymi. Niezwykle istotne jest, aby wybory te były właściwe, ze względu na istotny wpływ żywienia na rozwój psychofizyczny i emocjonalny, zdolność do przyswajania wiedzy oraz stan zdrowia i jakość życia w późniejszych etapach życia (Szczepańska i in. 2014). Głównymi źródłami wiedzy żywieniowej dla młodych osób są ich bliscy, środowisko szkolne oraz strony internetowe (Stoś i in. 2021). Edukacja żywieniowa prowadzona w szkołach może pozytywnie wpłynąć na sposób żywienia młodzieży (Domaradzki i in. 2021). Fakt, iż środowisko szkolne jest jednym z głównych źródeł wiedzy żywieniowej dla młodzieży, może być dowodem jej efektywności. Dostęp do źródeł internetowych dla młodzieży jest powszechny, a nawet nieograniczony w niektórych przypadkach. Niestety, źródła te nie zawsze propagują informacje uzasadnione naukowo, co może przyczynić się do popełniania błędów żywieniowych tj. stosowanie diet alternatywnych bez wyraźnych wskazań ku temu i nadzoru specjalistów (Bielawska i in. 2019). Innym czynnikiem, który w ostatnich latach istotnie wpłynął na nawyki żywieniowe młodych ludzi, jest pandemia COVID-19. W aspekcie diety zaobserwowano wzrost spożycia słonych i słodkich przekąsek, co w połączeniu ze zmniejszoną aktywnością fizyczną czy zaburzeniami snu, może być przyczyną odnotowanego wzrostu masy ciała u części młodzieży (Mikulec i in. 2022).

Biorąc pod uwagę wyżej wymienione czynniki, które mogły wpływać na sposób żywienia młodzieży, postanowiono skontrolować, jak obecnie odżywia się młodzież. Celem pracy była ocena sposobu żywienia uczniów tyskiego liceum.

##### **2. Materiał i metody**

###### **2.1 Przeprowadzenie badania**

Badanie przeprowadzono w I LO w Tychach w lutym 2024 roku w połączeniu z edukacją żywieniową uczniów. Narzędziem badawczym był anonimowy kwestionariusz ankiety w formie papierowej składający się z :

- pytań metrykalnych dotyczących płci, masy oraz wysokości ciała badanych. Uzyskane dane posłużyły do wyliczenia wskaźnika Body Mass Index (BMI  $\text{kg/m}^2$ ), który był interpretowany zgodnie z zaleceniami World Health Organization (WHO 2000);

- autorskich, poddanych walidacji pytań dotyczących wybranych zachowań żywieniowych, częstotliwości spożycia produktów wysokoprzetworzonych, produktów będących źródłem białka zwierzęcego i produktów będących źródłem tłuszczu;

- kwestionariusza BSQFVF służącego do oceny spożycia owoców, warzyw i błonnika (Czarnocińska i in. 2013). Zgodnie z rekomendacją autorek, poszczególnym częstotliwościom spożycia została przypisana odpowiednia ilość punktów (od rzadziej niż raz w tygodniu=0 do codziennie=4) i na tej podstawie wyróżniono spożycie błonnika na poziomie akceptowalnym ( $\geq 20$  pkt) i nieakceptowalnym ( $< 20$  pkt).

## 2.2 Charakterystyka badanej grupy

W badaniu wzięło udział 514 osób w wieku 14-19 lat ( $15,88 \pm 1,27$ ) (Tab. 1). Zdecydowana większość badanych 71,2% (N=366) miała BMI w normie, niedowagę odnotowano u co piątej osoby (21,0% N=108), a nadwagę u 34 osób (6,6%). Średnia wartość BMI wynosiła  $20,6 \text{ kg/m}^2$  (3,18). Ponadto, stosowanie diety wegetariańskiej zadeklarowało 34 (6,6%) badanych.

**Tab. 1.** Wybrane dane dotyczące badanych uczniów.

		N (%)
Płeć	kobieta	<b>305 (59,3)</b>
	mężczyzna	<b>209 (40,7)</b>
Wiek	14	77 (15,0)
	15	<b>141 (27,4)</b>
	16	<b>134 (26,0)</b>
	17	97 (18,9)
	18	58 (11,3)
	19	7 (1,4)
Interpretacja BMI	niedowaga	<b>108 (21,0)</b>
	norma	<b>366 (71,2)</b>
	nadwaga	34 (6,6)
	otyłość	6 (1,2)

## 2.3 Analiza danych

Uzyskane wyniki opracowano w MS Excel i poddano analizie statystycznej w Statistica 13.0. Kierując się interpretacją współczynnika asymetrii wyznaczono odpowiednie miary tendencji centralnej (średnia arytmetyczna, mediana). W celu walidacji autorskiej części kwestionariusza poproszono 11 osób (6 kobiet, 5 mężczyzn) o dwukrotne wypełnienie kwestionariusza z tygodniowym odstępem czasowym. Następnie obliczono wartość Kappa Cohena i na jej podstawie określono poziom powtarzalności odpowiedzi. Wartość Kappa Cohena wahała się pomiędzy 0,14-1. Dla 2 pytań uzyskano bardzo dobrą powtarzalność odpowiedzi, dla 11 dobrą, dla 6 średnią, dla 6 słabą i dla 1 minimalną.

## 3. Wyniki

Dane dotyczące ilości i długości przerw pomiędzy posiłkami, spożycia śniadań, oraz ilości wypijanej wody w ciągu dnia przedstawia Tab.2.

Badani najczęściej spożywali odpowiednią ilość posiłków w ciągu dnia tj. 4-5 (52,0% N=267), jednak aż 30,9% (N=159) spożywało je nieregularnie. Regularne spożycie posiłków (co 3-4h) deklarowała niecała połowa badanych 45,3% (N=233). Zaledwie połowa badanych (50,4% N=259) spożywała codziennie śniadania. Badani najczęściej wypijali od 1,5-2l wody dziennie (44,2% N=227), aczkolwiek aż 31,9% (N=164) wypijało 1l i mniej.

Do najczęściej spożywanych produktów będących źródłem białka zwierzęcego należały jaja, mięso drobiowe oraz mleko i przetwory mleczne (Tab.3).

**Tab. 2.** Wybrane zachowania żywieniowe badanych.

		N (%)
Ilość posiłków w ciągu dnia	1-2	51 (9,9)
	3	177 (34,4)
	4-5	<b>267 (52,0)</b>
	6 i więcej	19 (3,7)
Długość przerw pomiędzy posiłkami	1h i mniej	8 (1,6)
	2h	50 (9,7)
	3-4h	<b>233 (45,3)</b>
	5h	41 (8,0)
	6h i więcej	23 (4,5)
	są bardzo nieregularne	<b>159 (30,9)</b>
Spożycie śniadań	tak, zawsze	<b>259 (50,4)</b>
	tak, ale nie zawsze	184 (35,8)
	nie	71 (13,8)
Ilość wypijanej wody w ciągu dnia	nie piję wody	4 (0,8)
	0,5l i mniej	34 (6,6)
	około 1l	126 (24,5)
	1,5-2l	<b>227 (44,2)</b>
	2,5-3l	85 (16,5)
	powyżej 3l	38 (7,4)

**Tab. 3.** Częstotliwość spożycia produktów będących źródłem białka zwierzęcego.

	codz. N (%)	4-6×w tyg N (%)	2-3×w tyg N (%)	raz w tyg N (%)	rzadziej niż raz w tyg N (%)	nigdy N (%)
Mięso czerwone	20 (3,9)	49 (9,5)	135 (26,3)	100 (19,5)	<b>148 (28,8)</b>	62 (12,1)
Mięso drobiowe	28 (5,4)	127 (24,7)	<b>232 (45,1)</b>	72 (14,0)	27 (5,3)	28 (5,4)
Jaja	32 (6,2)	92 (17,9)	<b>182 (35,4)</b>	123 (23,9)	64 (12,5)	21 (4,1)
Ryby i owoce morza	1 (0,2)	8 (1,6)	41 (8,0)	160 (31,1)	<b>228 (44,4)</b>	76 (14,8)
Mleko i przetwory mleczne	<b>215 (41,8)</b>	146 (28,4)	100 (19,5)	23 (4,5)	20 (3,9)	10 (1,9)
Sery	139 (27,0)	<b>186 (36,2)</b>	116 (22,6)	36 (7,0)	21 (4,1)	16 (3,1)

Ponad 40% badanych (N=210) nigdy nie spożywało bądź spożywało rzadziej niż raz w tygodniu mięso czerwone. Podobne wyniki uzyskano w przypadku ryb oraz owoców morza (59,2% N=304). Badani częściej wybierali mięso drobiowe – aż 45,1% (N=232) spożywało je 2-3 razy w tygodniu. Mleko i przetwory mleczne – z wyszczególnieniem serów – były spożywane najczęściej codziennie bądź 4-6 razy w tygodniu.

Spożycie błonnika pokarmowego na poziomie akceptowalnym odnotowano zaledwie wśród 169 badanych (32,9%). W Tab.4 zaprezentowano częstotliwość spożycia produktów wyszczególnionych w kwestionariuszu BSQFVF.

Zaledwie 31,7% (N=163) badanych spożywało owoce codziennie. Odsetek osób spożywających warzywa oraz surówki codziennie był jeszcze niższy i wynosił odpowiednio 9,7% (N=50) oraz 9,9% (N=51). Prawie połowa badanych (49,6% N=255) rośliny strączkowe spożywała rzadziej niż raz w tygodniu. Produkty tj. otręby, kasze, płatki czy pełnoziarniste pieczywo najczęściej

były spożywane przez badanych 1-3 razy w tygodniu. Z kolei jasne pieczywo, badani spożywali najczęściej 4-6 razy w tygodniu (N=146 28,4%).

Najczęstsza deklarowana częstotliwość spożycia olejów roślinnych była na poziomie czasem, a masła na poziomie bardzo często (Tab.5).

Tylko 11,1% (N=57) badanych oleje roślinne spożywało bardzo często, gdzie w przypadku masła było to 34,2% (N=176) badanych. Masło było produktem częściej spożywanym przez badanych, jednak było ono również częściej wykluczane z diety (N=37 7,2%) niż oleje roślinne (N=19 3,7%).

Spożycie wybranych produktów wysokoprzetworzonych najczęściej było na poziomie rzadziej niż raz w tygodniu (Tab.6).

**Tab. 4.** Częstotliwość spożycia warzyw, owoców oraz wybranych źródeł błonnika pokarmowego.

	codziennie N (%)	4-6×w tyg N (%)	2-3×w tyg N (%)	raz w tyg N (%)	rzadziej niż raz w tyg N (%)
Soki	58 (11,3)	84 (16,3)	125 (24,3)	90 (17,5)	<b>157 (30,5)</b>
Owoce	<b>163 (31,7)</b>	154 (30,0)	123 (23,9)	53 (10,3)	21 (4,1)
Surówki	51 (9,9)	119 (23,2)	<b>180 (35,0)</b>	78 (15,2)	86 (16,7)
Ziemniaki	50 (9,7)	172 (33,5)	<b>210 (40,9)</b>	55 (10,7)	27 (5,3)
Rośliny strączkowe	8 (1,6)	24 (4,7)	88 (17,1)	139 (27,0)	<b>255 (49,6)</b>
Warzywa (poza surowymi)	50 (9,7)	97 (18,9)	<b>171 (33,3)</b>	109 (21,2)	87 (16,9)
Otręby, płatki, kasze	33 (6,4)	73 (14,2)	<b>140 (27,2)</b>	<b>141 (27,4)</b>	127 (24,7)
Pełnoziarniste pieczywo	93 (18,1)	111 (21,6)	<b>130 (25,3)</b>	71 (13,8)	109 (21,2)
Jasne pieczywo	124 (24,1)	<b>146 (28,4)</b>	129 (25,1)	59 (11,5)	56 (10,9)

**Tab. 5.** Zestawienie częstotliwości spożycia masła oraz olejów roślinnych.

	bardzo często N (%)	często N (%)	czasem N (%)	rzadko N (%)	nigdy N (%)
Masło	<b>176 (34,2)</b>	149 (29,0)	84 (16,3)	68 (13,2)	37 (7,2)
Oliwa z oliwek/olej	57 (11,1)	158 (30,7)	<b>173 (33,7)</b>	107 (20,8)	19 (3,7)

**Tab. 6.** Częstotliwość spożycia wybranych produktów wysokoprzetworzonych.

	codz. N (%)	4-6×w tyg N (%)	2-3×w tyg N (%)	raz w tyg N (%)	rzad. niż raz w tyg N (%)	nigdy N (%)
Batony i in.	43 (8,4)	102 (19,8)	<b>172 (33,5)</b>	84 (16,3)	89 (17,3)	24 (4,7)
Ciasta i in.	13 (2,5)	33 (6,4)	115 (22,4)	150 (29,2)	<b>177 (34,4)</b>	26 (5,1)
Słone przekąski	5 (1,0)	19 (3,7)	79 (15,4)	147 (28,6)	<b>233 (45,4)</b>	31 (6,0)
Płatki śniadaniowe	21 (4,1)	31 (6,0)	79 (15,4)	66 (12,8)	<b>173 (33,7)</b>	144 (28,0)
Lody	3 (0,6)	10 (1,9)	44 (8,6)	97 (18,9)	<b>325 (63,2)</b>	35 (6,8)
Przetwory mięsne	71 (13,8)	103 (20,0)	<b>138 (26,8)</b>	83 (16,1)	65 (12,6)	54 (10,5)
Dania typu fast-food	1 (0,2)	4 (0,8)	32 (6,2)	113 (22,0)	<b>338 (65,8)</b>	26 (5,1)

## Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

	codz. N (%)	4-6×w tyg N (%)	2-3×w tyg N (%)	raz w tyg N (%)	rzad. niż raz w tyg N (%)	nigdy N (%)
Dania typu instant	2 (0,4)	2 (0,4)	20 (3,9)	28 (5,4)	222 (43,2)	<b>240 (46,7)</b>
Frytki	4 (0,4)	7 (1,4)	25 (4,9)	91 (17,7)	<b>342 (66,5)</b>	47 (9,1)
Napoje gazowane	15 (2,9)	25 (4,9)	80 (15,6)	86 (16,7)	<b>182 (35,4)</b>	126 (24,5)
Energetyki	9 (1,8)	6 (1,2)	21 (4,1)	20 (3,9)	100 (19,5)	<b>358 (69,6)</b>

Batony i in. – cukierki, żelki; ciasta i in. – ciastka, pączki

Do najczęściej spożywanym produktów wysokoprzetworzonych należały batony, cukierki i żelki oraz przetwory mięsne (2-3 razy w tygodniu). Najrzadziej spożywanymi produktami były dania typu instant, które aż 46,7% badanych (N=240) wykluczyło z diety. Większość badanych – 69,6% (N=358) - wykluczało również napoje energetyzujące. Odnotowano również ograniczone spożycie dan typu fast food, frytek, słonych przekąsek, lodów, ciast, płatków śniadaniowych oraz gazowanych napojów (rzadziej niż raz w tygodniu).

#### 4. Dyskusja

Podczas V Narodowego Kongresu Żywnościowego w 2020 roku po raz pierwszy został zaprezentowany Talerz zdrowego żywienia, czyli praktyczne narzędzie służące do propagowania właściwych zaleceń żywieniowych (Wolnicka 2020). Badanie własne wykazało, iż sposób żywienia młodzieży nie zawsze jest zgodny z tymi zaleceniami. Pierwszym z zauważonych błędów było niedostateczne spożycie warzyw i owoców - jedynie 31,7% badanych (N=163) owoce spożywało codziennie, a warzywa bądź surówki 19,6% (N=101). Analiza badań przeprowadzonych w Europie, Ameryce Północnej i Oceanii potwierdza niewystarczającą ilość warzyw i owoców w diecie adolescentów (Rosi i in. 2019). Nieprawidłowość ta jest niepokojąca, nie tylko ze względu na znaczący udział warzyw i owoców w zaspokojeniu zapotrzebowania na witaminy i składniki mineralne, ale również ich pozytywny wpływ na zdrowie psychiczne młodzieży. Wysokie spożycie warzyw i owoców jest związane z wyższym poczuciem własnej skuteczności oraz optymizmu, a także niższym ryzykiem wystąpienia depresji czy mniejszym poziomem odczuwanego stresu psychologicznego (Głabska i in. 2020). Drugim zauważonym błędem było pomijanie śniadań - jedynie połowa badanych spożywała je codziennie. Problem ten został udokumentowany również przez innych badaczy (Kiciak i in. 2014; Wolańska 2011). Spożywanie śniadania w tej grupie osób jest niezmiernie ważne ze względu na jego wpływ na poprawę funkcji poznawczych czy minimalizację ryzyka wystąpienia otyłości (Ma i in. 2020), która staje się coraz to poważniejszym problemem wśród młodych osób (Wolańska 2011). Wspomniane niskie spożycie warzyw i owoców również może być faktorem przyczyniającym się do rozwoju otyłości (Schwingshackl i in. 2015).

Kolejną odnotowaną kwestią jest zbyt niskie spożycie pełnoziarnistego pieczywa, otrąb, kasz i płatków przez młodzież, co bezpośrednio przełożyło się na wysoki odsetek osób spożywających niewystarczającą ilość błonnika pokarmowego (67,1% N=345). Młodzi ludzie wybierając produkty zbożowe, kierują się walorami smakowymi (Sykut-Domańska i in. 2016), co może wyjaśniać wyższą częstotliwość spożycia jasnego pieczywa odnotowaną w niniejszym badaniu. Zapotrzebowanie na wodę w badanej grupie wiekowej wynosi odpowiednio 2l i 2,5l dla dziewcząt i chłopców (Jarosz i in. 2020). Biorąc pod uwagę fakt, iż 31,9% badanych (N=164) wypijało dziennie 1l wody i mniej, można wnioskować o niewystarczającym spożyciu wody przez część uczniów. Prawie 1/3 badanych (30,9% N=159) posiłki spożywała nieregularnie, co pokrywa się z wynikami innych badań (Humeniuk i in. 2018; Decyk-Chęcel 2017; Wolańska 2011).

Rośliny strączkowe są cennym źródłem białka roślinnego w diecie, zalecanym nawet jako zamiennik mięsa czerwonego i przetworów mięsnych (Wolnicka 2020), jednak pomimo tego ich spożycie jest na niewielkim poziomie – jedynie 27,0% (N=139) spożywało je raz w tygodniu. Zaobserwowano również niewielkie spożycie ryb – ponad połowa badanych spożywała je rzadziej niż raz w tygodniu bądź nigdy, gdzie rekomendacja dotyczy spożycia 1-2 razy w tygodniu. Podobną

obserwację odnotowano w poprzednich latach (Szczepańska i in. 2014; Wolańska 2011). Niewystarczające spożycie ryb może przyczynić się do niedoboru kwasów omega-3, co z kolei może skutkować pogorszeniem funkcji układu nerwowego (Decyk-Chęcel 2017). W przypadku mleka i przetworów mlecznych codzienne spożycie odnotowano zaledwie w przypadku 41,8% badanych (N=215). Inni badacze również odnotowali zbyt niskie spożycie nabiału wśród młodzieży (Humeniuk i in. 2018; Szczepańska i in. 2014; Wolańska 2011). Mleko i jego przetwory stanowią cenne źródło wapnia, a jego odpowiednia podaż jest niezwykle istotna w okresie dojrzewania, chociażby ze względu na jego rolę w osiągnięciu szczytowej mineralizacji kości (Jarosz i in. 2020).

Jednak niektóre zachowania żywieniowe młodzieży były zgodne z powszechnymi zaleceniami (Wolnicka 2020). Dotyczy to m.in. ilości posiłków w ciągu dnia, która podobnie jak w innych badaniach (Kiciak i in. 2014) wynosiła 4-5. Badani ograniczali również spożycie mięsa czerwonego – ponad 60% osób (N=310) spożywało je raz w tygodniu i rzadziej. Ograniczeniu podlegały również dania typu fast food oraz instant – odpowiednio 70,9% (N=364) i 89,9% (N=462) badanych spożywało je rzadziej niż raz w tygodniu bądź nigdy. Podobny wynik uzyskała Szczepańska i in. 2014 wśród badanych licealistów - okazjonalne spożycie dań typu fast food zanotowano wśród 64,3% (N=275) z nich, a wykluczenie bądź okazjonalne spożycie dań typu instant odnotowano wśród 86,7% badanych (N=371). Badania prowadzone na skalę krajową wykazały, iż młodzież dania typu fast food oraz frytki spożywa najczęściej 1-3 razy w miesiącu (Stoś i in. 2021). Z kolei spożycie słonych przekąsek w badaniu własnym (rzadziej niż raz w tygodniu) było niższe niż w badaniu krajowym (2-3 razy w tygodniu). Badani częściej spożywali słodkie przekąski tj. batony, cukierki, żelki – 2-3 razy w tygodniu.

W celu zmniejszenia częstotliwości spożycia wysokoprzetworzonych produktów przez uczniów konieczna jest edukacja żywieniowa mająca na celu korekcję popełnianych błędów żywieniowych. Wzrost spożycia błonnika, warzyw czy nabiału może przyczynić się do wzrostu odczucia sytości. Z kolei zwiększenie ilości wypijanej wody może wyeliminować mylne wrażenie odczucia głodu spowodowane pragnieniem. Regularne spożywanie posiłków – w tym śniadań – może przyczynić się do ustabilizowanego poziomu glukozy we krwi, co może zredukować chęć sięgania po produkty bogate w cukry proste (np. słodczyce). W wyniku tych działań można skutecznie obniżyć spożycie produktów wysokoprzetworzonych. Z punktu widzenia psychodietetycznego, im bardziej zakazany jest dany produkt czy potrawa, tym większe stanowi ryzyko częstszego spożywania. Wiek dojrzewania nie bez powodu jest nazywany okresem buntu. Stosowanie zakazów żywieniowych w grupie młodzieży, najprawdopodobniej okaże się nieskuteczne, w związku z czym edukacja żywieniowa prowadzona w tej grupie wiekowej być może powinna zostać ukierunkowana na wzmacnianie nawyków prozdrowotnych, a nie całkowitą eliminację tych niepożądanych.

## **5. Wnioski**

Przeprowadzone badanie wykazało obecność błędów żywieniowych tj. zbyt niską podaż produktów będących źródłem błonnika pokarmowego, zbyt niskie spożycie ryb, pomijanie śniadań oraz nieregularność spożywanych posiłków w diecie młodzieży. Pozytywnym aspektem sposobu żywienia młodzieży było ograniczenie spożycia mięsa czerwonego oraz dań typu instant. Istnieje potrzeba propagowania właściwych nawyków żywieniowych w grupie adolescentów.

## **6. Literatura**

- Bielawska A, Tomczyk K, Roszak-Łabuz B (2019) Wpływ wybranych trendów dietetycznych na sposób odżywiania młodzieży licealnej. *Wiad Lek* 72(9): 1740-1746
- Czarnocińska J, Jeżewska-Zychowicz M, Babicz-Zielińska E i in. (2013) Postawy względem żywności, żywienia i zdrowia a zachowania żywieniowe dziewcząt i młodych kobiet w Polsce. Wydawnictwo UWM
- Decyk-Chęcel A (2017) Zwyczaje żywieniowe dzieci i młodzieży. *Probl Hig Epidemiol* 98(2): 103-109

- Domaradzki P, Teter A, Kowalczyk M i in. (2021) Rola i znaczenie programów edukacji żywieniowej kierowanych do dzieci i młodzieży szkolnej. WUP Lublin: Wybrane zagadnienia z zakresu bromatologii 7-14
- Głąbska D, Guzek D, Groele B et al. (2020) Fruit and vegetables intake in adolescents and mental health: A Systematic Review. *Rocz Panstw Zakl Hig* 71(1):15-25
- Humeniuk, E, Dąbska O, Pawlikowska-Łagód K i in. (2018) Ocena wybranych zachowań zdrowotnych młodzieży z terenu Polski Środkowo-Wschodniej. *Rozprawy Społeczne* 12(2): 3-81
- Jarosz M, Rychlik E, Stoś K i in. (2020) Normy żywienia dla populacji Polski i ich zastosowanie. NIZP-PZH
- Kiciak A, Całyński B, Grochowska-Niedworok E i in. (2014) Zachowania żywieniowe młodzieży z województwa śląskiego. *Med Og Nauk Zdr* 20(3): 296-300
- Ma X, Chen Q, Pu Y et al. (2020) Skipping breakfast is associated with overweight and obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obes Res Clin Pract* 14(1): 1-8
- Mikulec A, Zborowski M, Cisoń-Apanasewicz U i in. (2022) Wpływ pandemii COVID-19 na zachowania żywieniowe dzieci i młodzieży. *ŻNTJ* 29, 3(132): 42-55
- Rosi A, Paoletta G, Biasini B et al. (2019) Dietary habits of adolescents living in North America, Europe or Oceania: A review on fruit, vegetable and legume consumption, sodium intake, and adherence to the Mediterranean Diet. *NMCD* 29(6): 544-560
- Schwingshackl L, Hoffman G, Kalle-Uhlmann T et al. (2015) Fruit and Vegetable Consumption and Changes in Anthropometric Variables in Adult Populations: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PloS One* 10(10): e0140846
- Stoś K, Rychlik E, Woźniak A i in. (2021) Krajowe badanie sposobu żywienia i stanu odżywienia populacji polskiej. NIZP-PZH
- Sykut-Domańska E, Rzedzicki Z, Dorosz A i in. (2016) Badania zachowań żywieniowych uczniów i studentów województwa lubelskiego w zakresie produktów zbożowych. *Bromat Chem Toksykol* 49(3): 632-640
- Szczańska E, Szeja N, Szymkiewicz A et al. (2014) Eating behaviours of middle-and secondary-school pupils from the Upper Silesian Region in Poland. *Rocz Panstw Zakl Hig* 65(4): 337-344
- WHO (2000) Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO consultation. World Health Organization.
- Wolańska D (2011) Ocena sposobu żywienia młodzieży w wieku 13-15 lat z terenów wiejskich w aspekcie zagrożenia chorobami żywieniowo zależnymi w wieku dorosłym. *Gastroenterol Pol* 18(4): 141-146
- Wolnicka K (2020) Talerz zdrowego żywienia. NCEZ <https://ncez.pzh.gov.pl/abc-zywienia/talerz-zdrowego-zywienia/>

## **5. Mikrobiom jelitowy - związek ze skutecznością i toksycznością immunoterapii nowotworów z użyciem komórek CAR-T**

Gut microbiome – connections to efficacy and toxicity of cancer immunotherapy using CAR-T

Magdziak Jakub, Zegarska Paulina, Gromadzka Grażyna

Wydział Medyczny. Collegium Medicum, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego

Opiekun naukowy: Prof. dr hab. n. med. i n. zdr. Grażyna Gromadzka

Jakub Magdziak: jakub.magdziak@student.uksw.edu.pl

Słowa kluczowe: krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, oś jelita-mózg, błonnik, antybiotyki, probiotyki

### **Streszczenie**

Terapia wykorzystująca chimeryczne limfocyty T, zmodyfikowane genetycznie w celu wzmocnienia ich aktywności przeciwnowotworowej (CAR-T) zrewolucjonizowała leczenie nowotworów, w tym ostrej białaczki limfoblastycznej i chłoniaka rozlanego z dużych komórek B.

Mimo wysokiego odsetka remisji klinicznych, nawrót choroby w postaci komórek białaczkowych, niewykazujących ekspresji CD19, będącego punktem uchwytu terapii, jest poważnym problemem. Towarzyszą temu działania niepożądane: zespół uwalniania cytokin (CRS) i zespół neurotoksyczności związanej z komórkami efektorowymi układu odpornościowego (ICANS). Sugeruje się, że głównym modulatorem odpowiedzi na immunoterapię jest mikrobiota komensalna jelit.

Dysbioza jelitowa może być związana z chorobą nowotworową - w jednym z badań u pacjentów przed terapią CAR-T obniżony był indeks Shanona-Wienera, w porównaniu do mikrobioty grupy kontrolnej. Udowodniono, że zmniejszona liczebność *Bifidobacteria* związana jest z rozwojem CRS po leczeniu CAR-T, zaś większa liczebność *Ruminococcus*, *Bacteroides* i *Faecalibacterium* związana jest z lepszą odpowiedzią na terapię, co może być spowodowane wydzielaniem przez bakterie metabolitów, wpływających na komórki CAR-T i wzmocnienie ich aktywności przeciwnowotworowej. W badaniach wielośrodkowych wykazano, że stosowanie ATB szerokospektralnej koreluje ze zwiększoną toksycznością terapii CAR-T, niższą całkowitą przeżywalnością i przeżywalnością bez progresji.

Stosowanie ATB prowadzi do dysbiozy jelitowej i powoduje wzrost ryzyka CRS i ICANS podczas leczenia CAR-T. Modulacja struktury gatunkowej mikrobioty może mieć pozytywny wpływ na odpowiedź na CAR-T.

### **1. Wstęp**

Mikrobiom jelitowy to różnorodny i złożony ekosystem mikroorganizmów żyjących w przewodzie pokarmowym, odgrywający kluczową rolę w utrzymaniu zdrowia człowieka i modulowaniu chorób. Mikroorganizmy nawiązują symbiotyczną relację z gospodarzem, wpływając na szeroki wachlarz procesów fizjologicznych m.in.: metabolizm, odpowiedź immunologiczną organizmu, a nawet zdrowie psychiczne. W obszarze terapii przeciwnowotworowych wpływ mikrobiomu jelitowego jest coraz szerzej rozpoznawany, zwłaszcza w odniesieniu do jego wpływu na skuteczność i toksyczność terapii immunologicznych, takich jak terapia komórkami CAR-T (ang. Chimeric Antigen Receptor - T).

#### **1.1 Pierwsza generacja komórek CAR-T**

Pierwsze CAR-T posiadały pojedynczą domenę sygnalizacyjną CD3 $\zeta$ , pochodzącą z TCR (ang. T-Cell Receptor). Modyfikacja ta umożliwiła limfocytom T rozpoznanie i wiązanie się z określonymi antygenami na komórkach nowotworowych oraz inicjację odpowiedzi immunologicznej. Jednak brak sygnałów kostymulacyjnych, które są kluczowe dla pełnej aktywacji



komórek T i utrzymania odpowiedzi, ograniczał kliniczną skuteczność tych komórek. Komórki CAR-T pierwszej generacji często wykazywały szybki spadek funkcji i niewystarczającą żywotność *in vivo*, co ograniczało ich potencjał terapeutyczny (Johnson 2022)

### 1.2 Druga generacja komórek CAR-T

Pojawienie się komórek CAR-T drugiej generacji doprowadziło do znaczącego postępu w zakresie ich skuteczności terapeutycznej. Dzięki narzędziom biologii molekularnej nowe CAR-T zawierały dodatkowe domeny kostymulacyjne, takie jak CD28 lub 4-1BB, obok domeny sygnalizacyjnej CD3 $\zeta$ . Umożliwienie uruchomienia sygnałów kostymulacyjnych było kluczowe w zwiększeniu aktywacji, proliferacji i przeżywalności komórek T. Badania kliniczne wykazały większą skuteczność komórek CAR-T drugiej generacji w leczeniu nowotworów z komórek B, takich jak ostra białaczka limfoblastyczna (ang. Acute Lymphoblastic Leukemia - ALL) i chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (ang. Diffuse large B-cell lymphoma - DLBCL) (Brown i in. 2022; Shah i in. 2019)

### 1.3 Trzecia generacja komórek CAR-T

Komórki CAR-T trzeciej generacji zintegrowały wiele domen kostymulacyjnych w endodome. Stworzone kombinacje obejmowały CD3 $\zeta$ -CD28-4-1BB lub CD3 $\zeta$ -CD28-OX40, które umożliwiały wytworzenie silnych sygnałów do aktywacji i proliferacji. Umożliwiło to dalsze zwiększenie skuteczności i przeżywalności komórek CAR-T. Mimo że, badania przedkliniczne wykazały obiecujące wyniki z poprawioną skutecznością przeciwnowotworową, przełożenie ich na sukces kliniczny napotkał na liczne wyzwania, związane ze zwiększoną toksycznością (Lee i in. 2023; Zheng i in. 2023).

### 1.4 Czwarta generacja komórek CAR-T

Czwarta generacja komórek CAR-T, znanych TRUCKami (ang. T cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing), reprezentują najnowszą innowację w terapii komórkami CAR-T. TRUCKi posiadają kasyety genowe, które umożliwiają konstytutywne wydzielanie cytokin i innych cząsteczek kostymulujących odpowiedź immunologiczną. Dzięki takiemu rozwiązaniu TRUCKi nie tylko są bezpośrednio skierowane przeciwko komórkom nowotworowym, ale także są w stanie modulować otaczające je mikrośrodowisko, aby uzyskać trwałą i silną odpowiedź przeciwnowotworową. TRUCKi okazały się wyjątkowo przydatne w terapii trudnych do leczenia nowotworów litych (Yiqian i in. 2022).

## 2. Opis zagadnienia

Pomimo sukcesu terapii komórkami CAR-T w leczeniu nowotworów hematologicznych, jej skuteczność i bezpieczeństwo mogą być w olbrzymiej mierze modulowane przez mikrobiom jelitowy. Niniejszy przegląd bada, w jaki sposób mikrobiom jelitowy moduluje wyniki terapii komórkami CAR-T oraz omawia potencjalne strategie wykorzystania tego związku w celu poprawy skuteczności terapeutycznej i bezpieczeństwa.

Skład i różnorodność mikrobiomu jelitowego mogą wpływać na systemową odpowiedź immunologiczną, stan zapalny i metabolizm substancji terapeutycznych. Mikrobiom jelitowy może być kluczowym czynnikiem w optymalizacji wyników terapii komórkami CAR-T. Najnowsze badania sugerują, że mikrobiom jelitowy może wpływać na skuteczność terapii komórkami CAR-T. Określone gatunki drobnoustrojów są związane z lepszą ekspansją, przeżywalnością i ogólną skutecznością terapeutyczną komórek CAR-T.

## 3. Przegląd literatury

### 3.1 Bioróżnorodność i ATB

W badaniu Niemiecko-Amerykańskim (Stein-Thoeringer i in. 2023) przeanalizowano wpływ wcześniejszego leczenia antybiotykami na wyniki terapii CAR-T skierowanej przeciwko antygenowi CD19 u pacjentów z nawrotowym lub opornym na leczenie chłoniakiem. W badaniu uwzględniono 172 pacjentów z Niemiec (n=66) i USA (n=106). Przed terapią CAR-T, pacjenci

przeszli średnio trzy linie leczenia systemowego. Ekspozycja na antybiotyki w okresie trzech tygodni przed infuzją CAR-T wiązała się z istotnie niższymi wartościami wskaźników: czasu wolnego od progresji (ang. Progression Free Survival, PFS) i czasu przeżycia całkowitego (ang. Overall Survival, OS). Pacjenci, którzy otrzymali antybiotyki szerokospektralne (zarówno w USA, jak i w Niemczech), mieli wyższe ryzyko progresji choroby oraz gorsze wskaźniki przeżycia. Antybiotykami, związanymi z osłabioną odpowiedzią na terapię CAR-T, były: meropen, cefepim, ceftazydim, piperacylinę piperacylina z tazobaktamem. Większe obciążenie nowotworem, stan zapalny i mniejsza liczba limfocytów T były istotnymi czynnikami, które również wpływały na skuteczność terapii CAR-T. W celu oceny wpływu mikrobiomu jelitowego na skuteczność terapii CAR-T pobrano 351 próbek stolca od 116 ze 172 pacjentów w pięciu centrach terapii komórkami CAR-T. Rozkład gatunkowy bakterii oraz obfitość szlaków metabolicznych i zawartość genów mikrobiomu analizowano metodą sekwencjonowania metagenomowego. Próbki pochodziły z okresu od 62 dni przed do 208 dni po infuzji CAR-T. Stwierdzono, że stosowanie antybiotyków wysokiego ryzyka związane było ze znacznym zmniejszeniem różnorodności mikrobiologicznej. Różnorodność alfa na początku badania nie była związana z odpowiedzią na terapię CAR-T ani z progresją choroby po 180 dniach od infuzji, niezależnie od stosowania antybiotyków. Analiza różnorodności beta wykazała, że kraj pochodzenia pacjenta (Niemcy vs. USA), zaawansowanie choroby, liczba wcześniejszych terapii chłoniaka i ekspozycja na antybiotyki wysokiego ryzyka były znaczącymi czynnikami wpływającymi na skład mikrobiomu przed infuzją CAR-T.

U pacjentów, którzy nie byli narażeni na antybiotyki wysokiego ryzyka, w mikrobiomie jelit dominowały bakterie takie jak *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* i *Eubacterium spp.*, natomiast u chorych narażonych na antybiotyki wysokiego ryzyka przeważały gatunki takie jak *Prevotella*, *Veillonella* i *Enterococcus spp.* W mikrobiomach pacjentów narażonych na antybiotyki wysokiego ryzyka dominowały szlaki metaboliczne związane z biosyntezą peptydoglikanu oraz degradacją laktozy i galaktozy. Wykazano, że pacjenci z bioróżnorodnym mikrobiomem jelitowym częściej wykazują lepszą odpowiedź kliniczną na terapię komórkami CAR-T w porównaniu z osobami z dysbiozą. Rozrost *Akkermansia muciniphila* i *Ruminococcus lactaris* powiązany został z wyższym prawdopodobieństwem PFS (Progression Free Survival). Jednocześnie rozrost *Bacteroides stercoris* stanowił negatywny czynnik PFS.

### 3.2 Metabolity

Mikrobiom jelitowy może modulować systemową odpowiedź immunologiczną, która jest kluczowa dla optymalnej funkcji komórek CAR-T. Niektóre bakterie jelitowe produkują metabolity, takie jak krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA), które wzmacniają aktywację i proliferację komórek T. Badanie Browna (2022) dowodzi, że krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. Short Chain-Fatty Acids, SCFA), produkowane przez bakterie jelitowe podczas fermentacji błonnika pokarmowego, wpływają na aktywację limfocytów T. SCFA działają jako cząsteczki sygnalizacyjne, które modulują ekspresję genów, modyfikacje epigenetyczne i interakcje receptorowe na limfocytach (Brown i in. 2022). Regulacja ta odgrywa kluczową rolę w odpowiedzi immunologicznej, potencjalnie wpływając na ryzyko chorób autoimmunologicznych czy alergii. Badacze koncentrują się na szerszych implikacjach metabolitów bakterii wchodzących w skład mikrobiomu dla regulacji immunologicznej i stanów zapalnych. Wykazano znaczenie SCFA jako ważnych regulatorów funkcji układu odpornościowego, szczególnie w kontekście komórek CD8<sup>+</sup> T (Luu i in. 2021). SCFA zwiększają proliferację i przeżywalność komórek CD8<sup>+</sup> T oraz promują różnicowanie limfocytów B w kierunku komórek pamięci, które są kluczowe dla długotrwałej odpowiedzi przeciwnowotworowej (Luu i in. 2021). W modelach zwierzęcych immunoterapii adoptywnej, komórki CD8<sup>+</sup> T preinkubowane z SCFA wykazywały lepszą kontrolę wzrostu guza i wyższą przeżywalność zwierząt (Luu i in. 2021). Wyniki badań sugerują, że SCFA mogą być wykorzystane do poprawy skuteczności immunoterapii nowotworowej, co otwiera nowe możliwości terapeutyczne w leczeniu raka. Manipulacja mikrobiomem w celu zwiększenia produkcji SCFA może stać się ważnym elementem strategii leczenia nowotworów w przyszłości.

### 3.3 Bezpieczeństwo i toksyczność

Mechanizmy toksyczności, związanej z terapią CAR-T, nie zostały jeszcze w pełni wyjaśnione. Kluczowe czynniki obejmują intensywną aktywację i proliferację komórek CAR-T po

napotkaniu swoistych antygenów docelowych, dysregulację produkcji cytokin oraz następcze ogólnoustrojowe zapalenie (Abid i in. 2019). Skomplikowany wpływ czynników związanych z pacjentem (np. obciążenie chorobą, stan układu odpornościowego) i związanych z terapią (np. dawka komórek CAR-T, ich trwałość) dodatkowo wpływa na nasilenie i manifestację efektów toksycznych (Teachey i in. 2016). Toksyczność związana z terapią komórkami CAR-T, szczególnie CRS i neurotoksyczność, stanowi istotne wyzwanie kliniczne. Mikrobiom jelitowy może odgrywać rolę w modulowaniu tych działań niepożądanych. Wykazano, że określone profile mikrobiomu jelitowego są związane z wyższym ryzykiem ciężkich CRS i neurotoksyczności. Zrozumienie tych zależności może prowadzić do opracowania strategii ukierunkowanych na mikrobiom w celu zmniejszenia toksyczności terapii komórkami CAR-T.

### 3.4 Probiotyki i prebiotyki

Jedną z obiecujących strategii interwencyjnych, zmniejszających toksyczność i poprawiających efektywność terapii CAR-T, jest stosowanie probiotyków (żywych mikroorganizmów, które przynoszą korzyści zdrowotne) i prebiotyków (substraty, które są selektywnie wykorzystywane przez mikroorganizmy gospodarza) (Rodriguez-Arrastia i in. 2021). Włączenie specyficznych probiotyków i prebiotyków może modulować mikrobiom jelitowy w kierunku bardziej korzystnych społeczności drobnoustrojów, wspierając odpowiedź immunologiczną i poprawiając skuteczność terapii komórkami CAR-T. Probiotyki to żywe mikroorganizmy, głównie bakterie, ale także niektóre drożdże, które przynoszą korzyści zdrowotne, gdy są spożywane w odpowiednich ilościach (Hill i in. 2014). Do powszechnie stosowanych szczepów probiotycznych należą *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, które zostały szeroko zbadane pod kątem ich roli w wspieraniu zdrowia układu pokarmowego i funkcji układu odpornościowego (Hill i in. 2018). W kontekście terapii przeciwnowotworowej, w tym terapii CAR-T, odnotowano wpływ probiotyków na złagodzenie działań niepożądanych związanych z leczeniem, takich jak biegunka i dyskomfort żołądkowo-jelitowy (Rodriguez-Arrastia i in. 2021).

### 3.5 Przeszczepienie mikrobioty jelitowej

Przeszczypty mikrobioty kałowej (ang. Fecal Matter Transplant - FMT) stanowią obiecujące strategie postępowania wspomagającego terapię przeciwnowotworowe. W analizie roli FMT w leczeniu nowotworów i wpływu FMT na zdrowie układu pokarmowego oraz funkcje układu odpornościowego wykazano, że FMT może przywracać różnorodność mikrobioty zakłóconą przez terapię nowotworową, co potencjalnie prowadzi do zmniejszenia powikłań leczenia oraz poprawy wyników terapeutycznych u pacjentów (Chen i in. 2022). Inni autorzy ocenili czy przywracanie prawidłowego składu mikrobiomu może zwiększyć skuteczność immunoterapii poprzez modulowanie mikrośrodowiska guza i zwiększanie odpowiedzi na inhibitory podziału (Chen i in. 2024). Analizowane wyniki badań wskazują na istotne znaczenie mikrobiomu w kontekście jego wpływu na układ immunologiczny i zdolność organizmu do zwalczania nowotworów. Integracja tych podejść w praktyce klinicznej może prowadzić do rozwinięcia spersonalizowanych terapii, wykorzystujących synergiczne relacje między mikrobiotą, a układem immunologicznym w celu skutecznego zwalczania nowotworów. Dalsze badania i implementacja tych technologii mogą otworzyć nowe możliwości leczenia, poprawiając wyniki terapeutyczne i jakość życia pacjentów dotkniętych nowotworami.

### 3.6 Leczenie żywieniowe

Zgodnie z przeglądem (Zhao i in. 2020) "Wsparcie żywieniowe jest kluczowe na każdym etapie terapii komórkami CAR-T, aby zmniejszyć toksyczność związaną z leczeniem i zoptymalizować wyniki terapeutyczne pacjentów". Przed podaniem komórek CAR-T pacjenci często przechodzą agresywne schematy chemioterapeutyczne i limfodeplecję, co wpływa negatywnie na ich stan żywieniowy. Modyfikacje diety mogą być skuteczną strategią modulacji mikrobiomu jelitowego. W szczególności dieta bogata w błonnik pokarmowy, fermentowane produkty spożywcze i określone tłuszcze może promować zdrowy mikrobiom jelitowy, co może wzmocnić odpowiedź immunologiczną na terapię komórkami CAR-T (Feinberg i in. 2020)

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

Terapia komórkami CAR-T zrewolucjonizowała leczenie wielu nowotworów, oferując nowe możliwości dla pacjentów z ograniczonymi opcjami terapeutycznymi. Jednak skuteczność i bezpieczeństwo tej zaawansowanej terapii są znacząco modulowane przez mikrobiom jelitowy. Badania wskazują, że różnorodność flory bakterii jelitowych może znacząco wpływać na odpowiedź immunologiczną organizmu, a także na metabolizm substancji terapeutycznych. Zidentyfikowano gatunki bakterii jelitowych, powiązane z lepszymi wynikami terapeutycznymi komórek CAR-T, co sugeruje możliwość modulacji mikrobiomu jelitowego w celu zwiększenia skuteczności terapii i redukcji toksyczności, szczególnie w kontekście zespołu uwalniania cytokin i neurotoksyczności.

Przegląd literatury przedstawia różnorodne podejścia do zrozumienia zagadnienia wpływu mikrobiomu jelitowego, obejmujące m.in. badania nad antybiotykoterapią, metabolitami mikrobiotycznymi oraz potencjałem probiotyków, prebiotyków i przeszczepów mikrobioty jelitowej. Strategie te stanowią nowe perspektywy dla spersonalizowanych terapii przeciwnowotworowych, które wykorzystują synergiczne relacje między mikrobiotą jelitową, a układem immunologicznym.

Dalsze badania nad wykorzystaniem mikrobiomu jelitowego mogą prowadzić do opracowania innowacyjnych strategii klinicznych mających na celu poprawę wyników terapeutycznych i jakości życia pacjentów z nowotworami.

#### **5. Literatura**

- De Filippis F, Vitaglione P, Cuomo R et al. (2018) Dietary Interventions to Modulate the Gut Microbiome-How Far Away Are We From Precision Medicine. *Inflammatory Bowel Diseases* 24(10): 2142-2154.
- Feinberg BA, Purohit SN, Keller G, et al. (2020) Nutritional support during chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Supportive Care in Cancer* 28(11): 5307-5312.
- Lee HK (2023) Safety and Efficacy of Next-Generation CAR-T Cells, *Oncology Progress Reports* 31(4): 357-371.
- Chen D, Wu J, Jin D, et al. (2018) Fecal microbiota transplantation in cancer management: Current status and perspectives, *International Journal of Cancer* 148(8): 2021-2031.
- Hill C, Guarner F, Reid G, et. al. (2014) Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 11(8): 506-514.
- Hill C, Guarner F, Reid G, et. al. (2018) The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic., *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 11(8): 506-514.
- Shah NN, Fry TJ (2019) Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology* 16(6):372-385.
- Abid MB, Shah NN, Maatman TC, et al. (2019) Gut microbiome and CAR-T therapy. *Experimental Hematology and Oncology* 8(31).
- Brown LM (2022) CAR-T Cells for B-Cell Malignancies: Clinical Outcomes and Future Directions, *Clinical Cancer Insights* 35(6): 602-618.
- Luu M, Riester Z, Baldrich A, et. al. (2021) Microbial short-chain fatty acids modulate CD8+ T cell responses and improve adoptive immunotherapy for cancer. *Nature communications* 12(1): 4077.
- Zheng Z, Li S, Liu M et al. (2023) Fine-Tuning through Generations: Advances in Structure and Production of CAR-T Therapy. *Cancers* 15(13): 3476.
- Johnson PJ (2022) The Role of Co-Stimulatory Signals in CAR-T Cell Therapy. *Immunology Reviews* 29(2): 234-250.
- Kioui DE, Kouroutzidou AZ, Neanidis K, et al. (2023) The Role of the Gut Microbiome in Cancer Immunotherapy: Current Knowledge and Future Directions. *Cancers* 15(7): 2101.
- Parker EJ (2023) Microbiome Restoration and Immunotherapy. *Journal of Clinical Oncology* 35(3): 456-470.

- Yiqian W, Huang Z, Reed H, et al. (2022) Engineering CAR T cells for enhanced efficacy and safety. *APL Bioengineering* 6(1).
- Stein-Thoeringer CK, Saini NY, Zamir E, et al. (2023) A non-antibiotic-disrupted gut microbiome is associated with clinical responses to CD19-CAR-T cell cancer immunotherapy. *Nature medicine* 29(4): 906–916.
- Teachey DT, Rheingold SR, Maude SL, et al. (2016) Cytokine release syndrome after blinatumomab treatment related to abnormal macrophage activation and ameliorated with cytokine-directed therapy. *Blood* 127(22): 2981-2991.
- Rodriguez-Arrastia M, Martinez-Ortigosa A, Rueda-Ruzafa L, et al. (2021) Probiotic Supplements on Oncology Patients' Treatment-Related Side Effects: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18(8): 4265.
- Chen T, Wang M, Chen Y, et al. (2024) Current challenges and therapeutic advances of CAR-T cell therapy for solid tumors. *Cancer Cell International* 24(133).
- Zhao Z, Xiao Y (2020) Recent advances in the use of CAR-T cells in cancer therapy. *Current Hematologic Malignancy Reports* 15(4): 243-252.

## **6. PTSD a ciało - jak to wygląda u Polek i Polaków?**

PTSD and body - how it presents among Poles?

Michałowska Magdalena

Wydział Psychologii, Uniwersytet Warszawski

Opiekun naukowy: dr hab. Marcin Rzeszutek

Rzeszutek Marcin: marcin.rzeszutek@psych.uw.edu.pl

Słowa kluczowe: zespół stresu pourazowego, ucieleśnienie, ja cielesne, obraz ciała

### **Streszczenie**

Celem pracy było ukazanie związku pomiędzy występowaniem objawów zespołu stresu pourazowego, a poziomem ucieleśnienia wśród populacji polskiej. Badaniem objęto reprezentatywną próbę Polek i Polaków. Otrzymano istotne statystycznie ujemne korelacje pomiędzy wszystkimi wskaźnikami nasilenia objawów PTSD a wszystkimi wskaźnikami poczucia ucieleśnienia. Szukano także zależności pomiędzy konkretnymi objawami PTSD a ucieleśnieniem. Wykazano, że wyższy ogólny poziom ucieleśnienia będzie występować u osoby, która ma większe nasilenie intruzji. Co więcej, im większe nasilenie intruzji w stosunku do pozostałych towarzyszących jej objawów PTSD tym wyższy poziom ucieleśnienia.

### **1. Wstęp**

Od lat 50. XX wieku postęp w diagnozowaniu PTSD znacząco się rozwinął, prowadząc do precyzyjniejszych definicji traumatycznych zdarzeń i objawów. Obraz ciała, jako dynamiczny konstrukt, odgrywa kluczową rolę w naszym postrzeganiu siebie i może wpływać na zdrowie psychiczne. Ucieleśnienie, pojęcie rozwinięte przez Husserla, podkreśla znaczenie cielesnych interakcji w procesach poznawczych, które obejmują nie tylko mózg, ale także zmysły i otoczenie.

### **2. Materiał, metody i wyniki**

#### **2.1 Tło**

Powszechnie uznaje się, że stany stresu są powiązane są z aktywacją układu sympatycznego, wchodzącego w skład autonomicznego układu nerwowego. Jest to szereg reakcji od łagodnej aktywacji po reakcje ekstremalne: ucieczka, walka, zamarcie. Objawy aktywacji tego układu, to szybszy oddech, tętno, podwyższone ciśnienie krwi, rozszerzone źrenice, blada, zimna skóra czy wzmożone pocenie się. Takie objawy mogą się pojawić podczas faktycznego zdarzenia traumatycznego lub podczas retrospekcji. Stąd, według Rothschild (2017), w terapii traumy warto poświęcić uwagę zarówno umysłowi, ale też ciału. Oba bez siebie nie istnieją, a wydarzenie traumatyczne mogło zakłócić ich integrację. O ile umysł może w pełni nie pamiętać traumatycznego doświadczenia, pozostaje ono „zapisane” w ciele. Według Babbete Rothschild (2017) pacjenci z PTSD często prezentują wysoki poziom pobudzenia autonomicznego układu nerwowego, a celem terapii powinno być obniżenie jego pobudzenia, a następnie przejście do dotykania zdarzeń traumatycznych.

Istnieje także teoria, gdzie, według Joyce McDougall, trauma objawia się psychosomatycznie, tj. bólami czy brakiem poczucia ciała. Jest to opisywane jako wynik obronnego rozszczepienia ciała i umysłu w wyniku traumy. Poprzez reagowania takimi objawami, osoba może bronić cierpienia psychicznego. Usuwane są myśli, emocje, a na ich miejsce pojawiają się konkretne odczucia z ciała, które tak naprawdę informują o doświadczeniu psychicznym. W tym podejściu, gdzie również relacja między ciałem, a umysłem została zachwiana, terapia skupia się na nadawaniu znaczenia objawom z ciała, rozwijaniu umysłowego obrazu ciała i syntezy doświadczeń (McDougall 1989).

## 2.2 Cel badania i hipoteza

Celem badania było sprawdzenie powiązań między poziomem ucieleśnienia oraz występowaniem i nasileniem objawów zespołu stresu pourazowego. Wobec tego, sformułowano hipotezę, że istnieje negatywna korelacja pomiędzy aktualnym poziomem objawów PTSD, a poziomem ucieleśnienia wśród osób badanych. Kontrolowano przy tym dane socjodemograficzne. Celem badania było również sprawdzenie, czy, któryś z objawów PTSD lub ogólne nasilenie objawów PTSD będzie predyktorem pozytywnej relacji z ciałem.

## 2.3 Metoda

Badanie zostało przeprowadzone przez firmę zewnętrzną na próbie o wielkości 1598 osób. Były to osoby narodowości polskiej, dorosłe w wieku od 18 do 97 lat ( $M=48.78$ ;  $SD=20.50$ ). Liczba mężczyzn i kobiet niewiele różniła się między sobą. Najwięcej osób badanych było w wieku od 18 do 46 lat. Najczęściej wskazane miejsce zamieszkania to wieś, a poziom wykształcenia jako wyższy. Większość osób pozostawała w związku małżeńskim. Badanie odbywało się we wrześniu oraz październiku 2022 roku. Osoby badane otrzymały drogą internetową ankietę. Udział w badaniu był anonimowy i dobrowolny. Każda osoba badana wyraziła zgodę na udział w badaniu. Zostało ono zaakceptowane przez komisję etyki.

Do pomiaru nasilenia aktualnie występujących objawów stresu pourazowego użyto polskiej adaptacji Posttraumatic Diagnostic Scale-5 (PDS-5; Zawadzki i in. 2015). Jest to kwestionariusz składający się z 24 pozycji, które określają nasilenie symptomów zespołu stresu pourazowego w ostatnim miesiącu, odnosząc się do kryteriów opisanym w DSM-5. Pozycje w kwestionariuszu opierają się na samoopisie. Kwestionariusz PDS-5 zaczyna się listą doświadczeń życiowych, gdzie wymienione są wydarzenia uznawane za traumatyczne, a zadaniem osoby badanej jest zaznaczenie, czy z jakimś z nich się zetknęła. Następnie obecne jest 20 pytań, które badają nasilenie objawów PTSD na skali od 0 do 4. Pozostałe 4 pytania dotyczą cierpienia i utrudnienia funkcjonowania osoby badanej oraz wystąpienia i czasu trwania objawów.

Do oceny aktualnego poziomu ucieleśnienia wśród osób badanych użyto polskiej adaptacji Experience of Embodiment Scale (EES; Piran i in. 2020). Narzędzie to składa się z 4 podskal oceniających różne komponenty ucieleśnienia na skali od 1 do 5. Pozycje dotyczą m.in.: pozytywnego połączenia z ciałem i komfortu, funkcjonowania ciała, słuchania jego sygnałów, zachowań autoagresywnych czy wyrażania potrzeb.

## 2.4 Charakterystyka próby

W badaniu wzięło udział 1598 osób w wieku 18-97 lat ( $M=48,78$ ;  $SD=20,50$ ), 810 kobiet w wieku 18-96 lat ( $M=47,18$ ;  $SD=19,74$ ) i 788 mężczyzn w wieku 18-97 lat ( $M=50,42$ ;  $SD=21,14$ ). Badani pochodzili ze wsi (34,7% - najwięcej), jak i z małych, średnich oraz dużych miast. Najwięcej osób badanych mieszkało na wsi. W tabeli 2 przedstawiono rozkład poziomu wykształcenia osób badanych. Jeśli chodzi o poziom wykształcenia, w badaniu wzięły udział osoby z różnymi poziomami wykształcenia od podstawowego, przez zawodowe, średnie, niepełne wyższe i wyższe. Najwięcej było osób z wykształceniem wyższym (44,2%), niewiele mniej ze średnim (40,4%), a najmniej z podstawowym (2,4%). Przechodząc do stanu cywilnego osób badanych, najwięcej z nich było w związku małżeńskim (49,7%), a najmniej w separacji (1,1%).

## 2.5 Zależności pomiędzy nasileniem objawów PTSD a poczuciem ucieleśnienia

Wykonano statystyki opisowe dla analizowanych zmiennych przedziałowych, tj. wartości średnie, odchylenia standardowe, wartości minimalne i maksymalne. Zestawienie uzupełniono wartościami współczynników rzetelności pomiaru  $\alpha$  Cronbacha. Następnie wykonano korelacje. W Tab. 1 przedstawiono współczynniki korelacji  $r$  Pearsona pomiędzy wskaźnikami nasilenia objawów PTSD a wskaźnikami poczucia ucieleśnienia. Oznaczono korelacje istotne statystycznie.

Otrzymano istotne statystycznie ujemne korelacje pomiędzy wszystkimi wskaźnikami nasilenia objawów PTSD a wszystkimi wskaźnikami poczucia ucieleśnienia. Kolejnym etapem analizy było przeprowadzenie hierarchicznej analizy regresji, w której wskaźniki nasilenia objawów PTSD były analizowane jako predyktory wskaźników poczucia ucieleśnienia. W pierwszym bloku do modelu jako zmienne kontrolowane włączano płeć i wiek osób badanych. W drugim kroku

w oparciu o metodę krokową – wskaźniki nasilenia objawów PTSD. Każdy wskaźnik poczucia ucieleśnienia analizowano w odrębnym modelu. Ostateczne modele przedstawiono w Tab. 2.

**Tab. 1.** Współczynniki korelacji pomiędzy wskaźnikami nasilenia objawów PTSD a wskaźnikami poczucia ucieleśnienia.

Poczucie ucieleśnienia	Nasilenie objawów PTSD				Ogółem
	Intruzja	Unikanie	Zmiany nastroju i poznawcze	Pobudzenie i nadmierna aktywność	
Pozytywna relacja z ciałem	-0,163**	-0,213*	-0,303**	-0,278**	-0,272**
Nieobciążone dostosowanie	-0,397**	-0,398*	-0,487**	-0,466**	-0,486**
Poczucie funkcjonalności	-0,204**	-0,214*	-0,346**	-0,293**	-0,304**
Ekspresja seksualności	-0,207**	-0,225*	-0,295**	-0,268**	-0,279**
Dbanie o siebie	-0,327**	-0,337*	-0,451**	-0,432**	-0,436**
Opór przed uprzedmiotowieniem	-0,173**	-0,142*	-0,206**	-0,210**	-0,208**
Poczucie ucieleśnienia	-0,340**	-0,357*	-0,484**	-0,451**	-0,460**

\*\* p<0,01

**Tab. 2.** Wyniki analizy wskaźników nasilenia objawów PTSD w roli predyktorów wskaźników ucieleśnienia.

Zmienne wyjaśniane	Predyktory	Beta	t	p	R <sup>2</sup>
Pozytywna relacja z ciałem	Zmiany nastroju i poznawcze	-0,36	-5,48	0,001	0,09
	Intruzja	0,25	4,91	0,001	
	Pobudzenie i nadmierna aktywność	-0,13	-2,11	0,035	
Nieobciążone dostosowanie	Zmiany nastroju i poznawcze	-0,30	-5,57	0,001	0,20
	Pobudzenie i nadmierna aktywność	-0,18	-3,25	0,001	
Poczucie funkcjonalności	Zmiany nastroju i poznawcze	-0,47	-9,36	0,001	0,10
	Intruzja	0,20	4,13	0,001	
Ekspresja seksualności	Zmiany nastroju i poznawcze	-0,32	-10,08	0,001	0,10
	Dbanie o siebie	-0,32	-5,31	0,001	
Opór przed uprzedmiotowieniem	Pobudzenie i nadmierna aktywność	-0,19	-3,56	0,001	0,15
	Intruzja	0,13	2,75	0,006	
	Pobudzenie i nadmierna aktywność	-0,15	-4,64	0,001	
Poczucie ucieleśnienia	Zmiany nastroju i poznawcze	-0,42	-7,04	0,001	0,19
	Intruzja	0,17	3,59	0,001	
	Pobudzenie i nadmierna aktywność	-0,17	-3,10	0,002	

Beta – standaryzowany współczynnik regresji; t – wartość testu istotności statystycznej predyktora; p – istotność statystyczna; R<sup>2</sup> – współczynnik determinacji

Istotnymi statystycznie predyktorami pozytywnej relacji z ciałem były zmiany nastroju i zmiany poznawcze oraz intruzja. Wyjaśniały łącznie 8,8% wariacji pozytywnej relacji z ciałem. Istotnymi statystycznie predyktorami nieobciążonego dostosowania były zmiany nastroju i zmiany poznawcze oraz pobudzenie i nadmierna aktywność. Wyjaśniały łącznie 19,7% wariacji nieobciążonego dostosowania. Istotnymi statystycznie predyktorami poczucia funkcjonalności były zmiany nastroju i zmiany poznawcze oraz intruzja. Wyjaśniały łącznie 10,1% wariacji poczucia funkcjonalności. Istotnym statystycznie predyktorem ekspresji seksualności były zmiany nastroju i zmiany poznawcze. Wyjaśniały łącznie 9,5% wariacji ekspresji seksualności. Istotnymi statystycznie predyktorami dbania o siebie były zmiany nastroju i zmiany poznawcze, pobudzenie i nadmierna aktywność oraz intruzja. Wyjaśniały łącznie 14,6% wariacji dbania o siebie. Istotnym statystycznie predyktorem oporu przed uprzedmiotowieniem było pobudzenie i nadmierna aktywność. Wyjaśniało 2,0% wariacji oporu przed uprzedmiotowieniem. Istotnymi statystycznie predyktorami ogólnego poziomu ucieleśnienia były zmiany nastroju i zmiany poznawcze, intruzja oraz pobudzenie i nadmierna aktywność. Wyjaśniały łącznie 18,7% wariacji ogólnego poziomu ucieleśnienia. Zależności pomiędzy poszczególnymi wskaźnikami nasilenia objawów PTSD, a wskaźnikami poczucia ucieleśnienia były ujemne. Zwracają uwagę jednak otrzymane w ramach analizowanych modeli analizy regresji dodatnie zależności pomiędzy intruzją a pozytywną relacją z własnym ciałem, poczuciem funkcjonalności, dbaniem o siebie czy nawet ogólnym poczuciem ucieleśnienia. Te dodatnie zależności otrzymano pomimo stwierdzonych wcześniej ujemnych



korelacji pomiędzy nasileniem intruzji a wszystkimi wskaźnikami ucieleśnienia. Należy zwrócić uwagę, że w przeciwieństwie do analizy korelacji analiza regresji analizuje jednocześnie wiele predyktorów w jednym modelu. Umożliwia to odpowiednią korektę wartości współczynników regresji. Korekta ta przeprowadzana jest w taki sposób, aby przy oznaczaniu zależności dla każdego predyktora wykluczać wpływ pozostałych predyktorów. Należy więc stwierdzić, że dodatnia zależność pomiędzy nasileniem intruzji a pozytywnym relacjom z ciałem zachodzi przy kontrolowaniu nasilenia zmian nastroju i zmian poznawczych oraz pobudzenia i nadmiernej aktywności. Oznacza to, przy założeniu, że dwie dowolne osoby nie różnią się pod względem nasilenia zmian nastroju i zmian poznawczych oraz pobudzenia i nadmiernej aktywności należy przewidywać, że bardziej pozytywną relację z własnym ciałem będzie miała osoba, która ma większe nasilenie intruzji. Podobnie, przy założeniu, że dwie dowolne osoby nie różnią się pod względem nasilenia zmian nastroju i zmian poznawczych należy przewidywać, że większe poczucie funkcjonalności będzie miała osoba, która ma większe nasilenie intruzji. Przy założeniu, że dwie dowolne osoby nie różnią się pod względem nasilenia zmian nastroju i zmian poznawczych oraz pobudzenia i nadmiernej aktywności należy przewidywać, że wyższym poziomem dbania o siebie będzie charakteryzować się osoba, która ma większe nasilenie intruzji. Wreszcie, przy założeniu, że dwie dowolne osoby nie różnią się pod względem nasilenia zmian nastroju i zmian poznawczych oraz pobudzenia i nadmiernej aktywności należy przewidywać, że wyższy ogólny poziom ucieleśnienia będzie występować u osoby, która ma większe nasilenie intruzji. Można powiedzieć również, że im większe nasilenie intruzji w stosunku do pozostałych towarzyszących jej objawów PTSD tym wyższy poziom ucieleśnienia.

### **3. Dyskusja i wnioski**

#### **3.1 Dyskusja**

Wyżej przedstawione wyniki były zgodne z zaproponowaną na początku hipotezą. Można obserwować zależność między występowaniem objawów zespołu stresu pourazowego, a poziomem ucieleśnienia. Zależność ta została przedstawiona już wcześniej, np. w artykule z początku XXI w., dotyczącym m.in. pacjentów, którzy doświadczyli świadomości (wybudzenia z narkozy) podczas operacji. Celem było sprawdzenie, czy doświadczenia, które wystąpiły w trakcie operacji lub po niej, są predyktorami PTSD oraz czy pacjenci, którzy byli świadomi podczas znieczulenia, spełniają kryteria dla diagnozy PTSD. Badanie sugeruje ścisły związek między PTSD, a doznaniem i doświadczeniami cielesnymi, takimi jak przewlekły ból, objawy somatyczne i problemy z obrazem własnego ciała. Związek między PTSD, a świadomością ciała wymaga dodatkowych badań, aby w pełni zrozumieć, w jaki sposób te warunki są ze sobą powiązane. Uważa się, że PTSD może zmieniać sposób przetwarzania informacji sensorycznych przez mózg, prowadząc do zwiększonej wrażliwości na doznania fizyczne i zmian w świadomości ciała. Zrozumienie związku między PTSD, a świadomością ciała może ułatwić opracowanie skuteczniejszych opcji leczenia dla osób, które jednocześnie doświadczają tych stanów (Osterman i in. 2001).

Poza tym, badanie wykazało, że im większe nasilenie intruzji, tym wyższy ogólny poziom ucieleśnienia. Co ciekawe, według Niny Ogińskiej-Bulik (2014), istnieje również zależność między nasileniem intruzji, a potraumatycznym wzrostem. Objawy PTSD, a szczególnie intruzja, dodatnio korelują ze wzrostem po traumie, przede wszystkim z docenianiem życia. Intruzja okazała się także predyktorem osobowego wzrostu. Symptomy PTSD, takie jak intruzje czy ruminalacje, pozwalają na „poznawcze przepracowanie” traumy, a co za tym idzie prawdopodobieństwo, że wystąpi potraumatyczny wzrost. Intruzje najsilniej korelują z ogólnym potraumatycznym wzrostem, a także jego czynnikami, takimi jak docenianie życia i zmiany w percepcji siebie. Zależność udowodniono zarówno u dorosłych, jaki i młodzieży. Wyniki wydają się być zgodne z hipotezami Tedeschiego i Calhouna (2004), według których objawy wzrostu i dystresu to dwa fundamentalnie różne wymiary. W rezultacie osoba odnosi korzyści z traumatycznej sytuacji, jednocześnie wykazując oznaki stresu, wywołanego złymi doświadczeniami. Aby przystosować się do nowych okoliczności, ich występowanie wydaje się wręcz konieczne. Z drugiej strony umiejętność skutecznego radzenia sobie z traumą i czerpania z niej korzyści jest oznaką zdrowia psychicznego. Zwracając uwagę na wyżej

wymienione argumenty, można pokusić się o twierdzenie, że wystąpienie intruzji jest czymś „pozytywnym”.

Próbując zrozumieć wynik, wskazujący na powiązanie traury z ucieleśnieniem, warto odnieść się do pozycji „Strach ucieleśniony” van der Kolka (2014). Po pierwsze, zauważył on u swoich pacjentów po traumatycznych przeżyciach, że częściowo odbiór ich wrażeń zmysłowych nie działał. Przywołany przez van der Kolka McFarlane (2010; van der Kolk 2014) zauważył, że osoby z PTSD często nie potrafią zintegrować indywidualnych wrażeń zmysłowych, tak, by połączyć je w jedno wrażenie, pełen odbiór. Stawia to pytanie, jak ludzie z doświadczeniem traumatycznym mogą nauczyć się integrować wrażenia płynące ze zmysłów, tak, by je poczuć bez doznawania poczucia niebezpieczeństwa czy niekompletności w swoim ciele. Po drugie, z badań Bluhm (2010; van der Kolk, 2014) wynika, że u pacjentów z PTSD nie zaobserwowano pobudzenia przyśrodkowej kory przedczołowej, przedniego zakrętu obręczy, kory ciemieniowej i wyspy. Zauważono jedynie lekkie uaktywnienie tylnego zakrętu obręczy, który odpowiada za podstawową orientację w przestrzeni. Można stwierdzić, że pacjenci, którzy doznali traumatycznych doświadczeń, niejako wyłączyli obszary mózgu, które przekazywały najgłębsze odczucia, emocje, które można obserwować przy przerażeniu. Niestety, rejony te odpowiadają m.in. także za naszą świadomość siebie, poczucie tożsamości. Tak jakby, uszkodzeniu uległo połączenie osoby z jej własną wewnętrzną rzeczywistością. Ukrycie trudnych emocji z jednej strony może być korzystne, aby unikać cierpienia, jednakże, z drugiej strony ukryte też mogą zostać wewnętrzne stany ciała czy poczucie siebie. Osoby z doświadczeniem traumatycznym często czują się w swoim ciele niepewnie, zapewne w związku z wewnętrznym dyskomfortem, ciało dostarcza informacji o niebezpieczeństwie, a osoby strauumatyzowane uczą się ignorować te sygnały i odcinać od nich. Dodatkowo, w związku z tym mogą pojawić się objawy psychosomatyczne, takie jak np. przewlekłe bóle (van der Kolk 2014). Opierając się na wyżej przedstawionych wynikach, a także na przeglądzie literatury, można stwierdzić, że jeśli obserwujemy tak silne połączenie PTSD z kwestią ucieleśnienia, to przygotowując interwencję dla osób z PTSD należy pomóc pacjentom oswajać swoją energię, wydobywać informacje sensoryczne, zablokowane przez traumę czy dokończyć działania fizyczne, które są niejako zamrożone (Levine 2008; van der Kolk 2014).

Przyglądając się powiązaniu zagadnień ucieleśnienia i zespołu stresu pourazowego, zdecydowanie warto poszerzyć ten wątek o kwestie aleksytymii, czyli specyficznego zaburzenia w procesie identyfikowania, regulowania emocji. Objawia się trudnościami w rozpoznawaniu, werbalizowaniu i różnicowaniu stanów emocjonalnych oraz towarzyszącego im fizjologicznego pobudzenia. Etiologia wciąż nie została do końca poznana (Płońska i Czernikiewicz 2006). Rośnie liczba publikacji dotyczących korelacji między tymi sprawami. Badanie opublikowane w 2020 roku (Kim i in.) w „Journal of Traumatic Stress” miało na celu sprawdzenie relacji pomiędzy aleksytymią i objawami PTSD u weteranów i mediacyjną rolę regulacji emocji. Wynik wskazuje na to, że aleksytymia może przyczyniać się do rozwoju objawów zespołu stresu pourazowego. Inne badanie przeprowadzone na populacji niemieckiej sprawdzało relacje pomiędzy doświadczeniami traumatycznymi, aleksytymią i objawami potraumatycznymi. Wyniki wskazują na to, że traumatyczne doświadczenia są powiązane z większym nasileniem aleksytymii i objawów potraumatycznych. Dodatkowo, aleksytymia okazała się być mediatorem w relacji pomiędzy traumatycznymi doświadczeniami i objawami potraumatycznymi (Eichhorn i in. 2014). Scarpazza i di Pellegrino (2018) przedstawiają aleksytymię jako powiązaną z brakiem ucieleśnienia emocji i połączenia aspektu emocjonalnego i cielesnego w doświadczeniach. Biorąc powyższe badania pod uwagę, wydaje się, że warto byłoby sprawdzić jakie zachodzą relacje nie tylko między PTSD a ucieleśnieniem, ale także czy, i jeśli tak, to jaką, rolę pełni tam aleksytymia.

Zapewne warto byłoby zbadać relację pomiędzy ucieleśnieniem i wsparciem społecznym. Wsparcie społeczne stanowi ważny czynnik wspomagający zdrowienie w przypadku wystąpienia PTSD. Według Dunn i in. (2008) wsparcie społeczne u pacjentów z diagnozą schizofrenii było bardzo istotne w ucieleśnieniu emocji i pomagało osobom z trudnościami w poznaniu społecznym lepiej rozumieć i regulować swoje emocje. Artykuł wskazuje, że być może wsparcie społeczne może stworzyć poczucie bezpieczeństwa emocjonalnego, które ułatwia ucieleśnienie emocji i rozwój efektywnych strategii radzenia sobie z nimi. O ile przytoczony artykuł nie odnosi się stricte do PTSD,

wydaje się, że wskazuje na istotną rolę wsparcia społecznego w kwestii szeroko rozumianego ucieleśnienia. Stąd, warto byłoby w badaniach dotyczących PTSD i ucieleśnienia uwzględnić wsparcie społeczne.

W wywiadzie w książce „Niewygodni” Magdaleny Rigamonti, prof. Maja Lis- Turlejska stwierdza, że ogromne poparcie dla partii Prawo i Sprawiedliwość w 2015 roku było i jest silnie związane z PTSD. Stawia hipotezę, że partie populistyczne dają prosty obraz świata, wskazując, kto jest dobry - nasz oraz zły - obcy, co może być pomocne przy doświadczaniu takich uczuć jak lęk, poczucie bezsilności czy gniew (Rigamonti, 2022). Profesor wskazała bardzo ciekawy kierunek, w którym można by poszerzyć badania nad zespołem stresu pourazowego. Stanowiłby on interesującą syntezę psychologii klinicznej z psychologią polityki.

Przyglądając się zagadnieniom traumy i ucieleśnienia, warto wziąć pod uwagę zaburzenia odżywiania, szukając powiązań. Z badań przeprowadzonych przez Bernadettę Izydorczyk (2017) wynika, że kobiety z diagnozą bulimii lub kompulsywnie objadające się, a jednocześnie z doświadczeniem traumy, wykazały większe nasilenie tendencji bulimicznych niż kobiety z tym samym zaburzeniem, ale bez doświadczeń traumatycznych. Poza tym, kobiety z doświadczeniem traumy, miały wyższy poziom nasilenia tendencji do takich zachowań jak wymiotowanie czy stosowanie leków przeczyszczających tj. ogólnie rzecz biorąc, do niekontrolowanych, impulsywnych zachowań wobec odżywiania. Przyglądając się temu, można się zastanawiać, czy wyżej wymienione zachowania nie są w pewien sposób odreagowaniem, osobistym atakiem na własne ciało, jego granice, czego też te osoby mogły doświadczyć wcześniej od osób trzecich w wyniku czego powstała trauma. Wydaje się, że osoba prowokująca wymioty czy przeczyszczająca dewaluje swoje ciało, dokonując autoagresji. Warto byłoby w tym wypadku pod uwagę kwestię, czy osoby z bulimią, naruszając granice swojego ciała, nie dokonują retraumatyzacji, w związku z traumą, której doznały wcześniej od osób trzecich. Jeśli chodzi o polskie badania dotyczące związku traumy, ucieleśnienia i związanych z tym zaburzeń odżywiania, jest to temat słabo eksplorowany. Warto byłoby przyjrzeć się roli zdarzeń traumatycznych w genecie zaburzeń odżywiania, które wiążą się z zaburzeniami relacji z ciałem, również dlatego, że może być to pomocne w dochodzeniu do zdrowia osób dotkniętych zaburzeniami odżywiania, jeśli faktycznie ich stan jest powiązany z wystąpieniem zdarzeń traumatycznych.

Podsumowując, hipoteza postawiona na początku pracy, została potwierdzona empirycznie, jednakże, wydaje się, że tematyka ucieleśnienia i traum, a także idących za nimi konsekwencji jest na tyle złożona, że ww. wyniki to jedynie wierzchołek góry lodowej, a z pewnością temat wart jest dalszego eksplorowania, również po to, by coraz lepiej dopasowywać interwencje terapeutyczne dla osób dotkniętych trudnościami, występującymi w związku z wydarzeniami traumatycznymi.

### 3.2 Mocne strony i ograniczenia

Zdecydowaną mocną stroną badania jest posiadanie reprezentatywnej próby osób badanych. Ograniczeniem badania jest fakt, że ankieta, którą wypełniały osoby badane, poruszała potencjalnie trudne obszary, o których myślenie mogło przyczynić się do chwilowego pogorszenia stanu osób badanych. Ograniczeniem tej części badania jest jej ilościowy, przez co nieco powierzchowny charakter, stąd bardzo dobrym pomysłem jest uzupełnienie wyników ilościowych poprzez dane z badań jakościowych, co umożliwi pogłębienie i doprecyzowanie odpowiedzi osób badanych. Poza tym, cała ankieta była stosunkowo długa, co mogło wpłynąć na zmęczenie i znudzenie osób badanych, a to mogło mieć wpływ na udzielane przez nie odpowiedzi.

Jeśli chodzi o poziom ucieleśnienia w badanej próbie, warto wziąć pod uwagę różnice kulturowe powiązane z relacją z ciałem. Według Smolak i Piran (2012) presje społeczne czy nacisk na szczupły wygląd w przypadku kobiet czy umięśniony w przypadku mężczyzn w danym społeczeństwie jest powiązany z mniej satysfakcjonującą relacją ze swoim ciałem czy z zaburzonym odżywianiem. Według badań Jaegera i in. (2002) kobiety z krajów, gdzie obecne są presje społeczeństwa na szczupły wygląd czy uprzedmiotowienie kobiet, tam obserwować można bardziej niesatysfakcjonujące relacje z ciałem w porównaniu z krajami, gdzie wyższa waga może być powiązana z wysokim statusem społecznym i dobrostanem. Polska wydaje się należeć do krajów

obecnie gloryfikujących szczupły czy umięśniony wygląd na wzór Zachodu, stąd można się spodziewać, że ogólnie ludzie tu będą bardziej niezadowoleni ze swojej relacji z ciałem.

### 3.3 Wnioski

Podsumowując, uzyskano wynik zgodny z hipotezą, pokazujący, że istnieje związek pomiędzy nasileniem objawów PTSD a poczuciem ucieleśnienia, co więcej znaleziono zależność wskazującą na wprost proporcjonalną zależność ogólnego poziomu ucieleśnienia i intruzji. Badanie obejmuje bardzo ważny aspekt dotyczący trudności jakich mogą doświadczać osoby z traumą, zwracając uwagę na szerszy kontekst, tj. powiązanie tego z odczuwaniem własnego ciała. Co więcej, to badanie może stanowić dobry punkt wyjścia dla kolejnych badań pogłębiających ten temat np. idących w kierunku powiązań cielesności, traumy i aleksytymii czy eksplorujących temat wpływu traumy na obraz ciała i postrzeganie siebie, biorąc tu pod uwagę kwestię zaburzeń odżywiania. Badanie może też stanowić wskazówkę dla specjalistów pracujących z osobami z diagnozą PTSD, zwracając uwagę na to, jak istotne jest, w drodze do zdrowienia, zaopiekowanie się również sferą fizyczną, cielesną. Potwierdza to między innymi Kim i in. (2020), którzy eksplorowali zależność pomiędzy PTSD i objawami somatycznymi i mediacyjny efekt ucieleśnienia. Według autorów problemy z ucieleśnieniem mogą mieć rolę mediującą w rozwoju objawów somatycznych u osób z PTSD. Autorzy tego badania również stwierdzili, że w związku z otrzymaną przez nich zależnością, interwencje zorientowane na ciało i relacje z nim mogą być skuteczne w poprawie ogólnego dobrostanu osób z PTSD. Potwierdzają to też teorie Nivy Piven (2016), która stwierdza, że traumatyczne doświadczenia zakłócają relację z ciałem i mogą prowadzić do niejako odłączenia do swojej fizyczności. Może się to manifestować poprzez dysocjację czy odrętwienie. Pivan sugeruje, że terapie polegające jedynie na rozmowie („talk therapies”) mogą nie być wystarczająco efektywne w adresowaniu zaburzonych relacji z ciałem spowodowanych traumą. Zauważa, że interwencje skupione na ciele i doświadczeniu cielesnym mogą być bardziej efektywne w leczeniu PTSD, co więcej mogą doprowadzić do pełnego wyzdrowienia. Przytoczone wyżej badania, jak i wyniki badania przedstawione w tej pracy wskazują na istotność wybranego tematu zarówno w obszarze naukowym, jak i praktycznym i wskazują drogi, które byłyby jeszcze warte zbadania, by poszerzyć wiedzę na temat PTSD i ucieleśnienia oraz powiązanych zagadnień.

## 4. Literatura

- American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Center for Substance Abuse Treatment (2014) Trauma-informed care in behavioral health services.
- Dunn LB, Iglewicz A, Moutier C, Green MF (2008) A conceptually driven approach to integrating neuroscience and psychosocial interventions: implications for the development of psychosocial treatments for impaired insight and social cognition in schizophrenia. *Biological Psychiatry* 64(1): 3–16.
- Eichhorn S, Brähler E, Franz M, Friedrich M, Glaesmer H (2014) Traumatic experiences, alexithymia, and posttraumatic symptomatology: a cross-sectional population-based study in Germany. *European Journal of Psychotraumatology* 5: 10.3402/ejpt.v5.23870. <https://doi.org/10.3402/ejpt.v5.23870>
- Friedman MJ, Resick PA, Bryant RA, Brewin CR (2011) Considering PTSD for DSM-5. *Depression and Anxiety* 28(9): 750–769. <https://doi.org/10.1002/da.20767>
- Izydorczyk B (2017) Trauma a wzorzec objawów impulsywnych u kobiet chorujących na bulimie psychiczną i kompulsywne objadanie się. *Psychologiczne Zeszyty Naukowe* 2: 37–54.
- Jaeger B, Ruggiero GM, Edlund B, Gomez-Perretta C, Lang F, Mohammadkhani P, Lamprecht F (2002) Body dissatisfaction and its interrelations with other risk factors for bulimia nervosa in 12 countries. *Psychotherapy and Psychosomatics* 71(1): 54–61.
- Kim D, Lee H (2020) Alexithymia and PTSD Symptoms in Veterans: The Mediating Role of Emotion Regulation. *Journal of Traumatic Stress*.

- Kim M, Lee J, Park J, Kim E, Kim EJ (2020) The relationship between posttraumatic stress disorder and somatic symptoms: Mediating effects of embodiment. *Journal of Trauma & Dissociation* 21(2): 155–172.
- McDougall J (1989) *Theaters of the body: A psychoanalytic approach to psychosomatic illness*. WW Norton & Co.
- Ogińska-Bulik N (2014) Objawy stresu pourazowego a potraumatyczny wzrost u młodzieży—ofiar wypadków drogowych. *Psychiatria* 11(1): 49–58.
- Osterman JE, Hopper J, Heran WJ, Keane TM, Van Der Kolk BA (2001) Awareness under anesthesia and the development of posttraumatic stress disorder. *General Hospital Psychiatry* 23(4): 198–204.
- Piran N (2016) Embodied possibilities and disruptions: The emergence of the experience of embodiment construct from qualitative studies with girls and women. *Body Image* 18: 43–60.
- Piran N, Teall TL, Counsell A (2020) The experience of embodiment scale: Development and psychometric evaluation. *Body Image* 34: 117–134.  
<https://doi.org/10.1016/j.bodyim.2020.05.007>
- Płońska D, Czernikiewicz A (2006) Aleksytymia—ciągle wiele pytań. Część I. Definiowanie aleksytymii. *Psychiatria* 3(1): 1–7.
- Rothschild B (2017) *Ciało pamięta. Rewolucja w terapii traumy. Tom 2*. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- Scarpazza C, di Pellegrino G (2018) Alexithymia, embodiment of emotions and interoceptive abilities. *Current Developments in Alexithymia: A Cognitive and Affective Deficit* 35–53.
- Smolak L, Piran N (2012) Gender and the prevention of eating disorders. *Preventing Eating-Related and Weight-Related Disorders: Collaborative Research, Advocacy, and Policy Change* 201–224.
- Światowa Organizacja Zdrowia (2010) *Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i problemów Zdrowotnych. Rewizja dziesiąta. Tom II*.
- Tedeschi RG, Calhoun LG (2004) Posttraumatic growth: conceptual foundations and empirical evidence. *Psychological Inquiry* 15(1): 1–18.
- Van der Kolk B (2014) *Strach ucieleśniony. Mózg, umysł i ciało w terapii traumy*. Warszawa: Wydawnictwo Czarna Owca.
- World Health Organization (2019) *International statistical classification of diseases and related health problems (11th ed.)*. <https://icd.who.int/>
- Zawadzki B, Popiel A, Foa EB, Jakubowska B, Cyniak-Cieciura M, Pragłowska E (2015) Posttraumatic Diagnostic Scale-5--Polish Version (PDS-5) [Database record]. APA PsycTests. <https://doi.org/10.1037/t46942-000>

## **7. Diagnoza zaburzeń w stanie zdrowia po doświadczeniach traumatycznych i ucieleśnienie**

Diagnosis of health disorders after traumatic experiences and embodiment

Michałowska Magdalena

Wydział Psychologii, Uniwersytet Warszawski

Opiekun naukowy: dr hab. Marcin Rzeszutek

Rzeszutek Marcin: marcin.rzeszutek@psych.uw.edu.pl

Słowa Kluczowe: zespół stresu pourazowego, ucieleśnienie, ja cielesne, obraz ciała

### **1. Wstęp**

Traumatyczne doświadczenia i ich wpływ na zdrowie psychiczne były przedmiotem intensywnych badań przez dekady, jednak dopiero w połowie XX wieku zaczęto rozumieć i definiować zespół stresu pourazowego (PTSD) jako odrębną jednostkę chorobową. Początkowe klasyfikacje w DSM i ICD wprowadziły terminy takie jak "duża reakcja na stres" i "ostre niedostosowanie do sytuacji", które z czasem ewoluowały w bardziej precyzyjne kryteria diagnostyczne. Wprowadzenie PTSD do DSM-III w 1980 roku było kamieniem milowym, a kolejne edycje, w tym DSM-5, wprowadziły nowe kryteria i kategorie, co pozwoliło na dokładniejsze rozpoznanie i leczenie tego zaburzenia. Oprócz samych kryteriów diagnostycznych, zrozumienie wpływu traumy na obraz ciała oraz koncepcję ucieleśnienia stanowi ważny element w badaniach nad zdrowiem psychicznym. Obraz ciała, jako dynamiczny konstrukt obejmujący aspekty poznawcze, afektywne, percepcyjne i behawioralne, jest kluczowy w procesie radzenia sobie z traumą. Z kolei ucieleśnienie, będące integracją ciała i umysłu, podkreśla, jak nasze fizyczne doświadczenia i interakcje ze światem wpływają na procesy poznawcze. Celem niniejszego artykułu jest przedstawienie ewolucji diagnozowania PTSD, zrozumienie znaczenia obrazu ciała oraz koncepcji ucieleśnienia w kontekście traumatycznych doświadczeń. Przeanalizuję, jak te elementy wpływają na funkcjonowanie psychiczne jednostki i jakie implikacje mają dla terapii i interwencji w leczeniu PTSD.

### **2. Opis zagadnienia i przegląd literatury**

#### **2.1 Droga do diagnozy PTSD.**

Do lat 50. XX wieku nie obserwowano znaczącego postępu w diagnozowaniu zaburzeń w stanie zdrowia psychicznego po doświadczeniach traumatycznych. Rok 1952 przyniósł wprowadzenie do Diagnostycznego i statystycznego podręcznika zaburzeń psychicznych (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM*) nowego rozpoznania tj. dużej reakcji na stres, jako jednostki przejściowej, przed postawieniem ostatecznej diagnozy. Dużą reakcją na stres określano jako przemijającą reakcję na ekstremalne wymagania fizyczne czy stres. W podobnym okresie, tj. latach 50. w Międzynarodowej Statystycznej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych ICD-6 (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*) pojawiło się zaburzenie zwane ostrym niedostosowaniem do sytuacji (Zawadzki, Popiel, 2014). Rozpoznanie zarówno dużej reakcji na stres, jak i ostre niedostosowanie do sytuacji można uznać za diagnozę - prekursora zespołu stresu pourazowego (Post-traumatic stress disorder, PTSD).

Następna, tj. druga edycja DSM nie posiada rozpoznania dużej reakcji na stres, które pojawiło się w pierwszej edycji. Aczkolwiek, pojawia się jednostka: reakcja adaptacyjna w życiu dorosłym, którą znaleźć można w sekcji przemijających zaburzeń stresowych (APA 1968). Reakcja adaptacyjna w życiu dorosłym to ostra, przemijająca reakcja na stres środowiskowy, spowodowany różnego rodzaju rzeczami, od niechcianej ciąży do wyroku śmierci. W podobnym okresie ósma edycja ICD wniosła przemijające zaburzenie sytuacyjne, które obejmowało ostrą reakcję stresową, nerwicę

wojenną i problemy z adaptacją (Maercker i in. 2013). Wraz z kolejnymi edycjami ICD pojawiła się taka jednostka, jak ostra reakcja stresowa oraz zaburzenie adaptacyjne, a także syndrom obozu koncentracyjnego i przedłużone pourazowe zaburzenie stresowe (Zawadzki i Popiel, 2014). Obowiązująca jeszcze aktualnie edycja 10 ICD posiada takie jednostki diagnostyczne, jak PTSD oraz utrzymującą się zmianę osobowości na skutek katastroficznych doświadczeń. Jeśli chodzi o pojawienie się diagnozy PTSD w klasyfikacji DSM, stało się to w 1980 roku. Kwestią przełomową było zdefiniowanie w DSM zdarzenia traumatycznego, jako czegoś, co poprzedza wystąpienie objawów zespołu stresu pourazowego. Definicja zdarzenia traumatycznego w DSM ewoluowała z każdą kolejną edycją. W DSM - III był to rozpoznawalny stresor, który wywołałby objawy u prawie każdego. Przykładem może być obóz koncentracyjny czy wypadek komunikacyjny. Wg DSM- III-TR zdarzenie traumatyczne to zdarzenie, które wykracza poza zakres zwykłych ludzkich doświadczeń i spowodowałoby znaczny stres u prawie każdego. Wydarzenie to miało wiązać się z zagrożeniem życia czy fizycznej integralności. Przykładem są tu katastrofa naturalna czy gwałt. Edycja czwarta DSM definiuje zdarzenie traumatyczne jako skutkujące śmiercią, obrażeniami lub wiążące się z zagrożeniem śmiercią, obrażeniami czy dla fizycznej integralności. Jako przykład pojawia się tu udział w wojnie czy ataku terrorystycznym, ale także bycie świadkiem tego typu traumatycznych wydarzeń oraz dowiedzenie się, że ktoś z najbliższych doświadczył napaści czy nagłe zmarł.

## 2.2 Diagnoza PTSD dziś

Według najnowszej edycji DSM, tj. 5; zdarzenie traumatyczne wiąże się ze śmiercią lub jej groźbą, poważnymi obrażeniami oraz przemocą seksualną. Przykładem takiego zdarzenia, definiowanego jako traumatyczne, będzie doświadczenie wojny, katastrofy naturalnej, wypadku komunikacyjnego czy zagrażającego incydentu medycznego. Również bycie świadkiem tego typu zdarzeń, pośrednia ekspozycja na nie, czy powtarzające się bycie narażonym na awersyjne detale zdarzeń jest definiowane jako zdarzenie traumatyczne. Wystąpienie zdarzenia traumatycznego to kryterium A w postawieniu diagnozy PTSD. Następne jest kryterium B, które dotyczy występowania objawów intruzywnych, powiązanych ze zdarzeniem traumatycznym. Są to na przykład powracające, niechciane wspomnienia, koszmary senne, reakcje dysocjacyjne, gdzie osoba nimi dotknięta odczuwa, jakby wydarzenie traumatyczne odtwarzało się. Poza tym, może wystąpić dystres w zetknięciu z czymś, co jest powiązane z trudnym wydarzeniem. Kryterium C mówi o unikaniu bodźców, związanych z traumatycznym wydarzeniem, gdzie podejmowane są wysiłki, by uniknąć stresujących wspomnień, emocji czy czynników zewnętrznych np. miejsc czy ludzi, związanych z traumą. Kryterium D odnosi się do negatywnych zmian poznawczych i emocjonalnych, takich jak niemożność przypomnienia sobie istotnego aspektu wydarzenia traumatycznego, utrzymujące się negatywne osądy czy przekonania co do siebie, innych, świata. Poza tym, mogą wystąpić uporczywe zaburzone przekonania co do powodu, czy konsekwencji wydarzenia, skutkujące obwinianiem siebie samego lub innych oraz przewlekły, negatywny stan emocjonalny. Mogą pojawić się także zmniejszony udział czy zainteresowanie w ważnych aktywnościach, poczucie oderwania, wyobcowania od innych i ciągła niemożność do doświadczania pozytywnych emocji. Kryterium E dotyczy wzmożonego pobudzenia czy reaktywności przejawiających się przez takie zachowania, jak wybuchy gniewu, ryzykowne czy autodestrukcyjne zachowania, nadmierna czujność, nadmierna reakcja przestrochu, problemy z koncentracją czy ze snem. Kryterium F dotyczy czasu trwania objawów, który ma wynosić minimum miesiąc. Kryterium G mówi o tym, że objawy wywołują znaczny dystres czy zakłócenia w funkcjonowaniu społecznym. Kryterium H zaznacza, że występujące objawy nie są powiązane z efektami substancji psychoaktywnych czy innego schorzenia.

Jeśli chodzi o nowości, które pojawiły się w DSM - 5 w porównaniu do poprzednich edycji, obserwujemy przeniesienie diagnozy PTSD z kategorii zaburzeń lękowych do kategorii zaburzeń, związanych z traumą i stresem. Poza tym, pojawiło się kryterium D, dotyczące zmian w sferze poznawczej i emocjonalnej, powiązane z amnezją dysocjacyjną. Wprowadzono także dodatkowy objaw, jakim jest zachowanie ryzykanckie lub autodestrukcyjne. DSM - 5 bardziej precyzyjnie określa wydarzenia, które definiujemy jako traumatyczne oraz dodaje czwarty rodzaj sposobu, w jaki można być wyekspozowanym na traumę.

W przypadku ICD - 10 diagnozuje się zaburzenie stresowe pourazowe, gdzie, by je zdiagnozować, pacjent ma być narażony na stresujące wydarzenie, które ma cechy zagrażające, powodujące pojawienie się cierpienia prawie każdego. Ponadto występuje przypominanie sobie wydarzeń traumatycznych w formie wspomnień, snów czy gorszego samopoczucia. Poza tym, pacjent prezentuje reakcje unikające w przypadku wystąpienia okoliczności, związanych z wydarzeniem traumatycznym. Obserwowalna jest pewna niezdolność do przywołania faktów, związanych z wydarzeniem traumatycznym i wzburzenie, wrażliwość psychologiczna, która nie była widziana przed wystąpieniem stresora (Światowa Organizacja Zdrowia 2010). Najnowszą edycją ICD jest ICD - 11, które już zostało wydane, jednakże nie jest jeszcze obowiązujące w przypadku stawiania diagnoz. Wg tej klasyfikacji trauma to zdarzenie, czy ich seria, które są wyjątkowo zagrażające czy przerażające. Poza tym, reszta objawów jest podobna jak w ICD - 10. ICD - 11 wprowadza nową diagnozę, jaką jest złożone PTSD, gdzie trauma była dodatkowo długotrwała, przewlekła, a ucieczka od niej nie była możliwa. Przykładem będzie długotrwała przemoc domowa czy ludobójstwo. Objawy będą dotyczyć dwóch grup - objawów PTSD i objawów zaburzenia organizacji self. Pojawiają się intruzywne wspomnienia, flashbacki, koszmary. Osoba stara się uniknąć myśli, wspomnień, sytuacji powiązanych z wydarzeniem traumatycznym. Ma objawy poczucia zagrożenia, nadmierną czujność i reakcje na bodźce (ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics 2019). Zaburzenia organizacji self dotyczą trzech grup objawów. Pierwsza to dysregulacja afektu - problemem jest tu radzenie sobie z intensywnymi stanami emocjonalnymi. Druga to negatywny obraz siebie, odczuwanie siebie jako kogoś bezwartościowego, wraz z poczuciem wstydu, winy czy porażki. Trzecia grupa objawów to zaburzenia w relacjach, powiązane z trudnościami w utrzymywaniu bliskości emocjonalnej w relacjach (Shevlin i in. 2018).

### 2.3 Obraz ciała

Zainteresowanie problematyką cielesności liczy sobie już ponad wiek i wiąże się z osobą Paula Schildera. Obraz ciała to nasz odbiór naszego organizmu, naszej fizyczności. Według Paula Schildera to po prostu obraz własnego ciała, stworzony w umyśle (Nitsch i in., 2012). Na ten konstrukt składają się myśli, w tym przekonania, jest to aspekt poznawczy. Obecny jest także aspekt afektywno-uczucia czy niezadowolenie z ciała oraz aspekt percepcyjny, czyli oceny i subiektywne spostrzeganie oraz behawioralny, a więc zachowania, które wiążą się z naszym ciałem i działaniami ukierunkowanymi na jego zmianę. Obraz ciała to spektrum od zdrowego do niezdrowego postrzegania siebie. Ma charakter dynamiczny, kształtuje się poprzez rozwój i doświadczenia o charakterze fizycznym, indywidualnym i kulturowym. Zaburzenia w wyżej wymienionych aspektach mogą prowadzić do takich zaburzeń jak dysmorfofobia czy jadłowstręt psychiczny. (Rybicka-Klimczyk, Brytek-Matera, 2008). W literaturze podczas omawiania zaburzeń psychicznych i ich związku z obrazem ciała spotyka się termin „Ja - cielesnego”. Rozwija się ono już w dzieciństwie. Gdy dziecko w tym okresie doświadczy np. braku fizycznej bliskości może mieć następnie trudności z określaniem granic swojego ciała czy błędnie się spostrzegać. Może pojawić się także nadmierna intruzywność w kierunku dziecka, co w późniejszym okresie może skutkować wykształceniem potrzeby kontroli nad własnym ciałem i karaniem go. Nieprzewidywalny rodzic może wpłynąć na ukształtowanie u dziecka niespójnego obrazu siebie i ciała (Nitsch 2012). Według Husserla, (1987; Mioduchowska 2012) subiektywne doświadczanie ciała jako spójnego, trwałego, pozwala wyodrębnić z Ja osoby właśnie tzw. Ja cielesne, co wzbogaca nas o interakcję Ja, a moje doświadczenie mnie cielesnego. Ja cielesne zajmuje się przetwarzaniu wrażeń cielesnych. Zalicza się do nich doznawanie bodźców, płynących z ciała, ich interpretację oraz regulację emocji i stanów fizycznych. Prawidłowo ukształtowane Ja cielesne sprawia, że ludzie są w stanie odczuć zmiany idące z ciała, nadać im znaczenie, znaleźć ich przyczynę i wyregulować je. Według Eriksona (1956, za: Sakson - Obada, 2009) odpowiednia relacja łącząca ciało i umysł powinna odbywać się na zasadach „stanu cichej współpracy”, gdzie funkcjonowanie ciała nie przykuwa zbyt dużej uwagi jednostki.

### 2.4 Ucieleśnienie

Historia pojęcia, jakim jest ucieleśnienie, sięga XX wieku. Za jego źródło podaje się często prace Edmunda Husserla. Rozróżnił on dwa wymiary ciała człowieka, jeden jako ciało-bryłę, a drugi ciało żywe. Pierwszy wymiar odnosi się do fizyczności, obcości czy ciała jako obiektu badań.



Natomiast, ciało żywe, związane jest z ludzkimi wewnętrznymi przeżyciami, dostępne jest one jedynie pierwszoosobowo (Biernacka i in. 2019). Dziś istnieje różnica zdań co do tego, czym dokładnie jest ucieleśnienie. Poznanie ucieleśnione wiąże się z tym, że wpływ na niego mają nie tylko procesy przetwarzania zachodzące w mózgu, ale także w całym ciele. Najogólniej rzecz ujmując, według Margaret Wilson, ucieleśnione poznanie jest związane z tym, że procesy poznawcze są głęboko zakorzenione w cielesnych interakcjach ze światem. Poznanie odbywa się nie tylko poprzez procesy zachodzące w mózgu, ale także poprzez narządy zmysłów. Nadmierna liczba informacji znajduje się poza mózgiem, gdy zapisujemy sobie coś w kalendarzu, mamy później dostęp do tego przy pomocy zmysłów. Poza tym, środowisko zewnętrzne, warunki środowiskowe, powiązane są z ludzkim systemem poznawczym. Procesy poznawcze bazują na ciele, wspomagając motorykę i przetwarzanie (Wilson 2002).

### **3. Podsumowanie**

Ewolucja diagnozowania PTSD przeszła znaczący rozwój od lat 50. XX wieku, kiedy to wprowadzono do DSM pierwsze jednostki, takie jak "duża reakcja na stres" oraz "ostre niedostosowanie do sytuacji" w ICD-6, które stanowiły podstawę dla przyszłego rozpoznania PTSD. Kolejne edycje DSM i ICD rozwijały te pojęcia, stopniowo definiując bardziej precyzyjnie zdarzenia traumatyczne oraz objawy PTSD. Wprowadzenie diagnozy PTSD w DSM-III w 1980 roku było przełomowe, gdyż po raz pierwszy zdefiniowano zdarzenie traumatyczne jako coś, co poprzedza wystąpienie objawów PTSD. W DSM-5 nastąpiło przeniesienie diagnozy PTSD z kategorii zaburzeń lękowych do kategorii zaburzeń związanych z traumą i stresem, co podkreśla specyfikę tego zaburzenia. Dodatkowo, wprowadzono kryterium D dotyczące zmian poznawczych i emocjonalnych oraz zachowania ryzykowne. ICD-11 wprowadza nową diagnozę, jaką jest złożone PTSD, odnoszącą się do długotrwałych i przewlekłych traum. Obraz ciała, jako koncepcja rozwinięta przez Paula Schildera, odgrywa kluczową rolę w naszym postrzeganiu siebie. Jest to dynamiczny konstrukt obejmujący aspekty poznawcze, afektywne, percepcyjne i behawioralne. Prawidłowe ukształtowanie obrazu ciała pozwala na odpowiednią interpretację i regulację bodźców płynących z ciała. Zaburzenia w tych aspektach mogą prowadzić do poważnych problemów psychicznych, takich jak dysmorfofobia czy anoreksja. Ponadto, "Ja cielesne" rozwija się już w dzieciństwie i jego odpowiednie ukształtowanie ma kluczowe znaczenie dla zdrowia psychicznego w dorosłości. Pojęcie ucieleśnienia, rozwinięte przez Edmunda Husserla, odnosi się do dwóch wymiarów ciała: fizycznego (ciało-bryła) i żywego (ciało żywe). Ucieleśnione poznanie zakłada, że procesy poznawcze są głęboko zakorzenione w cielesnych interakcjach ze światem. Zgodnie z teorią Margaret Wilson, poznanie odbywa się nie tylko poprzez procesy zachodzące w mózgu, ale także poprzez narządy zmysłów i interakcje z otoczeniem. To podejście podkreśla znaczenie integracji ciała i umysłu oraz wpływu środowiska na nasze funkcje poznawcze.

Podsumowując, rozwój diagnozy PTSD, zrozumienie obrazu ciała i pojęcia ucieleśnienia są kluczowe dla pełnego zrozumienia zaburzeń psychicznych po doświadczeniach traumatycznych. Postępy w diagnozowaniu PTSD oraz badania nad obrazem ciała i ucieleśnieniem przyczyniają się do lepszego zrozumienia mechanizmów tych zaburzeń oraz do rozwoju skuteczniejszych metod terapeutycznych. Współczesne podejścia podkreślają potrzebę holistycznego spojrzenia na zdrowie psychiczne, uwzględniającego zarówno aspekty psychologiczne, jak i cielesne, co może prowadzić do bardziej zintegrowanych i skutecznych interwencji terapeutycznych.

### **4. Literatura**

- American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Biernacka A, Rorot W, Statkiewicz R (2019) Skąd ciało wiedziało? Czyli o badaniach nad ucieleśnieniem słów kilka. <https://doi.org/10.26913/avant.2019.03.26>
- Maercker A, Brewin CR, Bryant RA, Cloitre M, Reed GM, Van Ommeren M, Saxena S (2013) Proposals for mental disorders specifically associated with stress in the International Classification of Diseases-11. *The Lancet* 381(9878): 1683–1685.

- Mioduchowska A (2012) Obraz własnego ciała a wewnętrzna aktywność dialogowa u kobiet z zaburzeniami odżywiania. *Studia z Psychologii w KUL* 18.
- Nitsch K, Prajs E, Kurpisz J, Tyburski E (2012) Obraz ciała i jego zaburzenia. Aspekty teoretyczne w kontekście wybranych jednostek psychopatologicznych. *Psychiatria i Psychologia Kliniczna* 3(12): 176–182.
- Rybicka-Klimczyk A, Brytek-Matera A (2008) Wizerunek ciała i jego wymiary a aspekty behawioralne zaburzeń odżywiania u zdrowych kobiet w różnych fazach rozwojowych. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii* 4(4): 143–151.
- Sakson-Obada O (2009) Trauma jako czynnik ryzyka dla zaburzeń Ja cielesnego. *Przegląd Psychologiczny* 52(3): 309–326.
- Shevlin M, Hyland P, Roberts NP (2018) A psychometric assessment of Disturbances in Self-Organization symptom indicators for ICD-11 Complex PTSD using the International Trauma Questionnaire. *European Journal of Psychotraumatology* 9: 1419749.
- Światowa Organizacja Zdrowia (2010) Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i problemów Zdrowotnych. Rewizja dziesiąta. Tom II.
- Wilson M (2002) Six views of embodied cognition. *Psychonomic Bulletin & Review* 9: 625–636. <https://doi.org/10.3758/BF03196322>
- World Health Organization (2019) International statistical classification of diseases and related health problems (11th ed.). <https://icd.who.int/>
- Zawadzki B, Popiel A (2014) Na rozstaju dróg: struktura objawów stresu pourazowego (PTSD) po DSM-5, a przed ICD-11. *Nauka* 4.

## **8. Zastosowania modelu danio pręgowanego Tg(fli1a:EGFP) w badaniach biomedycznych**

Applications of the zebrafish Tg(fli1a:EGFP) model in biomedical research

Jakub Semeniuk, Łukasz Kurach

Samodzielna Pracownia Badań Behawioralnych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Chodźki 4A  
20-093, Lublin

Opiekun naukowy: mgr Łukasz Kurach

Jakub Semeniuk: kubasemeniuk18@outlook.com

Słowa kluczowe: fluorescencja, krwionośny, transgeniczny.

### **Streszczenie**

Danio pręgowane jest to organizm modelowy często wykorzystywany w badaniach biomedycznych, bazując na nim utworzono model transgeniczny Tg(Fli1a:EGFP), który umożliwia obserwację układu krwionośnego z zastosowaniem mikroskopii fluorescencyjnej. Taka modyfikacja umożliwia prowadzenie badań dotyczących np. naczyń krwionośnych. Niniejsza praca przybliży możliwe zastosowania modelu Tg(fli1a:EGFP).

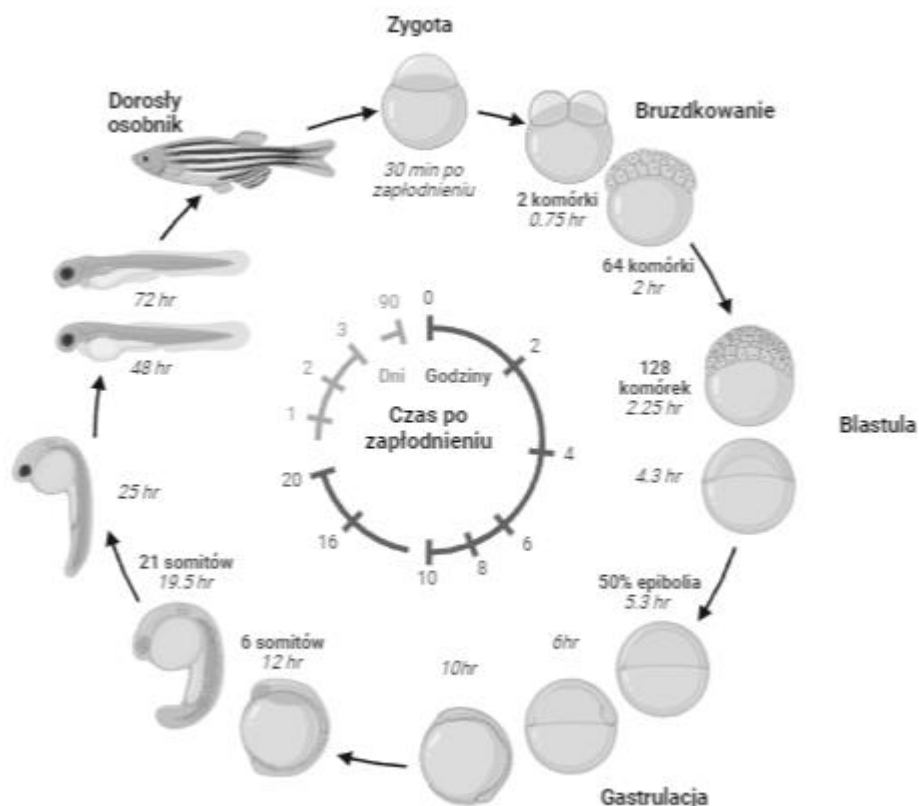
### **1. Wstęp**

Modele zwierzęce są nieodłącznym elementem badań biomedycznych, dają one olbrzymie możliwości prowadzenia badań przedklinicznych na wielu płaszczyznach. Dzięki wielkiemu zróżnicowaniu modeli dostępnych do badań możliwe jest sprawdzenie wielu właściwości badanych substancji takich jak toksyczność, wpływ na układ nerwowy, krwionośny, pokarmowy itp. Model danio pręgowanego wykorzystywany jest od dawna ze względu na wiele potencjalnych zastosowań biomedycznych i prostą hodowlę jak i niskie wymagania oraz koszty w porównaniu z droższymi oraz bardziej wymagającymi myszami czy szczurami. Niniejsza praca ma na celu przedstawienie możliwości zastosowania modelu transgenicznego Tg(fli1a:EGFP) w badaniach biomedycznych.

### **2. Opis zagadnienia**

Danio pręgowane (łac. *Danio rerio*) to słodkowodna ryba z rodziny karpiowatych pochodząca z Azji. Ten szeroko rozpowszechniony gatunek zamieszkuje strumienie i mniejsze rzeki, a także wody stojące i zalane pola ryżowe w Pakistanie, Indiach, Bangladeszu i Nepalu. Osiąga rozmiar do 3-5 cm, a wzdłuż tułowia rybki bieżną niebieskie lub fioletowe pasy, od których pochodzi jej angielska nazwa *zebrafish*. Samce różnią się od samic bardziej pomarańczowym ubarwieniem oraz smuklejszą budową ciała (Czuma i in. 2023; Danieluk i in. 2016). W badaniach laboratoryjnych jest cennym modelem do badań toksykologicznych, farmakologicznych i ekotoksykologicznych. Zapytanie "zebrafish" w bazie PubMed generuje listę 5661 pozycji, co wskazuje na ogromne zainteresowanie tym modelem.

Niewielki rozmiar i szybki rozwój larw danio pręgowanego stanowią ogromną zaletę pod względem kosztów prowadzenia hodowli. Pojedyncza samica jest w stanie złożyć do kilkuset jaj podczas jednego tarła. Już po kilkudziesięciu godzinach po zapłodnieniu wykrywalne są geny i białka odpowiedzialne za prawidłowy rozwój i funkcjonowanie ważnych organów. Szybki rozwój larw danio pręgowanego pozwala na ocenę zarówno ostrego, jak i przewlekłego działania substancji na ich organizm. Przezroczystość larw pozwala na śledzenie zmian wywołanych lekami bez stosowania technik inwazyjnych oraz umożliwia ocenę neurotoksyczności, kardiotoxyczności, hepatotoxyczności i potencjalnych wad rozwojowych. Warto wspomnieć, że 70% ludzkiego genomu, fizjologii i struktury narządów jest podobnych do danio. Co ważne, procesy zachodzące w organizmie rybki oraz ich stopień złożoności są podobne do tych zachodzących w organizmie człowieka. (Kurach i in. 2021; Choi i in. 2021)



**Rys. 1.** Cykl rozwojowy danio pręgowanego. Opracowano z wykorzystaniem platformy BioRender.

Rozwój *Danio rerio* zachodzi dość szybko, pojedyncza samica składa jednocześnie do 300 jajeczek. Po zapłodnieniu chorion rozszerza się robiąc miejsce dla przejrzystej cytoplazmy, która wypełnia tę przestrzeń, już w 45 minucie od zapłodnienia dochodzi do bruzdkowania. Później w okolicach piątej godziny po zapłodnieniu zaobserwować można przejście embrionu do stadium sferycznego, w 8 godzinie zachodzi zaś gastrulacja. Organogeneza zaczyna się około doby po zapłodnieniu. Larwa danio pręgowanego opuszcza chorion w okolicach 48 godziny po zapłodnieniu, wtedy też zaczyna się poruszać. Największa ruchliwość jest zauważalna od 4-5 dnia po zapłodnieniu - pojawia się rozwinięty i funkcjonujący pęcherz pławny. Wylęgnięte larwy potrzebne składniki czerpią z zapasu żółtka, które zaczyna zanikać od 5 dnia po zapłodnieniu. Zaczynają wtedy poszukiwać pożywienia. Zgodnie z dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych hodowle larw do 5 dnia po zapłodnieniu traktowane są jako równoważne doświadczeniom na hodowlach komórkowych in vitro. W przeciwieństwie do tego, eksperymenty z larwami starszymi niż 5 dzień po zapłodnieniu, klasyfikowane jako doświadczenia na zwierzętach i wymagają zezwolenia odpowiedniej komisji etycznej.

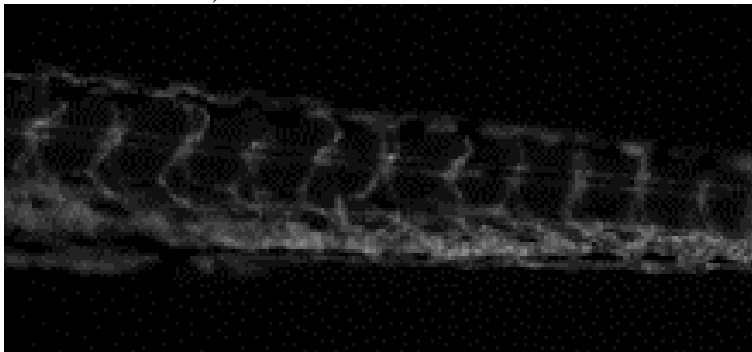
Oprócz wymienionych wcześniej zalet, organizm modelowy danio pręgowany spełnia jedną z zasad 3R. Zasada 3R, zaproponowana przez Russell 'a i Burch'a w 1959 roku, odnosi się do trzech podstawowych zasad będących wytycznymi do prowadzenia doświadczeń w sposób etyczny. Zasady te to:

- a) Replacement (Zastąpienie): Polega na zastępowaniu zwierząt laboratoryjnych przez alternatywne metody *in silico* czy *in vitro*, czyli modelowanie komputerowe i hodowle komórkowe. Jeżeli nie jest możliwe zastosowanie alternatywnych metod, w myśl tej zasady używa się zwierząt niższych ewolucyjnie do których należy danio pręgowany.
- b) Reduction (Redukcja): Dotyczy zmniejszenia liczby zwierząt wykorzystywanych w badaniach poprzez zoptymalizowanie procedur eksperymentalnych, aby uzyskać więcej informacji z wykorzystaniem mniejszej liczby zwierząt lub wykorzystując dane już dostępne.
- c) Refinement (Udoskonalenie): Skupia się na poprawie warunków życia zwierząt laboratoryjnych oraz na zminimalizowaniu bólu, cierpienia i stresu, który mogą doświadczać w trakcie eksperymentów. (Tannenbaum i Benett 2015)

### 3. Przegląd literatury

Łatwość manipulacji genetycznej organizmu danio pręgowanego pozwala na tworzenie wielu modeli transgenicznych do badań nad chorobami genetycznymi, konkretnymi mutacjami lub odpowiednim fenotypie.

Tg(fli1a:EGFP) to transgeniczny model danio pręgowanego wykorzystujący pochodzące od meduzy *aquorea victoria* białko o wzmożonej zielonej fluorescencji EGFP (ang. Enhanced green fluorescent protein). Białko to emituje światło o długości fali 510nm. Jest to podstawowe(konstytutywnie) białko fluorescencyjne, opublikowane w 1996 roku. Jest to modyfikacja odkrytego uprzednio białka GFP(Green fluorescent protein), modyfikacja polega na wprowadzeniu mutacji, które powodują wzmożenie fluorescencji. Samo białko GFP posiada strukturę  $\beta$ -karkową W modelu transgenicznym Tg(fli1a:EGFP) znajduje się ono pod kontrolą promotora fli1a. Promotor ten jest specyficzny dla komórek układu krwionośnego co umożliwi obserwację rozwoju jak i funkcjonowania tegoż układu z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej.(Pakhomov i in. 2008)



**Rys. 2.** Przykładowe zdjęcie fragmentu ciała larwy Tg(fli1a:EGFP) danio pręgowanego (4 dni po zapłodnieniu) wykonane za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego.

#### 3.1 Wykorzystanie szczepu Tg(fli1a:EGFP) w obszarze badań nad angiogenezą

Do przykładowych zastosowań modelu Tg(fli1a:EGFP) można zaliczyć badania nad nowotworami, konkretniej nad angiogenezą. W przytoczonym badaniu angiogeneza stanowiła kryterium oceny, który klon komórkowy wykazuje większe zdolności tworzenia guza, Tego typu badania najczęściej prowadzone są na embrionach transgenicznych *Danio rerio* w 48 godzinie od zapłodnienia, poprzez przeszczep komórek nowotworowych (tzw. xenograft) w interesujący nas region i dalszej obserwacji. W opisywanym badaniu przeszczepu dokonano do przestrzeni podnaskórkowej, pomiędzy warstwą syncycjalną żółtka a żyłą jelitową. Komórki nowotworowe które zostały użyte w tym badaniu były znakowane fluorescencyjnie, umożliwiło to obserwacje ich migracji. w przypadku tych komórek zmiany najlepiej jest obserwować już po 24 godzinach od wykonania iniekcji, by uniknąć reakcji immunologicznej na podanie obcych komórek. W tym czasie dochodzi do procesu formacji nowych naczyń krwionośnych. który w modelu możemy obserwować

dzięki jego właściwościom. W przypadku badań nad angiogenezą użyteczną metodą jest wykonywanie filmu poklatkowego przez dłuższy okres czasu, w prezentowanym doświadczeniu obserwacja trwała 24h w tym czasie co 10 minut wykonywane było zdjęcie, składające się na kompletny film prezentujący zachodzącą angiogenezę. Autorzy uważają, że usprawnienie metody obserwacji umożliwiłoby prowadzenie jej przez dłuższy czas, nawet dwie doby. (Carra i in. 2022) Inne badanie, również dotyczące procesu nowotworzenia i angiogenezy wykorzystuje model Tg(fli1a:EGFP).

Innym z możliwych zastosowań jest poszukiwanie genów, odpowiedzialnych za prawidłowy rozwój organizmu modelowego, prowadzone były badania mające na celu wykazać powiązanie genu *Mvda* z wczesnym rozwojem *Danio rerio*. Przyjmuje się, iż mutacje w genie *MVD* powodują poroketarozy, autoinflammatory choroby związane z rogowacieniem, specyficznie występujące na skórze. Pomimo iż funkcja genu *MVD* pozostaje dalej nieustalona, udało się zidentyfikować odpowiednik tego genu u danio pręgowanego, gen *Mvda*. W badaniu wykorzystano wspomniany wcześniej model transgeniczny. Dokonano dezaktywacji (tzw. knock-out) genu. Knockout *Mvda* znacząco ogranicza prawidłowy rozwój *Danio rerio* powodując między innymi nadmierne gromadzenie krwi żyły ogonowej. W drugim dniu po zapłodnieniu obserwowano zmiany w naczyniach krwionośnych w obrębie ogona, po czym porównano to z organizmem posiadającym prawidłowo funkcjonujący gen, wykazało to istotne zmiany w obrębie tychże naczyń krwionośnych jak również istotne zmniejszenie kumulatywnej długości naczyń pomiędzy grupą badaną a kontrolną, ponadto *Danio rerio* z knockoutem *Mvda* wykazywały defekty skórne, co potwierdza powiązanie funkcyjne genu *Mvda* z ludzkim genem *MVD* (Wong i in. 2021) W innych badaniach model transgeniczny Tg(fli1a:EGFP) pełnił rolę potwierdzenia działania związków o podejrzanym działaniu przeciwnowotworowym i przeciwingiogenicznym. W badaniu, o którym mowa testowano kilka związków: ramucirumab, apatinib, regorafenib oraz cabozantinib. Jako że za główny czynnik określający proliferację guza można uważać abnormalną angiogenezę, naczynia krwionośne są dobrym celem w terapii przeciwnowotworowej, dlatego też badania aktywności tych związków głównie dotyczyły hamowania angiogenezy, do czego świetnie sprawdza się model Tg(fli1a:EGFP). Do badania wykorzystano xenograft z linii komórkowych AGS (gruczolakorak żołądka) oraz SGC7901 (rak żołądka), które zostały wyznakowane barwnikiem CM-Dil umożliwiającym śledzenie komórek. Celem oceny działania proponowanych leków podawano różne dawki leku poprzez mikroinjekcje, badanie wykazało upośledzenie angiogenezy w obrębie ogona zależne od dawki u ryb którym uprzednio nie podano komórek nowotworowych. W grupie, której podano komórki nowotworowe również stwierdzono zależne od dawki zmniejszenie angiogenezy i proliferacji komórek w obrębie guza. (Jia-Qi i in. 2020)

### 3.2 Wykorzystanie szczepu Tg(fli1a:EGFP) do oceny wazotoksyczności

Podobnie do badań związanych z knockoutem genu *Mvda* możliwa jest obserwacja malformacji naczyń krwionośnych w reakcji na substancję, a tym samym ustalenie wazotoksyczności tejże substancji. Przykładem takiego badania może być prowadzone w 2021 badanie nad toksycznością O-etylo-O-(4-nitrofenylo)fenylofosfonotian (EPN). EPN jest to środek owadobójczy, który działa poprzez inhibicję enzymu acetylocholinesterazy, ostatecznie powodując działanie neurotoksyczne. Pomimo, iż jego działanie owadobójcze jest znane tak jak jego wpływ na ekosystem wodny, dokładny mechanizm działania na organizmy wodne pozostawał niezbadany. Prowadzone badanie miało głównie na celu poznanie mechanizmu toksyczności tegoż związku, jednakże badacze nie zaobserwowali zmian w naczyniach krwionośnych podczas pracy z użyciem modelu Tg(fli1a:EGFP) (Choe i in. 2021) Tego typu badania mogą wykazać wazotoksyczność badanej substancji, bądź ją wykluczyć wskazując na to, że toksyczność badanej substancji dotyczy układu innego niż krwionośny, bądź sprowadza się do określonego narządu. Innym, niezwykle interesującym badaniem, w którym zastosowano model Tg(fli1a:EGFP) jest badanie opisujące wpływ kwasu retinowego na barierę krew-siatkówka. W przytoczonym badaniu wspomniany wcześniej model został wykorzystany z wielu powodów takich jak możliwość wizualizacji układu naczyniowego w obrębie siatkówki, tym samym umożliwiając ocenę stanu bariery krew-siatkówka przed i po podaniu substancji, zastosowanie tegoż modelu umożliwiło prowadzenie tego typu

obserwacji na organizmach dorosłych i embrionach, przez cały okres ich rozwoju. Badanie wykazało, że sygnalizacja kwasu retinowego (RA) pełni istotną funkcję w utrzymywaniu integralności bariery krew-siatkówka, zakłócenie tego sygnalizowania zaś może przyczynić się do rozwoju zaburzeń widzenia.

### 3.3 Wykorzystanie szczepu Tg(fli1a:EGFP) w modelach chorób metabolicznych

Niekontrolowana hiperglikemia powoduje mikro- i makronaczyniowe uszkodzenia u pacjentów z cukrzycą. Transgeniczny model danio został wykorzystany do oceny wpływu glukozy oraz jej reaktywnych metabolitów (dikarbonyli) na tworzenie się naczyń. Badania wykazały, że wysokie stężenie glukozy oraz dikarbonyli powoduje deformacje w naczyniach krwionośnych znajdujących się między somitami. Natomiast duże naczynia takie jak grzbietowa aorta oraz żyła główna nie uległy uszkodzeniu. Zastosowane inhibitory receptora VEGF2, Akt/PKB czy aminoguanidyny zapobiega uszkodzeniom indukowanym przez wysokie stężenie glukozy i dikarbonyli, wskazując na nowe możliwości terapeutyczne (Jörgens i in. 2015)

Powszechnie wiadomo, że przewlekła hiperglikemia powoduje zmiany w siatkówce oka i widzeniu. Hiperglikemia wywołuje reakcje prozapalne prowadzące do rozpadu bariery krew-siatkówka i aktywacji komórki mikrogleju, w wyniku czego powstają reaktywne formy tlenu, efektem czego jest postępująca utrata wzroku. Zespół Singh i wsp. opracował larwalny model retinopatii cukrzycowej poprzez kilkudniową ekspozycję larw na glukozę w stężeniu 5%. Dzięki wizualizacji naczyń w siatkówce zaobserwowano liczne malformacje charakterystyczne dla tego zaburzenia. (Singh i in. 2019)

Natomiast zespół Wiggenhauser i wsp. opracowali model uszkodzenia naczyń poprzez delecję genu *pdx1*, co prowadzi do zaburzeń pracy trzustki i rozwoju hiperglikemii. Dzięki wizualizacji naczyń siatkówki zaobserwowano, że delecja *pdx1* prowadzi do otrzymania fenotypu odpowiadającego zmienionej patologicznie siatkówce podczas przebiegu retinopatii cukrzycowej. Potwierdzono również, że substancje anty-angiogenne (vanalajib) i przeciwcukrzycowe (metformina) wpływały na kształt i rozgałęzienia naczyń siatkówki. (Wiggenhauser i in. 2020)

Podsumowując, transgeniczna linia danio pręgowanego może być z powodzeniem wykorzystana do badań nad mechanizmami retinopatii i innych zaburzeń naczyniowych w przebiegu chorób metabolicznych.

## 4. Podsumowanie

Obecnie prowadzone badania z użyciem modelu Tg(fli1a:EGFP) pozwalają na lepsze zrozumienie procesów zachodzących w organizmie *Danio rerio* związanych z naczyniami krwionośnymi w wielu kontekstach. Model ten stanowi świetne źródło wartościowych danych na temat powstawania jak i funkcjonowania naczyń krwionośnych w organizmie danio pręgowanego. Może on przyczynić się do wielu odkryć w badaniach toksykologicznych, pozwalając ustalić ewentualną wazotoksyczność czy hamowanie angiogenezy w trakcie rozwoju organizmu. Ponadto model może okazać się przydatny w badaniach nad przyszłymi lekami przeciwnowotworowymi, których celem będzie angiogeneza zachodząca w tkance nowotworowej. Możliwość skupienia obserwacji na naczyniach krwionośnych zdecydowanie przyczyni się do lepszego poznania funkcji niektórych genów. Jednocześnie należy pamiętać o jego ograniczeniach i respektować je w trakcie projektowania przyszłych badań (Pollock i in. 2018)

## 5. Piśmiennictwo

Carra S, Gaudenzi G, Dicitore A i in. (2022) Modeling Lung Carcinoids with Zebrafish Tumor Xenograft, *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 15

Chen K, Wang C, Fan Y i in. (2018) Identification of mundoserone by zebrafish in vivo screening as a natural product with anti-angiogenic activity, *Experimental and therapeutic medicine*, 16(6), 4562-4568

- Choe H, Kim M, Jeon H i in. (2021) Acute toxicity of the insecticide EPN upon zebrafish (*Danio rerio*) embryos and its related adverse effects: Verification of abnormal cardiac development and seizure-like events, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 222, 112544
- Choi T, Choi T, Lee Y i in. (2021) Zebrafish as an animal model for biomedical research, *Experimental & Molecular Medicine*, 53(3), 310-317
- Czuma M, Koziół A, Gawlik M (2023) Advantages of the zebrafish (*Danio rerio*) model in solving contemporary problems of neurotoxicity, teratotoxicity and genotoxicity of xenobiotics, *Farmacja Polska*, 79, 463
- Danieluk K, Jakubaszek A, Mackiewicz J i in. (2016), Nowy kierunek badań naukowych w okulistyce z wykorzystaniem modelu *Danio rerio* (zebrafish), *Klinika Oczna*, 118,
- Dicatore A, Gaudenzi G, Carra S i in. (2023) Antitumor Activity of Axitinib in Lung Carcinoids: A Preclinical Study, *Cancers*, 15(22)Hubrecht, Carter (2019) The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change, *Animals*, 9(10)
- Jia-Qi W, Ruo-Yue F, Shi-Ru Z i in. (2020) A systematical comparison of anti-angiogenesis and anti-cancer efficacy of ramucirumab, apatinib, regorafenib and cabozantinib in zebrafish model, *Life Sciences*, 247, 117402
- Jörgens K, Stoll S, Pohl J i in. (2015) High tissue glucose alters intersomitic blood vessels in zebrafish via methylglyoxal targeting the VEGF receptor signaling cascade, *Diabetes*, 64, 213-225
- Kurach Ł, Chłopaś-Konowalek A, Budzyńska B i in. (2021) Etazene induces developmental toxicity in vivo *Danio rerio* and in silico studies of new synthetic opioid derivative, *Scientific Reports*, 11(1), 1-11
- Pakhomov A, Martynov V (2008) GFP Family: Structural Insights into Spectral Tuning, *Chemistry & Biology*, 15(8), 755-764
- Pollock J, Xie L, Bell B i in. (2018) Retinoic acid signaling is essential for maintenance of the blood-retinal barrier, *The FASEB Journal*, 32(10), 5674
- Singh A, Castillo H, Brown J i in. (2019) High glucose levels affect retinal patterning during zebrafish embryogenesis, *Scientific Reports*, 9(1), 1-13
- Tannenbaum J, Bennett B, (2015) Russell and Burch's 3Rs Then and Now: The Need for Clarity in Definition and Purpose, *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 54(2), 120
- Wiggenhauser L, Qi H, Stoll S i in. (2020) Activation of Retinal Angiogenesis in Hyperglycemic *pdx1*<sup>-/-</sup> Zebrafish Mutants, *Diabetes*, 69(5), 1020-1031
- Wong W, Huang Y, Wu Z i in. (2021) *Mvda* is required for zebrafish early development, *Biological Research* 54(1), 17



## **9. Aktualne wytyczne w leczeniu cukrzycy typu 2 - przegląd stosowanych leków**

Current guidelines for the treatment of type 2 diabetes - an overview of the drugs used

Jagoda Szponar, Łukasz Kurach

Samodzielna Pracownia Badań Behavioralnych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Chodźki 4A, 20-093 Lublin.

Opiekun naukowy: mgr Łukasz Kurach

Jagoda Szponar: jagodaszponar111@interia.pl

Słowa kluczowe: glikemia, leki przeciwcukrzycowe, powikłania naczyniowe, otyłość,

### **Streszczenie**

Nieprawidłowo kontrolowana glikemia jest przyczyną wielu poważnych powikłań zdrowotnych. Od uszkodzenia nerek i wzroku po problemy z układem sercowo-naczyniowym - skutki tej choroby mogą być rozległe i niestety trwałe. Pomimo wielu opcji terapeutycznych, które oferuje współczesna farmakologia, cukrzyca typu 2 nadal pozostaje jednym z największych wyzwań dla medycyny. Badania nad nowymi terapiami kontroli gospodarki węglowodanowej są nieustannie prowadzone, ponieważ istnieje potrzeba ciągłego udoskonalania sposobów leczenia i radzenia sobie z tą chorobą.

### **1. Wstęp**

Według raportu International Diabetes Federation na cukrzycę choruje obecnie około 537 milionów dorosłych, a liczba ta ma wzrosnąć do 643 milionów w 2030 r. i kolejno do 783 milionów w 2045 r. Obecnie zachorowalność na cukrzycę typu 2 osiągnęła status pandemii, co stanowi poważny problem dla zdrowia publicznego, wymagający wdrożenia leczenia farmakologicznego ukierunkowanego na różne składowe związane z zaburzeniami glikemii.

Trend występowania cukrzycy typu 2 w ogólnej populacji różni się w zależności od rasy, płci, wieku oraz stanu socjoekonomicznego. Najwyższa zachorowalność występuje wśród Rdzennych Amerykanów (33%) oraz mieszkańców Wysp Pacyfiku (18.3%) i kolejno maleje wśród Afro-Amerykanów (12.6%), Latyno-Amerykanów (11.8%), Amerykanów pochodzenia azjatyckiego (8.4%) i rasy białej (7.1%). Na różnice w występowaniu cukrzycy typu 2 składają się zarówno predyspozycje genetyczne ludzi w konkretnych populacjach, jednakże obecnie podkreśla znaczenie czynników społecznych i środowiskowych. Środowiska zamieszkiwane przez mniejszości etniczne charakteryzują się słabym dostępem do pełnowartościowej żywności oraz miejsc przeznaczonych dla aktywności fizycznej (Spanakis i Golden 2013). Rasizm stanowi dodatkowy czynnik stresogenny, a wysoki poziom aktywności kryminalnej ogranicza dzieci w spędzaniu aktywnego czasu poza domem (Egede et al. 2023). Cukrzyca typu 2 występuje częściej u osób płci męskiej, jednakże ryzyko wystąpienia choroby jest wyższe u osób płci żeńskiej, m.in ze względu na częstsze występowanie choroby otyłościowej (Cooper et al. 2021).

Wzrost wskaźników zachorowań na cukrzycę typu 2 wiąże się z globalnym trendem nadwagi i otyłości. Niekontrolowana glikemia niesie za sobą szereg powikłań, zarówno ostrych, jak i przewlekłych, które znacząco pogarszają jakość życia oraz zwiększają ryzyko rozwoju poważnych schorzeń. Do powikłań ostrych zaliczają się kwasicę ketonową, czyli zmniejszenie pH krwi, oraz ostrą hipoglikemię, czyli nagłe obniżenie poziomu glukozy we krwi, które może prowadzić do zaburzeń funkcjonowania układu nerwowego i nawet śpiączki. Powikłania przewlekłe to częste konsekwencje niekontrolowanej glikemii, obejmujące zarówno mikroangiopatie, dotyczące naczyń krwionośnych o niewielkim rozmiarze, jak i makroangiopatie, czyli zmiany w większych naczyniach krwionośnych. Powikłania przewlekłe są główną przyczyną chorób sercowo-naczyniowych, retinopatii cukrzycowej (uszkodzenia siatkówki oka), nefropatii cukrzycowej (uszkodzenia nerek),

neuropatii cukrzycowej (uszkodzenia nerwów) oraz zespołu stopy cukrzycowej, który może prowadzić nawet do amputacji kończyn dolnych (Cicek et al. 2021)

Widoczna jest zatem potrzeba skutecznego leczenia i prewencji cukrzycy, nie tylko poprzez kontrolę masy ciała i aktywność fizyczną, jak i regularne monitorowanie poziomu cukru we krwi oraz wtedy, kiedy to konieczne stosowanie odpowiedniej farmakoterapii.

## 2. Opis zagadnienia

Cukrzyca jest chorobą przewlekłą charakteryzującą się występowaniem hiperglikemii wynikającej z insulinooporności tkanek obwodowych oraz niedoboru insuliny. Choroba zaczyna się od utrzymującego się wysokiego poziomu glukozy we krwi, co prowadzi do hiperinsulinemii. Receptory insuliny znajdują się na komórkach mięśniowych, tłuszczowych i wątrobowych. Wysoki poziom insuliny powoduje osłabienie wrażliwości receptorów insulinowych na insulinę, co skutkuje progresywną dysfunkcją jej docelowych tkanek i dalszym pogłębieniem insulinooporności. W późniejszych stadiach, z powodu nadmiernej pracy, wytwarzające insulinę komórki  $\beta$  wyspy trzustki stają się niewydajne, co powoduje niedobór insuliny i prowadzi do utrzymującego się wysokiego poziomu glukozy we krwi i płynach fizjologicznych (Banday et al. 2020).

Wskazano kilka czynników rozwoju cukrzycy typu 2, jednak do najważniejszych z nich należy siedzący tryb życia oraz wysokoprzetworzona zachodnia dieta (Chatterjee et al. 2017) Brak aktywności fizycznej w połączeniu z dużą podażą kalorii prowadzi do otyłości i wzrostu procentowej zawartości tłuszczu trzewnego (Kolb i Martin 2017). WHO raportuje, że około 90% pacjentów z cukrzycą typu 2 jest otyłych. Nadmiar hormonalnie czynnej tkanki tłuszczowej dodatkowo przyczynia się do spadku liczby komórek  $\beta$  trzustki, co prowadzi do pogorszenia wrażliwości na insulinę i hiperglikemii. Co więcej, znaczna otyłość powoduje ogólnoustrojowe zapalenie, upośledzenie funkcjonowania mikrobiomu oraz indukuje stres oksydacyjny, a wszystko to odgrywa rolę w rozwoju i postępie insulinooporności prowadzącej do cukrzycy typu 2. (Wu et al. 2014).

Podkreśla się także znaczenie genetycznych i epigenetycznych czynników ryzyka, jednakże powiązano je ze zwiększoną zapadalnością na cukrzycę typu 2, a nie z bezpośrednim wywołaniem choroby (Wu et al. 2014) Ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2 pozytywnie koreluje ze stopniem pokrewieństwa między członkami rodzin np. dziećmi a rodzicami oraz między rodzeństwem (Medici et al. 1999). Przykładowe loci powiązane z częstotliwością występowania cukrzycy typu 2 to KCNJ11, TCF7L2, IRS1, MTNR1B, PPARG2, HHEX i FTO (Wu et al. 2014).

Wśród działań niepożądanych powszechnie przepisywanych leków wymienia się ich zdolność do wywoływania hiperglikemii i rozwoju cukrzycy. Lista tych leków obejmuje steroidy, leki przeciwpsychotyczne pierwszej i drugiej generacji, leki przeciwwretrowirusowe, chemioterapeutyki, leki immunosupresyjne stosowane w transplantologii, diuretyki tiazydowe, statyny i beta-blokery. Leki te przyczyniają się do rozwoju cukrzycy poprzez zwiększanie insulinooporności tkanek, uwalnianie glukozy z wątroby i aktywację PPAR-gamma, a także lipodystrofię, uszkodzenie komórek  $\beta$ -wysp trzustki, zmniejszenie wydzielania insuliny i wychwytu glukozy przez mięśnie szkieletowe.

Diagnostyka cukrzycy opiera się na wykonaniu pomiarów stężenia glukozy we krwi żyłnej. U pacjentów prezentujących objawy hiperglikemii wykonuje się oznaczenie tzw. glikemii przygodnej, polegającej na oznaczeniu poziomu glikemii o dowolnej porze dnia, niezależnie od czasu spożycia ostatniego posiłku. W przypadku wartości, dwukrotnie oznaczanej, glikemii przygodnej  $\geq 200$  mg/dl zaleca się wykonanie doustnego testu tolerancji glukozy (OGTT, ang. oral glucose tolerance test), podczas którego pacjent w ciągu max. 5 minut wypija 75 g glukozy rozpuszczonej w 300 ml wody. W przypadku dzieci podaje się mniejszą dawkę glukozy. U kobiet w ciąży wykonuje się dodatkowy pomiar po upływie 60 minut od wypicia glukozy. Poziom glikemii oznacza się przed wykonaniem testu oraz po upływie 120 minut od wypicia glukozy. Rozpoznanie stawia się na podstawie uzyskanych wyników zgodnie z Tab.1. Do pełnej diagnostyki stanu przedcukrzycowego opracowuje się wartość wskaźnika HOMA-IR, jako iloczyn poziomu insuliny we krwi na czczo (w mIU/l) i poziomu glukozy we krwi na czczo (w mmol/l) dzielone przez 22,5. Wynik  $\geq 2.5$  sugeruje insulinooporność (Kim et al. 2016)

**Tab. 1.** Wartości referencyjne oznaczeń glikemii dla OGTT. Parametr HbA<sub>1c</sub> określa poziom hemoglobiny glikowanej frakcji 1C jako wskaźnika występowania epizodów hiperglikemii w ciągu ostatnich 3 miesięcy.

	<b>Wartości prawidłowe</b>	<b>Stan przedcukrzycowy</b>	<b>Cukrzyca</b>
<b>Glikemia na czczo</b>	70–99 mg/dl	100–125 mg/dl	≥ 126 mg/dl
<b>Glikemia po 120 min</b>	< 140 mg/dl	140–199 mg/dl	≥ 200 mg/dl
<b>Poziom HbA<sub>1c</sub></b>	<5.7%	5.7–6.4%	≥6.5%

### 3. Przegląd literatury

Aktualne metody leczenia cukrzycy typu 2 obejmują farmakoterapię, dietę o niskim indeksie glikemicznym oraz aktywność fizyczną. Wybór odpowiedniego leku zależy nie tylko od stopnia zaawansowania cukrzycy oraz cech fizjologicznych pacjenta, ale przede wszystkim od stopnia ryzyka wystąpienia konkretnych powikłań np. epizodów sercowo-naczyniowych, niewydolności nerek czy też nefropatii (Toroski et al. 2019). Medykamentem stosowanym w pierwszym rzucie terapii są leki uwrażliwiające na insulinę m.in. metformina z grupy biguanidów (Samson et al. 2023).

#### 3.1 Biguanidy

Biguanidy zaczęły być stosowane w leczeniu cukrzycy od lat 50-tych XX w. Działają jako leki przeciwcukrzycowe ze względu na zdolność zmniejszania ilości glukozy uwalnianej przez wątrobę i zwiększania zużycia glukozy przez tkanki obwodowe, w tym mięśnie szkieletowe, obniżając poziom glukozy we krwi. Metformina to jedyny obecnie stosowany biguanid przeciwcukrzycowy, stosowany jako pierwszy w monoterapii lub w połączeniu z innym lekiem na każdym etapie zaawansowania cukrzycy. Dodatkowo wykazuje ona właściwości przeciwnowotworowe (nowotwory m.in trzustki, prostaty, piersi, wątroby oraz odbytnicy), przeciwzapalne i immunomodulujące, w testach na pacjentach z różnymi zaburzeniami odporności. Metforminę cechuje duży profil bezpieczeństwa. W około 90% jest wydalana wraz z moczem w przeciągu 12 godzin od spożycia. Nie powoduje hipoglikemii ani przyrostu masy ciała, przy czym najczęstszym działaniem niepożądanym są częste występowanie incydentów żołądkowo-jelitowych (Di Magno et al. 2022) Mechanizm działania leku jest złożony, uważa się, że metformina głównie wpływa na kinazę AMPK (ang. 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase) a przez to zmniejsza produkcję glukozy w wątrobie, usprawnia proces  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych oraz przyczynia się do zwiększenia gęstości insulinowrażliwych transporterów glukozy, takich jak GLUT1 i GLUT4 (Goel et al. 2022).

#### 3.2 Tiazolidynodiony

Jest to kolejna grupa leków uwrażliwiających na insulinę znana ze swoich silnych właściwości hipoglikemicznych. Są stosowane znacznie rzadziej w porównaniu do metforminy, głównie w przypadkach jej nietolerancji. Działają poprzez aktywację PPAR- $\gamma$  (ang. receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów) czyli grupy receptorów jądrowych obecnych w mięśniach, tkance tłuszczowej i wątrobie. Endogennymi ligandami tych receptorów są wolne kwasy tłuszczowe i eikozanoidy. Po aktywacji receptor wiąże się z DNA w kompleksie z receptorem retinoidowym X (RXR), zmieniając transkrypcję wielu genów zaangażowanych w metabolizm glukozy i lipidów oraz różnicowanie komórek tkanki tłuszczowej - adipocytów. Głównym efektem ekspresji i represji tych genów jest zwiększenie magazynowania kwasów tłuszczowych w adipocytach, a tym samym zmniejszenie ich ilości w krążeniu krwi. W rezultacie komórki stają się bardziej zależne od utleniania węglowodanów, a dokładniej glukozy, w celu uzyskania energii do

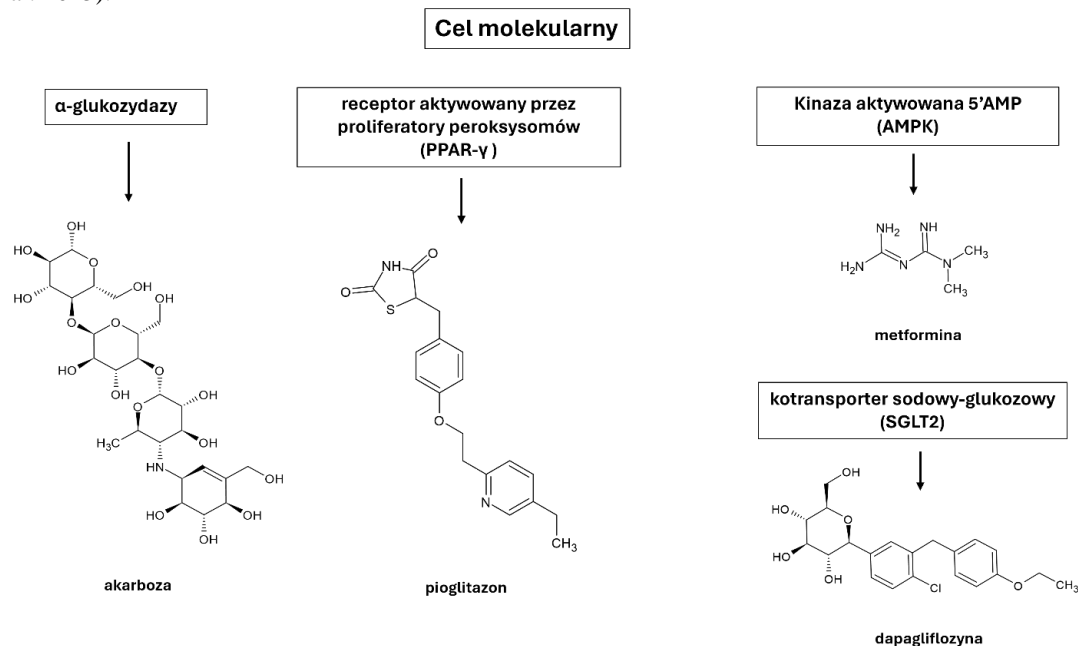
innych procesów komórkowych. Ponadto, dochodzi do zmniejszenia glukoneogenezy w wątrobie oraz zwiększenia wychwytu glukozy przez komórki. Substancji zaliczających się do tej grupy jest wiele (m.in. pioglitazon czy rosiglitazon), jednak większość z nich nie jest dostępna na rynku ze względu na duże ryzyko wystąpienia epizodów hiperglikemii (Vasudevan i Balasubramanyam 2004).

### 3.3 Inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego 2

Do tej klasy leków należą flozyny (np. dapaglifozyne) będące silnymi, selektywnymi i odwracalnymi inhibitorami SGLT2 (ang Sodium/glucose cotransporter 2). Jest to grupa leków przeciwcukrzycowych wpływających na nerki. Stanowią leki pierwszego rzutu u pacjentów z cukrzycą i chorobami układu krążenia, zwłaszcza niewydolnością serca, ponieważ wykazano, że leki te zmniejszają ryzyko hospitalizacji pacjentów z takimi chorobami współistniejącymi. Blokując białka transportera 2 związane z sodem i glukozą w kanalikach nerkowych nefronów, zmniejszają one wchłanianie zwrotne glukozy do kanalików nerkowych, promując wydalanie glukozy z moczem. Prowadzi to do łagodnego obniżenia poziomu glukozy we krwi. Mechanizm działania flozyn nie zależy od czynności komórek  $\beta$  trzustki, co powoduje niskie ryzyko hipoglikemii (Epstein et al. 2013).

### 3.4 Inhibitory $\alpha$ -glukozydazy

Stanowią one klasę leków przeciwcukrzycowych, jednak nie są lekami hipoglikemizującymi, gdyż nie mają bezpośredniego wpływu na wydzielanie ani wrażliwość na insulinę. Środki te spowalniają trawienie węglowodanów złożonych (hamowanie rozszczepienia oligo- i disacharydów) w jelicie cienkim, dzięki czemu glukoza pochodząca z trawienia przedostaje się do krwioobiegu z mniejszą szybkością co powoduje jej wolniejsze uwalnianie do krwi i efektywniejsze wykorzystanie przez insulinooporne tkanki. Pozwala to też uniknąć tzw. hiperglikemii po posiłkowej. Do tej klasy leków należą akarboza i miglitol. Są one skuteczne jedynie w samodzielnym obniżaniu poziomu glukozy we krwi w najwcześniejszych stadiach nieprawidłowej tolerancji glukozy, jednak zwykle przepisuje się je z innymi lekami przeciwcukrzycowymi (Joshi et al. 2015).



**Rys. 1.** Struktury przykładowych leków stosowanych w terapii cukrzycy typu 2 wraz z opisanym celem molekularnym. AMPK: kinaza białkowa aktywowana adenozyjno-5' monofosforanem, PPAR- $\gamma$ : receptory aktywowane przez proliferatory peroksydomów, SGLT2: kotransporter sodowo-glukozowy 2.

### 3.5 Analogi glukagonopodobne peptydu 1

Wraz z lub zamiast inhibitorów SGLT2 stosuje się analogi peptydów inkretynowych. Naśladują one działanie endogennego hormonu inkretynowego GLP-1, który jest uwalniany przez jelita po posiuku. Agoniści GLP-1, w tym jego analogi, wiążą się z błonowym receptorem GLP, co stymuluje uwalnianie insuliny z komórek  $\beta$  wysp trzustkowych, a dodatkowo hamuje rozkład glukagonu, obniżając w ten sposób stężenie glukozy we krwi. Ponadto zmniejszają apetyt oraz opróżnianie żołądka. Najpopularniejszymi analogami GLP-1 są semaglutyd (Ozempic®) i liraglutyd (Saxenda®). Są one również stosowane w leczeniu otyłości, jako jednej z przyczyn rozwoju cukrzycy typu 2 (Gupta 2013)

Wraz z postępowaniem terapii ocenia się poziom hemoglobiny glikowanej frakcji HbA<sub>1C</sub>, jako wyznacznika obecności epizodów hiperglikemii w przeciągu ostatnich 3 miesięcy. W przypadku poziomu HbA<sub>1C</sub> powyżej wartości docelowej  $\geq 6.5\%$  należy wprowadzić dodatkowy jeden lub dwa leki, które dotychczas nie były stosowane, (Kim et al. 2016)

### 3.6 Inhibitory dipeptydylopeptydazy-4

Inhibitory DDP-4 (ang. Dipeptidyl Peptidase IV) były pierwszą klasą leków przeciwcukrzycowych, które działają przede wszystkim, jako środki zapobiegające hiperglikemii, a nie ją zmniejszające. W stanie chorobowym DDP-4 inaktywuje GLP-1 i glukozozależny peptyd insulinotropowy (GIP), co jest zjawiskiem niekorzystnym u chorych na cukrzycę typu 2. Inhibitory DPP-4 zmniejszają poziom glukagonu i glukozy we krwi poprzez zwiększenie poziomu GLP-1 i GIP, które hamują uwalnianie glukagonu, co z kolei zwiększa wydzielanie insuliny, zmniejsza opróżnianie żołądka i obniża poziom glukozy we krwi (Deacon i Lebovitz 2016)

Gdy wartość HbA<sub>1C</sub> wciąż utrzymuje się powyżej wartości  $\geq 6.5\%$  należy zastosować insulinoterapię stosowane, (Kim et al. 2016).

### 3.7 Sulfonilomoczniki

Pochodne sulfonilomocznika zostały odkryte już w 1942 r. i były pierwszymi szeroko stosowanymi doustnymi lekami przeciwhiperglikemicznymi (np. glimepiryd). Pobudzają wydzielanie insuliny poprzez hamowanie kanału K<sub>ATP</sub> w komórkach  $\beta$  wysp trzustkowych. Należą jednak do najrzadziej stosowanych leków przeciwcukrzycowych ze względu na częste występowanie epizodów hipoglikemii (Luna et al. 1999) Warunkiem skuteczności leczenia tą grupą leków jest zdolność do wytwarzania endogennej insuliny, nie jest wskazane ich stosowanie w przypadku rozpoznanej otyłości i insulinooporności.

### 3.8 Meglitynidy

Podobnie jak pochodne sulfonilomocznika, meglitynidy również wiążą się z kanałem K<sub>ATP</sub> na powierzchni  $\beta$ -wysp trzustkowych, jednakże mniej trwale. Powoduje to gromadzenie się dodatnio naładowanego potasu wewnątrz komórki i falę depolaryzacji. Prowadzi to do otwarcia bramkowych napięciem kanałów Ca<sup>2+</sup> i uwolnienia insuliny (Grant i Graven 2016)

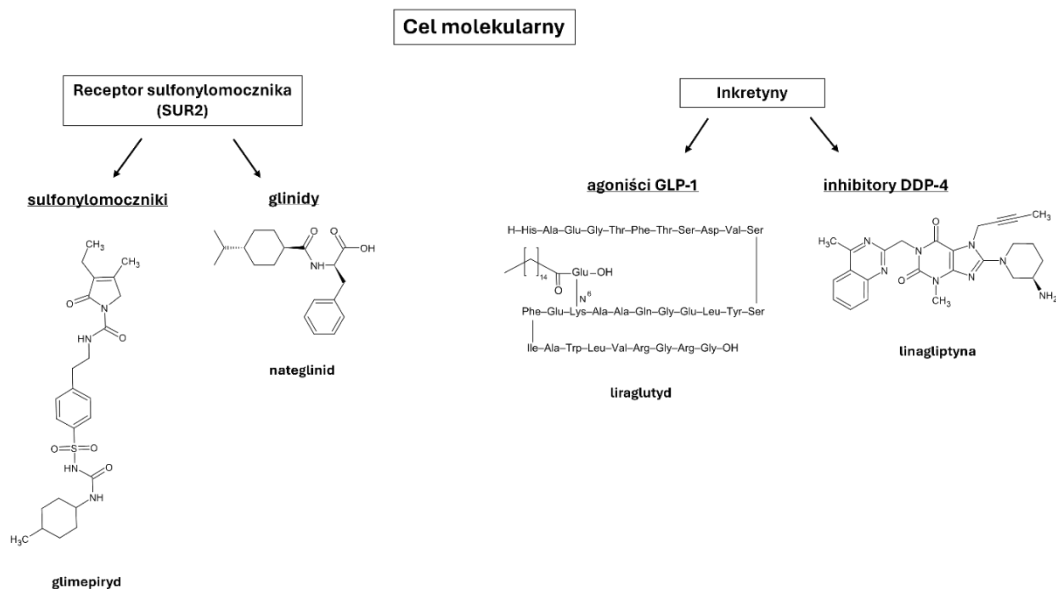
### 3.9 Insulina

Insulina jest hormonem peptydowym stosowanym, jako lek ze względu na swoje właściwości obniżające poziom glukozy. Jest stosowana zawsze w rozpoznaniu cukrzycy typu 1, jednakże znalazła również użycie w zaawansowanej cukrzycy typu 2 przebiegającej z uszkodzeniem  $\beta$ -komórek trzustki. Mechanizm działania insuliny polega na wiązaniu się z receptorem insulinowym na komórce docelowej, co umożliwia transport glukozy z krwi do komórki poprzez receptor GLUT-2/4, co prowadzi do zmniejszenia hiperglikemii. Preparaty insulinowe mogą być stosowane m.in. dzieli się w zależności od czasu działania, pochodzenia organizmu oraz tego, czy preparat zawiera jeden czy wiele rodzajów insuliny (Stubbs et al. 2017)

## 4. Podsumowanie

Nieprawidłowo kontrolowana glikemia może skutkować licznymi powikłaniami. Częstość występowania cukrzycy typu 2 jest bezpośrednio powiązana z nieodpowiednią dietą oraz brakiem

aktywności fizycznej, co ma swoje podłoże w stylu życia pacjenta jak i w warunkach socjoekonomicznych od niego niezależnych. Pomimo szerokiego dostępu do różnych leków przeciwcukrzycowych, nadal stanowi ona wyzwanie dla medycyny a przede wszystkim pacjenta. Konieczne jest poszukiwanie nowych terapii o wysokiej skuteczności, minimalizacji działań niepożądanych oraz umożliwiającej dostarczenie leczenia do jak największej grupy pacjentów.



**Rys. 2.** Struktury przykładowych leków stosowanych w terapii cukrzycy typu 2 wraz z opisanym celem molekularnym. DDP-4: dipeptydylopeptydaza-4, GLP-1: glukagonopodobny peptyd 1, SUR2: receptor sulfonylomocznika 2.

## 5. Literatura

- Banday, M. Z., Sameer, A. S., Nissar, S. (2020). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04), 174–188.
- Chatterjee, S., Khunti, K., Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *The Lancet*, 389(10085), 2239–2251.
- Cicek, M., Buckley, J., Pearson-Stuttard, J et al. (2021). Characterizing Multimorbidity from Type 2 Diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 50(3), 531–558.
- Cooper, A. J., Gupta, S. R., Moustafa, A. F et al. (2021). Sex/Gender Differences in Obesity Prevalence, Comorbidities, and Treatment. *Current Obesity Reports*, 10(4), 458–466.
- Deacon, C. F i Lebovitz, H. E. (2016). Comparative review of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and sulphonylureas. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 18(4), 333–347.
- Di Magno, L., Di Pastena, F., Bordone et al. (2022). The Mechanism of Action of Biguanides: New Answers to a Complex Question. *Cancers*, 14(13), 3220.
- Egede, L. E., Campbell, J. A., Walker, R. J et al. (2023). Structural Racism as an Upstream Social Determinant of Diabetes Outcomes: A Scoping Review. *Diabetes Care*, 46(4), 667–677.
- Epstein, B., Rosenwasser, R., Sutton, D et al. (2013). SGLT-2 inhibitors and their potential in the treatment of diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 453.

- Goel, S., Singh, R., Singh, V et al. (2022). Metformin: Activation of 5' AMP-activated protein kinase and its emerging potential beyond anti-hyperglycemic action. *Frontiers in Genetics*, 13.
- Grant, J. S i Graven, L. J. (2016). Progressing From Metformin to Sulfonylureas or Meglitinides. *Workplace Health & Safety*, 64(9), 433–439.
- Gupta, V. (2013). Glucagon-like peptide-1 analogues: An overview. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 17(3), 413.
- Joshi, S. R., Standl, E., Tong, N et al. (2015). Therapeutic potential of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in type 2 diabetes mellitus: an evidence-based review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 16(13), 1959–1981.
- Kim, D.-L., Kim, S.-D., Kim, S. K et al. (2016). Is an Oral Glucose Tolerance Test Still Valid for Diagnosing Diabetes Mellitus? *Diabetes & Metabolism Journal*, 40(2), 118.
- Kolb, H i Martin, S. (2017). Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Medicine*, 15(1), 131.
- Luna, B., Hughes, A. T. D., Feinglos, M. N. (1999). THE USE OF INSULIN SECRETAGOGUES IN THE TREATMENT OF TYPE 2 DIABETES. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 26(4), 895–915.
- Medici, F., Hawa, M., Ianari, A et al. (1999). Concordance rate for Type II diabetes mellitus in monozygotic twins: actuarial analysis. *Diabetologia*, 42(2), 146–150.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M et al. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, 384(9945), 766–781.
- Samson, S. L., Vellanki, P., Blonde, L et al. (2023). American Association of Clinical Endocrinology Consensus Statement: Comprehensive Type 2 Diabetes Management Algorithm – 2023 Update. *Endocrine Practice*, 29(5).
- Spanakis, E. K i Golden, S. H. (2013). Race/Ethnic Difference in Diabetes and Diabetic Complications. *Current Diabetes Reports*, 13(6), 814–823.
- Stubbs, D. J., Levy, N., Dhatariya, K. (2017). Diabetes medication pharmacology. *BJA Education*, 17(6), 198–207.
- Toroski, M., Kebriaeezadeh, A., Esteghamati, A et al. (2019). Patient and physician preferences for type 2 diabetes medications: a systematic review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 18(2), 643–656.
- Vasudevan, A. R i Balasubramanyam, A. (2004). Thiazolidinediones: A Review of Their Mechanisms of Insulin Sensitization, Therapeutic Potential, Clinical Efficacy, and Tolerability. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 6(6), 850–863.
- Wu, Y., Ding, Y., Tanaka, Y et al. (2014). Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *International Journal of Medical Sciences*, 11(11), 1185–1200.

## **10. Danio pręgowany jako model zwierzęcy w badaniach nad cukrzycą**

Zebrafish as an animal model for diabetes research

Jagoda Szponar, Łukasz Kurach

Samodzielna Pracownia Badań Behavioralnych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Chodźki 4A, 20-093 Lublin.

Opiekun naukowy: mgr Łukasz Kurach

Jagoda Szponar: jagodaszponar111@interia.pl

Słowa kluczowe: organizm modelowy, insulinooporność, hiperglikemia, wyspy  $\beta$  trzustki

### **Streszczenie**

Współcześnie stosowane leki przeciwcukrzycowe nie są w stanie ograniczyć stale zwiększającej się liczby powikłań i zgonów z powodu cukrzycy. Opracowanie nowych farmaceutyków wywiera nacisk na wyprowadzanie nowych i ulepszonych zwierzęcych modeli chorób metabolicznych w celu oceny ich bezpieczeństwa i skuteczności. Danio pręgowany umożliwia modelowanie zarówno cukrzycy typu 1 jak i typu 2 dzięki podobieństwu w budowie trzustki, metabolizmie glukozy i lipidów oraz odpowiednikach genów zaangażowanych w gospodarkę glukozy i insuliny. Niniejsze opracowanie podsumowuje dotychczasowe sposoby indukcji cukrzycy typu I i II z wykorzystaniem danio pręgowanego.

### **1. Wstęp**

Według raportu Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej na cukrzycę choruje około 537 milionów dorosłych, a liczba ta ma wzrosnąć do 643 milionów w 2030 r. i 783 milionów w 2045 r. (National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, 2002) Pomimo wielu od lat dostępnych leków przeciwcukrzycowych, ocenia się, że cukrzyca przyczynia się do około 11.3% zgonów w skali światowej. (Saeedi et al. 2020) Stanowi to poważny problem zdrowia publicznego, wymagający wdrożenia leczenia farmakologicznego ukierunkowanego na różne składowe związane z zaburzeniami glikemii. Opracowanie nowych farmaceutyków umożliwi wydłużenie czasu przeżycia pacjentów oraz poprawienie jakości ich życia. Dlatego niezmiernie ważne jest opracowanie nowych i skutecznych modeli zwierzęcych do badań nad zaburzeniami metabolicznymi, w tym różnymi podtypami cukrzycy.

Wykorzystywanie zwierząt do badań nad cukrzycą rozpoczęło się od psów, w tym od Marjorie, z organizmu której Fred Banting i Charles Best po raz pierwszy wyizolowali insulinę. (Kerbel i Poon 2021) Obecnie gryzonie oraz danio pręgowany to najpowszechniejsze organizmy modelowe wykorzystywane w badaniach biomedycznych, w tym w badaniu cukrzycy. Opracowanie zwierzęcego modelu cukrzycy wymaga zdolności indukowania insulinooporności tkanek oraz upośledzenia produkcji lub wydzielania insuliny, a także przewlekłego stanu hiperglikemii. Gryzonie są powszechnie wykorzystywane w badaniach nad cukrzycą ze względu na ich podobieństwo do ludzi pod względem metabolizmu glukozy oraz budowy i fizjologii trzustki. Wyhodowane selektywnie szczury Goto Kakizaki i mysz KK charakteryzują się hiperglikemią, hiperinsulinemią, insulinoopornością, dysfunkcją komórek  $\beta$  i wzrostem komórek wysp trzustkowych, co czyni je odpowiednimi do badań nad cukrzycą typu 2. Gryzonie są jednak modelem zwierzęcym wymagającym dużej przestrzeni i nadzoru, stałej opieki weterynaryjnej, profesjonalnego sprzętu i wystarczających środków, co czyni je dostępnymi jedynie dla placówek badawczych na wysokim poziomie. (Rees i Alcolado 2005)

O wiele łatwiejszym do uzyskania zwierzęcym modelem cukrzycy jest model z użyciem danio pręgowanego. Jest to organizm nie tylko łatwiejszy w hodowli i utrzymaniu, ale ze względu na swój mały rozmiar, krótki cykl życia i optyczną przezroczystość zarodków, stanowi niezawodny zwierzęcy model chorób ludzkich (Choi i Alcolado 2021). Stwierdzono istotne zgodności między metabolizmem glukozy u człowieka i danio pręgowanego, dzięki ewolucyjnie przetrwałej strukturze



komórkowej trzustki, wątroby i mięśni. U kilku kręgowców, w tym u danio pręgowanego, odkryto kluczowe geny regulujące rolę uwalniania hormonów trzustki i metabolizm glukozy. (Cao et al. 2023)

Po 5 dpf (ang. days post fertilization) larwy danio pręgowanego posiadają rozwinięte funkcjonujące struktury odpowiedzialne za metabolizm węglowodanów, lipidów i hormonów. Ich trzustka ma strukturę i skład komórkowy podobny do ssaków. Zarówno u ssaków, jak i danio pręgowanego trzustka składa się z układu zewnątrzwydzielniczego i hormonalnego. Pierwszy z nich wytwarza enzymy trawienne wydzielane do przewodu pokarmowego, natomiast drugi odpowiada za produkcję kluczowych dla homeostazy metabolizmu węglowodanów hormonów – insuliny, glukagonu i somatostatyny. Ponadto na tym etapie rozwoju danio pręgowanego poziom glukozy stabilizuje się, a larwa zaczyna korzystać z zewnętrznych źródeł pożywienia. Dzięki temu możliwa jest kontrolowana indukcja zaburzeń glikemicznych u larw. (van de Venter et al. 2020; Gut et al. 2013)

Należy podkreślić, iż organizm modelowy jakim jest danio pręgowany oprócz zalet posiada również wady. Pomimo podobieństwa w metabolizmie danio pręgowanego do metabolizmu ludzkiego, nie jest on w stanie odzwierciedlić złożoności organizmu ludzkiego w takim stopniu jak umożliwiają to gryzonie. Co więcej, szybkie tempo rozwoju embrionalnego jest cechą niekorzystną, w przypadku badań przeprowadzanych w konkretnym stadium rozwoju. Dodatkowo obecność chorionu do 48 hpf (ang. hours post fertilization) może utrudniać przenikanie cząsteczek, w tym leków, do embrionu. Obecnie wykorzystanie larw i osobników dorosłych danio pręgowanego, zgodnie z regułą 3R (ang. Replacement, Reduction, Refinement), jest rekomendowane do pilotażowych badań poprzedzających te z wykorzystaniem gryzoni. (Ali et al. 2011)

## **2. Opis zagadnienie**

### **2.1 Cukrzyca typu 1**

Jest to choroba metaboliczna o podłożu autoimmunologicznym, charakteryzująca się hiperglikemią spowodowaną niedoborem insuliny, wywodzącym się ze spadku ilości ją wydzielających komórek  $\beta$  wysp trzustki. Proces wyniszczenia kierowany jest przez autoagresywne limfocyty CD4+ i CD8+ oraz autoagresywne makrofagi naciekające wyspy trzustkowe. Jednakże, nie u wszystkich pacjentów z cukrzycy typu 1 wykrywane zostają komponenty immunologiczne, mogące odpowiadać za rozwój choroby, tj. obecność autoprzeciwciał lub nieprawidłowości w genach odpowiedzialnych za reakcję immunologiczną. Obecnie proponowany jest podział cukrzycy typu 1 na 2 podtypy. Ze względu na etiologię choroby można wyróżnić cukrzycę typu 1B (autoimmunologiczną) stanowiącą około 80% przypadków oraz cukrzycę typu 1B (idiopatyczną) o nieznanym przyczynie i nie wykazującej cech autoagresji. Pierwotnie cukrzyca typu 1 była określana chorobą wieku dziecięcego, co związane jest z manifestacją objawów najczęściej już w dzieciństwie, a także wysoką śmiertelnością chorych w czasach przed odkryciem insuliny. Była uznawana za chorobę śmiertelną a jedynym dostępnym wówczas leczeniem była ścisła głodówka, co u dzieci prowadziło do stopniowego wyniszczenia całego organizmu (zwana również jako ang. wasting-away disease). (Zaccardi et al. 2016)

Występowanie cukrzycy typu 1 znacznie się różni na przestrzeni zarówno kontynentów jak sąsiadujących ze sobą krajów, z najwyższym występowaniem u osób pochodzenia europejskiego. Finlandia przoduje w ilości osób chorych na cukrzycę typu 1 z częstotliwością ponad 60 przypadków na 100 000 mieszkańców każdego roku co stanowi około 1.25 % populacji tego kraju. Natomiast Estonia, która od Finlandii oddalona jest o około 120 km, odnotowuje około 10 przypadków na 100 000 mieszkańców rocznie i stanowi około 0,47 % populacji tego kraju. Stosunkowo niewielką ilość przypadków odnotowuje się w krajach Ameryki Południowej, Afryki oraz Azji Południowej. Częstotliwość występowania cukrzycy typu 1, również się różni w zależności od pory roku, z wyższą ilością diagnoz na jesień oraz w zimie.

Powód rozbieżności w występowaniu cukrzycy typu 1 nie został określony, jednakże przede wszystkim typuje się czynniki środowiskowe tj. powszechność źródeł witaminy D, sposób żywienia w dzieciństwie, przebyte zakażenia wirusowe oraz poziom higieny najbliższego otoczenia.

W przeciwieństwie do cukrzycy typu 2, czynniki genetyczne stanowią znaczącą rolę w rozwoju cukrzycy typu 1. Większość loci związanych z ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 1 obejmuje geny związane z odpowiedzią immunologiczną, co w przypadku nieprawidłowości wspólnie przyczyniają się do nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej, w tym rozwoju i utrzymania tolerancji. Mechanizm ten może pomóc wyjaśnić odmienne tempo progresji do cukrzycy typu 1 u dorosłych w porównaniu do dzieci, u których odnotowano jedynie niewielkie różnice w podatności genetycznej. (Atkinson et al. 2014; Gillespie 2006)

## 2.2 Cukrzyca typu 2

Jest to przewlekła choroba metaboliczna charakteryzująca się hiperglikemią wywodząca się z rozwoju insulinooporności tkanek obwodowych, która prowadzi do zaburzeń wydzielania i produkcji insuliny. Choroba zaczyna się od przewlekłej hiperglikemii powodującej hiperinsulinemię. Receptory insuliny znajdują się w komórkach mięśni, tłuszczu i wątroby. Ze względu na wysoki poziom insuliny wrażliwość receptorów insuliny na insulinę słabnie, co powoduje nieprawidłowe działanie tkanek docelowych i dalsze pogorszenie insulinooporności. W późniejszych stadiach produkujące insulinę wyspy  $\beta$  trzustki stają się nieefektywne, powodując niedobór insuliny i prowadząc do stale wysokiego poziomu glukozy we krwi i płynach fizjologicznych. (Banday. 2020)

Ustalono kilka czynników rozwoju cukrzycy typu 2, jednak najważniejsze z nich to siedzący tryb życia i zachodnia dieta. (Chatterjee et al. 2017) Brak aktywności fizycznej w połączeniu z wysokim spożyciem kalorii prowadzi do otyłości i wzrostu procentowej zawartości tłuszczu trzewnego. (Kolb i Martin 2017; Ng et al. 2014) WHO (World Health Organization) raportuje, że około 90% pacjentów z cukrzycą typu 2 jest otyłych. Nadmiar hormonalnie aktywnej tkanki tłuszczowej przyczynia się dodatkowo do spadku liczby komórek  $\beta$  trzustki, co prowadzi do pogorszenia wrażliwości na insulinę i hiperglikemii. Co więcej, znaczna otyłość powoduje ogólnoustrojowy stan zapalny, dysfunkcję mikrobiomu i niedotlenienie tkanek, które odgrywają rolę w rozwoju i postępie insulinooporności skutkującej cukrzycą typu 2. Podkreśla się również znaczenie czynników ryzyka genetycznego i epigenetycznego, jednak zostały one powiązane ze zwiększoną podatnością na cukrzycę typu 2, a nie z bezpośrednim powodowaniem choroby. (Wu et al. 2014)

Dodatkowo ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2 wydaje się korelować ze stopniem podobieństwa genetycznego między spokrewnionymi osobami (Medici et al. 1999) Przykłady loci, które uznano za powiązane z występowaniem cukrzycy typu 2 to *kcj11*, *tcf7l2*, *irs1*, *mtnr1b*, *pparg2*, *hhx1* i *fto*. (Wu et al. 2014)

## 3. Przegląd literatury

### 3.1 Modele cukrzycy typu 1

#### Ablacja komórek beta wysp trzustki

Jedną z najpopularniejszych metod indukcji cukrzycy typu 1 u zwierząt należy ablacja komórek trzustki wywołana streptozotocyną (STZ) lub alloxanem. Są to selektywne metody powodujące uszkodzenie tylko komórek w obrębie trzustki. Oba związki powodują apoptozę komórek wysp poprzez alkilację lub uszkodzenie DNA, co skutkuje niewystarczającym wydzielaniem insuliny i podwyższonym stężeniem glukozy we krwi. (Mostafavinia et al., 2016) STZ jest rozpuszczalny w wodzie, ale jego wodny roztwór jest wyjątkowo niestabilny w temperaturze pokojowej, co stanowi problem względem typowej ekspozycji dania przegowanego na substancje – imersja w roztworze wodnym. Po iniekcji dorosłemu osobnikowi dania przegowanego obserwuje się podwyższone stężenie glukozy we krwi i znaczne obniżenie stężenia insuliny we krwi i trzustce. Ponadto, rozwijają się powikłania charakterystyczne dla przebiegu cukrzycy, tj. nefropatia cukrzycowa i apłazja płetwy ogonowej. (Wang et al. 2020) Alloxan również z powodzeniem może być wykorzystany do indukcji cukrzycy typu 1 zarówno u postaci larwalnej jak również dorosłych osobników powodując zwiększenie stężenia glukozy i nasilenie stresu oksydacyjnego. Aczkolwiek jest mniej preferowany ze względu na większą toksyczność (Sudhakaran et al. 2022)

### 3.2 Transgeniczne modele cukrzycy typu 1

Jedną z ciekawych możliwości jest wykorzystanie systemu nitroreduktaz (NTR) do selektywnej ablacji komórek beta trzustki. Technika ta opiera się na zdolności enzymu wspomnianego enzymu, pochodzącego z *Escherichia coli* do przekształcania nietoksycznego proleku - metronidazolu w cytotoksyczny metabolit. W pierwszym etapie NTR jest redukowany przez NADH (dinukleotyd nikotynamidoadeninowy) lub NADPH (zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego). Następnie metronidazol wiąże się z NTR i jest elektrochemicznie redukowany i przekształcany w czynnik sieciujący między niciami DNA, co powoduje śmierć komórki posiadającej NTR. Ponadto, fuzja znacznika fluorescencyjnego z NTR umożliwia monitorowanie przemian w komórce z ekspresją NTR podczas oraz po ekspozycji na metronidazol. Dzięki temu możliwa jest analiza regeneracji tkanek po ablacji co może umożliwić wyjaśnienie mechanizmów komórkowych i molekularnych leżących u podstaw regeneracji tkanek. (Curado et al. 2008)

### 3.3 Modele cukrzycy typu 2

#### Indukcja cukrzycy typu 2 za pomocą diety

Jedną z popularniejszych i łatwiej dostępnych metod indukcji cukrzycy typu 2 jest przekarmianie osobników danio pręgowanego wysoko kalorycznym pokarmem. Umożliwia to nie tylko uzyskanie hiperglikemii, ale również dodatkowych nieprawidłowości metabolicznych towarzyszących cukrzycy typu 2 tj. nadmierna akumulacja lipidów w wątrobie i przerost depozytów, zwłaszcza w tkance tłuszczowej trzewnej, której towarzyszą zmiany w ekspresji genów markerowych metabolizmu lipidów, zapalenia i zwłóknienia. W tym celu wykorzystuje się gotowe wysokotłuszczowe karmy bądź też pokarm naturalny składający się ze słodkowodnych wrotek (*Brachionus calyciflorus*) oraz słonaczków (*Artemia Salina*). Podczas eksperymentu ocenia się m.in masę ciała, wskaźnik BMI (ang. Body Mass Index) oraz procent tkanki tłuszczowej porównując uzyskane wartości z wartościami uzyskanymi od danio pręgowanego karmionego w warunkach fizjologicznych. Dodatkowo warto ocenić wskaźniki sugerujące rozwój zespołu metabolicznego tj. stężenie glukozy we krwi, poziom trójglicerydów i cholesterolu w osoczu oraz procent tkanki tłuszczowej wisceralnej. (Landgraf et al. 2017; Zang et al. 2017)

#### Indukcja cukrzycy typu 2 za pomocą roztworu glukozy

Najprostszym sposobem wywołania hiperglikemii i jej długoterminowych powikłań jest inkubowanie danio pręgowanego w wysokich stężeniach glukozy przez kilka tygodni. Glukoza rozpuszczona w buforze E3 jest absorbowana do krwi danio pręgowanego przez skórę, przez jamę gębową oraz przez skrzelia wywołując hiperglikemię. Jest to metoda tania, nieinwazyjna oraz łatwo dostępna, jednakże należy podkreślić, iż nie wpływa bezpośrednio na gospodarkę insulinową zatem nie indukują one pełnego fenotypu cukrzycy. Zostało opracowane wiele modyfikacji metody np. wprowadzające okresy ekspozycji na glukozę oraz okresy na czczo, co lepiej odwzorowuje niestabilność glikemii u cukrzyków. Wykorzystując larwy lub młode osobniki danio pręgowanego zalecane jest stopniowe zwiększanie stężeń glukozy używanych do immersji, ze względu na możliwość przystosowania się osobników do stale wysokiego stężenia glukozy. Najczęściej występującymi powikłaniami występującymi po wykorzystaniu tej metody są retinopatia oraz powikłania kardio-waskularne. (Jörgens et al. 2012; McCarthy et al. 2021)

## 4. Podsumowanie

Opracowanie nowych leków przeciwcukrzycowych jest kluczowe w redukcji przypadków zachorowań na cukrzycę typu 1 oraz cukrzycę typu 2. Organizmy modelowe są wartościowym narzędziem do oceny bezpieczeństwa oraz skuteczności nowych leków. Dotychczas "złotym standardem" w badaniach substancji przeciwcukrzycowych stanowiły modele z użyciem gryzoni, jednakże danio pręgowane jest coraz częściej stosowanym organizmem w badaniach biomedycznych ze względu na korzystny stosunek korzyści oraz ograniczeń jego zastosowania. Opracowano wiele modeli cukrzycy danio pręgowanego, różniących się między sobą m.in ze względu na różnice w etiologii cukrzycy typu 1 oraz typu 2, ale również ze względu na złożoną manifestację oraz

wieloukładowe powikłania choroby. Przyszłość leczenia cukrzycy się wskazuje na zwiększającą się ilość badań wykorzystujących ten organizm modelowy, co daje nadzieję na wydłużenie oraz polepszenie jakości życia pacjentów.

## 5. Bibliografia

- Ali, S., Champagne, D. L., Spaink, H. P et al. (2011). Zebrafish embryos and larvae: A new generation of disease models and drug screens. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 93(2), 115–133.
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), 69–82.
- Banday, M. Z., Sameer, A. S., Nissar, S. (2020). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04), 174–188.
- Cao, Y., Chen, Q., Liu, Y et al. (2023). Research Progress on the Construction and Application of a Diabetic Zebrafish Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5195.
- Chatterjee, S., Khunti, K., Davies, M. J. (2017). Type 2 diabetes. *The Lancet*, 389(10085), 2239–2251.
- Choi, T.-Y., Choi, T.-I., Lee, Y.-R et al. (2021) Zebrafish as an animal model for biomedical research. *Experimental & Molecular Medicine*, 53(3), 310–317.
- Curado, S., Stainier, D. Y. R., Anderson, R. M. (2008). Nitroreductase-mediated cell/tissue ablation in zebrafish: a spatially and temporally controlled ablation method with applications in developmental and regeneration studies. *Nature Protocols*, 3(6), 948–954.
- Gillespie, K. M. (2006). Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *Canadian Medical Association Journal*, 175(2), 165–170.
- Gut, P., Baeza-Raja, B., Andersson, O et al. (2013). Whole-organism screening for gluconeogenesis identifies activators of fasting metabolism. *Nature Chemical Biology*, 9(2), 97–104.
- Jörgens, K., Hillebrands, J.-L., Hammes, H.-P et al. (2012). Zebrafish: A Model for Understanding Diabetic Complications. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 120(04), 186–187.
- Kerbel, D i Poon, A. (2021). *Fred & Marjorie: A Doctor, a Dog, and the Discovery of Insulin*. Owlkids Books Incorporated.
- Kolb, H i Martin, S. (2017). Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Medicine*, 15(1), 131.
- Landgraf, K., Schuster, S., Meusel, A et al. (2017). Short-term overfeeding of zebrafish with normal or high-fat diet as a model for the development of metabolically healthy versus unhealthy obesity. *BMC Physiology*, 17(1), 4.
- McCarthy, E., Rowe, C. J., Crowley-Perry, M et al. (2021). Alternate Immersion in Glucose to Produce Prolonged Hyperglycemia in Zebrafish. *Journal of Visualized Experiments*, 171.
- Medici, F., Hawa, M., Ianari, A et al. (1999) Concordance rate for Type II diabetes mellitus in monozygotic twins: actuarial analysis. *Diabetologia*, 42(2), 146–150.
- Mostafavinia, A., Amini, A., Ghorishi, S. K et al. (2016). The effects of dosage and the routes of administrations of streptozotocin and alloxan on induction rate of type1 diabetes mellitus and mortality rate in rats. *Lar*, 32(3), 160–165.
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, E. and T. of H. B. C. in A. (Adult T. P. I. (2002). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, 106(25), 3143–3421.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M et al. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, 384(9945), 766–781.
- Rees, D. A i Alcolado, J. C. (2005). Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 22(4), 359–370.

- Saeedi, P., Salpea, P., Salpea, S et al. (2020). Mortality attributable to diabetes in 20–79 years old adults, 2019 estimates: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 162, 108086.
- Sudhakaran, G., Rajesh, R., Guru, A et al. (2022). Deacetylated nimbin analog N2 fortifies alloxan-induced pancreatic  $\beta$ -cell damage in insulin-resistant zebrafish larvae by upregulating phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) and insulin levels. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 454, 116229.
- van de Venter, M., Didloff, J., Reddy, S et al. (2020). Wild-Type Zebrafish (*Danio rerio*) Larvae as a Vertebrate Model for Diabetes and Comorbidities: A Review. *Animals*, 11(1), 54.
- Wang, X., Yang, X., Liu, K et al. (2020). Effects of streptozotocin on pancreatic islet  $\beta$ -cell apoptosis and glucose metabolism in zebrafish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46(3), 1025–1038.
- Wu, Y., Ding, Y., Tanaka, Y et al. (2014). Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *International Journal of Medical Sciences*, 11(11), 1185–1200.
- Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T et al. (2016). Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 92(1084), 63–69.
- Zang, L., Shimada, Y., Nishimura, N. (2017). Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Scientific Reports*, 7(1), 1461.

## **11. Wpływ substancji poli- i perfluorowanych na układ hormonalny ludzi i zwierząt**

Effects of poly- and perfluorinated substances on the endocrine system of humans and animals

Szymków Paweł

Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet  
Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Opiekun naukowy: prof. dr hab. inż. Iwona Bogacka

Paweł Szymków: pawel1szymkow@gmail.com

Słowa kluczowe: substancje perfluoroalkilowe, substancje polifluoroalkilowe, związki endokrynnie czynne

### **Streszczenie**

Stosowanie substancji poli- i perfluorowanych (PFAS) sięga początku drugiej połowy XX wieku. Obecnie ta grupa obejmuje około 5000 związków. Ich szczególne właściwości pozwoliły wykorzystać je w przemyśle przetwórstwa żywności, tekstylnym, chemicznym i w produkcji elektroniki użytkowej. Uwalniane do środowiska PFAS nie ulegają biodegradacji ze względu na znaczną odporność na warunki środowiskowe. Powoduje to ich bioakumulację w środowisku i organizmach żywych. Ich obecność odnotowano w wodzie pitnej i żywności, co stwarza zagrożenie dla zdrowia ludzi. Badania na modelach zwierzęcych sugerują, że PFAS mogą prowadzić do rozwoju nowotworów, zaburzeń reprodukcji oraz negatywnie wpływać na rozwój zarodków. Natomiast dane dotyczące ludzi narażonych na wysokie dawki PFAS wskazują na ich związek z zaburzeniami wydzielania hormonów tarczycy i hormonów płciowych. PFAS są szczególnie trudne w badaniu ze względu na znaczne różnice w ich metabolizmie i wydalaniu z organizmu występujące między gatunkami. W miarę wzrostu zanieczyszczeń środowiska substancjami poli- i perfluorowanymi, istnieje pilna potrzeba dalszych badań i regulacji, aby zminimalizować zagrożenia dla zdrowia i środowiska.

### **1. Wstęp**

Pierwszą definicję substancji endokrynnie czynnych przedstawiła Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych. Definicja ta obejmuje związki mogące zakłócać syntezę, wydzielanie, transport, działanie i eliminację hormonów w organizmach zwierząt oraz naśladować ich działanie (Kabir i in. 2015). Powszechność tych związków w naszym otoczeniu spowodowała zainteresowanie badaczy ich wpływem na zdrowie zwierząt i ludzi (Kavlock i in. 1996). Substancje chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną możemy podzielić na dwie kategorie: naturalne i sztucznie syntezowane. Pierwsza obejmuje fitoestrogeny, genisteiny i kumestrol występujące w żywności pochodzenia zwierzęcego i roślinnego. Do drugiej kategorii należą syntezowane chemicznie odczynniki wykorzystywane w przemyśle (rozpuszczalniki, smary) i ich pochodne np. polichlorowane bifenyle (PBC), polibromowane bifenyle (PBB) oraz substancje perfluoroalkilowe i polifluoroalkilowe (PFAS), takie jak kwas perfluorooktanowy (PFOA) i sulfonian perfluorooktanu (PFOS) (Domingo i Nadal 2019).

### **2. Opis zagadnienia**

Stosowanie substancji poli- i perfluorowanych sięga początku drugiej połowy XX wieku. Obecnie ta grupa obejmuje około 5000 związków. Ich szczególne właściwości pozwoliły wykorzystać je jako czynniki chłodnicze, pianące, gaśnicze. Można je znaleźć w przemyśle tekstylnym, farbach, przetwórstwie żywności, czy też produkcji naczyń kuchennych, opakowań do żywności, dywanów i elektroniki. Ze względu na stabilność chemiczną wiązań fluor-węgiel, związki

te charakteryzują się odpornością na wysoką temperaturę, traktowanie olejami i wodą oraz zmiany pH otoczenia (Savoca i Pace 2021). Stabilność tych związków spowodowała znaczne zanieczyszczenie środowiska. Nie są one rozkładane przez organizmy żywe oraz nie podlegają degradacji w środowisku. Ponadto mają zdolność do bioakumulacji. W ostatnich latach organy regulacyjne i ośrodki badawcze podjęły kroki w kierunku oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska i wpływu trwałych zanieczyszczeń chemicznych na organizmy żywe (Savoca i Pace 2021).

Szczególne zainteresowanie wśród badaczy budzą PFAS, które są powszechnie stosowane w opakowaniach przeznaczonych do przechowywania żywności i powierzchniach nieprzywierających, którymi pokryte są między innymi przybory kuchenne. Rodzina związków PFAS obejmuje między innymi kwasy: perfluorooktanowy (PFOA), perfluoroheksanosulfonowy (PFHxS) i sulfonian perfluooktanu (PFOS), będące najczęściej badanymi związkami (Panieri i in. 2022). Znaczącym źródłem PFAS w diecie jest woda pitna. Szacuje się, że długotrwałe spożywanie zanieczyszczonej wody pitnej powoduje akumulację PFAS w surowicy krwi. Stężenie PFAS może osiągnąć poziom 100 razy wyższy niż występujący w spożywanej wodzie, podczas gdy potencjalne negatywne skutki dla zdrowia ludzi mogą wystąpić w czasie długotrwałej ekspozycji na poziom już 70 części na bilion (ppt) (Panieri i in. 2022). Wiele badań, wykorzystujących metody o wysokiej czułości takie jak chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS), wskazują na istotne skażenie PFAS zasobów wodnych różnych krajów (Panieri i in. 2022).

Poza zanieczyszczeniem fizycznym (wód, gleby i powietrza), dla ludzi najistotniejszą drogą przyjmowania PFAS jest spożycie zanieczyszczonej żywności, na przykład dzikich i hodowanych owoców morza (Savoca i Pace 2021). Niedawne badania wykazały występowanie PFAS w rybach (m.in., flądry, makreli atlantyckiej, płamiaka europejskiego, morszczuka, labraksa) i owocach morza mogące powodować nawet trzykrotne przekroczenie dawki dopuszczalnej do spożycia przy ich regularnym spożywaniu (Barbarossa i in. 2016).

W 2007 roku Olsen i in. przeprowadzili doświadczenie mające na celu określić biologiczny okres półtrwania związków PFAS w surowicy ludzkiej. Grupie 24 mężczyzn i 2 kobiet – emerytowanych pracowników produkcji fluorochemikaliów, przez 5 lat okresowo pobierano próbki krwi, w których oznaczano poziomy PFOS, PFHxS i PFOA. Analizy przeprowadzono przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Analiza statystyczna początkowych i końcowych stężeń PFAS w surowicy uczestników pozwoliła oszacować arytmetyczny i geometryczny biologiczny okres półtrwania dla poszczególnych substancji. Wynosiły one odpowiednio 5,4 i 4,8 lat dla PFOS, 8,5 i 7,3 lat dla PFHxS oraz 3,8 i 3,5 lat dla PFOA. Psy rasy beagle, myszy (łac. *Mus musculus*) i makaki krabożerne (łac. *Macaca fascicularis*) eliminują wyżej wymienione związki w ciągu 14-40 dni. Ponadto, u szczurów występuje znaczna różnica w tempie usuwania PFAS zależna od płci (Hanhijärvi i in. 1988; Butenhoff i in. 2004; Hundley i in. 2006). Długi okres półtrwania PFAS w surowicy ludzkiej wskazuje na znaczne różnice w metabolizmie tych związków między zwierzętami laboratoryjnymi i ludźmi.

### **3. Przegląd literatury**

Długołańcuchowe PFAS i związki pokrewne mają duży potencjał do bioakumulacji, podczas gdy krótkołańcuchowe PFAS zwykle znajdują się w środowisku wodnym. Istnieją obawy dotyczące tego, w jaki sposób obecność PFAS w środowisku wodnym może wpływać na florę i faunę.

PFOA jest łatwo wchłaniany przez organizmy zwierząt, a jego eliminacja zależy między innymi od mechanizmów transportu aktywnego, różniącego się między gatunkami zwierząt i płcią. Savoca i in. (2023) w swoim raporcie donosi, że PFOA powoduje uszkodzenia narządów prowadząc do rozwoju nowotworów i działa toksycznie na rozwój zarodków i procesy reprodukcyjne u zwierząt morskich. Oprócz występowania w próbkach środowiskowych, jest on wykrywany w tkankach zwierząt i krwi ludzi. Obecność PFAS stwierdzono we krwi, wątrobie, nerkach, mięśniach, sercu i mózgowiu różnych gatunków zwierząt. Szczególnie długołańcuchowe PFAS mają predyspozycje do pokonywania bariery krew-mózg. Ich obecność potwierdzono w hipokampie, pniu mózgu, podwzgórz, rdzeniu przedłużonym i wzgórzu ludzi i dzikich zwierząt. Nagromadzone PFAS wywołują efekty toksyczne, prowadzące do nieprawidłowości w wydzielaniu neurotransmiterów

i zaburzeń w gospodarce wapniowej. Konsekwencją odkładania się długołańcuchowych PFAS w tkance centralnego układu nerwowego są zaburzenia behawioralne i poznawcze (Cao i Ng 2021).

### 3.1 Badania *in vitro*

Badania *in vitro* wykazują, że nawet niewielkie dawki substancji poli- i perfluorowanych powodują ostre, choć odwracalne, zaburzenia funkcjonowania komórek tarczycy. PFOS i PFOA hamują wychwyt jodku i zmniejszają jego wewnątrzkomórkowe stężenie w tkance tarczycy. Jednakże, nie zwiększają wypływu jodku z komórek tarczycy (Panieri i in. 2022).

Doświadczenia na linii szczurzych komórek tarczycy dowiodły zwiększoną śmiertelność komórek w wyniku działania PFAS. W trakcie tego eksperymentu zaobserwowano również, że PFOS i PFOA docierały do wnętrza komórek na drodze biernej dyfuzji zgodnej z gradientem stężeń (Coperchini i in. 2015). Autorzy innego badania prowadzonego z wykorzystaniem tej samej linii komórkowej porównali działanie długołańcuchowych PFAS, w tym sulfonianu perfluorooktanu (PFOS), i krótkołańcuchowych PFAS. Wykazano, że tylko PFOS miał istotny wpływ na przeżywalność komórek i procesy syntezy cAMP, sugerując że głównie długołańcuchowe związki poli- i perfluorowane powodują ostre działania cytotoksyczne (Panieri i in. 2022). Rosenmai i in. (2016) badali wpływ 16 substancji należących do rodziny PFAS i 3 mieszanek technicznych używanych w produkcji opakowań na żywność, na syntezę hormonów płciowych. W doświadczeniu zastosowano ludzkie komórki raka kory nadnerczy (ATCC) i całe jądra pobrane od płodów szczurzych. Komórki ATCC zareagowały na połowę analizowanych PFAS. Między innymi kwas perfluorodekanowy (PFDA), kwas perfluoroundodekanowy (PFUnDA), kwas perfluorododekanowy (PFDoDA) i jedna mieszanka techniczna spowodowały wzrost stężenia  $17\beta$ -estradiolu, natomiast na poziom testosteronu i progesteronu nie wpływała żadna z badanych substancji. Badane jądra szczurów nie wykazały istotnych statystycznie różnic w syntezie testosteronu.

### 3.2 Badania *in vivo*

Wpływ PFOA na ekspresję genów zaangażowanych w utrzymanie homeostazy i detoksykację w gonadach oraz rozwój zarodków pochodzących od rodziców traktowanych PFOA, określono u jeżowca skalnego (*Paracentrotus lividus*). Badane osobniki pobrano z okolicy o najmniejszym zanieczyszczeniu PFOA. Zwierzęta umieszczono w pojemnikach wypełnionych filtrowaną wodą morską, w której rozpuszczono kwas perfluorooktanowy w stężeniach 10 mg/l i 100 mg/l. Po 28 dniach eksperymentu z części gonad pobrano jaja i plemniki w celu zapłodnienia i dalszej hodowli zarodków. Pozostałe narządy posłużyły ocenie stężenia PFOA w tkankach oraz określeniu poziomu ekspresji genów (Savoca i in. 2021).

W celu oceny stężenia PFOA w organizmach badanych osobników, co tydzień pobierano próbkę płynu celomicznego. U wszystkich zwierząt zaobserwowano wchłanianie PFOA, jednak występowały różnice w tempie absorpcji. Zwierzęta wystawione na stężenie 10 mg/l charakteryzowały się bardziej zróżnicowanym tempem absorpcji zanieczyszczeń i zachowały dobry stan zdrowia do końca eksperymentu. Ze względu na dobrą kondycję zwierząt, gonady pobierano w 28 dniu eksperymentu. Najwyższe stężenia zanieczyszczeń wykryto w gonadach samców z grupy narażonej na 100 mg/l PFOA. Od zwierząt wystawionych na dawkę 100 mg/l gonady pobierano w najbliższy dzień pobierania próbek, po wystąpieniu objawów zatrucia.

Podczas eksperymentu określono również poziomy ekspresji genów związanych z odpowiedzią na stres: HSP70 (HSP70 – ang. *heat shock protein 70*) i detoksykacją: MDR1 (MDR1 – ang. *multi drug resistance protein 1*), HIF1A (HIF1A – ang. *hypoxia inducible factor 1 subunit alpha*) oraz czynniki transkrypcyjne: P38 MAPK (P38 MAPK – ang. *p38 mitogen-activated protein kinases*), DNMTs (DNMTs – ang. *DNA methyltransferase*), BLIMP (BLIMP1 – ang. *PR/SET domain 11*). Poziom ekspresji badanych genów zmienił się u wszystkich osobników. Akumulacja PFAS powyżej 10 części na milion (ppm) w gonadach jeżowców powodowały ogólny wzrost ekspresji badanych genów. Natomiast stężenia poniżej tej wartości skutkowały obniżoną ekspresją analizowanych genów.

Analiza morfologiczna potomstwa badanych zwierząt również dostarczyła dowodów na wpływ PFOA na rozwój embrionów. Larwy potomne zwierząt traktowanych PFOA wykazywały



istotnie częstsze anomalie rozwojowe, w stosunku do larw pochodzących od jeźwoców z grupy kontrolnej o nawet 60% (Savoca i in. 2023).

W innych badaniach określono wpływ kwasu perfluoroheksanosulfonowego (PFHxS) podawanego doustnie szczurom w dawkach 0,05, 5 i 25 mg/kg/dzień. Podawany od 7 dnia ciąży, powodował, zależnie od dawki, zmniejszenie poziomu hormonów tarczycy zarówno u matek, jak i potomstwa. Stężenie całkowitej tyroksyny (T4) u matek w 15 dniu ciąży spadało o 20% (względem poziomu występującego u grupy kontrolnej) u zwierząt otrzymujących 5 mg/kg i o 40% u zwierząt traktowanych dawką 25 mg/kg. Po porodzie efekt ten był silniejszy, a poziom T4 spadał odpowiednio o 30% i 70%. Potomstwo myszy traktowanych PFHxS wykazywało stężenia T4 niższe o 55% po zastosowaniu dawki 5 mg/kg oraz o 70% u zwierząt narażonych na dawkę 25 mg/kg w 16-17 dniu po narodzeniu. Poziomy trijodotyroniny (T3) u potomstwa wystawionego dawkę 25 mg/kg PFHxS również były obniżone w przedziale 7-16%. U matek poziomy hormonu tyreotropowego (TSH), masy ciała, ekspresji genów markerowych tarczycy: **SLC5A5** (**SLC5A5** - ang. Solute carrier family 5 member 5), NKX2-1 (NKX2-1 ang. NK2 homeobox 1), TPO (TPO – ang. thyroid peroxidase), TSHR (TSHR ang. – thyroid stimulating hormone receptor), PAX8 (PAX8 – ang. paired box 8) i DIO1 (DIO1 – ang. iodothyronine deiodinase 1) pozostawały bez zmian. U potomstwa występowało zmniejszenie masy tarczycy zależne od dawki PFHxS. Zmiany obserwowano już przy najniższej dawce, która wynosiła 0,05 mg/kg, jednakże istotne różnice pojawiły się tylko u samic. Narażenie myszy na PFHxS skutkowało wystąpieniem hipotyreozy jednak nie powodowało zaburzeń aktywności motorycznej ani funkcji poznawczych (Ramhoj i in. 2020).

### 3.3 Wpływ PFAS na organizm ludzki

Joensen i in. (2013) ocenili związek między poziomami 14 PFAS u zdrowych mężczyzn z populacji ogólnej, a poziomem hormonów płciowych oraz jakością próbek nasienia. Z 14 badanych substancji badacze potwierdzili obecność 6 PFAS we wszystkich próbach surowicy, a pozostałe związki obserwowali w mniej niż połowie próbek. Jednocześnie nie wykazali korelacji między obecnością PFAS, a BMI i wiekiem. Jedynie stężenie PFOS obserwowane w surowicy ( $8,46 \pm 3,74$  ng/ml) było związane z poziomem testosteronu, wolnego testosteronu, wolnych androgenów oraz zależnością między testosteronem/hormonem luteinizującym oraz wolnymi androgenami/hormonem luteinizującym i wolnym testosteronem/hormonem luteinizującym. Inne PFAS były obecne na niższych poziomach np.: PFOA  $3,46 \pm 1,99$ , PFHxS  $0,81 \pm 0,88$  niż PFOS i nie wykazywały zależności z hormonami płciowymi. Poziomy badanych substancji w surowicy nie wykazywały powiązania z wielkością jąder i parametrami jakości nasienia.

Lewis i in. (2015) mierzyli poziomy PFAS u 1682 mężczyzn i kobiet w wieku od 12 do 80 lat i nie znaleźli istotnych związków między żadnym z PFAS, a poziomem testosteronu. Jednakże zasugerowali, że PFAS mogą być związane ze wzrostem poziomu wolnej trijodotyroniny (FT3), całkowitej trijodotyroksyny (TT3) i wolnej tyroksyny (FT4) u dorosłych kobiet. Autorzy doszli do wniosku, że w okresie dojrzewania PFAS mogą być związane ze wzrostem stężenia TSH u mężczyzn i spadkiem TSH u kobiet, sugerując efekty specyficzne dla płci.

Przeciwnie wyniki przedstawił Li i in. (2021). Ich raport nie wskazuje na korelacje między koncentracją PFAS, a koncentracją hormonów tarczycy we krwi u dorosłych i seniorów wśród 3297 uczestników z Ronneby, gminy o wysokim stopniu zanieczyszczenia wody pitnej PFAS (grupa narażona). Badania wskazują jednak na wystąpienie korelacji między PFAS, a zawartością FT4 w surowicy mężczyzn powyżej 50. roku życia. Dzieci przed okresem dojrzewania w gminie Ronneba charakteryzowały się wyższymi poziomami hormonów tarczycy (FT4, TT4, TT3) i TSH w porównaniu z dziećmi w grupie kontrolnej. Stwierdzono słaby związek między wzrastającymi poziomami PFAS w surowicy, a niższą zawartością FT3 w surowicy chłopców przed okresem dojrzewania oraz niższym stężeniem TSH u młodzieży płci męskiej.

Poza analizą działania PFAS na układ hormonalny, badania wpływu PFAS często dotyczą stanu lipidowego, w szczególności poziomu cholesterolu. Eriksen i in. (2013) badając grupę 753 osób dorosłych wykazali korelacje między stężeniem PFOA i PFOS a zawartością całkowitego cholesterolu we krwi uczestników. Jednak w literaturze brakuje danych dotyczących skutków zaburzeń profilu lipidowego spowodowanego PFAS na homeostazę organizmu.

#### 4. Podsumowanie i wniosku

Wiele badań wskazują na istotny wpływ związków z rodziny PFAS na funkcjonowanie organizmów ludzi i zwierząt. Potwierdzają to zarówno badania *in vitro* i *in vivo*. Szczególną uwagę należy zwrócić na dane dotyczące konsekwencji ekspozycja na PFAS w czasie rozwoju embrionalnego. Eliminacja PFAS z surowicy ludzkiej zachodzi istotnie wolniej niż u innych gatunków. Ponadto u zwierząt jest zależna od płci. Tak istotne rozbieżności w metabolizmie między zwierzętami doświadczalnymi i ludźmi znacznie ograniczają możliwość badania wpływu tych związków na zdrowie ludzi z użyciem organizmów modelowych. W dodatku długi proces eliminacji PFAS z surowicy krwi ludzi sugeruje, że ekspozycja nawet na niewielkie dawki może prowadzić do bioakumulacji znacznych ilości PFAS w organizmie człowieka.

Związki PFAS, ze względu na swoje wyjątkowe właściwości chemiczne, znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle, co prowadzi do ich powszechnego występowania w środowisku. Ich stabilność i zdolność do bioakumulacji w organizmach żywych powodują znaczące zanieczyszczenie ekosystemów i stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia zarówno ludzi, jak i zwierząt. Mimo, że mechanizm ich działania nie jest w pełni wyjaśniony, wyniki badań jednoznacznie wskazują związek między narażeniem na PFAS i zaburzeniami wydzielania hormonów tarczy takich jak FT3 i FT4. Nie jasny jest wpływ PFAS na poziom hormonów przysadki – TSH i hormonu luteinizującego oraz stężenie hormonów płciowych – testosteronu. Konieczne są dalsze badania oraz wprowadzenie na ich podstawie odpowiednich regulacji prawnych w celu ochrony zdrowia i środowiska naturalnego dotyczących stosowania PFAS.

#### 5. Literatura

- Barbarossa A, Gazzotti T, Farabegoli F i in. (2016) Assessment of Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctanoic Acid Exposure Through Fish Consumption in Italy. *Italian Journal of Food Safety* 5(4): 6055.
- Butenhoff JL, Kennedy GL, Hinderliter PM i in. (2004) Pharmacokinetics of perfluoro-octanoate (PFOA) in cynomolgus monkeys. *Toxicological Sciences* 82(2): 394–406.
- Cao Y, Ng C (2021) Absorption, distribution, and toxicity of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in the brain: a review. *Environmental Science Processes & Impacts* 23(11): 1623-1640
- Coperchini F, Pignatti P, Lacerenza S i in. (2015) Exposure to perfluorinated compounds: In vitro study on thyroid cells. *Environmental Science and Pollution Research* 22(3): 2287–2294.
- Domingo JL i Nadal M (2019) Human exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) through drinking water: A review of the recent scientific literature. *Environmental Research* 177: 108648.
- Eriksen KT, Raaschou-Nielsen O, McLaughlin JK i in. (2013) Association between plasma PFOA and PFOS levels and total cholesterol in a middle-aged Danish population. *PLoS One* 8(2): e56969.
- Hanhijärvi H, Ylinen M, Haaranen T i in. (1988) A Proposed Species Difference in the Renal Excretion of Perfluoro Octanoic Acid in the Beagle Dog and Rat. In: Beynen, A.C., Solleveld, H.A. (eds) *New Developments in Biosciences: Their Implications for Laboratory Animal Science*. Springer, Dordrecht
- Hundley SG, Sarraf AM, Kennedy GL (2006) Absorption, distribution, and excretion of ammonium perfluorooctanoate (APFO) after oral administration to various species. *Drug and Chemical Toxicology* 29(2): 137–145.
- Joensen UN, Veyrand B, Antignac JP i in. (2013) PFOS (perfluorooctanesulfonate) in serum is negatively associated with testosterone levels, but not with semen quality, in healthy men. *Human Reproduction* 28(3): 599–608.
- Kabir ER, Rahman MS, Rahman I (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(1), 241–258.
- Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C i in. (1996) Research needs for the assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: A report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environmental Health Perspectives* 104(4): 715–740.

- Lewis RC, Johns LE, Meeker JD (2015) Serum Biomarkers of Exposure to Perfluoroalkyl Substances in Relation to Serum Testosterone and Measures of Thyroid Function among Adults and Adolescents from NHANES 2011-2012. *International Journal of Environmental Research Public Health* 12(6): 6098-114.
- Li Y, Xu Y, Fletcher T i in. (2021) Associations between perfluoroalkyl substances and thyroid hormones after high exposure through drinking water. *Environmental Research* 194: 110647.
- Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ i in. (2007) Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environmental Health Perspectives* 115(9): 1298-305.
- Panieri E, Baralic K, Djukic-Cosic D i in. (2022) PFAS Molecules: A Major Concern for the Human Health and the Environment. *Toxics* 10(2): 44.
- Pötzl B, Kürzinger L, Stopper H i in. (2024) Endocrine Disruptors: Focus on the Adrenal Cortex. *Hormone and Metabolic Research* 56(1): 78-90.
- Ramhoj L, Hass U, Gilbert ME i in. (2020) Evaluating thyroid hormone disruption: Investigations of long-term neurodevelopmental effects in rats after perinatal exposure to perfluorohexane sulfonate (PFHxS). *Scientific Reports* 10(1): 2672.
- Rosenmai AK, Taxvig C, Svingen T, i in. (2016) Fluorinated alkyl substances and technical mixtures used in food paper-packaging exhibit endocrine-related activity in vitro. *Andrology* 4(4): 662-72.
- Savoca D, Pace A (2021) Bioaccumulation, Biodistribution, Toxicology and Biomonitoring of Organofluorine Compounds in Aquatic Organisms. *International Journal of Molecular Science* 22(12): 6276.
- Savoca D, Pace A, Arizza V, i in. (2023) Controlled uptake of PFOA in adult specimens of *Paracentrotus lividus* and evaluation of gene expression in their gonads and embryos. *Environmental Science and Pollution Research* 30(10): 26094-26106.

## 12. Niestandardowe metody leczenia otyłości

Non-standard methods of treating obesity

Wnęk Zuzanna<sup>(1,2)</sup>, Witek Konrad<sup>(1,2)</sup>, Śliz Magdalena<sup>(1,2)</sup>, Krajewska Sabina<sup>(1,2)</sup>, Nowak Natalia<sup>(1,2)</sup>, Janikowska Grażyna<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Analitycznej,

<sup>(2)</sup> Młoda Farmacja Sosnowiec,

<sup>(3)</sup> Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

Wnęk Zuzanna: s85451@365.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: agoniści receptora glukagonopodobnego peptydu 1, leki przeciwcukrzycowe, nadwaga, off-label, otyłość.

### Streszczenie

Praca jest przeglądem literatury na temat niestandardowego leczenia otyłości za pomocą leków w pierwotnym opisie których nie ma wskazań do leczenia otyłości. Obecnie w Unii Europejskiej są zarejestrowane cztery leki na otyłość: orlistat, preparat złożony z chlorowodoru naltreksonu i chlorowodoru bupropionu, liraglutyd oraz semaglutyd. Poza standardową terapią i operacją bariatryczną istnieją możliwości leczenia tzw. lekami off-label, czyli lekami, które zostały zarejestrowane najczęściej w leczeniu cukrzycy typu 2 lub innych chorób a które działają na hormony regulujące apetyt, poziom glukozy, hamujące metabolizm lipidów i innych parametrów. Badania w celu pozyskania bezpiecznych leków przeciw otyłości nadal są prowadzone wielokierunkowo. Pozarejestrowane stosowanie leków ma kluczowe znaczenie w wielu chorobach, w tym również w leczeniu otyłości.

### 1. Wprowadzenie

Otyłość w dzisiejszych czasach jest jedną z najczęściej występujących chorób cywilizacyjnych. Światowa organizacja zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) definiuje ją jako nieprawidłowe lub nadmierne nagromadzenie tkanki tłuszczowej, które może niekorzystnie wpływać na zdrowie, wyjaśniając ponadto, że podstawową przyczyną otyłości i nadwagi jest brak równowagi energetycznej między spożywanymi a wydatkowanymi kaloriami. Problem otyłości stanowi wynik nałożenia się wielu nieprawidłowości; powody jej pojawienia się są w większości bardzo złożone. Do rozwoju otyłości przyczyniają się m.in.: warunki środowiska, wrodzone zespoły metaboliczne, nabyte schorzenia lub prowadzone leczenie. Otyłość jest globalnym wyzwaniem, zwiększającym ryzyko wystąpienia wielu zdrowotnych powikłań, w tym cukrzycy typu 2, dyslipidemii, miażdżycy, nadciśnienia tętniczego, niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby, zespołu bezdechu sennego, przewlekłej choroby nerek, zaburzeń płodności, choroby zwyrodnieniowej stawów oraz w konsekwencji wielu nowotworów złośliwych. Ponadto, otyłość obniża jakość życia i może prowadzić do przedwczesnej śmierci. WHO przewiduje również, że w 2030 roku 30% zgonów na świecie będzie związanych z chorobami cywilizacyjnymi (Perdomo et al. 2023; Ruban et al. 2019; Willard et al. 2020).

Diagnostyka nadwagi i otyłości jest prowadzona przez wiele różnych metod: od prostych i łatwo dostępnych, a jednocześnie wiarygodnych i porównywalnych, które są powszechnie stosowane, do kosztownych i czasochłonnych, głównie wykorzystywanych w badaniach naukowych, umożliwiających najdokładniejsze określenie zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie. Najbardziej popularną metodą kontroli masy ciała jest wskaźnik masy ciała – BMI (ang. *Body Mass Index*). Wskaźnik ten klasyfikuje pod względem wagi, dorosłych i wyraża go równanie  $[BMI = (waga \text{ w kg}) / (wzrost \text{ w m}^2)]$ . Zakres 18,5-24,9 to prawidłowa masa ciała, 25-29,9 nadwaga i  $\geq 30$  otyłość. W ciągu ostatnich dwóch dekad w krajach rozwijających się liczba osób otyłych gwałtownie wzrasta. W zależności od populacji liczby te nie zawsze dokładnie odzwierciedlają procent tkanki tłuszczowej

w organizmie osób wysportowanych lub mających dużą masę mięśniową (Ruban et al. 2019; Reid and Korner 2022; Hoofnagle et al. 2013). Powszechnie stosowaną metodą pomiaru otyłości jest również obwód talii (WC, ang. *Waist Circumference*) i pokazuje on otyłość centralną, gdy  $WC \geq 94$  cm u mężczyzn a  $WC \geq 80$  cm u kobiet (Bąk-Sosnowska i in. 2022). Kolejną metodą oceny otyłości to wskaźnik talia-biodra (WHR, ang. *Waist-to-Height Ratio*), który oblicza się jako iloraz obwodu talii i bioder (w centymetrach). Otyłość brzuszną rozpoznaje się przy  $WHR > 0,85$  u kobiet i  $WHR > 0,9$  u mężczyzn. Badania prognostyczne i metaanaliza u dorosłych wykazały, że WHR jest równoważny lub nieco lepszy niż sam pomiar obwodu talii i lepszy niż wskaźnik masy ciała (BMI) w przewidywaniu wyższego ryzyka kardiometabolicznego (Yoo 2016; Cignarella et al. 2021). W przypadku już wykrytej otyłości możliwością do dokładniejszej jej oceny można wykorzystać Skalę Oceny Stopnia Zaawansowania Otyłości EOSS (ang. *Edmonton Obesity Staging System*). System ten uzupełnia skalę BMI poprzez pięciostopniową klasyfikację otyłości, który uwzględnia parametry metaboliczne, fizyczne i psychologiczne w celu określenia optymalnego leczenia otyłości, co poza wagą, umożliwia ocenę wpływu chorób współistniejących związanych z otyłością na poszczególne osoby. Choć EOSS jest cennym narzędziem w ocenie otyłości, nie jest ona jeszcze powszechnie stosowana w praktyce klinicznej, a jej pełne wdrożenie w diagnostyce i leczeniu otyłości nadal jest przedmiotem badań (Canning et al. 2015; Chiappetta et al. 2016).

Leczenie otyłości wymaga długoterminowego, wielokierunkowego działania, uwzględniającego indywidualne potrzeby terapeutyczne każdej leczonej osoby oraz korzyści i ryzyka związane z nimi. W połączeniu z modyfikacjami stylu życia, leki przeciw otyłości i chirurgia bariatryczna poprawiają utrzymanie utraty wagi i związane z tym korzyści zdrowotne. Większość dostępnych leków przeciw otyłości działa na centralne szlaki apetytu w celu zmniejszenia głodu. Stosowanie leków przeciw otyłości w połączeniu z działaniami związanymi ze zmianą stylu życia jest wskazane dla osób z otyłością ( $BMI \geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) lub osób z nadwagą ( $BMI \geq 27$  kg/m<sup>2</sup>) z co najmniej jednym schorzeniem związanym z masą ciała (np. cukrzyca typu 2, choroby układu krążenia, choroba zwyrodnieniowa stawów). Leczenie farmakologiczne otyłości nie powinno trwać krócej niż 6 miesięcy, a optymalnie jego czas powinien wynosić  $\geq 12$  miesięcy i należy go dostosować do wyznaczonych celów i planowanego tempa redukcji masy ciała. Potwierdzeniem skuteczności farmakoterapii jest redukcja wyjściowej masy ciała o  $\geq 5\%$  w okresie 3 miesięcznego przyjmowania leku w dawce terapeutycznej. Chirurgię bariatryczną należy rozważyć u pacjentów z  $BMI \geq 40$  lub  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> z chorobami współistniejącymi związanymi z nadmierną masą ciała (Ruban et al. 2019; Heck et al. 2000; Pereira and Eriksson 2019).

## **2. Standardowe leczenie otyłości**

Obecnie na terenie Unii Europejskiej dostępne są 4 leki zarejestrowane przez Europejską Agencję Leków (EMA) do leczenia otyłości:

- 1) orlistat
- 2) preparat złożony z chlorowodorku naltreksonu i chlorowodorku bupropionu
- 3) liraglutyd
- 4) semaglutyd – najnowszy, zarejestrowany w 2022 do leczenia otyłości.

Pierwszy wymieniony preparat - orlistat jest najdłużej obecnym lekiem na rynku (od 1999 roku w USA) w leczeniu otyłości w formie kapsułek. Jest silnym, swoistym i długo działającym inhibitorem lipaz wytwarzanych w przewodzie pokarmowym, które są odpowiedzialne za rozkład spożytych trójglicerydów do wolnych kwasów tłuszczowych. W rezultacie około 30% wszystkich spożytych trójglicerydów jest wydalanych, tworząc w ten sposób deficyt kaloryczny. Lek ten nie wpływa na mechanizmy regulacji głodu i uczucia sytości. Orlistat działa, hamując enzym odpowiedzialny za trawienie tłuszczów w jelitach, czyli lipazę trzustkową (enzym, rozkładający tłuszcze w organizmie na składniki, które mogą być lepiej wchłaniane). Orlistat łączy się z aktywnym miejscem lipazy trzustkowej, co uniemożliwia, skuteczne trawienie tłuszczów. W rezultacie, tłuszcze spożywane w diecie nie są w pełni rozkładane. Nierozłożone tłuszcze są wydalane z organizmu z kałem (Hoofnagle et al. 2013). Ta niezdolność do wchłaniania tłuszczów przyczynia się do redukcji całkowitej ilości kalorii pochodzących z tłuszczów w diecie. Efektywność orlistatu polega na tworzeniu negatywnego bilansu energetycznego, co jest kluczowe dla utraty masy ciała. Ponieważ

nieabsorbowane tłuszcze nie dostarczają kalorii, organizm jest zmuszony korzystać z istniejących zasobów energetycznych, co przyczynia się do redukcji masy ciała. Należy zaznaczyć, że niektóre osoby stosujące orlistat mogą doświadczać efektów ubocznych, takich jak luźne stolce, tłuste stolce czy bóle brzucha. Te objawy mogą być wynikiem eliminacji nierozłożonych tłuszczów z organizmu (Feng et al. 2023). Orlistat może zmniejszać wchłanianie witamin rozpuszczalnych w tłuszczach więc zalecana jest codzienna ich suplementacja podczas terapii (Heck et al.2000).

Kolejnym preparatem jest lek złożony z 2 substancji czynnych – chlorowodoru naltreksonu i chlorowodoru bupropionu, przyjmowany w formie tabletek. Oba składniki działają ośrodkowo. Bupropion to lek przeciwdepresyjny, hamujący wychwyt zwrotny dopaminy i noradrenaliny, aktywując w ten sposób proopiomelanokortynę (POMC) w celu tłumienia apetytu. Naltrekson jest antagonistą receptora opioidowego, który wywiera swoje działanie poprzez zakłócanie autoinhibicji POMC poprzez blokowanie endogennych receptorów opioidowych w celu zmniejszenia objadania się. Ta terapia skojarzona wpływa również na mezolimbiczny układ nagrody, zmniejszając apetyt na jedzenie, rozumiany jako ochota lub silna potrzeba spożywania konkretnych produktów lub pokarmów. Bupropion może wpływać na utratę wagi poprzez redukcję apetytu. Mechanizm ten jest związany z jego wpływem na neuroprzebieżniki, zwłaszcza noradrenalinę i dopaminę, które odgrywają rolę w regulacji odczuwania głodu i sytości. Wzrost stężenia neuroprzebieżników może prowadzić do zmniejszenia uczucia głodu oraz zwiększenia uczucia sytości, co może skutkować zmniejszeniem ilości spożywanych posiłków. Ponadto, bupropion jest inhibitorem wychwytu zwrotnego noradrenaliny, co oznacza, że zwiększa stężenie noradrenaliny w przestrzeni międzykomórkowej mózgu. Noradrenalina jest związana z regulacją apetytu, a jej stymulacja może wpływać na redukcję łaknienia i kontroli masy ciała. W kontekście innych leków, bupropion jest czasami stosowany w połączeniu z naltreksonem w jednym preparacie (bupropion/naltrekson) jako leczenie wspomagające utratę wagi. Warto jednak podkreślić, że leki te są przede wszystkim przeznaczone do leczenia depresji lub uzależnienia od palenia tytoniu, a wpływ na utratę wagi jest efektem ubocznym (Stahl 2019).

Liraglutyd i semaglutyd to analogi ludzkiego peptydu glukagono podobnego 1 (GLP1) – hormonu inkretynowego wydzielanego przez jelito kręte w odpowiedzi na posiłek, który zmniejsza głód i poprawia sytość poprzez neurony POMC (proopiomelanokortyna). Liraglutyd dostępny jest w postaci roztworu do wstrzyknięć podskórnych a semaglutyd również w postaci tabletek (Bąk-Sosnowska i in. 2022; Cignarella et al. 2021). Działają jako agoniści receptora GLP-1, naśladując naturalny hormon GLP-1 wydzielany w jelitach po jedzeniu. Ten mechanizm obejmuje zwiększenie wydzielania insuliny, co obniża poziom glukozy we krwi poprzez regulację jej wchłaniania i produkcji. Jednocześnie hamują wydzielanie glukagonu, ograniczając uwalnianie glukozy przez wątrobę. Wydłużają czas opróżniania żołądka, co spowalnia wchłanianie glukozy z przewodu pokarmowego. W rezultacie ten kompleksowy mechanizm ich działania pomaga w utrzymaniu stabilnego poziomu cukru we krwi, co jest istotne w leczeniu cukrzycy typu 2 i otyłości. Różnica pomiędzy nimi nie tkwi tylko w podobieństwie do naturalnego GLP-1, ale również w częstotliwości ich podawania, pierwszy raz dziennie a drugi raz w tygodniu (Ard et al.2021; Bąk-Sosnowska i in. 2022).

### **3. Niestandardowe leczenie lekami, czyli poza zarejestrowanymi wskazaniami**

Pozarejestrowane zastosowanie leku (ang. *off-label use*) polega na podawaniu pacjentom zarejestrowanego oraz dostępnego na rynku leku w sposób odmienny niż określono w Charakterystyce Produktu Leczniczego (ChPL). Szerzej ujmując, jest to także, każde zastosowanie leku nieuwzględnione w ChPL. Leki *off-label* to leki stosowane w sposób niezgodny z zatwierdzonymi przez odpowiednie organy rejestracyjne, na przykład amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA), wskazaniami zawartymi w ulotce lub zgodnie z dopuszczonymi wskazaniami na etykiecie opakowania. Oznacza to, że leki te są stosowane do celów lub w sytuacjach, które nie zostały zatwierdzone przez urzędy je rejestrujące. Niestandardowe stosowanie leków może wynikać z nowych obserwacji naukowych, doświadczeń klinicznych lub potrzeb terapeutycznych, jednakże decyzja o takim stosowaniu leży zazwyczaj w gestii lekarza i opiera się na indywidualnej ocenie ryzyka i korzyści dla pacjenta (Wittich et al. 2012). O zastosowaniu niestandardowego leczenia mówimy, gdy lek jest stosowany: w dawkach innych niż ujętych w ChPL, podczas odmiennego

schematu dawkowania, drogą odmienną niż w ChPL, w przypadku, gdy lek podawany jest pacjentom w innej grupie wiekowej, niż zalecono, lub w populacji, dla której lek nie został przeznaczony, pomimo wszelkich innych przeciwwskazań. Stosowanie leku poza wskazaniami podanymi w CHPL lub w dokumentach rejestracyjnych jest legalne, często stosowane, nieuniknione, lecz często może budzić kontrowersje (Matuszewicz 2012).

Przesłankami do podawania pacjentom leków poza wskazaniami jest: konieczność ratowania życia i zdrowia pacjenta, brak większych pozytywnych skutków w dotychczasowych terapiach lub podczas gdy wyczerpały się wszystkie możliwe dostępne metody leczenia zatwierdzone w danym przypadku. Leki off-label stosuje się także, w przypadkach braku dopuszczonych leków dla danej populacji. Przy stosowaniu leków off-label bierze się pod uwagę przede wszystkim bezpieczeństwo pacjenta, które może być obciążone wysokim ryzykiem pojawienia się komplikacji oraz działań niepożądanych. Mogą one występować, gdyż lek nie został przebadany i zatwierdzony do stosowania w podanym przypadku, nie ma dostępnych danych na temat jego bezpieczeństwa, tolerancji oraz skuteczności. Także może się nie pojawić efekt terapeutyczny. Lek off-label stosowany w populacji lub grupie wiekowej innej, niż określona w ChPL, może cechować się nietypową farmakokinetyką, na przykład odmiennym sposobem wchłaniania. Różna od typowego zastosowania może też być w takim przypadku farmakodynamika, co oznacza, że lek może w zupełnie odmienny sposób oddziaływać na organizm (Matuszewicz 2012; Bąk-Sosnowska 2022). U pacjentów, którym podajemy terapię niestandardową należy brać pod uwagę choroby współistniejące i stosowane równolegle terapie, aby przewidzieć interakcje i nieoczekiwane reakcje organizmu oraz ryzyko z nimi związane.

Stosowanie leków off-label jest niezwykłą szansą dla pacjentów, wobec których formalnie dopuszczone opcje terapii nie istnieją lub zostały wyczerpane. Cała procedura pozyskania rejestracji leku przy nowym wskazaniu jest złożona, droga a przede wszystkim czasochłonna. Z uwagi na długość procesu licencjonowania leku, dokumentacja rejestracyjna zazwyczaj nie zawiera najnowszych danych ogłoszonych w piśmiennictwie naukowym. Procedury administracyjne pozostają zwykle w tyle, w stosunku do praktyki klinicznej. Pozarejestracyjne stosowanie leków ma kluczowe znaczenie zwłaszcza w onkologii, pediatrii, intensywnej terapii czy psychiatrii (Bąk-Sosnowska 2022).

Zastosowanie leku poza wskazaniami zasadne jest w momencie, gdy jeden preparat leczniczy należący do określonej grupy leków posiada zarejestrowane wskazanie terapeutyczne lub gdy lek nie został poddany badaniom klinicznym w określonej grupie, takiej jak, na przykład kobiety w ciąży, dzieci, osoby z zaburzeniami psychicznymi, seniorzy, a potencjalne ryzyko wynikające z jego stosowania przewyższa korzyści płynące z terapii tym lekiem oraz w sytuacji, gdzie istnieje zagrożenie dla zdrowia i życia, a także w przypadku nieuleczalnych chorób, lekarz może być zobowiązany do zastosowania każdej formy terapii, która jest logiczna, uzasadniona wiedzą i doświadczeniem, niezależnie od aspektu rejestracyjnego. Ponadto, jeśli patofizjologia pewnych schorzeń jest podobna, a istnieje lek zarejestrowany do stosowania w jednym z tych schorzeń, można rozważyć jego zastosowanie również w analogicznych wskazaniach, na przykład onkologii lub psychiatrii, a także jeśli znajomość właściwości leku, jego mechanizmu działania, spodziewanych efektów zarówno pozytywnych, jak i negatywnych oraz dane patofizjologiczne lub fizjologiczne sugerują korzyści terapeutyczne dla konkretnego pacjenta (Wittich et al. 2012).

Podczas stosowania leków off-label kluczowe znaczenie mają również kwestie etyczne. Stosowanie poza wskazaniami nie może nosić znamion eksperymentu naukowego czy też badania klinicznego. Testowanie leku w pozarejestracyjnych wskazaniach czy pogłębianie wiedzy naukowej nie może być celem jego stosowania. Lekarz, który zaleca i przepisuje pacjentowi lek off-label nie może pełnić roli badacza. Dobro chorego powinno być główną motywacją przy terapii lekiem stosowanym poza zarejestrowanymi wskazaniami. Terapia off-label może być przepisywana jedynie w dobrej wierze, bez ukrytych, niecznych celów. Wszystkie pozostałe motywy poza dobrem pacjenta podczas stosowania terapii lekami off-label czynią procedurę nieetyczną (Kanturski 2012).

Używanie leków off-label jest dopuszczalne i wbrew pozorom dość powszechne. Ustawa o zawodzie lekarza i lekarza dentysty mówi, że „lekarz ma obowiązek wykonywać zawód zgodnie ze wskazaniami aktualnej wiedzy medycznej”. Swobodę wyboru metody postępowania daje lekarzowi także Kodeks Etyki Lekarskiej, a deklaracja helsińska upoważnia go do zastosowania interwencji

o nieudowodnionej skuteczności, jeśli daje ono nadzieję na „ratowanie życia, przywrócenie zdrowia lub przyniesienie ulgi”. Odniesienia do stosowania leków off-label można także znaleźć w ustawie refundacyjnej, prawie farmaceutycznym i przepisach wspólnotowych. Prawo do leczenia zgodnego z aktualną wiedzą medyczną gwarantuje pacjentom również ustawa o prawach pacjenta. Nie jest legalnym jednak posługiwanie się metodami, naukowo uznanymi za szkodliwe lub bezwartościowe, albo w ogóle naukowo niezwyfikowanymi.

Ocena stosowania leku off-label w konkretnym przypadku opiera się na różnorodnych źródłach informacji, obejmujących aktualne badania naukowe, rekomendacje specjalistów z dziedziny medycyny oraz normy i wytyczne uznanych instytucji medycznych. Lekarz podejmujący decyzję o zastosowaniu leku off-label powinien kierować się wiarygodnymi publikacjami naukowymi, takimi jak podręczniki medyczne, wyniki badań klinicznych oraz artykuły opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych. Ponadto, istotne mogą być również rekomendacje i wytyczne towarzystw medycznych oraz ekspertów z danej dziedziny medycyny. Dodatkowo, lekarz może uwzględniać własne doświadczenie kliniczne oraz praktykę zawodową w podejmowaniu decyzji o off-labelowym stosowaniu leku. Wszystkie te źródła informacji powinny być rzetelnie ocenione i zastosowane w kontekście indywidualnych potrzeb i charakterystyki pacjenta. Decyzje dotyczące zmiany sposobu stosowania leku powinny być podejmowane z lekarzem lub farmaceutą. Wszelkie modyfikacje w ich stosowaniu powinny zapewniać bezpieczeństwo i skuteczność terapii.

#### **4. Niestandardowe leczenie otyłości**

Zarówno liraglutyd oraz semaglutyd (obydwa są analogami GLP1) nie posiadają rejestracji w Polsce jako leki leczące otyłość, a jedynie w leczeniu cukrzycy typu 2 (Ard et al. 2021), stąd terapia niestandardowa.

Często stosowanym lekiem w leczeniu cukrzycy typu 2, który wykazuje zdolność do stymulowania metabolizmu glukozy w komórkach mięśniowych jest metformina. W komórkach mięśniowych wpływa ona na szereg szlaków sygnałowych, w tym aktywację kinazy AMP-aktywowanej (AMPK), która pełni istotną rolę w regulacji metabolizmu energetycznego zwiększając zużycie glukozy. Ponadto, lek ten wpływa na ilość transportera glukozy GLUT4 na powierzchni komórkowej mięśni i może również stymulować glikolizę. Wzmoczona aktywność enzymów zaangażowanych w glikolizę przyczynia się również do skutecznego zużycia glukozy przez komórki mięśniowe (Dutta et al. 2023).

Kolejny lek wykorzystywany do niestandardowego leczenia otyłości to topiramata, który potęguje działanie kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) w centralnym układzie nerwowym. GABA pełni rolę głównego neurotransmitera hamującego, przekazując sygnały hamujące między komórkami nerwowymi w celu zmniejszenia ich pobudliwości. Lek ten zwiększa efekty GABA, zwłaszcza poprzez aktywację receptorów GABA-A, co może zwiększać przepływ jonów chlorkowych do komórek nerwowych, polaryzując błonę komórkową i hamując generowanie potencjałów czynnościowych. Topiramata może wpływać na centralny układ nerwowy i hormony regulujące apetyt, przez co może kontrolować apetyt i zarządzać masą ciała. Niemniej jednak, kontrola apetytu jest uważana za skutek uboczny, a topiramata nie jest głównie wskazywany do tego celu. Ważne jest zauważenie, że wpływ na apetyt może różnić się między poszczególnymi osobami, a reakcje na lek mogą być zróżnicowane (Moore et al. 2015).

W niestandardowej terapii otyłości wykorzystuje się wiele analogów GLP-1 i między innymi tirzepatyd, który jest również agonistą receptorów polipeptydu insulinotropowego zależnego od glukozy (GIP). Po podaniu zwiększa wydzielanie insuliny z trzustki i hamuje produkcję glukagonu. Reguluje łaknienie, zwiększając uczucie sytości, spowalnia opróżnianie żołądka, wpływając na stopniowe uwalnianie glukozy do krwi. Ten kompleksowy mechanizm pomaga w regulacji poziomu cukru we krwi i może także wspomagać utratę masy ciała. W przypadku cukrzycy typu 2, tirzepatyd jest stosowany, zwłaszcza gdy inne metody leczenia nie są skuteczne (Willard et al. 2020).

Kolejny lek, który wpływa na zmniejszenie apetytu i opóźnienie opróżniania żołądka, co pomaga w kontrolowaniu spożycia pokarmu i utrzymaniu stabilnego poziomu cukru we krwi to pramlintyd aktywujący receptory Y2 w organizmie. Ten proces prowadzi do hamowania wydzielania glukagonu z trzustki, co jest korzystne w kontroli poziomu glukozy we krwi, mimo że nie wpływa



bezpośrednio na wydzielanie insuliny, ograniczanie wydzielania glukagonu może wpływać na ogólną równowagę hormonalną, przyczyniając się do kontroli cukrzycy. Mechanizm działania pramilintydu opiera się więc na regulacji hormonów peptydowych, które odgrywają rolę w metabolizmie glukozy i regulowaniu apetytu (Guyton et al. 2019).

Do leków obniżających poziom glukozy w osoczu należą inhibitory kotransportera sodowoglukozowego 2 (SGLT2). Mechanizm ich działania polega na hamowaniu reabsorpcji sodu i glukozy w nerkach, wskutek czego powoduje pojawienie się glukozurii. W konsekwencji można zaobserwować takie zmiany jak obniżenie ciśnienia krwi, poziomu glukozy, zmniejszenie umiarkowane masy ciała (mechanizmy przeciuregulacyjne), otyłości, Hb1Ac (Matsuda and Tomoda 2007).

Do stopniowego spadku masy ciała stosuje się aktualnie m.in połączenia inhibitorów SGLT2 z agonistami GLP1 (GLP1-RA) ze względu na duże bezpieczeństwo podczas stosowania. Zarówno polipeptyd insulinotropowy zależny od glukozy (GIP) i peptyd podobny do glukagonu-1 regulują homeostazę glukozy i energii. Ukierunkowanie na oba szlaki za pomocą przeciwciała antagonistycznego receptora GIP (GIPR-Ab) i agonisty receptora GLP-1R, poprzez generowanie dwuspecyficznych cząsteczek GIPR-Ab/GLP-1, jest nowym podejściem do leczenia otyłości i chorób z nią współistniejących. Utrata masy ciała jest większa w przypadku GIPR-Ab/GLP-1 niż w przypadku GIPR-Ab lub koniugatu przeciwciał kontrolnych, co sugeruje efekty synergiczne.

Peptyd przeciwdrobnoustrojowy 2 (LEAP-2), endogeny blokier receptora sekretorniczego hormonu wzrostu 1a (GHS-R1a), inaczej nazywane receptorami greliny, pełnią swoje główne funkcje regulując apetyt i wydzielając hormon wzrostu (GH) i są obecnie najczęściej badane w kierunku ich potencjałów przeciw otyłości.

Otyłość charakteryzuje się także gromadzeniem triacyloglicerolu w adipocytach. W jego syntezie bierze udział acylotransferaza diacyloglicerolowa (DGAT) katalizując końcową reakcję poprzez dwa izoenzymy: DGAT1 i DGAT2. Zwiększoną aktywność DGAT2 stwierdzono w stłuszczeniu, podczas gdy DGAT1 w syntezie (V)LDL a zwiększone stężenia VLDL w osoczu mogą sprzyjać otyłości. DGAT1 jest również uważany za potencjalny cel terapeutyczny hamowania i kontroli otyłości.

Ponadto, wykazano, że układ endokannabinoidowy odgrywa istotną rolę w regulacji apetytu i metabolizmu. Pierwszym z serii antagonistów receptorów endokannabinoidowych jest rimonabant. Obniżenie regulacji nadaktywnego układu endokannabinoidowego może dawać korzyści terapeutyczne nie tylko w utracie masy ciała, ale także dyslipidemii aterogennej i insulinooporności, które są związane z otyłością brzuszna (Arias 2007).

Orlistat i sibutramina to jedyne dwa leki przeciw otyłości zatwierdzone przez FDA do długotrwałego stosowania. Sibutramina jest lekiem serotonergicznym i adrenergicznym, który zmniejsza spożycie pokarmu (Pereira and Eriksson 2019).

## **5. Podsumowanie**

Otyłość można leczyć terapią standardową, czyli lekami zarejestrowanymi w celu leczenia otyłości, takimi jak orlistat (inhibitor lipaz przewodu pokarmowego), chlorowodorkami naltreksonu i bupropionu (leki o działaniu ośrodkowym eliminujące efekt objadania się), liraglutyd i semaglutyd (analogi ludzkiego peptydu glukagonopodobnego; GLP-1), oraz sibutraminą (działanie serotonergiczne i adrenergiczne eliminujące efekt objadania się). A także terapią niestandardową, czyli lekami które są zarejestrowane do leczenia innych chorób niż otyłość, takich jak cukrzyca typu 2 – tirzepatyd (analog GLP-1), metformina (aktywator AMPK i stymulator GLUT4), topirammat (aktywator GABA-A), pramilintyd (aktywator receptora Y2), inhibitory kotransportera SGLT2, blokery receptora sekretorniczego hormonu wzrostu GHS-R1a, rimonabant (antagonista receptorów endokannabinoidowych) oraz inhibitory acetylotransferazy diacyloglicerolowej 1 (DGAT1); kontrolujące poziom glukozy, aktywność greliny, metabolizm lipidów i apetyt. . We wszystkich przypadkach leki te można stosować tylko pod nadzorem lekarza.

## 6. Literatura

- Ard J, Fitch A, Fruh S, et al. (2021) Weight Loss and Maintenance Related to the Mechanism of Action of Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Agonists. *Adv Ther.* ;38(6):2821-2839.
- Arias Horcajadas F. Cannabinoids in eating disorders and obesity. *Mol Neurobiol.* 2007;36(1):113-28.
- Bąk-Sosnowska M., Białkowska M., Bogdański P., i in. (2022) Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na otyłość 2022- stanowisko Polskiego Towarzystwa Leczenia Otyłości. *Med. Prakt. wyd. specj.* 2022.
- Canning KL, Brown RE, Wharton S, et al. (2015) Edmonton Obesity Staging System Prevalence and Association with Weight Loss in a Publicly Funded Referral-Based Obesity Clinic. *J Obes.* 2015:619734.
- Chiappetta S, Stier C, Squillante S, et al. (2016) The importance of the Edmonton Obesity Staging System in predicting postoperative outcome and 30-day mortality after metabolic surgery. *Surg Obes Relat Dis.* 12(10):1847-1855.
- Cignarella A, Busetto L, Vettor R. (2021) Pharmacotherapy of obesity: An update. *Pharmacol Res.* 169:105649.
- Dutta S, Shah RB, Singhal S, et al. (2023) Metformin: A Review of Potential Mechanism and Therapeutic Utility Beyond Diabetes. *Drug Des Devel Ther.* 26;17:1907-1932.
- Feng X, Lin Y, Zhuo S, et al. (2023) Treatment of obesity and metabolic-associated fatty liver disease with a diet or orlistat: A randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 117(4):691-700.
- Guyton J, Jeon M, Brooks A. (2019) Glucagon-like peptide 1 receptor agonists in type 1 diabetes mellitus. *Am J Health Syst Pharm.* 76(21):1739-1748.
- Heck AM, Yanovski JA, Calis KA. (2000) Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity. *Pharmacotherapy.* 20(3):270-9.
- Hoofnagle JH, Serrano J, Knoblen JE, et al. (2013) LiverTox: a website on drug-induced liver injury. *Hepatology.* 57(3):873-4.
- Kanturski J. (2012) Leczenie off-label: eksperyment medyczny czy stan wyższej konieczności? *Prokuratura i Prawo* 2012; 10.
- Matsuda D, Tomoda H. (2007) DGAT inhibitors for obesity. *Curr Opin Investig Drugs.* 8(10):836-41.
- Matusiewicz W. (2012) Stosowanie leków w onkologii i hematologii w zakresie wskazań do stosowania lub dawkowania, lub sposobu podawania odmiennych niż określone w Charakterystyce Produktu Leczniczego. *Agencja Oceny Technologii Medycznych.*
- Moore K, Dixit D, Wagner M. (2016) Topiramate-Related Hyperammonemia. *J Pharm Technol.* 32(1):34-36.
- Perdomo CM, Cohen RV, Sumithran P, et al. (2023) Contemporary medical, device, and surgical therapies for obesity in adults. *Lancet.* 401(10382):1116-1130.
- Pereira MJ, Eriksson JW. (2019) Emerging Role of SGLT-2 Inhibitors for the Treatment of Obesity. *Drugs.* 79(3):219-230.
- Reid TJ, Korner J. (2022) Medical and Surgical Treatment of Obesity. *Med Clin North Am.* 106(5):837-852.
- Ruban A, Stoenchev K, Ashrafian H, et al. (2019) Current treatments for obesity. *Clin Med (Lond).* 19(3):205-212.
- Stahl SM. (2019) Dextromethorphan/Bupropion: A Novel Oral NMDA (N-methyl-d-aspartate) Receptor Antagonist with Multimodal Activity. *CNS Spectr.* 24(5):461-466.
- Ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentystry. art. 34 ust. 1
- Willard FS, Douros JD, Gabe MB, et al. (2020) Tirzepatide is an imbalanced and biased dual GIP and GLP-1 receptor agonist. *JCI Insight.* 5(17):e140532
- Wittich CM, Burkle CM, Lanier WL. (2012) Ten Common Questions (and Their Answers) About Off-label Drug Use. *Mayo Clinic Proceedings.* 87(10):982-990.
- Yoo EG. (2016) Waist-to-height ratio as a screening tool for obesity and cardiometabolic risk. *Korean J Pediatr.* 59(11):425-431.

### **13. Zastosowanie potencjometrii i konduktometrii w analizie farmaceutycznej**

The use of potentiometry and conductometry in pharmaceutical analysis

Zuzanna Wnęk <sup>(1,2)</sup>, Konrad Witek <sup>(1,2)</sup>, Magdalena Śliz <sup>(1,2)</sup>, Natalia Lewicka <sup>(1,2)</sup>, Sabina Krajewska <sup>(1,2)</sup>, Katarzyna Karkoszka <sup>(1,2)</sup>, Anna Tasak <sup>(1,2)</sup>, Natalia Nowak <sup>(1,2)</sup>, Grażyna Janikowska <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Analitycznej, Śląski Uniwersytet Medyczny

<sup>(2)</sup> Młoda Farmacja Sosnowiec

<sup>(3)</sup> Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

Zuzanna Wnęk: s85451@365.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: potencjometria, konduktometria, zastosowanie

#### **Streszczenie**

Potencjometria i konduktometria są kluczowymi metodami elektroanalitycznymi w naukach farmaceutycznych, umożliwiającymi precyzyjną analizę jakościową i ilościową substancji. Potencjometria polega na mierzeniu potencjału elektrody w roztworze, co jest szczególnie przydatne w określaniu pH oraz stężenia jonów za pomocą elektrod jonoselektywnych. Elektrody te, takie jak elektroda wapniowa czy potasowa, pozwalają na dokładne oznaczanie stężeń odpowiednich jonów w próbkach, co jest istotne w kontroli jakości leków oraz badaniach środowiskowych. Metoda ta charakteryzuje się wysoką selektywnością, niskimi granicami detekcji oraz prostotą i szybkością pomiaru, co czyni ją cennym narzędziem w analityce farmaceutycznej. Konduktometria mierzy przewodnictwo elektryczne roztworów, co jest wynikiem zdolności elektrolitów do przewodzenia prądu. Zmiana przewodnictwa jest zależna od stężenia jonów w roztworze, co umożliwia monitorowanie czystości wody, zawartości soli i innych substancji jonowych w lekach. Konduktometria jest wykorzystywana w różnych zastosowaniach, od oczyszczalni ścieków po produkcję farmaceutyczną. W przemyśle farmaceutycznym konduktometria pozwala na ocenę jakości surowców, monitorowanie procesów produkcji oraz zapewnienie bezpieczeństwa i skuteczności gotowych produktów. Obie metody, dzięki swojej czułości i precyzji, umożliwiają analizę nawet bardzo małych ilości próbek, co jest kluczowe w zapewnieniu wysokiej jakości leków. W przypadku potencjometrii miareczkowanie potencjometryczne pozwala na precyzyjne określenie stężeń substancji w roztworach, podczas gdy konduktometria bezpośrednia i miareczkowanie konduktometryczne są używane do monitorowania zmian przewodnictwa w reakcjach chemicznych. Metody te są niezastąpione w analizie farmaceutycznej, wspierając badania naukowe, kontrolę jakości surowców oraz monitorowanie procesów produkcji leków, co przekłada się na bezpieczeństwo i skuteczność terapii farmakologicznych.

#### **1. Wprowadzenie**

W zakresie chemii analitycznej określa się skład chemiczny substancji lub ich mieszanin oraz identyfikuje się je pod względem jakościowym i ilościowym. Ta dziedzina chemii ma duże znaczenie w wielu obszarach nauki, szczególnie w naukach farmaceutycznych. Przemysł farmaceutyczny w dużym stopniu opiera się na technikach analitycznych w opracowywaniu, produkcji i wprowadzaniu na rynek bezpiecznych i skutecznych leków. Metody elektroanalityczne odgrywają kluczową rolę w nowoczesnej farmacji, stanowiąc nieodzowne narzędzie w analizie, kontroli jakości oraz monitorowaniu substancji aktywnych w lekach. Ze względu na rosnące wymagania dotyczące precyzyjnej analizy i zapewnienia wysokiej jakości produktów farmaceutycznych, techniki elektroanalityczne stają się coraz bardziej zaawansowane i wszechstronne. Charakteryzują się one wysoką czułością, precyzją oraz zdolnością do analizy nawet bardzo małych ilości próbek. Dzięki temu możliwe jest dokładne określanie stężeń substancji czynnych, badanie reakcji chemicznych oraz monitorowanie procesów zachodzących na różnych etapach produkcji leków. Wprowadzenie metod elektroanalitycznych umożliwia nie tylko

optymalizację procesów produkcyjnych, ale także zapewnienie bezpieczeństwa i skuteczności gotowych produktów farmaceutycznych, co jest kluczowe dla zdrowia i dobrostanu pacjentów (Siddiqui et al. 2017).

Metody elektroanalityczne skupiają się na badaniu analitu (rozpuszczonej substancji w rozpuszczalniku) lub roztworów poprzez pomiar ich potencjału w voltach i/lub prądu w amperach w ogniwie elektrochemicznym lub ich przewodnictwa elektrycznego. Jedną z tych metod jest potencjometria, która służy do mierzenia potencjału, zwykle w celu określenia stężenia substancji w roztworze lub jego odczynu (pH). W tej technice potencjał pomiędzy dwiema elektrodami (wskaźnikową i referencyjną) mierzony jest za pomocą woltomierza o wysokiej impedancji. Jednym ze stosowanych typów elektrod wskaźnikowych są elektrody jonoselektywne, takie jak elektroda wapniowa, potasowa, fluorkowa i inne, które są stosowane odpowiednio do oznaczania stężeń tych jonów w próbkach preparatów farmaceutycznych lub pobranego materiału biologicznego do analizy. Elektrody jonoselektywne wykorzystuje się także w analizach środowiskowych i kontroli jakości produktów spożywczych, kosmetycznych oraz leczniczych (Lindner and Pendley 2013).

Kolejną popularną w analizie farmaceutycznej metodą elektroanalityczną jest konduktometria, która wykorzystuje zdolność roztworów elektrolitów do przewodzenia prądu elektrycznego. Do obliczeń w konduktometrii wykorzystuje się przewodnictwo elektryczne, które opiera się na prawie Ohma. Podstawowym narzędziem w konduktometrii jest konduktometr, który generuje napięcie stałe i mierzy prąd płynący przez próbkę roztworu. Pomiary przewodności są oparte na wykonywane za pomocą elektrod tzw. naczynek konduktometrycznych umieszczanych w próbce roztworu. Dzięki swojej szybkości, prostocie i niezawodności, potencjometria i konduktometria są cennymi narzędziami w analizie farmaceutycznej, wspierającymi badania naukowe, kontrolę jakości surowców oraz zapewnienie bezpieczeństwa i skuteczności leków (Bard and Faulkner 2000).

## **2. Potencjometria**

Jedną z szeroko stosowanych metod w naukach farmaceutycznych jest potencjometria. Dzięki kilku kluczowym czynnikom jest uważana za przełomową. Jednym z tych czynników są elektrody jonoselektywne (ISE – ang. *Ion Selective Electrode*) umożliwiające precyzyjny pomiar stężeń określonych jonów w roztworze. Poprzez ich technologiczne udoskonalenia osiągnięto bardzo niskie granice detekcji składników jonowych w złożonych próbkach, które dają możliwość wykrycia nawet śladowych ilości badanych substancji, w stężeniach mikro- i nanomolowych (Bakker and Pretsch 2007; Wardak et al. 2023). Metoda ta jest także stosunkowo prosta w użyciu i dostarcza szybko wyniki pomiarów. Polega ona na zanurzeniu elektrody w próbce badanej oraz pomiarze potencjału elektrycznego generowanego przez reakcję między elektrodą a jonami w roztworze. Dzięki temu możliwe jest szybkie odczytanie stężenia badanych jonów w próbce. ISE mogą działać również poprzez pomiar różnicy potencjałów na membranie selektywnej dla określonych jonów. Metoda ta jest korzystna ze względu na wysoką selektywność i czułość, szybką reakcję i stosunkowo niski koszt. W celu poprawienia jakości pomiarów stężeń jonów w próbkach stosuje się woltomierz. Jego zastosowanie polega na osiągnięciu wysokiej impedancji w połączeniu z elektrodami jonoselektywnymi membranowymi. Dzięki minimalizacji przepływu prądu i utrzymaniu elektrod w równowadze, możliwe jest zwiększenie stabilności i dokładności pomiarów. Znikomy przepływ prądu minimalizuje wpływ zakłóceń zewnętrznych oraz zapewnia stabilny potencjał elektryczny na powierzchni elektrod, co przekłada się na bardziej precyzyjne i wiarygodne wyniki analiz. W rezultacie, metoda ta umożliwia skuteczne wykorzystanie coraz nowocześniejszych elektrod jonoselektywnych membranowych w różnych oznaczeniach leków (Mostafa et al. 2023; Almutairi et al. 2024). Obecnie jako styk stały w ISE stosuje się materiały kompozytowe i hybrydowe będące połączeniem nanomateriałów węglowych i polimerów, lub w połączeniu z nanocząsteczkami metali, tlenków metali, cieczy jonowych i innych (Wardak et al. 2023).

Osiągnięcie dokładnych pomiarów potencjometrycznych może być jednak trudne ze względu na potencjalny dryft i zakłócenia ze strony innych jonów. W celu wyznaczenia, czy dana metoda jest właściwa oraz skuteczna przeprowadza się badania porównawcze. Są one stosowane w celu oceny, jak dobrze nowa metoda mierzy daną wielkość w porównaniu z metodą ustaloną już wcześniej. Porównania te odgrywają kluczową rolę w zatwierdzaniu nowej klasy elektrod,

szczególne w sytuacjach granic wykrywalności poniżej 1 nanomola. Dzięki tym badaniom oraz rygorystycznej analizie i porównaniu można być pewnym, że nowa metoda spełnia wymagane kryteria wydajności. W praktyce badanie może być prowadzone np. przez pomiar stężenia jonów potasowych lub wapniowych w próbce krwi. Wyniki pomiarów określają poziom jonów potasu i jonów wapnia, co pomaga w diagnostyce stanu pacjenta i doborze metod terapeutycznych (Lindner and Pendley 2013).

W potencjometrii wykorzystuje się również do precyzyjnych oznaczeń ilościowych słabych kwasów lub słabych zasad (którymi najczęściej są leki) miareczkowanie potencjometryczne (Bakker and Pretsch 2007; Mostafa et al. 2023). Za pomocą miareczkowania potencjometrycznego przeprowadza się także badania odwracalności adsorpcji jonów wodorowych i dwuwartościowych metali na dwutlenku tytanu. Wykazano, że adsorpcja jonów miedzi jest odwracalna, podczas gdy dwuwartościowe jony metali wykazują pewną nieodwracalność, szczególnie w potencjale elektrokinetycznym. Wykazano poprzez to, że cząsteczki tlenków metali w roztworach wodnych oddziałują z jonami, a ich ładunek powierzchniowy zależy od pH (Piasecki i Lament 2024).

Miareczkowanie potencjometryczne w naukach farmaceutycznych wykorzystywane jest do wyznaczania wartości pKa substancji leczniczych oraz wyznaczania ich stężeń. Wielokrotnie jest to najdokładniejsza metoda i zalecana (Ke et al. 2016; Meloun et al. 2018). W celu poprawy dokładności oznaczeń różnych substancji aktywnych terapeutycznie opracowano metodę różnicowego miareczkowania potencjometrycznego do punktu zerowego przy użyciu pojedynczej krzywej potencjometrycznej (Bourikas et al. 2005). Przeprowadzone eksperymenty na różnych tlenkach potwierdziły skuteczność tej metody wykorzystującej obecnie nowoczesne, stałe konstrukcje stykowe, czyli elektrody pozbawione wewnętrznego roztworu elektrolitu (Bakker and Pretsch 2007; Wardak et al. 2023).

Zaletą potencjometrii jest możliwość badania roztworów kolorowych lub mętnych, gdyż kolor lub obecność cząstek stałych nie zakłócają pomiarów. Jedynie ze względu na ograniczony zakres pomiarowy pH elektrod wskaźnikowych należy zmienić stężenie badanej próbki, aby elektrody mogły dokonywać pomiarów bez zakłóceń.

### 3. Konduktometria

Jedną z metod elektroanalitycznych najczęściej używaną w naukach farmaceutycznych jest konduktometria. Zasada jej działania opiera się na wykorzystywaniu zdolności roztworów elektrolitów do przewodzenia prądu elektrycznego, gdyż wraz ze zmianą stężenia wszystkich jonów znajdujących się w roztworze przewodnictwo elektryczne ulega zmianom. Do obliczeń przewodnictwa elektrycznego stosuje się prawo Ohma i jego konsekwencje. Zgodnie z zasadą, że opór elektryczny  $R$  jest proporcjonalny do iloczynu oporu właściwego ( $\rho$  – opór właściwy [ $\Omega \cdot \text{cm}$ ]) i długości przewodnika ( $l$  – długość przewodnika [ $\text{cm}$ ]) a odwrotnie proporcjonalny do przekroju przewodnika ( $s$  – przekrój przewodnika [ $\text{cm}^2$ ])  $R = \rho \cdot l / s$  [ $\text{om}$ ] (Hoffmann 1974; Zoski 2007).

Zasłużoną osobą w badaniach nad przewodnictwem elektrolitów był niemiecki fizyk Friedrich Kohlrausch, który w 1869 roku dał początek rozwojowi metody konduktometrycznej. Kohlrausch poprzez swoje eksperymenty próbował zastosować prawo Ohma do przewodnictwa elektrycznego roztworów elektrolitów. Wcześniej było ono stosowane głównie do metalicznych materiałów związanych z przewodnictwem elektronowym. Gdy do pomiaru przewodnictwa zastosował zmienne pole elektryczne o częstotliwości nie większej niż 100 kHz to tym sprawił, że skład roztworu nie zmienił się. Było to duże odkrycie, gdyż brak zastosowania prądu zmiennego powodował osadzanie się produktów redoks z elektrolizy na elektrodach co skutkowało zmianą stężenia jonów w roztworze. Liczne eksperymenty z wodnymi roztworami soli, kwasów oraz innych elektrolitów doprowadziły do wysunięcia przez Kohlrauscha wniosku, iż przy nieskończonym rozcieńczeniu występuje określone przewodnictwo dla każdego typu migrujących jonów, niezależnie od tego z jakimi różnymi jonami był związany. Przykładowo, jon  $\text{K}^+$  (o takim samym stężeniu) pochodzący zarówno z soli  $\text{KCl}$  jak i  $\text{KNO}_3$  wykazywał takie samo przewodnictwo całkowite. Dzięki tym obserwacjom zostało sformułowane prawo Kohlrauscha w roku 1874, według którego molowe przewodnictwo elektrolitu ( $\Lambda$ ) równa się sumie molowych przewodnictw kationów ( $\Lambda^+$ ) i anionów ( $\Lambda^-$ ), uwzględniając współczynniki stechiometryczne kationów ( $\nu^+$ ) i anionów ( $\nu^-$ ):  $\Lambda = \nu^+ \Lambda^+ + \nu^- \Lambda^-$ .

Wielu innych naukowców w późniejszych latach przyczyniło się do rozwoju i rozszerzenia wiedzy na ten wyjątkowo istotny temat (Katz 2021).

Pomiar konduktometryczny przeprowadza się w roztworze elektrolitu poprzez przyłożenie zewnętrznego źródła napięcia prądu zmiennego do dwóch identycznych metalowych elektrod. W wyniku dysocjacji w roztworze powstają jony dodatnie (kationy) oraz ujemne (aniony), które przemieszczają się odpowiednio: kationy w kierunku katody (ujemna elektroda), aniony w kierunku przeciwnym – anody (dodatnia elektroda). Występuje zjawisko przewodnictwa elektrolitycznego poprzez wytworzenie prądu elektrycznego w obwodzie elektrycznym pod wpływem zewnętrznego pola elektrycznego (Kisza 2000; Hamann et al. 2000).

W konduktometrii dokonuje się pomiaru przewodnictwa elektrycznego roztworu znajdującego się między dwoma elektrodami platynowymi. Badanie przewodnictwa dotyczy przede wszystkim wodnych roztworów elektrolitów, które charakteryzują się określonym przewodnictwem elektrycznym  $G$ , definiowanym jako odwrotność oporu omowego  $R$  ( $G = 1/R$ ) (Hoffmann 1974; Zoski 2007).

Przewodnictwo właściwe elektrolitu ( $\chi$ ) jest wprost proporcjonalne do przewodnictwa elektrycznego i odległości pomiędzy elektrodami oraz odwrotnie proporcjonalne do powierzchni tych elektrod ( $\chi = 1/R \times l/s$  [ $S \cdot cm^{-1}$ ]). Przewodnictwo właściwe zależy od rodzaju elektrolitu, jego stężenia i temperatury. W obszarze małych stężeń przewodnictwo rośnie niemal liniowo, co jest wynikiem zwiększania się ilości jonów przypadających na jednostkę objętości roztworu. W roztworach stężonych przewodnictwo początkowo rośnie a następnie maleje, związane jest to z niecałkowitą dysocjacją elektrolitów i wzrastającym oddziaływaniem między jonowym. Przewodnictwo rośnie ze wzrostem temperatury. Temperatura roztworu musi być znana, aby pomiar był prawidłowy. Wzrost temperatury o 1 stopień Celsjusza powoduje zwiększenie ruchliwości jonów, a co za tym idzie większą przewodność o około 2% w przypadku wody wodociągowej i około 6% dla wody o wysokim stopniu czystości (Zoski 2007, Szczepaniak 2012).

W analizie konduktometrycznej można wyróżnić dwie metody: konduktometrię bezpośrednią i miareczkowanie konduktometryczne. Konduktometria bezpośrednia polega na pomiarze przewodnictwa właściwego elektrolitów i na tej podstawie określa się stężenie substancji. Miareczkowanie konduktometryczne polega na pomiarach zmian przewodnictwa roztworu miareczkowanego. Zmiany te są widoczne wówczas, gdy do roztworu wprowadza się jony różniące się znacznie ruchliwością od jonów obecnych pierwotnie w roztworze. Punkt końcowy miareczkowania ustala się graficznie na podstawie wykresu przedstawiającego zależność przewodnictwa miareczkowanego roztworu od objętości dodanego odczynnika miareczkującego. Podczas miareczkowania konduktometrycznego w miarę dodawania odczynnika miareczkującego objętość roztworu wzrasta, a jego stężenie ulega zmianie. Rzeczywistą wartość przewodnictwa uzyskuje się, uwzględniając poprawkę na rozcieńczenie roztworu. Miareczkowanie konduktometryczne znajduje zastosowanie przede wszystkim w reakcjach zobojętniania i strącania (Szczepaniak 2012).

Przewodność elektrolityczna zależy również od stopnia zanieczyszczenia. Im bardziej zanieczyszczona jest ciecz, tym większa jest jej przewodność elektryczna. Woda czysta niemal nie przewodzi prądu elektrycznego. Przyrządem pomiarowym używanym w konduktometrii do pomiaru przewodności roztworów elektrolitów jest konduktometr. Jest on stosowany do orientacyjnych pomiarów zanieczyszczenia, zasolenia wody oraz miareczkowaniu konduktometrycznym. Detektory konduktometryczne bywają stosowane w mikroelektroforezie kapilarnej, czy HPLC, a także wraz z detektorami UV w oznaczaniu antybiotyków i innych preparatów farmaceutycznych w formie tabletek (Altiokka et al. 2007). Opracowano wiele alternatywnych, bardzo czułych metod konduktometrycznego ilościowego oznaczania leków, m. in. hykalanu doksycykliny i HCl oksytetracykliny opartych na reakcji wymienionych leków z kwasem fosforowolframowym z utworzeniem asocjatów jonowych w układzie wodnym (Sayed et al. 2020). Specjalnego rodzaju konduktometrii stosowane są także do pomiarów stopnia zużycia elektrolitycznych akumulatorów elektrycznych.

Konduktometria wykorzystywana jest w różnych zastosowaniach. Pomiaru przewodności są istotne między innymi dla przemysłu i ochrony środowiska. W zależności od zastosowania, pomiar

może odbywać się w laboratorium, na obiekcie za pomocą ręcznego przyrządu lub w sposób ciągły, na przykład w środowisku procesowym. Pomiar przewodności elektrolitycznej wykonuje się w takich miejscach, jak: oczyszczalnie ścieków, cynkownie, produkcja farmaceutyczna, elektrownie, zakłady odsalania. Przewodność jest ważnym narzędziem monitorowania różnych rodzajów wody: wody czystej, pitnej, naturalnej, technologicznej czy jakości wód chemicznych oraz innych rozpuszczalników (Zhang et al. 2020).

Techniką analizy jakościowej i ilościowej może być miareczkowanie konduktometryczne. Polega ono na pomiarze stężenia jonów w roztworze na podstawie pomiaru przewodnictwa elektrycznego. Zmiany analizowanego roztworu są widoczne po wprowadzeniu do analitu, titrantu zawierającego jony, które różnią się m.in. ruchliwością od jonów będących w analizie. Miareczkowanie konduktometryczne przydaje się szczególnie podczas miareczkowania słabych kwasów i zasad, gdzie tradycyjne metody spektrofotometryczne mogą nie być wystarczająco skuteczne. Miareczkowanie konduktometryczne posiada wiele zalet takich jak dokładność metody, możliwość stosowania jej do różnych typów reakcji czy możliwość łatwej automatyzacji przy pomocy komputerów oraz tandemizacji z innymi technikami, gdy jest to niezbędne (Altioka et al. 2007, Sayed et al. 2020). Wadami tej metody może być natomiast wrażliwość na zanieczyszczenia jonowe (Szczepaniak 2012).

Konduktometria jest metodą z wyboru do oznaczania czystości wody używanej do sporządzania leków (Farmakopea Polska VII tom I). Woda destylowana ma bardzo niskie przewodnictwo rzędu  $0,05\text{-}1\ \mu\text{S}/\text{cm}$  w temperaturze  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  w przeciwieństwie do wody pitnej, która zawiera około  $500\ \mu\text{S}/\text{cm}$ , co jest spowodowane występowaniem w niej naturalnych soli, rozpuszczonych gazów czy cząstek organicznych. Niska wartość jest skutkiem auto dysocjacji wody, która generuje bardzo małe hydroniowych i wodorotlenkowych. Zanieczyszczenie wody niewielką ilością jonów wpływa na jej przewodnictwo, dlatego czysta woda jest używana jako baza do pomiarów kontrolnych, służyć jako punkt odniesienia i jest niezbędna dla uzyskania precyzyjnych i wiarygodnych wyników. Czysta woda pełni rolę rozpuszczalnika dla niektórych substancji. Dzięki swoim właściwościom minimalizuje wpływ zanieczyszczeń jonowych, dzięki czemu wyniki nie zostają zakłócone.

#### **4. Podsumowanie**

Potencjometria polega na pomiarze potencjału elektrody zanurzonej w roztworze. W naukach farmaceutycznych jest wykorzystywana głównie do określania pH roztworów, co jest kluczowe dla wielu procesów, takich jak synteza, formułacja i stabilność leków. Ponadto, potencjometria znajduje zastosowanie w miareczkowaniach potencjometrycznych, które są stosowane do oznaczania zawartości substancji czynnych i pomocniczych w lekach. Ta technika jest szczególnie przydatna w analizie związków, które nie mają wyraźnych punktów końcowych w klasycznych metodach miareczkowania. Potencjometria jest również wykorzystywana w badaniach stabilności leków, monitorując zmiany pH w czasie, co dostarcza informacji na temat stabilności i okresu przydatności produktów farmaceutycznych. Dzięki postępowi inżynierii materiałowej nowe elektrody jonoselektywne o stałych stykach kompozytowych mogą być wykorzystywane do oznaczania nano-ilości leków. Konduktometria z kolei polega na pomiarze przewodności elektrycznej roztworów, co pozwala na ocenę stężenia jonów w roztworze. W naukach farmaceutycznych konduktometria jest stosowana do badania czystości wody używanej w procesach produkcyjnych oraz do analizy zawartości soli i innych substancji jonowych w lekach. Jest to metoda wykorzystywana również w miareczkowaniach konduktometrycznych, które są przydatne w analizie substancji nieprzewodzących prądu w klasycznych metodach analizy. Konduktometria umożliwia także kontrolę procesów technologicznych, monitorując zmiany przewodności w czasie reakcji chemicznych, co jest istotne dla zapewnienia jakości i powtarzalności produkcji farmaceutycznej.

Obie metody, potencjometria i konduktometria pozwalają na ilościowe oznaczenie różnego rodzaju jonów nieorganicznych, jak i organicznych w próbkach cieczy, odgrywają kluczową rolę w zapewnieniu jakości, bezpieczeństwa i skuteczności produktów farmaceutycznych, wspomagając procesy badawcze, rozwojowe i produkcyjne.

## 5. Literatura

- Almutairi S, Alarfaj NA, Almutairi AM, El-Tohamy MF (2024). Exploiting of Green Synthesized Metal Oxide Nanoparticles in the Potentiometric Determination of Metformin Hydrochloride in Pharmaceutical Products. *International Journal of Analytical Chemistry* 2024:8354311.
- Altiokka G, Can NO, Aboul-Enein HY (2007) Determination of amoxicillin by flow injection analysis using UV-detection, potentiometry and conductometry in pharmaceutical preparations. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 30(9-10), 1333-1341.
- Bakker E, Pretsch E (2007). *Modern potentiometry*. *Angew Chem Int Ed Engl*. 46(30):5660-8.
- Bard AJ, Faulkner LR (2000) *Electrochemical methods: fundamentals and applications* (2 ed.). Wiley.
- Bourikas K, Kordulis C, Lycourghiotis A (2005) Differential potentiometric titration: development of a methodology for determining the point of zero charge of metal (hydr)oxides by one titration curve. *Environmental Science of Technology* 39(11): 4100-4108.
- Farmakopea Polska wydanie VII tom I.
- Hamann CH, Hamnett A, Vielstich W (2000) *Electrochemistry* 127-134.
- Hoffmann K (1974) Applying the wheatstone bridge circuit, HBM
- Katz (2021) *Electrochemical contributions: Friedrich Wilhelm Georg Kohlrausch (1840–1910)*. *Electrochemical Science Advances* (2):2.
- Ke J, Dou H, Zhang X, Uhagaze DS, Ding X, Dong Y (2016). Determination of pKa values of alendronate sodium in aqueous solution by piecewise linear regression based on acid-base potentiometric titration. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6(6):404-409.
- Kisza A (2000) *Elektrochemia I*. *Jonika* 101-123.
- Lindner E, Pendley BD (2013) A tutorial on the application of ion-selective electrode potentiometry: An analytical method with unique qualities, unexplored opportunities and potential pitfalls; Tutorial. *Analitica Chimica Acta* 762: 1–13.
- Meloun M, Čápková A, Pilařová L, Pekárek T (2018) Multiwavelength UV-metric and pH-metric determination of the multiple dissociation constants of the lesinurad. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 158:236-246.
- Mostafa GAE, El-Tohamy MF, Ali EA, et al. (2023) Ionophore-Based Polymeric Sensors for Potentiometric Assay of the Anticancer Drug Gemcitabine in Pharmaceutical Formulation: A Comparative Study. *Molecules*. 28(22):7552.
- Piasecki W, Lament K (2024) Application of potentiometric and electrophoretic measurements to evaluate the reversibility of adsorption of divalent ions from a solution on titanium dioxide. *Molecules* 29(3): 555.
- Sayed RA, Elmastry MS, Hassan WS, El-Mammlı MY, Shalaby A (2020) The use of surface plasmon resonance band of green silver nanoparticles and conductometry for quantitative determination of minor concentrations of doxycycline hyclate and oxytetracycline HCl in pure and pharmaceutical dosage forms. *International Journal of Nanomanufacturing* 16(3).
- Siddiqui MA, AlOthman ZA, Rahman N (2017) Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review. *Arabian Journal of Chemistry* 10(1): S1409-S1421.
- Szczepaniak W (2012) *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*. Warszawa.
- Wardak C, Pietrzak K, Morawska K, Grabarczyk M (2023) Ion-Selective Electrodes with Solid Contact Based on Composite Materials: A Review. *Sensors (Basel)* 23(13):5839.
- Zhang W, Chen X, Wang Y, Wu L, Hu Y (2020) Experimental and modeling of conductivity for electrolyte solution systems. *ACS Omega* 5(35): 22465-22474.
- Zoski CG (2007) *Handbook of electrochemistry*. Elsevier Science, 179-190.



## **14. Regulacje prawne i etyczne eksperymentów medycznych w Polsce: analiza i perspektywy**

Legal and ethical regulations of medical experiments in Poland: analysis and prospects

Krystian Jabłoński

Instytut Nauk Prawnych Polskiej Akademii Nauk

Krystian Jabłoński: k.jablonski@dydaktyka.inp.pan.pl

Słowa kluczowe: eksperymenty medyczne, regulacje prawne, etyka badań, ochrona danych osobowych

### **Streszczenie**

Artykuł dokonuje analizy przepisów regulujących eksperymenty medyczne w Polsce oraz porusza związane z nimi wyzwania etyczne. Rozpoczynając od omówienia podstaw prawnych, takich jak Ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentysty oraz Ustawa o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta, autor prezentuje, w jaki sposób te regulacje kreują ramy odpowiedzialności, wymogi dotyczące uzyskania świadomej zgody oraz role komisji bioetycznych.

Praca zwraca uwagę na to, jak postęp technologiczny oraz zmieniająca się świadomość społeczna wpływają na prawne i etyczne aspekty badań klinicznych, co skłania do przemyślenia i ewolucji istniejących norm prawnych. Zastosowana zostaje metodologię porównawcza, umieszczając polskie regulacje w kontekście międzynarodowych standardów, co pozwala na identyfikację najlepszych praktyk możliwych do implementacji w polskim systemie prawnym.

Zostają przeprowadzone również wyzwania związane z ochroną danych osobowych w świetle RODO oraz omawia przyszłe kierunki rozwoju regulacji w kontekście szybkiego postępu w biomedycynie.

Na zakończenie, artykuł zawiera rekomendacje dla polskiego ustawodawstwa, zalecając regularne przeglądy prawne i współpracę międzynarodową, mające na celu adaptację przepisów do nowych wyzwań etycznych i technologicznych.

Celem publikacji jest dostarczenie wszechstronnego przeglądu obecnego stanu regulacji i wskazanie potrzebnych kierunków zmian, aby zapewnić skuteczną ochronę uczestników badań oraz stymulować innowacyjność w sektorze medycznym.

### **1. Wstęp**

Eksperymenty medyczne, stanowiące fundament współczesnej medycyny, odgrywają kluczową rolę w rozwoju nowoczesnych metod diagnostycznych, terapeutycznych oraz farmakologicznych. W Polsce, działalność związana z badaniami klinicznymi podlega regulacjom prawno-etycznym, mającym na celu ochronę praw uczestników oraz zapewnienie najwyższych standardów naukowych i etycznych. Owe regulacje są zakotwiczone przede wszystkim w Ustawie o zawodach lekarza i lekarza dentysty oraz w Ustawie o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta, które wspólnie kreują ramy odpowiedzialności, zasady uzyskiwania świadomej zgody, oraz definiują role i obowiązki komisji bioetycznych.

Rozwój technologii medycznych oraz rosnąca świadomość społeczna na temat praw pacjentów generują jednak nowe wyzwania, które wymagają kontynuacji dialogu prawnego i etycznego oraz ewolucji istniejących przepisów (Gałuszka 2012, s. 119-122). Znaczące tu są kwestie takie jak ochrona danych osobowych w świetle przepisów RODO czy regulacje dotyczące międzynarodowej współpracy badawczej.

Celem niniejszego artykułu jest dogłębna analiza obowiązującego stanu prawnego regulującego eksperymenty medyczne na terenie Polski, identyfikacja kluczowych wyzwań i propozycja kierunków ewentualnych modyfikacji prawnych, które mogą ulepszyć ochronę uczestników badań oraz stymulować innowacyjność w sektorze medycznym. Artykuł, korzystając

z metodologii porównawczej, umieszcza również polskie regulacje w kontekście globalnych standardów, co umożliwi wypracowanie rekomendacji dotyczących najlepszych praktyk, które można by zaimplementować w polskim systemie prawnym.

W mojej pracy wykorzystam szerokie spektrum metodologii badawczych stosowanych w naukach prawnych. W szczególności koncentruję się na metodzie doktrynalnej, która pozwala na dogłębne zrozumienie i analizę literatury przedmiotu, aktów prawnych oraz doktryny prawnej. Jest to kluczowe dla identyfikacji i rozwiązania problemów prawnych związanych z eksperymentami medycznymi. Ponadto, metoda analizy orzeczniczej umożliwi badanie, jak polskie sądy interpretują i stosują istniejące przepisy w praktyce. Jest to niezbędne do oceny skuteczności i adekwatności obecnych regulacji. Badanie empiryczne, choć rzadziej stosowane w badaniach prawnych, jest również przewidziane do oceny wpływu obowiązujących norm na praktykę medyczną i badawczą, co pozwala na zidentyfikowanie luki między teorią a praktyką. Wreszcie, metoda komparatystyczna jest kluczowa w umieszczeniu polskich rozwiązań w szerszym kontekście międzynarodowym, co umożliwi ocenę, jak Polska wypada na tle innych systemów prawnych oraz jakie praktyki mogą być adaptowane do ulepszenia krajowych regulacji (Bronk 2006, s. 47-62).

## **2. Ramy prawne eksperymentów medycznych w Polsce**

Eksperyment medyczny w prawie karnym jest zagadnieniem skomplikowanym, związanym z ochroną praw pacjentów i uczestników badań. Zgodnie z polskim prawem karnym, prowadzenie eksperymentów medycznych bez odpowiednich zezwoleń, świadomej zgody uczestnika lub w sposób naruszający obowiązujące standardy etyczne może być uznane za przestępstwo. Przepisy te mają na celu zapewnienie, że wszelkie działania medyczne, które mogą wykraczać poza standardową opiekę zdrowotną, są przeprowadzane z należytą starannością i respektowaniem godności oraz praw osób poddawanych eksperymentom. Naruszenie tych zasad może skutkować odpowiedzialnością karną dla osób odpowiedzialnych, w tym lekarzy i innych pracowników służby zdrowia, co podkreśla powagę, z jaką prawo podchodzi do kwestii eksperymentów medycznych.

### **2.1 Podstawy prawne regulacji**

Krajobraz prawny eksperymentów medycznych jest szczegółowo określony zarówno w ustawie z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. z 1997 r. Nr 28, poz. 152, z późn. zm.), jak i w ustawie z dnia 6 listopada 2008 r., o prawach pacjenta oraz Rzecznika Praw Pacjenta (Dz. U. z 2009 r. Nr 52, poz. 417 z późn. zm.).

Zagłębmy się w szczegółową analizę tych ustaw, aby rozwikłać zawłości prowadzenia eksperymentów medycznych w polskich ramach prawnych.

Art. 21a. 1 ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentysty określa warunki, na jakich lekarz może przeprowadzić na pacjencie eksperyment medyczny:

- a) Korzyści i uzasadnienie medyczne: Wykorzystanie uzyskanych wcześniej danych naukowych musi dawać pacjentowi wymierne korzyści i być uzasadnione medycznie.
- b) Ocena ryzyka: Nie należy zakładać, że eksperyment medyczny narazi pacjenta na nadmierne ryzyko uszczerbku na zdrowiu lub życiu.
- c) Standardy placówki: Eksperyment medyczny musi być przeprowadzony w placówce spełniającej określone wymagania określone w przepisach wydanych na podstawie art. 30.
- d) Świadoma zgoda: Pacjent musi wyrazić pisemną zgodę po uzyskaniu pełnej informacji o celu eksperymentu, zastosowanych metodach i związanym z nim ryzyku, w tym ryzyku wystąpienia działań niepożądanych lub niekorzystnych skutków dla zdrowia lub życia pacjenta.

Art. 46 ust. 1 ustawy o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta reguluje warunki przeprowadzenia eksperymentu medycznego:

- a) Wymóg zgody: Eksperyment medyczny można przeprowadzić wyłącznie za zgodą pacjenta, po uprzednim udzieleniu wyczerpujących informacji o charakterze, celu, oczekiwanych korzyściach

i ryzyku związanym z eksperymentem. Dodatkowo pacjent ma prawo na każdym etapie wycofać się z udziału w badaniu bez podania przyczyny.

**b)** Sytuacje nadzwyczajne: Eksperyment medyczny można przeprowadzić bez zgody pacjenta w sytuacjach pilnych, gdy stan zdrowia pacjenta wymaga natychmiastowej interwencji, a nie ma czasu na uzyskanie zgody przed zastosowaniem eksperymentalnej metody leczenia.

**c)** Scenariusze ratujące życie: W przypadkach, gdy konieczne jest uratowanie życia pacjenta, a nie jest możliwa alternatywna metoda leczenia uznana za skuteczną i bezpieczną, można przeprowadzić eksperyment medyczny bez zgody pacjenta.

Z analizy obu aktów prawnych wynika, że podstawą jest wymóg uzyskania zgody pacjenta przed przeprowadzeniem eksperymentu medycznego. Ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentystry wymaga pisemnej zgody, zawierającej szczegółowy opis celu, metod i zagrożeń związanych z przeprowadzeniem eksperymentu. Z kolei Ustawa o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta opowiada się za wymogiem bardziej ogólnym, kładącym nacisk na zapewnienie pacjentowi odpowiednich informacji przed badaniem.

Warto w tym miejscu nawiązać do ważnego wyroku. W wyroku z dnia 21 września 2022 r. (I NSNC 75/21) Sąd Najwyższy stwierdził, że prowadzenie eksperymentów niezgodnie z przepisami prawa narusza godność i wolność człowieka. Samo przeprowadzenie eksperymentu medycznego bez spełnienia wszystkich przesłanek jego legalności stanowi naruszenie godności i wolności człowieka. Warto zaznaczyć, że istotnym czynnikiem wpływającym na wysokość odszkodowania jest udokumentowanie stanu zdrowia uczestnika. Co więcej, samo zatwierdzenie procesu badawczego przez Ministra Zdrowia nie oznacza jego legalności (Kozielewicz-Kutrzepa 2022, s. 113-121)

Osoby wykonujące zawody prawnicze i uczeni mogą różnić się w interpretacji i stosowaniu niniejszego statutu. Aby uzyskać wszechstronne zrozumienie niuansów występujących w praktyce prawniczej i dyskursie naukowym, konieczne jest dokonanie dokładnego przeglądu orzecznictwa i perspektyw doktrynalnych. Analiza ta rzuci światło na rozbieżne poglądy, potencjalne kontrowersje i ewoluujący charakter interpretacji w obszarze eksperymentów medycznych w polskim prawie.

Podsumowując, polskie ramy prawne regulujące eksperymenty medyczne są misternie utkane z przepisów chroniących prawa pacjenta, świadomą zgodę i szczegółowe warunki przeprowadzania eksperymentów.

Dalsze badanie orzecznictwa i opinii naukowych wzbogaci nasze zrozumienie praktycznego zastosowania i ewoluujących perspektyw w tej dziedzinie prawa. Badając te przepisy prawne, należy koniecznie uwzględnić ewoluujący charakter nauk i technologii medycznych. Szybkie tempo postępu stwarza nowe wyzwania i możliwości. Ponieważ stoimy u progu bezprecedensowych przełomów w medycynie, ramy prawne powinny nadal mieć charakter adaptacyjny i być w stanie uwzględnić pojawiające się zawiłości. Skłania nas to do zastanowienia się nad koniecznością okresowych rewizji, aby zapewnić, że otoczenie prawne dotrzymuje kroku dynamicznemu charakterowi badań medycznych.

## 2.2 Rola komisji bioetycznych

Komisje bioetyczne w Polsce odgrywają centralną rolę w systemie nadzoru nad eksperymentami medycznymi, gwarantując, że wszystkie badania przeprowadzane są zgodnie z najwyższymi standardami etycznymi i prawnymi. Ich głównym zadaniem jest ocena i zatwierdzanie projektów badawczych, co obejmuje szczegółową analizę celów badania, metodologii, potencjalnych korzyści dla uczestników oraz ryzyka z nich wynikających. Ważnym elementem tej oceny jest również weryfikacja procesu informowania uczestników i sposobu przetwarzania ich danych osobowych (Barcikowska-Szydło, Dąbek, Kubiak, Majcher, Malczewska, Namysłowska-Gabrysiak, Sakowski, Syroka-Marczewska, Zielińska 2022, s. 763-770).

Komisje te są odpowiedzialne nie tylko za początkowe zatwierdzenie badań, ale także za bieżący monitoring ich przebiegu. W praktyce oznacza to, że mogą one żądać od badaczy regularnych raportów dotyczących postępów w badaniu oraz mogą przeprowadzać kontrole, aby upewnić się, że badanie jest realizowane zgodnie z zatwierdzonym protokołem. Komisje mają uprawnienia do

interweniowania, gdy badania odchylają się od ustalonych norm, co jest kluczowe dla ochrony bezpieczeństwa i praw uczestników (Świerczyński, Traple, Krekora 2019, s. 239-247).

Działalność komisji bioetycznych jest regulowana przez polskie prawo, które precyzuje ich skład, zakres obowiązków oraz procedury, jakimi się kierują. Stanowią one niezastąpiony element w systemie ochrony praw pacjentów i uczestników badań, pełniąc funkcję kontrolną i zapewniając, że Polska pozostaje na czele krajów przestrzegających etycznych standardów w badaniach medycznych.

### 2.3 Ochrona danych osobowych

W kontekście szybko postępującej digitalizacji informacji medycznej, Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE (dalej: RODO) wprowadza istotne wymogi dotyczące przetwarzania danych osobowych uczestników badań.

Zgodnie z art. 9 ust. 2 lit. j RODO, przetwarzanie danych dotyczących zdrowia dla celów badań naukowych jest możliwe pod warunkiem zapewnienia odpowiednich środków ochrony praw i wolności osób, których dane dotyczą. To zobowiązuje badaczy do implementacji zaawansowanych środków bezpieczeństwa oraz utrzymania transparentności procesów przetwarzania danych (Łakomicz 2020, s. 171-177).

Badacze muszą nie tylko informować uczestników o zakresie i celu zbierania danych, ale także o wszelkich prawach, jakie przysługują osobom, których dane dotyczą, w tym o prawie do dostępu do danych, ich sprostowania, ograniczenia przetwarzania czy przenoszenia danych.

### 2.4 Przyszłe kierunki rozwoju

Rozwój technologii biomedycznych, jak edycja genów czy terapie komórkowe, stawia przed polskim systemem prawnym nowe wyzwania, które wymagają nie tylko ciągłego monitorowania, ale również adaptacji i uaktualniania istniejących przepisów, aby adekwatnie odpowiadać na zmieniające się realia medycyny i nauki. Ustawodawstwo musi znaleźć odpowiedź na pytania dotyczące etyki, bezpieczeństwa, a także własności intelektualnej w kontekście najnowszych osiągnięć biotechnologicznych.

Przykładowo, istotne będzie szczegółowe uregulowanie kwestii związanych z biobankami, które przechowują materiał genetyczny, co stanowi wyzwanie zarówno w aspekcie technicznym, jak i prawnym. Przyszłe regulacje będą musiały również zająć stanowisko w kwestii eksperymentów na embrionach ludzkich i innych kontrowersyjnych tematach, które rodzą liczne debaty etyczne i społeczne.

Takie uaktualnienia są kluczowe, by polskie prawo mogło efektywnie wspierać innowacje w dziedzinie biomedycyny, jednocześnie chroniąc prawa uczestników badań i zapewniając, że Polska pozostaje na czele krajów przestrzegających najwyższych standardów etycznych w badaniach medycznych. Odpowiednie ramy prawne są niezbędne do utrzymania zaufania publicznego do nauki i badań, co jest fundamentem dla postępu medycznego i technologicznego.

## 3. Etyczne i prawne wyzwania eksperymentów medycznych

Eksperymenty medyczne, pomimo swojej kluczowej roli w postępie naukowym i medycznym, niosą ze sobą szereg wyzwań etycznych i prawnych, które wymagają ciągłej uwagi i refleksji. Rozwój biotechnologii i inżynierii genetycznej, szczególnie w obszarze edycji genów i terapii komórkowych, stawia przed społeczeństwem pytania o granice ingerencji w naturę ludzką, które były niegdyś domeną fantastyki naukowej.

### 3.1 Wyzwania etyczne

Zagadnienie odpowiedzialności za eksperymenty medyczne ma także ciemne strony historii, które nieustannie wpływają na kształtowanie się współczesnych przepisów etycznych. Przykładem tego są zbrodnie popełnione przez niemieckich lekarzy podczas II wojny światowej, które obejmowały przeprowadzanie nieludzkich eksperymentów na więźniach obozów koncentracyjnych.

Te okrutne praktyki doprowadziły do rozwoju Kodeksu Norymberskiego, który do dziś stanowi podstawę etycznych standardów w badaniach medycznych na świecie. Refleksja nad przeszłością staje się kluczowym elementem w procesie kształcenia nowych pokoleń badaczy i lekarzy, podkreślając znaczenie ścisłego przestrzegania etycznych zasad w badaniach naukowych.

Profesor Michael J. Sandel z Uniwersytetu Harvarda podkreśla, jak dążenie do genetycznego doskonałości może zagrażać podstawowym wartościom, takim jak godność i równość. Sandel argumentuje, że postępy w genetyce wymagają nieustannej refleksji etycznej, która jest centralna dla ludzkiej tożsamości i wspólnoty (Sandel 2020, s. 61-66).

Współczesne eksperymenty medyczne, szczególnie te związane z eugeniką i sterylizacją przymusową, rodzą pytania o nową formułę eugeniki, którą Rebecca M. Kluchin określa mianem neo-eugeniki. Przesunięcie od przymusowej sterylizacji do dobrowolnej kontroli urodzeń i zapobiegania niechcianym ciążyom otwiera nowe obszary debaty etycznej (Kluchin 2009, s. 10-13).

### 3.2 Wyzwania prawne

Z prawnego punktu widzenia, eksperymenty medyczne w Polsce i na świecie muszą być prowadzone zgodnie z rygorystycznymi standardami ochrony praw uczestników.

Wymogi te obejmują nie tylko zapewnienie świadomej zgody, ale również ochronę danych osobowych i prawo do rezygnacji z badania w dowolnym momencie. Ponadto, prawo musi sprostać wyzwaniom związanym z nowymi technologiami, takimi jak kwestie patentowania odkryć genetycznych czy moralne i prawne aspekty klonowania.

### 3.3 Przyszłe kierunki rozwoju

W kontekście eksperymentów medycznych, jednym z kluczowych wyzwań jest utrzymanie równowagi między wolnością badań a ochroną praw jednostki. Jest to szczególnie istotne w świetle szybkiego rozwoju technologii, które mogą wpływać na zmiany w ludzkim genomie. Przyszłe regulacje prawne będą musiały skupić się na zdefiniowaniu granic dopuszczalnych interwencji genetycznych oraz ustaleniu, kiedy takie działania są etycznie i prawnie uzasadnione.

Refleksja nad etycznymi i prawnymi aspektami eksperymentów medycznych jest niezbędna do tego, aby nauka i technologia służyły dobru człowieka, a nie prowadziły do nadużyć lub naruszeń podstawowych praw człowieka. Wymaga to ciągłego dialogu między badaczami, prawnikami, etykami i społeczeństwem, aby zapewnić, że postęp medyczny idzie w parze z poszanowaniem godności każdej osoby.

## 4. Porównanie międzynarodowe

Analiza porównawcza regulacji prawnych dotyczących eksperymentów medycznych w Polsce, w kontekście międzynarodowym, pokazuje, jak Polska wpisuje się w szersze trendy globalne.

W Unii Europejskiej, podobnie jak w Polsce, obowiązują wysokie standardy etyczne i prawne regulujące badania medyczne, oparte na Rozporządzeniu o Ochronie Danych Osobowych (RODO) oraz innych lokalnych ustawach. W porównaniu do Stanów Zjednoczonych, gdzie regulacje są podobne, ale nadzorowane przez FDA (Food and Drug Administration), Polska i inne kraje UE stosują bardziej jednolite podejście dzięki regulacjom unijnym (Hickmann 2003, s. 3-11).

Wpływ międzynarodowych kodeksów etycznych, takich jak Deklaracja Helsińska i Kodeks Norymberski, jest zauważalny zarówno w polityce UE, jak i w polskim ustawodawstwie, które w sposób wyraźny odnosi się do tych dokumentów, podkreślając ich znaczenie w kształtowaniu przepisów etycznych.

W kontekście globalnych tendencji, coraz bardziej zauważalne jest również rosnące znaczenie współpracy międzynarodowej w dziedzinie regulacji badań medycznych. Polska jako członek Unii Europejskiej, uczestniczy w licznych inicjatywach mających na celu harmonizację przepisów etycznych i prawnych w zakresie badań klinicznych. Ta współpraca przejawia się nie tylko w implementacji wspólnych regulacji, ale także w wymianie doświadczeń i najlepszych praktyk między państwami członkowskimi, co umożliwi skuteczniejsze reagowanie na nowe wyzwania biomedyczne oraz szybsze adaptowanie się do postępu technologicznego.

Oprócz tego, Polska może czerpać korzyści z międzynarodowych badań porównawczych, analizując różnice w regulacjach na różnych kontynentach. Na przykład, wdrażając rozwiązania zastosowane w krajach o długiej tradycji badań medycznych, takich jak Niemcy czy Stany Zjednoczone, można dążyć do jeszcze większej optymalizacji krajowego systemu nadzoru nad badaniami klinicznymi. Takie podejście nie tylko wzmacnia ochronę uczestników badań, ale również przyczynia się do zwiększenia konkurencyjności i innowacyjności polskiej nauki na arenie międzynarodowej.

## **5. Studium przypadku**

Przykładem zastosowania teoretycznych przepisów w praktyce jest eksperyment medyczny nad nowym lekiem przeciwnowotworowym przeprowadzony w Polsce. Projekt ten był realizowany w ramach współpracy międzynarodowej i wymagał nie tylko zgodności z polskim prawem, ale również z międzynarodowymi standardami etycznymi. Lokalna komisja bioetyczna odgrywała kluczową rolę w każdym etapie badania – od wstępnej zgody, przez regularne audyty, aż po ostateczne zatwierdzenie wyników.

Szczególną uwagę skupiono na procesie uzyskiwania świadomej zgody od uczestników, co obejmowało szczegółowe informowanie o potencjalnych ryzykach i korzyściach. W trakcie badania stosowano rygorystyczne procedury monitorowania stanu zdrowia uczestników, aby w każdej chwili móc odpowiednio reagować na ewentualne niepożądane efekty leku. Monitorowanie to było wspierane przez nowoczesne technologie zbierania i analizy danych, co umożliwiło bieżącą ocenę skuteczności leku i bezpieczeństwa pacjentów.

W kontekście tego międzynarodowego eksperymentu medycznego, komunikacja między zespołami naukowymi różnych krajów była niezwykle istotna. Regularne wirtualne spotkania, wymiana danych i wyników badań w czasie rzeczywistym oraz wspólne konferencje pozwalały na efektywne dzielenie się wiedzą i doświadczeniem. Technologia umożliwiła szybsze identyfikowanie problemów i skuteczniejsze wprowadzanie zmian w protokołach badawczych, co było kluczowe dla zachowania ciągłości i rzetelności badania. Ponadto, uczestnictwo międzynarodowych ekspertów i etyków zapewniło, że badanie spełniało najwyższe standardy etyczne, co dodatkowo podnosiło jego wartość naukową i społeczną.

Wyniki badania po jego zakończeniu były publikowane w renomowanych czasopismach naukowych, a także szeroko dyskutowane w mediach i na forum międzynarodowych konferencji. Dzięki temu projektowi udało się nie tylko przetestować nowy lek, ale także rozwijać międzynarodowe standardy w badaniach medycznych. Sukces tego eksperymentu pokazał także znaczenie współpracy międzykulturowej i interdyscyplinarnej w rozwiązywaniu globalnych wyzwań zdrowotnych. Dalsze badania i rozwój są planowane, aby kontynuować poszukiwania nowych, jeszcze skuteczniejszych terapii przeciwnowotworowych, co stanowi nadzieję dla pacjentów na całym świecie.

## **6. Wnioski i rekomendacje**

Na podstawie przeprowadzonej analizy regulacji, porównań międzynarodowych oraz studium przypadku, niniejsza praca podkreśla istotną rolę, jaką polskie prawo odgrywa w etycznym prowadzeniu badań medycznych. Jednakże, w obliczu szybkiego postępu w dziedzinie technologii biomedycznych, staje się oczywiste, że konieczna jest nie tylko ciągła aktualizacja istniejących przepisów, ale również ich adaptacja do nowych wyzwań etycznych i technologicznych. Z tego względu, kluczowe znaczenie mają regularne przeglądy ustawodawstwa, mające na celu zapewnienie, że polskie regulacje pozostają w zgodzie z najlepszymi praktykami światowymi oraz są odpowiedzią na dynamicznie zmieniające się realia nauk medycznych.

Rekomenduje się zatem, aby polskie władze ustawodawcze i wykonawcze wprowadzały systematyczne, regularne przeglądy prawne, w oparciu o stałą współpracę z międzynarodowymi organami regulacyjnymi oraz środowiskiem naukowym. Dzięki temu możliwe będzie szybkie reagowanie na nowe wyzwania, jakie stawia przed medycyną rozwój technologiczny, w szczególności w obszarach tak innowacyjnych jak edycja genów czy terapie komórkowe.

Zasadnicze jest także, aby zwiększyć świadomość praw pacjentów oraz procedur etycznych w społeczeństwie, co może przyczynić się do wzrostu zaufania do sektora badań medycznych w Polsce. Edukacja publiczna i transparentność procesów badawczych są niezbędne dla budowania wzajemnego zaufania i zapewnienia społeczeństwu dostępu do informacji o prowadzonych badaniach i ich celach.

Podsumowując, polskie prawodawstwo musi nieustannie podążać za najnowszymi osiągnięciami nauki, jednocześnie kierując się zasadami etyki i ochrony praw jednostki. Wymaga to nie tylko biegłości prawnej, ale także głębokiego zrozumienia potrzeb i wyzwań współczesnej medycyny. Działania te powinny być wspierane przez rozbudowane i systematyczne konsultacje z różnymi grupami interesariuszy, w tym naukowcami, lekarzami, pacjentami oraz organizacjami pacjentów, aby wspólnie kształtować przyszłość badań medycznych w Polsce w sposób odpowiedzialny i zgodny z najwyższymi standardami etycznymi.

## **7. Literatura**

- Barcikowska-Szydło E, Dąbek A, Kubiak R, Majcher K, Malczewska M, Namysłowska-Gabrysiak B, Sakowski K, Syroka-Marczewska, K & Zielińska E (2022) Ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentysty. Komentarz.
- Bronk A (2006) Metoda naukowa.
- Gałuszka M (2012) Nowe zjawiska w relacji lekarz – pacjent w kontekście rozwoju internetu.
- Hickmann M A (2003) Food and Drug Administration.
- Kluchin, RnM (2009) Fit to Be Tied: Sterilization and Reproductive Rights in America, 1950-1980.
- Kozielewicz-Kutrzepa B (2022) Zadośćuczynienie za krzywdę wyrządzoną uczestnikowi eksperymentu medycznego – glosa do wyroku Sądu Najwyższego z 21.09.2022 r. [w] Palestra - Pismo Adwokatury Polskiej.
- Łakomic K (2020) Konstytucyjna ochrona prywatności. Dane dotyczące zdrowia.
- Sandel M J (2020) Przeciwno udoskonalaniu człowieka. Etyka w czasach inżynierii genetycznej.
- Świerczyński M, Traple E & Krekora M (2019) Prawo farmaceutyczne: Wydanie: 3.

## **15. Analiza problematyki medycznego oświadczenia pro futuro w polskim systemie prawnym**

The analysis of advance healthcare directive in the Polish legal system

Tomasz Kandziora, Olga Białowąs, Jagoda Cholewa

Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Opiekun naukowy: dr hab. Mariusz Fras, prof. UŚ

Tomasz Kandziora: tomasz.kandziora@interia.pl

Słowa kluczowe: testament życia, autonomia pacjenta, paternalizm, świadomość składającego

### **Streszczenie**

Autorzy w niniejszej pracy analizują problematykę medycznego oświadczenia pro futuro w polskim systemie prawnym. W pierwszej części pracy przywołują definicję medycznego oświadczenia pro futuro i wskazują kwestię budzącą największe wątpliwości. Wskazują na brak uregulowania takich oświadczeń w przepisach prawa. W kolejnej części artykułu autorzy opisują w występowanie tych oświadczeń w polskiej praktyce, opierając się w głównej mierze na orzecznictwie sądów. W następnych częściach autorzy dokonują przeglądu poglądów doktryny w zakresie charakteru prawnego takich oświadczeń, stopnia świadomości składającego oświadczenie oraz dopuszczalności takich oświadczeń z punktu widzenia klauzul konstytucyjnych. W podsumowaniu autorzy zamieszczają swoje wnioski oraz postulaty de lege ferenda.

### **1. Wstęp**

Medycyna w obecnym stadium rozwoju skupia się nie tylko na leczeniu pacjentów, ale także poszanowaniu ich godności i autonomii, także w kryzysowych sytuacjach. Ze względu na to instytucja medycznego oświadczenia pro futuro jest coraz częstszym przedmiotem szerokiej dyskusji, zarówno społecznej, jak i doktrynalnej. Medyczne świadczenie pro futuro, zwane także testamentem życia, to oświadczenie pacjenta lub osoby, która potencjalnie pacjentem będzie składane na przyszłość, na wypadek, gdy składający nie będzie w stanie sam wyrazić swojej woli, a zawierające informacje dla lekarza dotyczące pożądanego przez składającego zakresu leczenia. W obecnym stanie prawnym uzyskanie zgody pacjenta jest warunkiem sine qua non przeprowadzenia zabiegu medycznego, natomiast jeżeli pacjent jest w stanie, w którym nie może wyrazić swojej woli, zgodę zastępczą wyraża jego opiekun prawny, przy jego braku sąd rodzinny, a w niektórych przypadkach lekarz może sam podjąć decyzję co do zabiegu. W takich okolicznościach doniosłości nabiera problem, czy przedwcześnie wyrażona wola pacjenta poprzez medyczne oświadczenie pro futuro jest prawnie relewantna i jest formą zgody lub odmowy zgody na zabieg medyczny, czy lekarz może pominąć treść oświadczenia i postępować zgodnie ze zwykłą procedurą, tak jakby oświadczenie nie zostało ono złożone.

Ustawodawca nie uregulował jak do tej pory problematyki testamentu życia, co utrudnia sytuację zarówno lekarzy, jak i pacjentów chcących złożyć takie oświadczenie. Autorzy dokonają analizy problematyki oświadczenia pro futuro, opierając się na poglądach wyrażonych w piśmiennictwie i orzecznictwie, a także dokonają próby przedstawienia najważniejszych kwestii jego dotyczących.

### **2. Opis zagadnienia**

Jak wskazuje dokonana przez autorów analiza orzecznictwa, medyczne oświadczenia pro futuro są składane w Polsce przede wszystkim przez członków Chrześcijańskiego Zboru Świadków Jehowy, a ich treścią jest spowodowana względami religijnymi odmowa poddania się zabiegom związanym z przetaczaniem krwi lub jej składników. Z pewnością nie są to jedyne przypadki funkcjonowania takich oświadczeń, niemniej niemożliwym jest precyzyjne wskazanie, czego dotyczą



najczęściej w Polsce oświadczenia pro futuro, gdyż nie jest prowadzony ich rejestr. Ze wskazanych w artykule prasowym zamieszczonym w serwisie OkoPress wypowiedzi pracowników zespołów pogotowia ratunkowego wynika, że występują w Polsce oświadczenia pacjentów, których treścią jest brak zgody na uporczywą terapię. Często spotykane w USA oświadczenia o braku zgody na resuscytację w przypadku pacjentów terminalnie chorych (tzw. klauzule BNR) są rzadko spotykane. (Zagórski 2024).

Wydaje się, że problematyka medycznych oświadczeń pro futuro w Polsce jest bardziej problemem doktryny niż praktyki. Jest niewiele judykatów dotyczących tej kwestii. Sąd Najwyższy do dziś wydał tylko jedno orzeczenie odnoszące się bezpośrednio do problematyki medycznych oświadczeń pro futuro (post. SN z 27.10.2005 r., III CK 155/05, OSNC 2006, nr 7-8, poz. 137). Postanowienie Sądu dotyczy stanu faktycznego, w którym pacjentka będąca Świadkiem Jehowy uległa wypadkowi komunikacyjnemu, wskutek którego utraciła przytomność, a lekarze za zgodą Sądu Rejonowego przeprowadzili transfuzję krwi, wbrew znalezionemu przy niej oświadczeniu, z którego wynikało, że pacjentka nie życzy sobie takich zabiegów. Sąd uznał, że takie oświadczenie pacjenta, określające wolę dotyczącą postępowania lekarza w stosunku do niego w sytuacjach leczniczych, które mogą zaistnieć, jest dla lekarza wiążące, jeżeli zostało złożone w sposób wyraźny i jednoznaczny.

Istnieje niewiele orzeczeń sądów niższych instancji. Sąd Okręgowy w Warszawie orzekł, w stanie faktycznym, w którym pacjent przebywający w szpitalu ustnie oraz pisemnie sprzeciwił się zabiegowi transfuzji krwi na wypadek, gdyby zasadne było jego przeprowadzenie, a on utraciłby przytomność, zaś szpital pomimo to, na mocy art. 34 ust. 3 Ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentyści wystąpił do sądu opiekuńczego o zgodę na przeprowadzenie zabiegu, że oświadczenie pacjenta jest ważne, jeśli był on świadomy w momencie jego wydania, oraz miał pełną zdolność do czynności prawnych. Sąd stwierdził, że w takim przypadku sądy nie są właściwe do wydawania zastępczej zgody lub odmowy zgody, gdyż lekarz wnioskować o zgodę sądu opiekuńczego może tylko wtedy, gdy pacjent nie ma przedstawiciela lub gdy porozumienie się z nim jest niemożliwe, a w opisywanym stanie faktycznym doszło do skutecznego porozumienia z nim – pacjent odmówił zgody (post. SO w Warszawie z 23.01.2008 r., VI Ca 582/07, niepubl.). Robert Karcz podaje przykład orzeczenia, w którym w bardzo podobnym stanie faktycznym jak wyżej opisany, Sąd Rejonowy orzekł odwrotnie i wydał zgodę na transfuzję krwi, pomimo sprzeciwu pacjenta wyrażonego przed utratą przytomności, jednak orzeczenie uprawomocniło się w 2002 r., a więc przed pierwszym orzeczeniem Sądu Najwyższego w przedmiotowej kwestii (Karcz 2007). Orzeczenia sądów są na tyle nieliczne, że nie można mówić o jednolitej linii orzeczniczej, czy nawet o jakimś spójnym kierunku rozpatrywania spraw dotyczących medycznych oświadczeń pro futuro (Boratyńska i in. 2019).

Z powodu braku prawnego uregulowania i niewielkiej liczby rozstrzygnięć sądów kwestia oświadczeń pro futuro jest dziś głównie przedmiotem dyskusji w doktrynie. Przedstawiciele nauki prawa próbują odpowiedzieć na pytanie o dopuszczalność testamentów życia, a także inne pytania. W niniejszej pracy autorzy dokonają analizy doktryny w kwestii charakteru prawnego oświadczeń pro futuro, stosowania do niego przepisów o wadach oświadczeń woli, wpływu świadomości składającego oraz upływu czasu na oświadczenie i dopuszczalności z punktu widzenia klauzul konstytucyjnych.

### **3. Przegląd literatury**

W doktrynie można spotkać się z różnymi poglądami co do charakteru prawnego medycznego oświadczenia pro futuro. Za jednym z nich opowiedział się Sąd Najwyższy, uznając, że jest to „klasyczne oświadczenie woli” (post. SN z 27.10.2005 r., III CK 155/05, OSNC 2006, nr 7-8, poz. 137). Uznanie testamentu życia za oświadczenie woli prowadziłyby do stwierdzenia, że stosunek między lekarzem a pacjentem to typowy stosunek cywilnoprawny, a do oświadczenia pro futuro wprost stosuje się przepisy Kodeksu cywilnego dotyczące oświadczeń woli (Boratyńska i in. 2019). W piśmiennictwie pogląd Sądu Najwyższego spotkał się z krytyką. Wątpliwości doktryny budzi fakt, że nie został w żaden sposób uzasadniony (Syska 2013). Zarzuca mu się także niekonsekwencję, ponieważ gdyby oświadczenie pro futuro byłoby oświadczeniem woli, to jego złożenie byłoby jednostronną czynnością prawną, w odniesieniu do których w myśl dominującego w doktrynie

poglądu ma zastosowanie zasada numerus clausus (Czachórski 1999), zgodnie z którą można składać tylko takie jednostronne oświadczenia woli, jakie przewiduje ustawa, co oznaczałoby, że oświadczenia pro futuro są de lege lata niedopuszczalne, jako nieuregulowane ustawowo. Takie założenie stałoby zresztą w sprzeczności z główną tezą postanowienia, że oświadczenia pacjenta wyrażone na wypadek utraty przytomności są dla lekarza wiążące (Boratyńska i in. 2019).

Ze względu na niespójność tezy wyrażonej przez Sąd Najwyższy, w literaturze proponowane są inne niż oświadczenie woli konstrukcje prawne, które oddawałyby istotę testamentu życia w prawie polskim. Według jednego z poglądów, z racji na fakt, że oświadczenie pro futuro zostało sporządzone w przeszłości w stosunku do momentu, w którym miałyby kreować skutki prawne, a wola pacjenta w momencie zaistnienia stanu utraty świadomości jest niemożliwa do poznania, testament życia w ogóle nie jest wyrazem woli pacjenta, a oświadczeniem najbliższym jego woli, pozwalającym poznać jego zdanie wyrażone na wypadek zaistnienia stanu wykluczającego samodzielne podjęcie decyzji (Michoński 2017). Taki punkt widzenia koresponduje z treścią podpisanej (aczkolwiek do tej pory nieratyfikowanej) przez Polskę art. 9 Europejskiej Konwencji Bioetycznej, w myśl którego lekarz powinien brać pod uwagę życzenia pacjenta wyrażone na wypadek utraty świadomości, jednak nie są one dla niego wiążące.

Zgodnie z kolejnym poglądem, oświadczenia pro futuro nie należy zawęzać do sfery cywilistycznej, a rozpatrywać jako instytucję szeroko pojętego prawa medycznego, gdyż nie wywiera ono skutków w sferze prawa cywilnego, a w sferze relacji z personelem medycznym (Boratyńska i in. 2019). Takie zapatrywanie pozwala zignorować zasadę numerus clausus jednostronnych czynności prawnych, a przez to nadać oświadczeniu pro futuro walor skuteczności, dając ponadto możliwość stosowania do niego wprost wyłącznie przepisów Ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentystry, a dzięki temu badać takie oświadczenie nie w odniesieniu do przepisów Kodeksu cywilnego o wadach oświadczenia woli, lecz biorąc pod uwagę stopień rozeznania pacjenta w chwili oświadczenia lub jego świadomą odmowę poinformowania o konsekwencjach decyzji, co zdaniem autorów opowiadających się za tym poglądem lepiej chroniłoby autonomię pacjenta.

W myśl innego poglądu opisany powyżej spór stracił doniosłość prawną w momencie wprowadzenia 8.09.2016 r. do Kodeksu cywilnego art. 65<sup>1</sup>, zgodnie z którym do innych oświadczeń odpowiednio stosuje się przepisy o oświadczeniach woli. Poglądy doktryny co do uznania zgody na zabieg medyczny, w tym zgody wyrażonej na wypadek utraty świadomości za inne oświadczenie w rozumieniu art. 65<sup>1</sup> k.c. są niejednolite; część autorów aprobuje taki punkt widzenia (Gudowski 2024, Janas 2018), niektórzy jedynie podnoszą, że jest to kwestia sporna w doktrynie (Kowalczyk 2023), a także pojawiają się głosy, że przepisu do oświadczeń medycznych stosować nie można (Smyk 2017), ponadto wielu autorów podejmujących kwestię charakteru prawnego oświadczenia pro futuro nie zauważa nowelizacji i nie odnosi się w ogóle do nowego przepisu (Boratyńska i in. 2019). Wydaje się zresztą, że nawet ustawodawca nie zauważył możliwości stosowania art. 65<sup>1</sup> k.c. do medycznych oświadczeń pro futuro, gdyż ani uzasadnienie projektu ustawy, ani zgłoszone do niego uwagi nie uwzględniają tej kwestii (druk sejmowy nr 2678 z 6.08.2014 r.). Analiza piśmiennictwa prowadzi do wniosku, że stanowisko, iż do medycznych oświadczeń pro futuro ma zastosowanie art. 65<sup>1</sup> k.c. występuje coraz częściej i przeważnie w publikacjach nowszych. Zdaniem autorów niniejszej publikacji może to, oraz fakt, że w materiały legislacyjne nie traktują o oświadczeniach pro futuro świadczyć o tym, że ustawodawca wprowadzając art. 65<sup>1</sup> k.c. „niechcący” rozwiązał spór co do charakteru prawnego oświadczenia pro futuro. Takie stanowisko wydaje się tym bardziej trafne, że również Sąd Najwyższy, jeszcze długi czas przed nowelizacją Kodeksu Cywilnego przyjął podobne rozstrzygnięcie, że zgoda na zabieg jest przejawem woli, do którego odpowiednio stosuje się przepisy o oświadczeniach woli – pogląd ten ma więc oparcie również w orzecznictwie (wyr. SN z 11.04.2006 r., I CSK 191/05, OSNC 2007, nr 1, poz. 18).

Rozważając kwestię prawnej relewantości oświadczeń pro futuro należy zwrócić uwagę na okoliczności podejmowania decyzji związanych z przyszłymi, potencjalnymi procedurami medycznymi, które są zupełnie odmienne od warunków wyrażania zgody na leczenie w zwykły sposób. Warto przyjrzeć się przesłankom, które muszą być spełnione, aby zgoda lub odmowa zgody na zabieg była prawnie skuteczna, ponieważ zgodnie z wyrażonym w doktrynie poglądem przyjmuje

się, że oświadczenie pro futuro jest instytucją podobną do odmowy zgody na leczenie, z tą tylko różnicą, że jest wyrażone na wypadek potencjalnego zajścia danych okoliczności (Karkut 2023).

Jednym z elementów niezbędnych do uznania zgody na leczenie za ważną jest pełna świadomość osoby wyrażającej zgodę (Flieger i in. 2012). Wymaga to od personelu medycznego spełnienia ustawowego obowiązku udzielenia pacjentowi lub jego ustawowemu przedstawicielowi zrozumiałych informacji dotyczących jego stanu zdrowia, diagnozy, proponowanych oraz możliwych metod diagnostycznych i terapeutycznych, przewidywanych skutkach ich zastosowania lub zaniechania oraz prognozie leczenia (Art. 31 ust. 1 Ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentysty). Ponadto zgoda lub odmowa zgody powinna być wyrażona w sposób wolny od presji lub wpływów zewnętrznych. Osoba wyrażająca zgodę powinna mieć możliwość dogłębnego rozeznania swojej sytuacji przed podjęciem decyzji. Ponadto, personel medyczny powinien zadbać o to, aby pacjent był w stanie zrozumieć przedstawione mu informacje oraz aby mógł swobodnie wyrazić swoje preferencje dotyczące leczenia. W przypadku sporządzania oświadczenia pro futuro obowiązek informacyjny lekarza, co oczywiste biorąc pod uwagę okoliczności, w których pacjent składa oświadczenie, zwykle nie może być realizowany. Oświadczenie takie sporządzane jest bowiem najczęściej samodzielnie lub ewentualnie w obecności notariusza, który również co do zasady nie ma odpowiedniej wiedzy medycznej. Zasadne jest tu pytanie, czy składający rozumie, na co wyraża lub nie wyraża zgody i czy zdaje sobie sprawę z potencjalnych konsekwencji swojej decyzji. Większość osób nie posiada wystarczających kwalifikacji w zakresie wiedzy medycznej, aby w pełni zrozumieć wszystkie potencjalne skutki podejmowanej decyzji, a nawet specyfikę hipotetycznej sytuacji, na której wypadek sporządza oświadczenie (Pacian 2014). Dodatkowo w przeciwieństwie do wyrażania zgody w placówce medycznej przed zabiegiem nie istnieje możliwość skonsultowania wątpliwości z lekarzem zajmującym się danym przypadkiem, ponieważ ów jeszcze nie zaistniał.

Okoliczności składania oświadczenia pro futuro są najczęściej zupełnie inne niż w przypadku wyrażania zgody w szpitalu lub bezpośrednio przed przyjęciem do szpitala. Osoba taka jest najczęściej w pełni świadoma, nie działa pod wpływem presji, bólu lub pośpiechu, a jej decyzja jest rozważnie i szczegółowo przemyślana. Może to sugerować, że nie zaistniała wada oświadczenia woli w postaci braku swobody. Jednak należy zastanowić się, czy zdrowy pacjent może trafnie określić swoją wolę dotyczącą przyszłej, hipotetycznej sytuacji i czy nie działa w braku świadomości. Jak bowiem wskazują liczne badania, u pacjentów często występują zmiany preferencji sposobów leczenia ze względu na stan zaawansowania choroby, zmianę stanu cywilnego czy starzenie się (Sahm 2006). Nawet w pełni samoświadomy pacjent nierzadko zmienia swoje preferencje i zgadza się na działania terapeutyczne, na które wcześniej nie wyrażał zgody. Może to wynikać ze zmiany przekonań religijnych lub światopoglądowych, co jest naturalną częścią ludzkiego życia. Ponadto pacjent w każdej chwili można odwołać lub zmienić oświadczenie. Oświadczenie pro futuro daje niewielką możliwość weryfikacji, pod względem tego, czy wyraża aktualną wolę składającego. W doktrynie przywoływany jest pogląd, że aby uznać oświadczenie pro futuro za przejaw aktualnej woli, należy dowieść, że preferencje składającego pozostają niezmiennie (Machinek i in. 2020).

Wykładnia zasad konstytucyjnych jest narzędziem, które nawet przy obecnym nieuregulowanym statusie oświadczenia pro futuro w polskim systemie prawnym przybliży do odpowiedzi na pytanie, czy testamenty życia winny być dopuszczalne, czy nie, stąd w orzecznictwie i doktrynie przywoływane są argumenty odnoszące się do aksjologii konstytucyjnej. Przeważający jest pogląd o dopuszczalności medycznych oświadczeń pro futuro, oparty na tezie, jakoby możliwość ich składania miała umocowanie w Konstytucji. Takiego rodzaju argumentacji użył Sąd Najwyższy w przywołanym już postanowieniu (post. SN z 27.10.2005 r., III CK 155/05, OSNC 2006, nr 7-8, poz. 137), w którym uznał, że zasada nietykalności i wolności osobistej oraz prawo do decydowania o swoim życiu pozwalają na składanie oświadczeń pro futuro i uznanie ich za prawnie relewantne mimo ich ustawowego nieuregulowania. Sąd wskazał, że wolność, przejawiająca się w autonomii dokonywanych wyborów jest chroniona w demokratycznym państwie prawnym w sposób szczególnie; Konstytucja bowiem powierza ją opiece państwa, zapewniając każdemu wolność i nietykalność osobistą oraz chroniąc życie prywatne oraz prawo o decydowaniu o swoim życiu osobistym. Sąd z prawa o decydowaniu o swoim życiu osobistym wywiódł prawo do wyboru metody

leczenia, wskazując, że jego refleksem jest instytucja zgody oraz odmowy zgody na zabieg medyczny (post. SN z 27.10.2005 r., III CK 155/05, OSNC 2006, nr 7-8, poz. 137).

W doktrynie wskazuje się, że ograniczenie prawa o decydowaniu o swoim życiu w imię innych wartości, w sytuacji, kiedy decyzja jednostki nie krzywdzi innych, a jej działanie jest zgodne z jej sumieniem i wolą byłoby ze strony państwa nadmiernym paternalizmem (Tymiński, 2008). Zgodnie zaś z duchem Ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentysty oraz Europejskiej Konwencji Bioetycznej naczelną wartością w relacji między lekarzem i pacjentem jest autonomia pacjenta, a tradycyjny paternalizm lekarski jest zjawiskiem niepożądanym.

Dopuszczalność medycznego oświadczenia pro futuro jest wywodzona także z zasady godności człowieka. Godność człowieka jest centralną wartością aksjologii polskiego systemu prawa (Syska 2013). Jak *expressis verbis* stanowi art. 30 Konstytucji, godność jest źródłem wolności i praw człowieka i obywatela. Z racji na jej przyrodzony i niezbywalny charakter, w piśmiennictwie powszechny jest pogląd, że jest to jedyna zasada konstytucyjna, która jest całkowicie nienaruszalna, nie można jej ograniczyć ani zawiesić (Garlicki 2019). Klauzula godności człowieka jest na tyle ogólna, że treść jej nadać można jedynie w drodze wykładni. Uznaje się, że istotą godności człowieka jest jego podmiotowość i autonomia woli, a jedyną jej granicą powinna być godność innych ludzi (ich autonomia woli). Jak wskazuje orzecznictwo Trybunału Konstytucyjnego, naruszeniem zasady godności jest przede wszystkim uprzedmiotowienie jednostki (wyr. TK z 15.10.2002 r, SK 6/02, OTK-A 2002/5/65). Zasada godności jednostki, zakazując uprzedmiotowienia, pozwala na samostanowienie w takim zakresie, w jakim nie narusza ono podmiotowości innych osób, a więc dopuszcza również samostanowienie w zakresie wydawania oświadczeń dotyczących poddawaniu i niepoddawaniu się zabiegom medycznym. Wydaje się więc, że z racji na absolutny charakter zasady godności i zakaz jej ograniczania nie można tutaj czynić różnicy pomiędzy oświadczeniem wydanym na przyszłość a zgodą lub odmową zgody na zabieg wydaną w zwykłej procedurze.

#### **4. Podsumowanie**

Po dokonaniu analizy orzecznictwa i piśmiennictwa w przedmiotowej kwestii autorzy przedstawiają następujące wnioski.

Co do charakteru prawnego, zdaniem autorów pogląd, że oświadczenie pro futuro jest innym oświadczeniem w rozumieniu art. 65<sup>1</sup>k.c jest najbardziej trafny. Niemniej prawdopodobnie, nawet jeśli pogląd ten zostałby jednomyślnie powszechnie przyjęty w doktrynie, to prawdopodobnie nie zakończy to sporu, gdyż zgodnie z przepisem, przepisy o oświadczeniu woli stosuje się odpowiednio, a więc trzeba byłoby przesądzić, jaki jest zakres odpowiedniego stosowania przepisów Kodeksu cywilnego.

Aksjologia polskiego systemu prawnego nie sprawia, że oświadczenia należałoby uznać za niedopuszczalne. Co więcej, wydaje się, że możliwość składania oświadczeń byłaby realizacją praw i wolności jednostki.

Jeśli jednak chodzi o skuteczność oświadczenia, autorzy zauważają rozliczne problemy, wynikające przede wszystkim z braku ustawowych dyrektyw, które przesądzałyby kwestię skuteczności oświadczeń. Nie zostało normatywnie przesądzone, jakie oświadczenie należy uznać za prawnie relewantne i jak badać, czy rzeczywiście wyraża aktualną wolę pacjenta. Nie wiadomo jaki wpływ ma brak możliwości realizacji obowiązku informacyjnego, a także, pod jakimi warunkami oświadczenie mogłoby być uznane za złożone świadomie. Również przesłanki wskazane przez Sąd Najwyższy są nieostre. Obecny status powoduje, że składający oświadczenie nie wie, jak ma to uczynić, by było ono złożone skutecznie. Także lekarz nie ma narzędzi, by sprawdzić jego prawną relewantność, i musiałby kierować się z wnioskiem do sądu, co jest o tyle kuriozalne, że zwykle oświadczenia dotyczą sytuacji, w których należy działać szybko z racji na stan zagrożenia życia pacjenta. W opinii autorów ustawodawca powinien niezwłocznie uregulować kwestię medycznego oświadczenia pro futuro. Autorzy proponują dopuszczanie oświadczeń pod warunkiem wymogu zachowania formy aktu notarialnego oraz uprzedniej konsultacji z lekarzem potencjalnych skutków oświadczenia, celem zapewnienia odpowiedniego stopnia świadomości pacjenta i możliwości zbadania jego wiedzy na temat potencjalnych skutków swojej decyzji. Ponadto autorzy postulują

wprowadzenie dostępnego dla lekarzy rejestru złożonych oświadczeń, by nie musieli sami badać kwestii prawnej relewantności oświadczenia na podstawie wyłącznie jego treści.

## 5. Literatura

- Boratyńska M, Malczewski J (2019) 7.6.4. DEKLARACJE PRO FUTURO W POLSCE [w:] System Prawa Medycznego. Tom II. Część 1. Regulacja prawna czynności medycznych, red. M. Boratyńska, P. Konieczniak, E. Zielińska. Warszawa 2019: 736-740, 751-756.
- Czachórski W (1999) Zobowiązania. Zarys wykładu. Warszawa 1999: 128.
- Flieger P, Kowalczyk K, Kulik TB i in. (2012) Regulacje prawne dotyczące zgody pacjenta na czynność medyczną. Przegląd Prawa Publicznego 2012/7-8: 9-19.
- Garlicki L (2019) Polskie Prawo Konstytucyjne. Zarys wykładu. Wydanie 6. Warszawa 2019: 108-109.
- Gudowski J (2024) Art. 651 . [oświadczenia inne niż oświadczenia woli] [w:] Kodeks cywilny. Orzecznictwo. Piśmiennictwo. Tom I. Część ogólna, Warszawa 2024: 552.
- Janas A (2018) Kodeks cywilny. Komentarz. Tom I. Część ogólna (art. 1-125), red. M. Fras, M. Habdas, Warszawa 2018: 581.
- Karkut A, Kolankiewicz K (2023) 5. Pojęcie zgody na interwencję medyczną [w:] A. Karkut, K. Kolankiewicz, Zgoda na leczenie i inne oświadczenia pacjenta. Wzory pism z omówieniem. Warszawa 2023: 24-25.
- Karcz R (2007) Obrona pacjenta przed niechcianą transfuzją w praktyce sądowej. Prawo i Medycyna 2007/4: 37-39.
- Kubiak R, Gulla B, Izydorczyk B (2019) Godność i intymność pacjenta. Aspekty psychologiczne i prawne. Kraków 2019: 133-140.
- Kubiak R (2016) Prawo pacjenta do intymności i poszanowania godności. Część II. Medycyna Paliatywna 2016/8(4): 173–181.
- Machinek M, Prusak M, Zadorożny T (2020) Oświadczenie pacjenta pro futuro jako problem medyczny, etyczny, teologiczny i prawny. Olsztyn 2020: 39– 41.
- Michoński D (2017) Kwestia oświadczeń pro futuro w kontekście artykułu 9. Europejskiej Konwencji Bioetycznej i praktyki wybranych państw europejskich. Medycyna Paliatywna w Praktyce 2017/11/3: 102-110.
- Pacian J (2014) Oświadczenie ‘pro futuro’ – dylematy prawne. Zeszyty Prawnicze 2014/4: 171-182.
- Sahm. S (2006) Sterbebegleitung und Patientenverfügung. Ärztliches Handeln an den Grenzen von Ethik und Recht. Frankfurt 2006: 154-157.
- Smyk K (2017) Charakter prawny zgody pacjenta na gruncie prawa cywilnego. Folia Iuridica Universitatis Wratislaviensis 2017/6: 121
- Syska M (2013) Medyczne oświadczenia pro futuro na tle porównawczym. Warszawa 2013: 235.
- Tymiński R (2008) Glosa do postanowienia SN z dnia 27 października 2005 r., III CK 155/05. Przegląd Sądowy 2008/3: 116-121.
- Zagórski S (2024) O zaniechaniu uporczywej terapii i reanimacji. Czekamy na dobre prawo. Oko.press: dostęp 19.04.2024 r. <https://oko.press/o-zaniechaniu-uporczywej-terapii-i-reanimacji-czekamy-na-dobre-prawo>

## **16. Podmioty uprawnione do dostępu do dokumentacji medycznej**

Subjects entitled to the access to medical documentation.

Tomasz Kandziora

Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Opiekun naukowy: dr hab. Mariusz Fras, prof. UŚ

Tomasz Kandziora: tomasz.kandziora@interia.pl

Słowa kluczowe: pacjent, udostępnianie, dane osobowe, dane wrażliwe

### **Streszczenie**

W niniejszym artykule autor wskazuje podmioty uprawnione do dostępu do dokumentacji medycznej i opisuje przesłanki, po których spełnieniu mogą one uzyskać do nich dostęp. Rozważania rozpoczyna próba zdefiniowania pojęcia dokumentacji medycznej i wskazania poszczególnych podstaw prawnych. W dalszej części zostało przedstawione prawo pacjenta do dostępu do dokumentacji i możliwość jego realizacji, instytucja upoważnienia i kwestia przedstawiciela ustawowego pacjenta, a także kwestie związane z dostępem do dokumentacji medycznej osoby zmarłej. Następnie wskazuje inne podmioty, które w określonych warunkach mogą uzyskać dostęp do dokumentacji. W podsumowaniu zamieszczono wnioski i postulaty de lege ferenda. Autor w toku wywodu przytacza stanowiska jurystów, przywołuje orzecznictwo, a także wskazuje aksjologiczne podstawy obecnego stanu prawnego.

### **1. Wstęp**

Wraz z odchodzeniem medycyny od modelu paternalistycznego zasady udostępniania dokumentacji medycznej stają się coraz istotniejszym zagadnieniem. Każdy pacjent ma prawo do dostępu do dokumentacji medycznej, będące jednym z elementów prawa do informacji o swoim stanie zdrowia. Prowadzenie dokumentacji jest obowiązkiem podmiotu udzielającego świadczeń medycznych, a sposób jej prowadzenia i treść dokonywanych adnotacji w szczególności zostały uregulowane w przepisach prawa. Doniosłą prawnie kwestią jest to, kto i w jakich okolicznościach może uzyskać dostęp do dokumentacji medycznej; w jaki sposób pacjent może realizować swoje uprawnienie, a także jak uregulowany jest dostęp osób trzecich do dokumentacji, co jest istotne zwłaszcza z punktu widzenia zasad ochrony danych osobowych i potencjalnej kolizji z prawem pacjenta do prywatności.

### **2. Opis zagadnienia**

Materie związane z dokumentacją medyczną normują w głównej mierze dwa akty prawne - Ustawa z 6.11.2008 r. o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta (autor w dalszym toku wywodu będzie posługiwał się skrótem u.p.p.) oraz rozporządzenie Ministra Zdrowia z 6.04.2020 r. w sprawie rodzajów, zakresu i wzorów dokumentacji medycznej oraz sposobu jej przetwarzania (autor w dalszym toku wywodu będzie określał je skrótem r.r.d.). Ustawa reguluje prawo podmiotowe pacjenta do dostępu do dokumentacji medycznej, określa główne zasady prowadzenia dokumentacji medycznej, normuje kwestie związane z udostępnianiem jej pacjentom i osobom trzecim, a także z jej przechowywanie. Rozporządzenie zawiera przede wszystkim specjalistyczne przepisy dotyczące różnych rodzajów dokumentacji medycznej i prowadzenia jej oraz wzory dokumentacji.

Ustawodawca zdecydował się nie wprowadzać definicji legalnej dokumentacji medycznej. Próby zdefiniowania tego pojęcia podejmowane są w piśmiennictwie. Pomocna może być dawna definicja legalna, zamieszczona w uchylonej Ustawie z dnia 30.07.1991 r. o zakładach opieki zdrowotnej, w myśl której dokumentacją medyczną są dane i informacje medyczne odnoszące się do stanu zdrowia pacjenta lub udzielonych mu w zakładzie opieki zdrowotnej świadczeń zdrowotnych, gromadzone i udostępniane na zasadach określonych w u.p.p. W doktrynie uznaje się, że definicja ta, choć nie ma już waloru definicji legalnej, oddaje najważniejsze cechy dokumentacji medycznej

(Dercz i in. 2015). Dokumentacja medyczna musi więc spełniać przesłankę przedmiotową – jej treścią powinny być informacje medyczne - oraz przesłanki formalne, wskazane w art. 25 u.p.p. (jest to katalog otwarty, jednak zawierający elementy stanowiące minimum (Bielak-Jomaa i Ćwikiel 2021)) – musi zawierać dane pozwalające na identyfikację pacjenta (imię i nazwisko, datę urodzenia, adres zamieszkania, płeć, numer PESEL, imię i nazwisko oraz adres przedstawiciela ustawowego (jeśli występuje); oznaczenie podmiotu udzielającego świadczenie oraz datę sporządzenia. W doktrynie zaistniał spór, którego istota dotyczy znaczenia słowa dokumentacja; czy należy rozumieć je jako zbiór dokumentów, czy jako zbiór danych. Zdaniem autora spór nie ma dużej doniosłości praktycznej, gdyż informacja nie może istnieć bez nośnika (Drozdowska 2019).

Charakter nośników został uregulowany w Rozporządzeniu, zgodnie z którym dokumentacja medyczna może być prowadzona w postaci elektronicznej albo papierowej. Od 1.09.2021 r. postać elektroniczna jest podstawową formą prowadzenia dokumentacji medycznej i placówki medyczne mają obowiązek jej prowadzenia w tej postaci. Postać papierowa może być używana wyjątkowo, kiedy dopuszczają to *expressis verbis* przepisy prawa w stosunku do konkretnego rodzaju dokumentacji (np. w takiej postaci musi być prowadzona karta przebiegu ciąży) oraz kiedy warunki organizacyjno-techniczne uniemożliwiają korzystanie z postaci elektronicznej. Nie można zmieniać pierwotnej postaci dokumentu (Burdzik 2021). Zgodnie z art. 13b Ustawy o systemie informacji w ochronie zdrowia podmioty udzielające świadczeń medycznych mają możliwość digitalizacji dokumentacji medycznej powstałej przed wprowadzeniem obowiązku prowadzenia jej w postaci elektronicznej, co odzwierciedla dążenie ustawodawcy.

### **3. Przegląd literatury**

Do dostępu do dokumentacji medycznej, poza podmiotem medycznym, uprawniony jest przede wszystkim pacjent. W myśl definicji legalnej zamieszczonej w art. 3 u.p.p. pacjentem jest każda osoba, która korzysta lub zwraca się o udzielenie świadczenia medycznego. Prawo pacjenta do dostępu do dokumentacji medycznej wyraża *expressis verbis* art. 23 u.p.p. Podkreślić należy, że pacjentowi przysługuje prawo dostępu do dokumentacji, które nie jest tożsame z jej prawem własności. Prawo ma charakter trwały i niezbywalny (Bielak-Jomaa i Ćwikiel 2021). Może być realizowane osobiście lub przez osobę upoważnioną. Przepisy prawa nie zastrzegają formy dla wniosku o udostępnienie dokumentacji, stąd wniosek może zostać złożony w każdej formie, w tym ustnej. Z racji na bezwarunkowy charakter obowiązku podmiot udzielający świadczeń medycznych nie może wymagać wskazania celu uzyskania do nich dostępu (wyr. NSA z 28.09.2018 r., II OSK 1342/18, LEX nr 2572826). Zgodnie z par. 70 ust. 1 r.r.p. dokumentacja winna być udostępniana pacjentom bez zbędnej zwłoki. Naczelny Sąd Administracyjny orzekł, że sformułowanie to nakazuje udostępnić dokumentację tak szybko, jak jest to możliwe, a placówka medyczna nie może wprowadzić wewnętrznej regulacji ustanawiającej określony termin na udostępnienie (wyr. NSA z 12.12.2017 r., II OSK 2188/17, LEX nr 2449213). W orzecznictwie podkreśla się, że żadna wewnętrzna przyczyna (zasady organizacji pracy placówki, czy nawet jej zamknięcie) nie usprawiedliwia opóźnienia w udostępnieniu, a tym bardziej odmowy dostępu do dokumentacji (Bielak-Jomaa i Ćwikiel 2021).

Poza pacjentem dostęp do dokumentacji medycznej w pewnych okolicznościach mogą nabyć inne podmioty. Dostęp innych podmiotów do dokumentacji konkretnego pacjenta jest ograniczony z racji zasady ochrony treści dokumentacji medycznej, wyrażonej w art. 23 ust. 2 u.p.p. Pacjentowi przysługuje prawo do ochrony danych medycznych, mające swe źródło w prawie do ochrony danych osobowych i prawie do prywatności, zagwarantowanych w Konstytucji i ratyfikowanych przez Polskę konwencjach prawnoczołowieczych (Ladrowska 2012). Podstawowym aktem prawnym regulującym ochronę danych osobowych jest Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady 2016/679 z dnia 27.04.2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE (RODO). Regulacje RODO doprecyzowuje ustawodawstwo krajowe, w tym Ustawa o ochronie danych osobowych, zawierająca przede wszystkim kwestie proceduralne i przepisy sektorowe znajdujące się w ponad 160 ustawach. Danymi osobowymi w myśl art. 4 pkt 1 RODO są wszelkie informacje o zidentyfikowanej lub możliwej do zidentyfikowania osobie fizycznej. Wydaje się, że przetwarzanie

danych osób zmarłych, choć nieobjęte one zakresem ochrony RODO, również podlega ograniczeniom, z uwagi na przepisy Kodeksu cywilnego o ochronie dóbr osobistych. Chronionym dobrem byłoby wyodrębnione przez Sąd Najwyższy dobro osobiste w postaci kultu osoby zmarłej. Dobro to przysługuje osobom żyjącym, które wiązała jakaś więź ze zmarłym, a chroni dobre imię zmarłego, którego naruszenie mogłoby spowodować negatywne przeżycia tychże osób (Sylwestrzak 2022). Zgodnie z orzecznictwem Sądu Najwyższego, naruszeniem tego dobra m.in. byłoby czynienie użytku z niekorzystnych dla zmarłego danych zawartych w jego aktach osobowych (wyr. SN z 28.11.1980 r., IV CR 475/80, OSNC 1981, nr 9, poz. 170.).

Podkreślić należy, że dokumentacja medyczna zawiera dane osobowe, gdyż są nimi zarówno obligatoryjne, z uwagi na brzmienie art. 25 u.p.p. dane identyfikujące, jak i stanowiące zasadniczą część dane dotyczące stanu zdrowia, należące zresztą do kategorii danych wrażliwych, które zgodnie z art. 9 RODO przetwarzane być mogą tylko kiedy rozporządzenie wprost to dopuszcza. Przejawem ochrony danych osobowych w dokumentacji medycznej jest przywołane już ograniczenie kręgu podmiotów mających dostęp do niej, a także uregulowanie sposobu przetwarzania danych oraz procedur zabezpieczających archiwa i systemy informatyczne (specjalistyczne regulacje w tym zakresie zawiera Ustawa z 28.04.2011 r. o systemie informacji w ochronie zdrowia).

Inne niż pacjent podmioty uprawnione do wglądu do dokumentacji medycznej można podzielić na dwie grupy, tj.: związane i niezwiązane z pacjentem. Do pierwszej grupy należą osoby upoważnione przez pacjenta lub jego przedstawiciela ustawowi oraz osoby uprawnione do wglądu do dokumentacji po śmierci pacjenta, z racji na więź z nim za życia. Umożliwienie tym osobom dostępu do dokumentacji medycznej jest swoistym przedłużeniem prawa pacjenta do dostępu do dokumentacji. Jak już wspomniano, pacjent może realizować swoje prawo osobiście lub przez osobę upoważnioną. Pacjent upoważnić może dowolną osobę, niezależnie od jej powiązania z nim (Boratyńska 2014). Jak zostało przyjęte w orzecznictwie, takie upoważnienie nie jest rodzajem pełnomocnictwa w rozumieniu Kodeksu cywilnego, tylko instytucją stworzoną na potrzeby prawa medycznego (wyr. WSA w Rzeszowie z 13.07.2010 r., II SAB/Rz 29/10, LEX nr 602398). Może być wyrażone w dowolnej formie. W przeciwieństwie do klasycznego pełnomocnictwa nie wygasa z chwilą śmierci pacjenta; zgodnie z art. 26 ust. 2 u.p.p. upoważniony za życia nadal jest uprawnionym do dostępu do dokumentacji zmarłego pacjenta. Upoważnienie osoby trzeciej nie stanowi przeszkody w dalszym osobistym korzystaniu z prawa (wyr. WSA w Warszawie z 2.03.2015 r., VII SA/Wa 1369/14, LEX nr 1724008). Zgodnie z jednolitą linią orzecniczą Sądów Administracyjnych upoważnienie złożone w jednej placówce i nieodwołane jest skuteczne we wszystkich placówkach medycznych (wyr. WSA w Krakowie z 29.10.2014 r., III SAB/Kr 42/14, LEX nr 1602627). Wydaje się jednak, że w praktyce skuteczność takiego upoważnienia mogłyby utrudnić kwestie dowodowe, zwłaszcza gdy byłoby złożone w formie ustnej.

Uprawnionym do dostępu do dokumentacji medycznej jest także przedstawiciel ustawowy pacjenta będącego osobą niepełnoletnią lub ubezwłasnowolnioną. Z racji niejasnej redakcji przepisu rodzi się pytanie, czy pacjent mający przedstawiciela ustawowego może również samodzielnie korzystać z prawa dostępu do dokumentacji, czy wyłącznym uprawnionym jest przedstawiciel ustawowy. W doktrynie przyjmuje się, że prawo pacjenta do dokumentacji medycznej jest powiązane z prawem pacjenta do informacji o swoim stanie zdrowia, stąd postuluje się stosowanie poprzez analogię przepisów o tym prawie, zgodnie z którymi należałoby przyjąć, że uprawnionym do dostępu do dokumentacji równoległe w stosunku do przedstawiciela ustawowego jest pacjent, który ukończył 16 rok życia, oraz pacjent ubezwłasnowolniony, który dysponuje faktycznym rozeznaniem (Drozdowska 2019). W literaturze przyjmuje się, wbrew literalnej wykładni przepisu, że przedstawiciel ustawowy również może realizować swoje uprawnienie poprzez osobę upoważnioną (Kubiak 2016). Przedmiotem sporu jest, czy przedstawiciel ustawowy może upoważnić osobę trzecią wbrew woli pacjenta powyżej 16 roku życia; wydaje się, że jest to niedopuszczalne (Drozdowska 2019).

Zgodnie z art. 25 ust. 2 u.p.p. osobą uprawnioną do dostępu do dokumentacji medycznej pacjenta po jego śmierci jest przede wszystkim osoba upoważniona do dostępu przez pacjenta za jego życia oraz jego przedstawiciel ustawowy. W orzecznictwie i doktrynie odrzucony został dominujący dawniej pogląd, że chodzi tu o odrębne od uregulowanego w art. 26 ust. 1 u.p.p. upoważnienie na



wypadek śmierci; przyjmuje obecnie się, że istnieje jeden tylko typ upoważnienia, wywołujący jednolite skutki zarówno za życia pacjenta, jak i po jego śmierci (wyr. WSA w Rzeszowie z 13.07.2010 r., II SAB/Rz 29/10, LEX nr 602398.; Zimna 2010). Do nowelizacji u.p.p. z 6.12.2018 r. inne osoby nie były uprawnione do dostępu, co konsekwentnie potwierdzały sądy administracyjne, nie interpretując przepisu rozszerzająco. Stan ten był krytykowany w doktrynie, zwłaszcza od wprowadzenia w 2016 r. instytucji dyspensy od tajemnicy medycznej po śmierci pacjenta w postaci zgody osoby bliskiej, jako nieuzasadnione i niesymetryczne ograniczenie (Drozdowska 2019). Zgodnie z obecnym stanem prawnym dokumentację medyczną zmarłego udostępnia się także osobie bliskiej, chyba że sprzeciwił się temu pacjent za życia lub inna osoba bliska. Pojęcie osoby bliskiej należy rozumieć zgodnie z zamieszczoną w niniejszej Ustawie definicją legalną; jest nią małżonek, krewny lub powinowaty do drugiego stopnia w linii prostej, przedstawiciel ustawowy, osoba pozostająca we wspólnym pożyciu lub osoba wskazana przez pacjenta. Z racji na to, że przepis wskazuje szeroki krąg osób, a sprzeciw jednej z nich jest przeszkodą dla udostępnienia dokumentacji innej, ustawodawca przewidział procedurę na wypadek zaistnienia sporu między osobami bliskimi; spór rozstrzygnąć ma sąd ostatniego zwykłego miejsca pobytu zmarłego, wskazany w art. 628 KPC. Sąd winien w nieprocesowym postępowaniu zbadać interes uczestników postępowania, rzeczywistą więź wnioskodawcy ze zmarłym, wolę pacjenta oraz okoliczności wyrażenia sprzeciwu i przesądzić, komu z wnioskujących należy udostępnić dokumentację zmarłego, a komu nie. Sprzeciw wyrażony przez pacjenta za życia także uniemożliwia udostępnienie dokumentacji osobom bliskim. Wydaje się, że może być wyrażony w dowolnej formie. Ustawodawca przewidział jednak procedurę, w drodze której, w szczególnie ważnych okolicznościach (w celu dochodzenia zadośćuczynienia lub odszkodowania z tytułu śmierci osoby, a także w celu ochrony zdrowia lub życia osoby bliskiej) można przełamać sprzeciw. Właściwym w tym postępowaniu także jest sąd określony w art. 628 KPC. Orzekając, ma zbadać takie same przesłanki, jak w przypadku sprzeciwu osoby bliskiej. Ustawa nie precyzuje w jaki sposób podmiot udostępniający dokumentację powinien zbadać, czy wnioskujący o dostęp lub sprzeciwiający się rzeczywiście jest osobą bliską zmarłego. Wydaje się, że ciężar dowodu spoczywa na osobie bliskiej, która może wszelkimi sposobami wykazać swoją więź ze zmarłym (Bielak-Jomaa i Ćwikiel 2021). W przypadku uzasadnionych wątpliwości co do tożsamości wnioskodawcy podmiot może zwrócić się do sądu określonego w art. 682 KPC.

Jako że prawo do prywatności nie ma charakteru absolutnego, może być ograniczane zgodnie z konstytucyjną zasadą proporcjonalności, jeżeli ograniczenie jest przewidziane w ustawie, konieczne, proporcjonalne i nie narusza istoty prawa. Uzasadnia to istnienie w art. 26 u.p.p. katalogu podmiotów, które będąc niepowiązane z pacjentem, mogą uzyskać dostęp do dokumentacji medycznej. Z treści katalogu wynika zasada minimalizmu pod względem podmiotowym i przedmiotowym – dokumentacja medyczna przekazywana jest tylko tym podmiotom, które jej potrzebują, i tylko w takim zakresie, w jakim jest im niezbędna (Kubiak 2019). W doktrynie przyjmuje się, że katalog ma charakter porządkujący, a podmioty w nim wymienione co do zasady są uprawnione do przetwarzania danych również na podstawie odrębnych przepisów (Drozdowska 2019).

Dokumentacja medyczna może być przekazywana innym podmiotom udzielającym świadczeń medycznych, o ile jest to niezbędne dla zapewnienia ciągłości świadczeń. Przekazywanie dokumentacji w tym przypadku jest niezbędne dla efektywności leczenia, zaś klauzula niezbędności limituje zakres przekazywanej dokumentacji (Drozdowska 2019). Kolejną kategorią są organy władzy publicznej, w zakresie niezbędnym do wykonywania swoich działań. Przepis wymienia przykładowe podmioty, z których wszystkie mają uprawnienia nadzorczo-kontrolne wobec podmiotów medycznych, co wskazuje na ratio legis przepisu – umożliwienie skutecznego nadzoru nad placówkami (Drozdowska 2019). Katalog podmiotów jest otwarty, przez co na mocy tego przepisu dostęp do dokumentacji mogą uzyskać także inne podmioty, niewymienione w innych punktach ust. 3 art. 26 u.p.p., które wykażą, że dostęp jest dla nich niezbędny do wykonywania swoich działań. Użyte sformułowanie „niezbędny zakres” prowadzi do konstatacji, że dokumentacja winna być im udzielana tylko w koniecznej części. Punkty 2a-2b uprawniają będące lub niebędące organami władzy publicznej podmioty, których zadaniem jest kontrola lub nadzór nad podmiotami medycznymi, działające na zlecenie podmiotów publicznoprawnych, także w zakresie niezbędnym

dla swojej działalności. W doktrynie podkreślono, że zakres kontroli powinien być precyzyjnie określony przez zlecającego, by móc ustalić konieczny zakres dostępu do dokumentacji (Bielak-Jomaa i Ćwikiel 2021). Punkty 2c-2d uprawniają do dostępu w zakresie niezbędnym do wykonywania swoich zadań Agencję Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji oraz Agencję Badań Medycznych w zakresie określonym ustawą.

Następną grupą są enumeratywnie wyliczone podmioty prowadzące postępowania: Minister właściwy ds. zdrowia, sądy, w tym sądy dyscyplinarne, prokuratury, lekarze sądowi i rzecznicy odpowiedzialności zawodowej. Dostęp tych podmiotów jest ograniczony przedmiotowo do zagadnień związanych z prowadzonym postępowaniem. Podmioty te we wniosku o udostępnienie dokumentacji muszą precyzyjnie wskazać, jakie postępowanie w jakiej sprawie jest prowadzone (Bielak-Jomaa i Ćwikiel 2021). W przypadku sądów i prokuratur, jeżeli dokumentacja medyczna ma być dowodem w sprawie karnej, udostępnienie w szczególowy sposób regulują przepisy KPK, zgodnie z którymi podmiot ma obowiązek wydać dokumentację na żądanie prokuratora lub sądu, jeżeli stanowi ona dowód w sprawie karnej, a także Policji (pominiętej w katalogu z art. 26 u.p.p.), w sprawach niecierpiących zwłoki, jeśli dysponuje ona upoważnieniem wydanym przez sąd lub prokuratora. Żądanie prokuratora winno być wyrażone w formie postanowienia o żądaniu wydania rzeczy bądź postanowienia o przeszukaniu (Błachnio 2016). Wątpliwości w piśmiennictwie budzi zakres wykorzystywania dokumentacji medycznej w postępowaniach cywilnych lub administracyjnych. O ile bezspornie uprawniony do wykorzystywania w charakterze środka dowodowego jest dysponent dokumentacji (najczęściej sam pacjent), o tyle orzecznictwo i doktryna nie przesądziły, na ile w postępowaniu dopuszczalne jest użycie dowodów z dokumentacji medycznej bez zgody pacjenta. Wydaje się, zwłaszcza z uwagi na treść art. 9 ust. 2 pkt f RODO, w myśl którego przetwarzanie danych wrażliwych jest dozwolone, o ile jest niezbędne do ustalenia, dochodzenia lub obrony roszczeń lub w ramach sprawowania wymiaru sprawiedliwości przez sądy, że jest to dopuszczalne, jednak wskazana jest ostrożność w korzystaniu z takich środków dowodowych, pod kątem zabezpieczenia danych przed dostępem osób trzecich (Drozdowska 2019).

Ponadto uprawnione do dostępu do dokumentacji medycznej są: podmioty uprawnione na mocy odrębnych ustaw organom i instytucjom, jeżeli badanie zostało przeprowadzone na ich wniosek, wydaje się, że chodzi tutaj przede wszystkim o badania zlecane przez Policję na podstawie rozporządzenia w sprawie badań lekarskich osób zatrzymanych przez Policję (Fiutak 2018); organy rentowe oraz zespoły ds. orzekania o niepełnosprawności, w związku z prowadzonym postępowaniem oraz podmioty prowadzącym rejestry usług medycznych, w zakresie niezbędnym do prowadzenia rejestrów. Za zgodą pacjenta uprawnione są także zakłady ubezpieczeń; zakład ubezpieczeń uprawniony do dostępu jest także po śmierci pacjenta, jeśli uzyskał zgodę (wyr. NSA z 18.11.2015 r., II OSK 730/15, ONSAiWSA 2016/6, poz. 107.). Ustawodawca uprawnia także: komisje lekarskie podległe ministrowi właściwemu do spraw wewnętrznych, wojskowe komisje lekarskie oraz komisje lekarskie Agencji Bezpieczeństwa Wewnętrznego lub Agencji Wywiadu, podległe Szefom właściwych Agencji; osoby wykonujące zawód medyczny, w związku z prowadzeniem przeglądu akredytacyjnego podmiotu udzielającego świadczeń zdrowotnych; osoby wykonującym czynności kontrolne na podstawie art. 39 ust. 1 ustawy o systemie informacji w ochronie zdrowia, w zakresie niezbędnym do ich przeprowadzenia; a także członków zespołów kontroli zakażeń szpitalnych, w zakresie niezbędnym do wykonywania ich zadań. Do dostępu do dokumentacji medycznej uprawnione są także szkoły wyższe i instytuty badawcze w celu kształcenia, z zastrzeżeniem, że przekazana dokumentacja musi ulec anonimizacji, również po śmierci pacjentów.

#### **4. Podsumowanie**

Obecny stan prawny niejako wyposaża pacjenta w szeroki dostęp do dokumentacji medycznej. Zaletą obecnych uregulowań jest bezwarunkowy charakter prawa pacjenta do dostępu do dokumentacji i możliwość realizowania go w nieformalnej procedurze samodzielnie lub przez osobę upoważnioną. Stan prawny wydaje się być urzeczywistnieniem zasady autonomii pacjenta i poszanowania jego praw oraz odejścia od paternalistycznego systemu leczenia. Pozytywnie należy ocenić oczekiwaną społecznie nowelizację, dzięki której prawo dostępu do dokumentacji medycznej po śmierci pacjenta obok osoby upoważnionej otrzymały osoby bliskie pacjenta, a także zawarty

w niej kazuistyczny wręcz mechanizm na wypadek sporów między osobami bliskimi. Autor postuluje zmianę treści art. 26 ust. 1 u.p.p. w taki sposób, aby nie budziła wątpliwości co do tego, czy pacjent może realizować swoje prawo obok przedstawiciela ustawowego, oraz czy przedstawiciel ustawowy może upoważnić osobę trzecią do dostępu. Katalog podmiotów trzecich mogących uzyskać dostęp do dokumentacji medycznej jest przykładem wyważenia prawa do prywatności i interesu publicznego, zgodnie z zasadą proporcjonalności, jednak zdaniem autora wątpliwości budzi art. 26 ust. 3 pkt 2 u.p.p., zgodnie z którym de facto każdy organ władzy publicznej może uzyskać dostęp do dokumentacji. Jeśli rzeczywiście taka jest intencja ustawodawcy, nasuwa się pytanie o zasadność rozbudowanego wyliczenia podmiotów w kolejnych punktach.

## **5. Literatura**

- Bielak-Jomaa E, Ćwikiel M w Karkowska D (2021) Prawa pacjenta i Rzecznik Praw Pacjenta. Komentarz: 650, 660, 692-693, 728-736.
- Błachnio A (2016) Dokumentacja medyczna w postępowaniu karnym. Zeszyty Prawnicze 2016/16: 136-137.
- Boratyńska M (2014) Autonomia pacjenta a granice upoważnienia osoby bliskiej i zaufanej. Prawo i Medycyna 2014/1: 61-85.
- Burdzik M (2021) Lekarz w procesie karnym jako gwarant tajemnicy lekarskiej: 245.
- Dercz M, Izdebski H, Rek T (2015) Dziecko - pacjent i świadczeniobiorca: 221.
- Drozdowska U w Boratyńska M, Konieczniak P, Zielińska E (2019) System Prawa Medycznego. Tom II. Część 1. Regulacja prawna czynności medycznych: 944, 993-995, 1008-1020.
- Fiutak A, Gardocka T, Jagiełło D (2018) Aktualne problemy prawne w psychologii i medycynie. Kubiak R w Zajdel J (2016) Prawo medyczne: 200-201.
- Kubiak R w Boratyńska M, Konieczniak P, Zielińska E (2019) System Prawa Medycznego. Tom II. Część 1. Regulacja prawna czynności medycznych: 253.
- Ladrowska G (2012) Prawo dostępu pacjenta i osób przez niego upoważnionych do dokumentacji medycznej. Prawo i Medycyna 2012/1: 15.
- Sylwestrzak A w Balwicka-Szczyrba M (2022) Kodeks cywilny. Komentarz: art. 23.
- Zimna T (2011) Udostępnienie dokumentacji medycznej małżonkowi zmarłego. Glosa do wyroku WSA z dnia 13 lipca 2010 r., II SAB/Rz 29/10. Gdańskie Studia Prawnicze – Przegląd Orzecznictwa 2011/4: 59-70.

## **17. Udzielanie świadczeń medycznych bez zgody**

Providing medical services without consent

Kowalska Erwina

Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet Śląski w Katowicach

Opiekun naukowy: dr hab. Mariusz Fras

Kowalska Erwina: kowalskaerwina@gmail.com

Słowa kluczowe: prawo medyczne, prawa pacjenta, wyrażenie zgody, zgoda pacjenta, świadczenie zdrowotne

### **Streszczenie**

Artykuł przedstawia problematykę legalnego udzielania świadczeń medycznych w sytuacjach, w których nie jest możliwe uzyskanie pełnoprawnej zgody, udzielonej przez uprawniony podmiot. Celem pracy jest ukazanie konfliktu pomiędzy autonomią woli pacjenta, a ochroną życia i zdrowia oraz przedstawienie niejasności wynikających ze zbyt ogólnie sformułowanych norm prawa medycznego.

Artykuł skupia się na analizie aktualnego stanu prawnego, stanowisk doktryny i orzecznictwa oraz przedstawia trzy sytuacje, w których lekarz ma prawo i obowiązek podjęcia odpowiedniej interwencji medycznej, wraz z warunkami, jakie musi spełnić, aby jego działanie zostało pozbawione cechy bezprawności; są to: udzielenie świadczenia medycznego o niepodwyższonym ryzyku dla pacjenta, podjęcie interwencji medycznej o podwyższonym ryzyku dla pacjenta oraz zmiana zakresu zgody na zabieg (tzw. wyjątek terapeutyczny). Pogłębiona analiza dorobku doktryny i judykatury prowadzi do wniosku, iż obecne polskie prawo medyczne co prawda zezwala lekarzowi na podjęcie interwencji medycznej, pomimo braku zgody, jednakże wymaga uzupełnienia i zmian. Taka modyfikacja norm prawnych wyłączyłaby możliwość stosowania wykładni rozszerzającej oraz nie pozostawiałaby praktykującemu lekarzowi wątpliwości co do poprawności przyjętej przez niego wykładni przepisów.

W artykule zwrócono również uwagę na to, iż lekarz będąc pierwszym „sędzią w sprawie” nie powinien obawiać się zarówno udzielenia świadczenia medycznego, jak i jego zaniechania, w sytuacji, gdy zagrożone jest życie lub zdrowie pacjenta, a nie ma on możliwości uzyskania zgody, wyrażonej przez uprawniony podmiot.

### **1. Wstęp**

Co do zasady przesłanką legalności udzielania świadczeń zdrowotnych jest zgoda pacjenta lub innego uprawnionego podmiotu. Wynika to wprost z Konstytucji Rzeczypospolitej Polskiej, która gwarantuje wolność każdego człowieka oraz nietykalność cielesną. Wszelkie ograniczenia wolności i praw przyznanych w Konstytucji RP mogą nastąpić tylko w ustawie i tylko wtedy, gdy jest to niezbędne dla ochrony innych, równie ważnych wartości, takich jak zdrowie i życie człowieka. Zgoda na udzielenie świadczenia medycznego jest quasi-oświadczeniem woli, poprzez które pacjent przejmuje na siebie ryzyko dokonania zabiegu. Sąd Najwyższy przyjął, iż zgoda musi być objaśniona i poinformowana, a więc świadomie akceptującą zrozumiałe przez pacjenta ryzyko dokonania zabiegu i przyjęcie na siebie tego ryzyka. Dopiero taka zgoda wyłącza bezprawność interwencji lekarza (Wyrok Sądu Najwyższego z dnia 20 maja 2016 roku, II CKS 654/15). Zaś w wyroku z dnia 19 października 1971 roku Sąd Najwyższy (II CR 4221/71) przyjął, że „ryzyko jakie bierze na siebie pacjent, wyrażając zgodę na zabieg, obejmuje zwykle powikłania pooperacyjne, nie zaś komplikacje i szkody wynikłe wskutek pomyłki lekarza; jeśli więc lekarz pomyłkowo uszkodził w czasie operacji inny organ, to chociażby pomyłka była niezawiniona, nie może ona obciążać pacjenta”. Zgoda na udzielenie świadczenia medycznego spełnia jedną najważniejszą funkcję jaką jest legalizacja działania lekarza, co oznacza, że wyłącza bezprawność takich przestępstw jak: wykonanie zabiegu leczniczego bez wymaganej zgody (art. 192 § 1 k.k.), naruszenie nietykalności cielesnej (art. 217 § 2

k.k.), narażenie człowieka na niebezpieczeństwo (art. 160 § 1 k.k.), spowodowanie ciężkiego uszczerbku na zdrowiu (art. 156 § 1 k.k.). Jednak autonomia pacjenta, czyli jego prawo do samostanowienia nie ma charakteru bezwzględnego, o czym świadczy art. 30 u.z.l. Przepisy regulujące działanie bez zgody pacjenta (tj. art. 33, 34 ust 7 i 35 u.z.l.) mają charakter ogólny oraz zawierają zwroty niedookreślone, tym samym są narażone na stosowanie wykładni rozszerzającej. Należy to ocenić krytycznie, z powodu tego, iż lekarz w sytuacji konfliktu, pomiędzy brakiem zgody na leczenie, a ratowaniem życia i zdrowia pacjenta jest „pierwszym sędzią w sprawie” i nie powinien on się bać podjęcia interwencji medycznej, ze względu na konsekwencje prawne.

## **2. Opis zagadnienia**

Przedmiotowa praca jest poświęcona niezwykle istotnemu zagadnieniu, jakim jest legalne udzielanie świadczeń medycznych przez lekarza, w sytuacji braku zgody pacjenta, a co za tym idzie problematyką konfliktu pomiędzy prawem do samostanowienia pacjenta, a ochroną wartości takich jak jego zdrowie i życie. Artykuł skupia się na przeglądzie aktualnego stanu prawnego, jak również stanowisk doktryny oraz orzecznictwa, ukazując przy tym spory, jakie pojawiają się w obliczu ogólnych przepisów normujących tą problematykę.

## **3. Przegląd literatury**

W art. 30 u.z.l. ustawodawca zwraca uwagę na to, że lekarz ma obowiązek udzielić pomocy lekarskiej w każdym wypadku, gdy zwłoka w jej udzieleniu mogłaby spowodować niebezpieczeństwo utraty życia, ciężkiego uszkodzenia ciała lub ciężkiego rozstroju zdrowia. Jest to norma o charakterze bezwzględny o czym świadczy przede wszystkim brak sformułowania „o ile ustawa nie stanowi inaczej”. Zgodnie ze stanowiskiem znacznej części doktryny przepis ten został niejako „wyjęty przed nawias” pozostałych regulacji prawnych, dotyczących zasad wykonywania zawodu lekarza, w tym również uzyskania zgody pacjenta. Lekarskiemu obowiązkowi udzielenia pomocy medycznej, odpowiada wyrażone w art. 7 u.p.r.p.p. prawo pacjenta do uzyskania pomocy lekarskiej, ze względu na zagrożenie zdrowia lub życia. Stanowisko to podziela również orzecznictwo, i tak w wyroku Sądu Apelacyjnego w Gdańsku z dnia 28 lipca 2016 roku stwierdzono, że nałożony w art. 30 u.z.l. obowiązek udzielenia pomocy pacjentowi ma o tyle charakter bezwzględny, że jest on uzależniony wyłącznie od jego stanu zdrowia. Pozostając jeszcze przy analizie art. 30 u.z.l. warto zwrócić uwagę na sformułowanie sprzed nowelizacji ustawy, który stanowił o obowiązku niesienia pomocy również „[...] w innych przypadkach nieciepiących zwłoki”, który ze względu na swoją ogólność był przedmiotem wielu dyskusji oraz sporów w doktrynie. Zmiana nastąpiła na skutek orzeczenia Trybunału Konstytucyjnego z dnia 7 października 2015 roku (K 12/14, Dz.u. z 2015 r. poz. 1633), który stwierdził niezgodność z Konstytucją RP art. 30, analizowanego łącznie z art. 39 u.z.l. (tzw. klauzula sumienia). Zgodnie ze stanowiskiem Sądu Najwyższego (wyrok z dnia 04.01.2007, V CSK 396/06) „świadczeniami zdrowotnymi, o których mowa w art. 30 u.z.l., objęte zostały w zasadzie stany nagłe i niespodziewane, których nie można było przewidzieć. Nie są nimi zabiegi, które wprawdzie ratują życie, jednak stosowane są u chorych leczonych przewlekłe, wymagających regularnego poddawania się zabiegom medycznym”.

Problem udzielenia świadczeń medycznych bez zgody pacjenta dotyczy dopuszczalności pojęcia tej decyzji wówczas, gdy pacjent lub inna upoważniona do tego osoba nie wyrazi swojego zdania co do podejmowania interwencji medycznej. Są to przypadki uregulowane w art. 33, 34 ust 7 i 35 u.z.l. Zgodnie z tymi przepisami po spełnieniu pewnych przesłanek lekarz jest uprawniony, a czasami nawet zobligowany- przy wykładni tych przepisów, łącznie z normą prawną zawartą w art. 30 u.z.l. - do udzielenia pomocy pacjentowi, pomimo braku zgody. Przyjęcie w takich sytuacjach absolutnego nakazu poszanowania prawa do samostanowienia pacjenta byłoby nieuzasadnionym rygoryzmem prawnym (Drozdowska i Wojtal 2010).

Ustawodawca w art. 33 ust 1 stanowi, że „badanie lub udzielenie pacjentowi innego świadczenia zdrowotnego bez jego zgody jest dopuszczalne, jeżeli wymaga on niezwłocznej pomocy lekarskiej, a ze względu na jego stan zdrowia lub wiek nie może on wyrazić zgody i nie ma możliwości porozumienia się z jego przedstawicielem ustawowym lub opiekunem faktycznym”,

w ust 2 tego przepisu ustawodawca zaznacza, że lekarz powinien skonsultować taką decyzję z innym lekarzem. Podjęcie takiego działania musi zostać odnotowane w dokumentacji medycznej. M. Świdorska słusznie zauważyła, że o ile konsultacja z innym lekarzem ma charakter fakultatywny, o tyle adnotacja w dokumentacji medycznej jest obowiązkowa, zwłaszcza, że może być ona dokonana dopiero po podjęciu interwencji medycznej (Świdorska 2007). Według znacznej części doktryny przepis ten, analizowany łącznie z art. 34 ust 7 u.z.l., dotyczy „zwykłych czynności medycznych”, tj. takie które nie stwarzają ryzyka dla zdrowia, a zwłoka mogłaby spowodować pogorszenie stanu zdrowia, bądź przedłużyć proces leczniczy. Ustawodawca akcentuje w tym przepisie przesłankę niezwłoczności, czyli celowości medycznej, a nie stopień zagrożenia życia lub zdrowia. Jest to kryterium ocenne pozostawione lekarzowi, który na podstawie swojej wiedzy, musi ocenić celowość podjętych działań i ich skutki dla pacjenta. Zdaniem M. Safjana niezwłoczność czynności powinna być oceniana przez pryzmat jej skutecznego dokonania w przyszłości (Safjan 1998). Wynika z tego, że jeżeli pacjent wymaga niezwłocznej pomocy, to lekarz może podjąć interwencję medyczną w celu zapobieżenia niekorzystnym skutkom dla zdrowia pacjenta. Kolejną przesłanką jest niemożność wyrażenia zgody, w chwili podejmowania decyzji, ze względu na jego stan zdrowia (np. nieprzytomność, szok, stan nietrzeźwości lub bycie pod wpływem środków odurzających) lub wiek (np. demencja); brak możliwości uzyskania zgody, dotyczy również zgody zastępczej, co oznacza brak kontaktu z osobami uprawnionymi do jej udzielenia. Jednakże zaliczenie art. 33 u.z.l. do kategorii „zwykłych czynności medycznych” nie jest jednolicie uznane w doktrynie. Zdaniem niektórych autorów wykładnia literalna przepisu pozwala na jego zastosowanie do wszystkich interwencji medycznych. Jednak dotychczasowy dorobek judykatury potwierdza doktrynalny podział na „zwykłe czynności medyczne” oraz na „czynności medyczne o podwyższonym ryzyku dla pacjenta”. Bowiernie zgodnie z wyrokiem Sądu Apelacyjnego w Katowicach z dnia 29 grudnia 2016 roku (V ACa 74/16) „w świetle art. 33 ust 1 ustawy o zawodzie lekarza i lekarza dentystry udzielenie pacjentowi świadczenia zdrowotnego bez jego zgody jest dopuszczalne, jeżeli wymaga on niezwłocznej pomocy lekarskiej, a ze względu na stan zdrowia uzyskanie od niego zgody jest utrudnione lub niemożliwe. Należy uznać zatem, że założenie cewnika mieści się w zakresie konieczności udzielenia niezwłocznej pomocy lekarskiej, tym bardziej, że zabieg ten prowadzi do poprawy samopoczucia pacjenta i nie jest obciążony jakimkolwiek ryzykiem. To samo dotyczy podawania kroplówki, a więc elektrolitów”.

Analizując powyższy przepis łącznie z art. 30 u.z.l. stanowiącym o tym, że „lekarz ma obowiązek udzielać pomocy lekarskiej w każdym przypadku, gdy zwłoka w jej udzieleniu mogłaby spowodować niebezpieczeństwo utraty życia, ciężkiego uszkodzenia ciała lub ciężkiego rozstroju zdrowia”, można stwierdzić, że lekarz nie tylko jest uprawniony do działania, lecz także zobowiązany. Brak działania w takiej sytuacji, jest obwarowane sankcją karną. Jest to stanowisko praktycznie jednolicie przyjęte w orzecznictwie, tytułem przykładu można przytoczyć sentencję wyroku Sądu Najwyższego z dnia 28 kwietnia 2000 roku, V KKN 318/99 przestępstwo określone w art. 160 § 3 k.k. (nieumyślne narażenie człowieka na niebezpieczeństwo) charakteryzuje się nieumyślnością w znaczeniu prawa karnego materialnego. Sprawca nie ma zamiaru narażenia człowieka na bezpośrednie niebezpieczeństwo utraty życia lub ciężkiego uszczerbku na zdrowiu, naraża go jednak w wyniku niezachowania wymaganej w danych okolicznościach ostrożności, w sytuacji, w której sprawca narażenie człowieka przewidywał lub obiektywnie biorąc, mógł przewidywać. Natomiast zgodnie z wyrokiem Sądu Najwyższego z dnia 3 września 2015 roku, WK 14/13 „odpowiedzialność lekarza gwaranta na gruncie art. 160 k.k. nie musi polegać tylko na popełnieniu przez niego błędu diagnostycznego czy medycznego. Mogą być to różne inne podejmowane albo zaniechane przez niego czynności, narażające człowieka na bezpośrednie niebezpieczeństwo utraty życia albo ciężkiego uszczerbku na zdrowiu”.

Znacznie większą ingerencję w prawa pacjenta stanowi art. 34 ust 7 w zw. z art. 34 ust 1 u.z.l., zgodnie z ust 1 „lekarz może wykonać zabieg operacyjny albo zastosować metodę leczenia lub diagnostyki stwarzającą dla pacjenta podwyższone ryzyko, po uzyskaniu jego pisemnej zgody”, natomiast ust. 7 Ustawodawca postanowił, że „lekarz może wykonać czynności, o których mowa w ust 1, bez zgody przedstawiciela ustawowego pacjenta bądź zgody właściwego sądu opiekuńczego, gdy zwłoka spowodowana postępowaniem w sprawie uzyskania zgody groziłaby pacjentowi

niebezpieczeństwem utraty życia, ciężkiego uszkodzenia ciała lub ciężkiego rozstroju zdrowia. W takim wypadku lekarz ma obowiązek, o ile jest to możliwe, zasięgnąć opinii drugiego lekarza, w miarę możliwości tej samej specjalności. O wykonywanych czynnościach lekarz niezwłocznie zawiadamia przedstawiciela ustawowego, opiekuna faktycznego lub sąd opiekuńczy". Lekarz ponadto musi odnotować taką decyzję w dokumentacji medycznej wraz z uzasadnieniem. Zdaniem niektórych autorów lekarz działa wtedy w stanie wyższej konieczności. Również w tej sytuacji lekarz na podstawie dyspozycji art. 30 u.z.l. jest zobligowany do działania. Chodzi tutaj o świadczenie medyczne, których zaniechanie prowadziłoby do zagrożenia życia lub zdrowia pacjenta. Świadczą o tym przede wszystkim przesłanki konieczne do spełnienia: brak zgody zastępczej oraz brak możliwości wszczęcia odpowiedniego postępowania przed sądem, ze względu na stan zagrożenia życia pacjenta. Ustawodawca podkreśla w tym przepisie konieczność pojęcia odpowiednich działań, ze względu na stan zdrowia. Judykatura stoi na stanowisku, że w przypadkach niecierpiących zwłoki lekarz sam powinien podjąć decyzję o wyborze metody leczenia (postanowienie Sądu Okręgowego w Warszawie z dnia 11.02.2011 roku, IV CA 1506/10). Szczególnym przypadkiem, w którym lekarz staje przed konfliktem pomiędzy ratowaniem życia pacjenta, a jego autonomią jest sytuacja, w której pacjent złożył uprzednio oświadczenie pro futuro, wyrażając jednocześnie sprzeciw ratowania mu życia, bądź sprzeciw przeciwko niektórym zabiegom medycznym, np. transfuzja krwi u członków Chrześcijańskiego Zboru Świadców Jehowy, czy ratowanie życia samobójców. Zgodnie bowiem ze stanowiskiem Sądu Najwyższego (postanowienie z dnia 27.10.2005 roku, III C 155/05) „oświadczenie pacjenta wyrażone na wypadek utraty przytomności, określające wolę dotyczącą postępowania lekarza w stosunku do niego w sytuacjach leczniczych, jest dla lekarza- jeżeli zostało złożone w sposób wyraźny i jednoznaczny - wiążące". Jednak problematyka oświadczeń pro futuro wykracza poza zakres niniejszej pracy, szczególnie ze względu na brak uregulowania prawnego w tej materii.

Kolejną, a zarazem ostatnią sytuacją, w której lekarz działa poniekąd bez zgody jest tzw. wyjątek terapeutyczny. Co do zasady udzielenie świadczenia medycznego, wykraczające poza zakres zgody pacjenta jest bezprawne, jednak są sytuacje, w których dla dobra pacjenta niezbędne jest przekroczenie akceptowalnego przez pacjenta obszaru czy granicy zabiegu. Podstawę prawną, legalizującą poszerzenie zakresu zgody (najczęściej poszerzenie pola zabiegu) zawiera art. 35 u.z.l.. Zgodnie z tym przepisem „jeżeli w trakcie wykonywania zabiegu operacyjnego albo stosowania metody leczniczej lub diagnostycznej wystąpią okoliczności, których nieuwzględnienie groziłoby pacjentowi niebezpieczeństwem utraty życia, ciężkim uszkodzeniem ciała lub ciężkim rozstrojem zdrowia, a nie ma możliwości niezwłocznie uzyskać zgody pacjenta lub jego przedstawiciela ustawowego, lekarz ma prawo, bez uzyskania tej zgody, zmienić zakres zabiegu bądź metody leczenia lub diagnostyki w sposób umożliwiający uwzględnienie tych okoliczności. W takim przypadku lekarz ma obowiązek, o ile jest to możliwe, zasięgnąć opinii drugiego lekarza, w miarę możliwości tej samej specjalności". W paragrafie drugim tego przepisu, ustawodawca zwrócił uwagę na obowiązek informacyjny lekarza, w postaci odpowiedniej adnotacji w dokumentacji medycznej oraz powiadomienie o zaistniałej sytuacji pacjenta, przedstawiciela ustawowego lub opiekuna faktycznego albo sąd opiekuńczy. M. Sośniak wskazuje, iż zakres wyjątku terapeutycznego może dotyczyć trzech aspektów: przedmiotu zabiegu, granic zabiegu oraz metody zabiegu (M. Sośniak 1977). Aktualnie problem poszerzenia zakresu zgody na zabieg jest mniejszy, niż w przeszłości, a to ze względu na rozwój technologii medycznych i metod diagnostycznych. Bez wątplenia pozostaje sprawa przypisania winy, lekarzowi, który poszerza pole operacyjne na skutek błędów diagnostycznych, których mógłby uniknąć, bądź też w wyniku wadliwych badań czy nieaktualnej wiedzy. Jednak w sytuacji, w której po przeprowadzeniu badań przed zabiegiem, lekarz jest w stanie postawić tylko wstępną diagnozę, a pacjent może wyrazić zgodę na zabieg tylko z takim zakresem informacji, jakie w danym momencie jest w stanie udzielić mu lekarz. Zdaniem części przedstawicieli doktryny prawo lekarza do działania nie może opierać się tylko na względach celowości medycznej, a ocena skutków zaniechania działania może stanowić podstawę odpowiedzialności cywilnej lekarza, o ile pozostaje w adekwatnym związku przyczynowym z poważną szkodą (np. utraty życia, ciężkim rozstrojem zdrowia). M. Safjan słusznie zauważa, że lekarz przy ocenie celowości zmiany zakresu zabiegu winien brać pod uwagę znane mu preferencje i życzenia pacjenta (Safjan 1998). Stanowisko to

potwierdza również orzecznictwo „zgoda na określony rodzaj procedury nie oznacza automatycznej zgody na wszelkie (nawet uzasadnione medycznie) poczynania lekarza. Lekarz powinien przed operacją, nie będąc pewnym granic zabiegu podzielić się swymi wątpliwościami z chorym i ewentualnie uzyskać jego zgodę na potencjalne czynności. Niedopuszczalne jest uzyskiwanie od pacjenta zgody blankietowej” (wyrok Sądu Apelacyjnego w Warszawie z dnia 28 kwietnia 2011 roku, I ACa 751/10). Poszerzenie zakresu zgody jest zatem wtórnie zalegalizowane, tylko wtedy, gdy zostaną koniunkcyjnie spełnione przesłanki z art. 35 u.z.l.. Potwierdzenie tego stanowiska, zawiera wyrok Sądu Najwyższego z dnia 28 listopada 2007 roku (V KK 81/07), zgodnie tezą w nim zawartą „nie jest możliwe uwolnienie lekarza od odpowiedzialności za zmianę zakresu zabiegu operacyjnego bez zgody pacjenta na podstawie art. 26 § 1 lub § 5 k.k., w sytuacji niespełnienia warunków określonych w art. 35 u.z.l., gdyż oznaczałoby to zignorowanie, mających charakter gwarancyjnym, ograniczeń wynikających z tego ostatniego przepisu”. Dopuszczalność poszerzenia zakresu zgody potwierdza orzecznictwo Sądu Najwyższego, gdzie przyjęto, iż „w sytuacji, gdy lekarz operujący stwierdzi po otwarciu jamy brzusznej inny stan rzeczy niż wynikał z badań klinicznych, może on w pewnych wypadkach przekroczyć zakres zgody na zabieg udzielonej przez pacjenta. Może to jednak nastąpić tylko w wypadkach szczególnych, gdy nieprzeprowadzenia koniecznego zabiegu groziłoby życiu pacjenta, albo gdy chodzi o nieznaczną a niezbędną korekturę projektowanego zabiegu” (wyrok Sądu Najwyższego z dnia 29 grudnia 1969 roku, II CR 551/69)- wyrok ten stanowił podstawę dla aktualnego brzmienia art. 35 u.z.l.. Przesłankę konieczności poszerzenia zakresu zgody, ze względu na stan zagrożenia życia pacjenta potwierdza dalsze orzecznictwo sądów powszechnych, tytułem przykładu można podać fragment uzasadnienia Wyroku Sądu Apelacyjnego w Poznaniu z dnia 7 kwietnia 2020 roku (I ACa 310/19) „Jednak skoro powódka nie została przed operacją poinformowana

o możliwym wycięciu macicy i nie wyraziła też na to zgody, a zabieg ten nie był konieczny dla ratowania życia pacjentki, to brak było podstaw do uznania, że lekarze mogli rozszerzyć w ten sposób zakresu operacji w trybie art. 35 ust. 1 ustawy o zawodzie lekarza i lekarza dentystry”.

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

Udzielenie świadczeń medycznych bez zgody pacjenta, w uzasadnionych jego stanem zdrowia przypadkach, należy uznać za pożądane i zgodne zarówno z ustawą o zawodach lekarza i lekarza dentystry, jak i Kodeksem Etyki Lekarskiej. Problematyka działania bez zgody pacjenta jest kwestią o dużej doniosłości prawnej i faktycznej, ze względu na bezpośrednie wkroczenie w sferę konstytucyjnie gwarantowanej wolności człowieka i jego prawa do samostanowienia, a z drugiej strony na możliwość poniesienia przez lekarza odpowiedzialności karnej, ze względu na działanie bez wymaganej zgody (art. 192 k.k.).

Podsumowując powyższe rozważania należy przyjąć, że lekarz może udzielić świadczenia medycznego bez zgody pacjenta lub innego do tego uprawnionego podmiotu, bądź instytucji, w trzech sytuacjach. Po pierwsze, gdy pacjent potrzebuje niezwłocznej pomocy lekarskiej, a nie ma możliwości uzyskania zgody (tzw. zwykłe czynności medyczne). Po drugie, w nagłej sytuacji ryzyka zagrożenia życia lub ciężkiego uszczerbku na zdrowiu pacjenta (czynności o podwyższonym ryzyku). A po trzecie, gdy zachodzi nieprzewidywalna konieczność rozszerzenia zakresu zgody, podczas udzielania świadczenia zdrowotnego, na skutek pojawienia się nowych, nieznanych uprzednio lekarzowi, okoliczności (tzw. wyjątek terapeutyczny), przy czym musi zachodzić realne ryzyko utraty życia, ciężkiego uszkodzenia ciała lub rozstroju zdrowia.

*De lege lata* polskie ustawodawstwo medyczne jest sformułowane w znacznej części w sposób ogólny, tym samym jest narażone na niejednoznaczne ich rozumienie. Jest to sytuacja, którą należy ocenić krytycznie, ze względu na tytułowych adresatów Ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentystry. Trudności interpretacyjne, a co za tym idzie, strach przed podjęciem interwencji medycznej, nie powinny mieć miejsca, gdy zagrożone jest życie i zdrowie pacjenta. Praktykujący lekarz jest pierwszym sędzią w sprawie, stąd też przepisy do niego adresowane, powinny być konstruowane w taki sposób, aby nie pozostawiały wątpliwości, co do przesłanek legalności podjętego działania. Zróżnicowanie poglądów w kwestii podstawowych pojęć, takich jak: zgoda na leczenie, sytuacja nagła czy niezwłoczna pomoc, powoduje brak spójności i świadomości w środowisku zarówno



medycznym, jak i prawnym. Pozytywnie należy ocenić zmianę przepisu art. 30 u.z.l., który w swym brzmieniu od 26 marca 2024 roku jest mniej ogólnikowy i nie pozwala na tak powszechne stosowanie wykładni rozszerzającej.

Jeżeli chodzi o postulaty *de lege ferenda*, to przede wszystkim należy zauważyć, do kogo adresowana jest ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentystry, w związku z czym jej normy prawne powinny być formułowane w sposób przejrzysty i w miarę możliwości szczegółowy. Pomocny w tej materii wydawałby się słowniczek ustawowy wyjaśniający generalne zwroty użyte w przepisach, które aktualnie przysparzają wiele problemów interpretacyjnych oraz zawierający definicje legalne podstawowych pojęć. Bowiem lekarz nie powinien obawiać się odpowiedzialności karnej, cywilnej czy dyscyplinarnej, zarówno za leczenie, jak i za brak leczenia, gdy był do tego zobligowany, lecz przez błędną interpretację przepisów lub przez brak odpowiedniego uregulowania nie podjął takiej decyzji.

## **5. Literatura**

- Bagińska E (2021) System Prawa Medycznego, Odpowiedzialność prywatnoprawna Tom 5, C-H-Beck.
- Drozdowska U, Wojtal W (2010) Zgoda i informowania pacjenta, Biblioteka Esculpa: 94 i n.
- Ignaczewski J (2003) Zgoda Pacjenta na leczenie, Twoje Zdrowie: 17 i n.
- Karczewska- Kamińska N (2018) Przymus i inne interwencje medyczne bez zgody pacjenta, Wolters Kluwer: 40.
- Safjan.M (1998) Prawo i Medycyna, Oficyna Naukowa: 46 i n.
- Safjan M, Bosk L (2017) System Prawa Medycznego, Instytucje Prawa Medycznego Tom 1, C-H-Beck.
- Smyk K (2017) Charakter prawny zgody pacjenta na gruncie prawa cywilnego, Folia Iuridica Universitatis Wratislaviensis: 121-128.
- Sośniak M (1997) Cywilna odpowiedzialność lekarza: 86.
- Świdarska M (2007) Zgoda na zabieg medyczny: 178.
- Ustawa z dnia 6 czerwca 1997r. Kodeks karny, Dz.U.2024.17.
- Ustawa z dnia 6 listopada 2008r. o prawach pacjenta i Rzeczniku Praw Pacjenta, Dz.U. 2009 Nr 52 poz. 417.
- Ustawa z dnia 5 grudnia 1996r. o zawodach lekarza i lekarza dentystry, Dz.U. 2023.0.1516.

## **18. Problematyka klauzuli sumienia w polskim prawie medycznym w kontekście aborcji i zapłodnienia pozaustrojowego**

The issue of the conscience clause in Polish medical law in the context of abortion and in vitro fertilization

Kramer Dagmara, Fik Emilia, Chariton Weronika

Wydział Prawa i Administracji, Uniwersytet Śląski w Katowice

Opiekun naukowy: dr. hab. Mariusz Fras, prof. uś.

Dagmara Kramer: dagmara.kramer@gmail.com

Słowa kluczowe: In vitro, spór, aborcja, opinie

### **Streszczenie**

Problematyka klauzuli sumienia zdecydowanie zalicza się do współczesnych problemów światopoglądowych. Stąd też ciężko się dziwić, że przywołana tematyka budzi jakże ogromną ilość kontrowersji i jest przedmiotem badań wielu naukowców w dziedzinie prawa.

W pracy autorki pochyliły się nad przeglądem literatury w zakresie obejmującym pojęcie klauzuli sumienia w kontekście aborcji i zapłodnienia pozaustrojowego. Przytoczone zostały nie tylko komentarze do ustawy o zawodzie lekarza i lekarza dentysty, ale także artykuły naukowców, często o kompletnie odmiennym światopoglądzie. Autorki również przywołały i przeanalizowały kluczowe dla całego zagadnienia orzeczenie Trybunału Konstytucyjnego z 7 października 2015 roku, które dały początek do nowego pojmowania samej klauzuli.

Same autorki nie opowiadają się po żadnej ze stron sporu, jedynie podkreślają, że klauzula sumienia wymaga odpowiedniego uregulowania, a także interpretacji, dzięki której oczywistym będzie, że dobro pacjenta jest naczelnym elementem dla każdego lekarza.

### **1. Wstęp**

Klauzula sumienia zalicza się do dość kontrowersyjnych tematów w polskim prawie medycznym. Jej problematyka jest częścią zaciętej dyskusji, a zmiany w stosowaniu i samej treści klauzuli zachodzą nieustająco. Poniższa praca przedstawia wspomnianą kwestię w kontekście aborcji, a także zapłodnienia pozaustrojowego, czyli dwóch procedur medycznych wyróżniających się szczególną kontrowersją ze względu na swój światopoglądowy charakter. Dyskusja o klauzuli sumienia jest dyskusją o hierarchizacji wartości, hierarchizacji, której musi dokonać ustawodawca.

Konsekwencje postępowania lekarza zgodnie z własnym sumieniem dotyczą bowiem ludzi niezależnych od niego, a w szczególności pacjentów. Stąd też ugruntowanie w prawie, definicja legalna i stabilizacja praktyki w stosowaniu klauzuli sumienia jest tak istotną kwestią. Ustawodawca bowiem musi pogodzić dobro pacjenta i jego prawo do ochrony zdrowia oraz wolność sumienia lekarza. Nie sposób zatem uznać spór w doktrynie dotyczący klauzuli sumienia za nieuzasadniony.

W poniższej pracy przedstawiona została podstawa prawna klauzuli sumienia, zmiany w jej postrzeganiu, w szczególności w oparciu o wyrok Trybunału Konstytucyjnego z 7 października 2015 roku, a także współczesny spór w doktrynie.

### **2. Opis zagadnienia**

Wolność sumienia jako dobro prawne zapewnione jest oraz chronione w umowach międzynarodowych dotyczących praw człowieka oraz w art. 51 ustawy zasadniczej. Uznaje się je za prawo każdej osoby do postępowania w sposób zgodny z jego wewnętrznymi, indywidualnymi poglądami tego co uznaje za poprawne, dobre i słuszne; ze swoim systemem moralności. Jako, że prawo to obejmuje każdego człowieka i nie sprecyzowano czym się ono wyraża, jednym ze sposobów owego wyrażania jest tzw. klauzula sumienia. Jej głównym celem jest zapewnienie lekarzowi

możliwości wykonywania zawodu zgodnie ze swoim sumieniem. Mogą się na nią powoływać zarówno lekarze, lekarze dentyści jak i pielęgniarki oraz położne.

Klauzula sumienia występuje gdy norma etyczna jaką kieruje się lekarz w ramach wolności sumienia spiera się z zagwarantowanym prawnie dobrem jakim jest interes pacjenta, przykładowo jego prawa do ochrony zdrowia. Instytucja klauzuli gwarantowana jest artykułem 39 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentystry (Dz.U.2023.1516 t.j), a w przypadku pielęgniarek i położnych art. 12 ust. 2 ustawy z dnia 15 lipca 2011 r. o zawodach pielęgniarki i położnej (Dz.U.2024.814 t.j). Natomiast ograniczenia użycia tej klauzuli są ujęte w art. 30 u.z.l. lub art. 12 ust. 1 u.z.p.p – “razem unormowania te tworzą ramy uprawnienia lekarza do działania zgodnego ze swoim sumieniem” (Zielińska i in. 2008). Lekarz powołując się na tą klauzulę może odmówić spełnienia świadczenia niezgodnego z jego sumieniem, chyba że zwłoka spowodowałaby niebezpieczeństwo utraty życia, ciężkiego uszkodzenia ciała lub ciężkiego rozstroju zdrowia. Ma on również obowiązek odnotowania tego faktu w dokumentacji medycznej, a jeśli wykonuje zawód na podstawie stosunku pracy albo w ramach służby obowiązkowo musi on też poinformować na piśmie przełożonego. Sumienie lekarza jest więc w polskim systemie prawnym nie tylko kategorią etyczną, ale także prawną - ponieważ ustawodawca uzależnia od tej wartości odpowiedzialność lekarza. Sam przepis - owe ograniczenia, obowiązki przy powoływaniu się na klauzulę przeszły istotne zmiany wyrokiem Trybunału Konstytucyjnego w 2015 r.

Klauzula sumienia unormowana jest jako instytucja także w Kodeksie Etyki Lekarskiej, chociaż, że nie zwiera on tej jej *stricte*, a trzeba ją w pewien z przepisów wywieść. Art. 4 zawiera zapis, że “lekarz powinien zachować swobodę działań zawodowych zgodnie ze swoim sumieniem i współczesną wiedzą medyczną”, natomiast art. 7 - “w szczególnie uzasadnionych przypadkach lekarz może odstąpić lub nie podjąć leczenia chorego, z wyjątkiem sytuacji nie cierpiących zwłoki” (Kodeks Etyki Lekarskiej 1991). Interpretując więc art. 7 przez pryzmat art. 4 uzyskujemy instytucję unormowaną podobnie do tej ustawowej.

Jak zostało już wyżej wspomniane wolność sumienia jest kategorią indywidualną, wyrażaną przez każdego człowieka osobno. Oświadczenia zbiorowe nie mieszczą się więc w ochronie wolności sumienia jako że nie można by uznać ich za wariant zastosowania klauzuli sumienia. Nie są one bowiem samookreślane, nie formują się bez nacisków zewnętrznych. Wewnętrzna wola różni się pomiędzy konkretnymi osobami nawet jeśli efekt końcowy wyrażany w jakiejś zewnętrznej formie oświadczenia woli jest pozornie taki sam, wola ta może także zmieniać się w konkretnych przypadkach, musi więc być wyrażania każdorazowo. W związku z tymi faktami nie dopuszczalne są więc oświadczenia zbiorowe szpitali (posiadających oddziału ginekologiczno-położnicze), w których znajdowałby się zapis informujący, że w danym ośrodku nie dokonuje się zabiegów przerywania ciąży. Nie byłoby to również zgodne z przepisami o ograniczeniach zastosowania klauzuli sumienia, gdyż nie bierze pod uwagę owego wyłączenia klauzuli w przypadku zagrożenia życia lub zdrowia kobiety ciężarnej.

Potwierdza to stanowisko niedopuszczalności ogólnoszpitalnego określenia sumienia również wyrok Naczelnego Sądu Administracyjnego z dnia 22 września 2016 r. o sygnaturze II GSK 695/15, w którym to rada powiatu przyjęła w statucie szpitala powiatowego zasadę kierowania się bezwzględnie ochroną życia ludzkiego, co zostało uznane m.in. za wykroczenie poza kompetencje rady, a także za sprzeczne z regulacjami określającymi uprawnienia i obowiązki lekarzy, pielęgniarek i położnych.

Na klauzulę sumienia lekarze powołują się niewątpliwie najczęściej w przypadku zabiegu przerywania ciąży; aborcji. Przepisy regulujące dopuszczalność przerywania ciąży zmieniły się wraz z wyrokiem Trybunału Konstytucyjnego z dnia 22 października z 2020 r. Aborcję od tych poprawek można wykonać tylko w dwóch przypadkach, a przepisy zawarte w ustawie z dnia 7 stycznia 1993 r. o planowaniu rodziny i warunkach dopuszczalności przerywania ciąży mają następujące brzmienie:

“Art. 4a. [Warunki dopuszczalności przerywania ciąży]

1. Przerwanie ciąży może być dokonane wyłącznie przez lekarza, w przypadku gdy:

1) ciąża stanowi zagrożenie dla życia lub zdrowia kobiety ciężarnej,

2) (utracił moc),

3) zachodzi uzasadnione podejrzenie, że ciąża powstała w wyniku czynu zabronionego,

4) (utracił moc).

2. W przypadkach określonych w ust. 1 pkt 2 przerwanie ciąży jest dopuszczalne do chwili osiągnięcia przez płód zdolności do samodzielnego życia poza organizmem kobiety ciężarnej; w przypadku określonym w ust. 1 pkt 3 lub 4, jeżeli od początku ciąży nie upłynęło więcej niż 12 tygodni.” (Dz.U.2022.1557 t.j)

Biorąc pod uwagę treść norm opisujących dopuszczalną, legalną aborcję - możliwa tylko w dwóch podanych wyżej przypadkach oraz ograniczenie przez art. 30 u.z.l. zabraniające możliwości powoływania się na klauzulę sumienia, gdy zwłoka spowodowałaby zagrożenie dla życia i przesłanka legalnego przerwania ciąży zawarta w ust. 1 art. 4a pokrywają się wzajemnie. Można by przez to wnioskować, iż lekarz może powołać się na klauzulę sumienia tylko w przypadku, gdy ciąża wynika z gwałtu, natomiast klauzula ta jest wyłączona gdy zagrożone jest życie lub zdrowie matki. Jednakże wyżej wspomniany wyrok TK z 2015 r. w pewien sposób kwestionuje konstytucjonalność tej interpretacji normy, co powoduje spór w doktrynie.

### **3. Przegląd literatury**

Kluczowym dla kwestii klauzuli sumienia okazał się być wyrok Trybunału Konstytucyjnego z 7 października 2015 roku. Trybunał orzekł wówczas, że przy sprawach niecierpiących zwłoki lekarz nie może mieć obowiązku wykonania danej procedury medycznej, która pozostaje w niezgodzie z jego sumieniem. Ponadto obowiązek podania przez lekarza korzystającego z odmowy wykonania danej procedury medycznej na skutek sprzeczności danej procedury z sumieniem tegoż lekarza, innych możliwości wykonania danej procedury, czy to u innego lekarza, czy też w innym podmiocie lekarskim za niezgodne z prawem. W praktyce ten wyrok poszerzył stosowanie klauzuli sumienia i tym samym ograniczył dostęp pacjentom do poszczególnych procedur medycznych, w tym do przytaczanej wyżej aborcji. Zgodnie ze stanowiskiem wyrażonym przez prof. Kubickiego, tzw. sprawy niecierpiące zwłoki to takie sprawy, przy których jakakolwiek zwłoka może wiązać się z zagrożeniem życia i zdrowia pacjenta, jednakże zwrot ten jest nieostry i wszelkie interpretacje są pozostawione obiektywnemu osądowi lekarza (Kubicki 1999). Wyrok Trybunału Konstytucyjnego zatem, zgodnie z głosem doktora Piotra Szudejki wskazał prymat wolności sumienia, tutaj lekarza, nad prawem do ochrony zdrowia, tutaj pacjenta. Ponadto orzeczenie to, dalej idąc za głosem dr Szudejki, daje grunt pod paternalistyczny system, czyli taki, w którym pacjent nie jest traktowany jako podmiot, a jego zdrowie jako dobro najważniejsze dla lekarza, a jako przedmiot, który uzależniony jest całkowicie od postępowania lekarza (Szudejka 2015). Jest to też sprzeczne z m.in. Art. 192 §1 k.k., z którego wynika przełamanie wspomnianego paternalistycznego systemu, np. poprzez karanie lekarza za wykonywanie świadczenia medycznego wbrew woli pacjenta. Wyrok Trybunału daje zatem dość duże pole do rozważań na temat przyszłości klauzuli sumienia, a w szczególności co do zakresu jej stosowania. Nie sposób jednak stwierdzić, że do wyroku Trybunału Konstytucyjnego doktryna podeszła wyłącznie krytycznie. Głosem aprobującą do tego wyroku napisał dr hab. Oktawian Nawrot. Stwierdził on, że wyrok ten reguluje relacje między jednostką, lekarzem a władzą i broni praw jednostki do wolności sumienia. Wskazał na problematykę narzucania katolickiego światopoglądu przez lekarzy podczas korzystania z klauzuli sumienia, a ten wyrok ma wolność sumienia lekarza chronić (Nawrot 2015). Ochrona ta zaś ma stanowić nierozłączny element ustroju demokratycznego, którego fundament stanowi przecież wolność sumienia i wyznania. Trybunał zatem ugruntował tymże wyrokiem kwestię niezwykle dla demokracji istotną. Władza państwowa nie ma w końcu monopolu na moralność i nie należy wszystkich lekarzy sprowadzić do jednej moralności, jednego wyznania itd. Ponadto już po wyroku sam Komitet Praw Człowieka ONZ zaznaczył dalekosiężność i głębokość w samej idei wolności sumienia i religii. Dyskusja zatem tworzy się w obrębie hierarchizowania wartości. Z jednej strony jest prawo człowieka do ochrony zdrowia wskazane w Art. 68 Konstytucji, a z drugiej zaś istnieje wolność sumienia wpisana w Art. 53, pkt 1 Konstytucji. Problematykę klauzuli sumienia w polskim prawie medycznym należy zatem umieścić w konflikcie między wartościami równie istotnymi w społeczeństwie demokratycznym.

Należy też zwrócić uwagę na usunięcie obowiązku lekarza, który odmawia wykonania danego świadczenia medycznego powołującego się na klauzulę sumienia, do przedstawienia innych możliwości wykonania świadczenia medycznego, które zostało poddane odmowie wcześniej.

W końcu tutaj lekarz, zgodnie ze swoim sumieniem, nie wykonuje danej procedury medycznej, a pacjent dalej ma możliwość jej wykonania, jednakże w innej placówce medycznej. Kwestię tę porusza fragment komentarza do ustawy o zawodzie lekarza, konkretnie komentarza do Art. 39 przytoczonej ustawy autorstwa prof. Eleonory Zielińskiej i dr hab. Barbary Namysłowskiej-Gabrysiak, które przytaczają wypowiedź Trybunału Konstytucyjnego, jakoby przedstawienie innych możliwości wykonania danego świadczenia było współdziałaniem w złu. Prof. Zielińska i dr hab. Namysłowska-Gabrysiak uznały ten pogląd za niedorzeczny i przytoczyły pogląd sędzi S. Wronkowskiej-Jaśkiewicz, która stwierdziła, że przedstawienie innych możliwości jest aksjologicznie neutralne i ponadto należy je rozumieć jako oświadczenia wiedzy, a nie przejaw ograniczenia wolności sumienia. Wspomniano również w tym o ograniczeniu obowiązku udzielenia pomocy lekarskiej. Natomiast prof. Zielińska i dr hab. Namysłowska-Gabrysiak zgodziły się ze stwierdzeniem Trybunału, że zwrot w Art. 30 ustawy o zawodzie lekarza, do którego jest odwołanie w Art. 39 tej ustawy, który opisuje klauzulę sumienia, a chodzi o zwrot w innych przypadkach niecierpiących zwłoki, jest zwrotem niedookreślonym, co stanowi naruszenie zasad poprawnej legislacji i naraża lekarza na naruszenie prawa wskutek odmiennej interpretacji tychże słów. Przywołały, jednakże jednocześnie słowa sędziego Stanisława Biernata, który skrytykował Trybunał Konstytucyjny za brak chęci dokładnego wskazania czym są przypadki niecierpiące zwłoki. Zdaniem tego sędziego Trybunał powinien był dokonać pełnego wyważenia konstytucyjnych wartości i zgodnie z zasadą proporcjonalności stwierdzić, czy dany przypadek to przesadne ograniczenie wolności sumienia czy raczej ograniczenie prawa do ochrony zdrowia. Przytoczone, jakże kontrowersyjne, orzeczenie Trybunału Konstytucyjnego w sposób dobitny pokazało polską tendencję do wszelkich modyfikacji klauzuli sumienia przez ustawodawcę, tutaj negatywnego, celem jej rozszerzenia.

Aby poprawnie zrozumieć problematykę wykorzystania klauzuli sumienia w kontekście zapłodnienia pozaustrojowego należy przede wszystkim dobrze zapoznać się ze specyfiką zabiegu jakim jest tak zwane skrótowo nazywane „in-vitro” oraz tym, jaki pogląd ma na to nie tylko środowisko specjalistów, lecz również opinia publiczna. Przeciężny człowiek kojarzy to pojęcie z kosztowną, wysoko specjalistyczną procedurą wykonywaną wyłącznie w prywatnych klinikach. Co za tym idzie, próba umiejscowienia w tym kontekście lekarza, który potencjalnie odmawia wykonania zabiegu z przyczyn sumienia, jest trudna, choć nie niemożliwa. Jak wskazuje autorka artykułu pt. „Prawo do zapłodnienia in vitro w Polsce i na świecie” powołując się na artykuł Gazety Wyborczej, kliniki nie wymagają, aby przyszli rodzice byli w związku małżeńskim. Ewa Siedlecka trafnie zauważa, że gdyby przyszłymi rodzicami chcieli być bliscy krewni tj. brat i siostra czy ojciec i córka, to o niewykonaniu zabiegu mogłyby zdecydować jedynie względy medyczne, czyli zwiększone ryzyko wad wrodzonych płodu. Lekarz mógłby też skorzystać z klauzuli sumienia, jeśli uważałby stworzenie takiego zarodka za niemoralne (Łowińska 2012). Są to jednak sytuacje skrajne, niespotykane w codziennej praktyce. Tezę tę w pewnym stopniu potwierdza tematyka artykułów, głos czy komentarzy powiązanych z klauzulą sumienia. Autorzy opisują sytuacje dotyczące głównie aborcji czy odmowy sprzedaży antykoncepcji awaryjnej. Powoływanie się na art. 39 w przypadku wykonywania zabiegu zapłodnienia pozaustrojowego wydaje się na tyle rzadkie, że wręcz znajduje się ono w swego rodzaju szarej strefie. Ponadto, warto podkreślić, że dane statystyczne i liczbowe związane z odmowami wykonania zabiegu ze względu na sumienie medyka w ogóle nie są gromadzone, nie tylko w kontekście świadczeń z zakresu medycyny reprodukcyjnej, choć każda tego typu sytuacja odmowa musi zostać przez lekarza uzasadniona, wpisana do dokumentacji medycznej, ewentualnie (w zależności od tego czy lekarz wykonuje obowiązki na podstawie stosunku pracy albo w ramach służby) zgłoszona bezpośrednio przełożonemu.

W roku 2020 w odpowiedzi na interpelację nr 2269 wystosowaną przez Wandę Nowicką wraz z grupą posłów Ministerstwo Zdrowia wskazało, iż dane dotyczące farmaceutów nie są rejestrowane. Co jednak z pozostałymi przedstawicielami zawodów medycznych, zwłaszcza w kontekście zdrowia reprodukcyjnego? Mimo ponownienia przez posłankę pytania również w bieżącym roku, MZ wciąż uchyla się od podania danych liczbowych, które pozwalałyby ocenić na jak dużą skalę w Polsce stosowana jest klauzula sumienia. Mimo jasnych procedur dotyczących

zgłaszania tych incydentów wciąż nie ma jasnych statystyk, które pozwalałyby na głębsze rozważania doktrynalne na temat tego typu konstrukcji prawno-moralnej.

Polscy konstytucjonalisci, ale też specjaliści z zakresu prawa karnego czy cywilnego nie są zgodni w swoich ocenach. Rozważania bowiem dotyczyć muszą nie tylko regulacji prawnej z art. 39 sensu stricto, ale też jej pozycji w porządku prawnym, odniesienia do podstawowych praw zawartych w Konstytucji RP a także tego, jaki wpływ na klauzulę sumienia miał wielokrotnie komentowany, zarówno pozytywnie jak i negatywnie, wyrok Trybunału Konstytucyjnego z dnia 7 października 2015 roku, o którym prowadzono już rozważania we wcześniejszej części pracy.

Klauzula sumienia to złożony problem etyczno-prawny, który poddawany jest ocenie również medyków i bioetyków. Osoby zajmujące się na co dzień zagadnieniami zdrowia, leczenia czy bioetyki nie wyrażają swoich poglądów w sposób w jaki prowadzona jest dyskusja wśród przedstawicieli środowiska prawniczego. Zwracają oni uwagę na inne zagadnienia, wskazują na bardziej praktyczne, rzeczywiste problemy, co daje pełny obraz tego, jakie są obecne poglądy na konstrukcję art. 39 u.z.l. szeroko pojętej doktryny.

Tak jak wskazano we wcześniejszej części pracy, dane statystyczne dotyczące klauzuli sumienia nie są oficjalnie gromadzone, a nieoficjalne statystyki są rozbieżne względem siebie. Nie są także przeprowadzane na skalę ogólnokrajową badania socjologiczne wśród lekarzy by zapoznać się z ich poglądami na ten temat. Powoływać się można zatem jedynie na stanowiska wyrażone przez główne instytucje występujące w imieniu medyków i bioetyków. Głęboki niepokój związany ze sposobem korzystania przez niektórych polskich lekarzy z tzw. klauzuli sumienia, zwłaszcza w odniesieniu do świadczeń z zakresu medycyny reprodukcyjnej i diagnostyki prenatalnej. Obowiązujące w Polsce unormowania etyczne i prawne dotyczące zawodów lekarza i lekarza dentystry przyznają lekarzowi prawo do odmowy wykonania świadczenia zdrowotnego, które jest sprzeczne z jego przekonaniami moralnymi, jednocześnie określając warunki wykonania tego prawa (Komitet Bioetyki 2012). Zdaje się, że ta opinia pozostaje aktualna. A contrario, środowisko lekarskie pozostaje zwolennikiem regulacji pozwalającej na powoływanie się na klauzulę sumienia. Prezydium Naczelnej Rady Lekarskiej w swoim Stanowisku nr 42/23/P-IX z dnia 13 lipca 2023 r. w sprawie poselskiego projektu ustawy o zmianie ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentystry negatywnie opiniuje propozycję uchYLENIA art. 39 i powołuje się na kontrowersyjne orzeczenie TK z 2015 roku. Stwarza to wyraźny dysonans pomiędzy bioetykami, częścią środowiska prawniczego a lekarzami jako takimi, którzy są wśród wymienionych grupą bezpośrednio uprawnioną i zainteresowaną.

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

Zastosowanie klauzuli sumienia w polskim systemie jest szerokie, chociaż najczęściej stosowane w przypadkach aborcji. Aktualne przepisy jej dotyczące są uważane za surowe, więc przypadki możliwości dokonania w Polsce legalnej aborcji są ograniczone, a klauzula sumienia na którą powołują się w tych przypadkach lekarze sprawia iż dostęp do zabiegu przerywania ciąży jest jeszcze trudniejszy. Należy jednak zauważyć, że aktualnie, na maj roku 2024, trwają prace sejmowe nad czterema ustawami dotyczącymi aborcji, tak więc stan prawny może zostać zmieniony w najbliższej przyszłości.

Natomiast jeśli mówimy o przypadkach zastosowania klauzuli przy zapłodnieniu pozaustrojowym, ze względu na charakter procedury, nie wydają się one liczne, chociaż nie niemożliwe. Nie jesteśmy jednak w stanie określić rzeczywistych statystyk zastosowania klauzuli sumienia przez polskich lekarzy ze względu na fakt braku ich prowadzenia.

Ograniczenia powołania się na klauzulę są unormowane, choć ich interpretacja nie jest do końca jasna w doktrynie ze względu na wyrok Trybunału Konstytucyjnego z 2015 r., który uznał za niekonstytucyjny zapis przepisu o ograniczeniach, tj. art. 30 ustawy o zawodach lekarza i lekarza dentystry oraz samego artykułu o klauzuli sumienia, tj. art. 39 u.z.l. Przepis ten odnosił się do przymusu zapewnienia pacjentowi sprawdzonej możliwości wykonania zabiegu, którego on sam odmówił wykonać.

Klauzula sumienia jest instytucją kontrowersyjną, a zdania w doktrynie nie są jednoznaczne ani na tyle spójne by móc ocenić jaki stosunek ma większość przedstawicieli nauk prawnych czy

medycznych. Zdaje się, że lekarze w dużym stopniu opowiadają się za zachowaniem swoich unikalnych uprawnień do kierowania się sumieniem.

Postulaty *de lege ferenda* nie są obiektywnie jasne, właśnie ze względu na wcześniej już wspomniane liczne, różnorodne opinie. Jednakże nie da się zaprzeczyć że wykonywanie zabiegów do których lekarze stosują klauzulę sumienia jest częścią ich zawodu, czasem konieczną do ochrony zdrowia lub życia pacjentów, których ochrona jest podstawą zawodu lekarza. Można by więc postulować też, aby osoby z których sumieniem nie zgadza się wykonanie części zabiegów, nie wybierały kariery w której takie działanie może być konieczne.

## **5. Literatura**

Balicki M(2022) Klauzula sumienia w służbie zdrowia

Jacek A, Nagórska M (2017) Klauzula sumienia, EP nr 2 str. 51

Kopec M, Buczek E, Caban Ł i in. (2016) Ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentysty.

Komentarz

Kubicki L (1999) Sumienie lekarza jako kategoria prawna, Prawo i medycyna nr 2 str. 5-13

Łowińska E (2012) Prawo do zapłodnienia in vitro w Polsce i na świecie, Przegląd Prawniczy

Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza nr 1 str. 161-174

Nawrot O (2015) Glosa do wyroku TK z dnia 7 października 2015 r. (K 12/14)

Szudejko P (2015) Zakres klauzuli sumienia. Glosa do wyroku TK z dnia 7 października 2015 r. (K 12/14)

www.pch24.pl, Komitet Bioetyki PAN za stosowaniem metody in vitro i mrożeniem zarodków.

Zielińska E (2022) Ustawa o zawodach lekarza i lekarza dentysty. Komentarz wyd. III.

## **19. Rola farmaceuty w opiece zdrowotnej w świetle badań ankietowych**

The role of the pharmacist in the light of survey research

Ludwiczak Katarzyna Joanna

Wyższa Szkoła Zarządzania i Psychologii w Poznaniu, Wydział Zarządzanie

Opiekun naukowy: Prof. dr hab. Henryk Mruk

Ludwiczak Katarzyna Joanna: kjludwiczak@wp.pl

Słowa kluczowe: farmacja, apteki, odpowiedzialność społeczna

### **Streszczenie**

Artykuł porusza problematykę związaną z farmaceutami w aptekach – ich rolę w świetle przeprowadzonych badań ankietowych. Farmaceuci pełnią niewątpliwie ważną misję w kontekście ochrony zdrowia oraz pomocy niesionej pacjentom. Ich wiedza jest bardzo duża. Zwykle pacjenci, w lekkich dolegliwościach, zwracają się o poradę farmaceutów w misjach sprzedaży leków. Obecnie farmaceuci nie są jedynie specjalistami w dziedzinie farmakologii, ale pełnią ważną rolę doradców zdrowotnych dla pacjentów. W artykule opisano rolę farmaceuty w społeczeństwie. Zwrócono uwagę na ich wielowymiarową pracę wykonywaną w aptekach. Przywołano również elementy, które znajdują się w Kodeksie Etyki Aptekarza, czyli przestrzegania praw człowieka, troskę o pacjentów miejsc sprzedaży leków, spełnianie standardów aptecznych oraz równe traktowanie pacjentów. Zwrócono uwagę na elementy promocji zdrowia opisane w Karcie Ottawskiej. W niniejszej pracy przedstawiono autorskie badania przeprowadzone za pomocą kwestionariusza ankietowego. Celem artykułu jest ukazanie konkretnych postaw pacjentów aptek w stosunku do farmaceutów. Zadano respondentom dziesięć pytań dotyczących spotkań z farmaceutami i wizyt w aptekach. Pytano o rolę jaką spełnia farmaceuta, o społeczną misję pracowników aptek, o promowanie zdrowego stylu życia w aptekach, o przeciwdziałanie farmaceutów w kwestii uzależnienia od leków i środków psychoaktywnych, o prowadzenie poradnictwa w aptekach, o udziale farmaceutów w edukacji na temat przeciwdziałania uzależnieniom od leków i środków psychoaktywnych oraz o wpływ farmaceutów na poprawę stanu zdrowia ludzi.

### **1. Wstęp**

Osoby zajmujące się leczeniem oraz wytwarzaniem leków i środków leczniczych istniały w społeczeństwie od początku historii ludzkości. Należy podkreślić jak ważną rolę w społeczeństwie pełnią farmaceuci. To dzięki pracownikom aptek pacjenci mają dostęp do bezpiecznego zakupu leków. Często są też pierwszymi osobami z którymi pacjenci mają styczność w przypadku infekcji czy też innych drobnych problemów zdrowotnych. Są też odpowiedzialni za dobór odpowiednich leków bez recepty dla pacjentów aptek. Warto zwrócić uwagę na to, że farmaceuci są integralną częścią opieki zdrowotnej – można nazwać ich wręcz konsultantami zdrowotnymi. Muszą być czujni w trakcie swojej pracy. Należy pamiętać o tym, że medycyna zmienia się, a farmaceuci, jako część opieki zdrowotnej, powinni nadążać nad zmianami co również jest sporym wyzwaniem. Zmiany te związane są z postępującą globalizacją, nowymi technologiami oraz z badaniami dającymi nowe informacje na temat leczenia czy chorób. Promocja zdrowia jest również ważnym aspektem w pracy farmaceuty. Apteki są często są początkowym spotkaniem pacjenta z próbą naprawienia swojego zdrowia, więc ważnym jest, aby zwracać szczególną uwagę na promowanie zachowań prozdrowotnych. Opieka farmaceutyczna jest również kluczowym elementem w ochronie zdrowia. Osoby pracujące w aptekach mogą również oceniać i monitorować stan zdrowia pacjentów.

Obecnie również ważna jest społeczna odpowiedzialność biznesu – do czego również muszą dostosować się koncerny farmaceutyczne. Może to wpływać na postrzeganie farmaceutów. Zawód farmaceuty jest bardzo odpowiedzialny. W nowelizacji do ustawy o izbach aptekarskich (z 10 stycznia 2008 roku) zawarto takie informacje o zawodzie farmaceuty jak: powinien mieć na celu ochronę zdrowia publicznego, sprawować opiekę farmaceutyczną, współpracować z lekarzem oraz z pacjentem oraz kontrolować przebieg farmakoterapii. Podkreśla to jak ważną rolę przyjmują



farmaceuci w opiece zdrowotnej (Szalotka, 2013). Koncentrując się na zagadnieniu opieki zdrowotnej należy podkreślić, że uznaje się ją jako zespół zakładów opieki i świadczonych przez nie usług i jest nierozłącznym elementem ochrony zdrowia. Działania farmaceutów może określić jako działania zdrowotne – zwłaszcza, że w ostatnich latach coraz częściej mówi się o możliwościach szpitali w aptekach (Suchecka, 2016).

Farmaceuci w społeczeństwach byli już udokumentowani w starożytnej Grecji. Pierwsi sprzedawcy medykamentów nazywani byli „apothecarius” co w tym czasie bardzo łączyło z rolą kupca-sprzedawcy niż aptekarza-farmaceuty. Zawód ten odgrywa w społeczeństwie ważną rolę, jest w społecznościach od wieków ewoluując (Karkowska 2012). Pierwsze skojarzenia z zawodem farmaceuty to zdrowie, chęć niesienia pomocy, empatia. Pracownicy aptek, podejmując się wykonywania tego zawodu, mają na uwadze społeczną rolę tej pracy. Ich wielowymiarowa działalność taka jak wydawanie leków, przygotowywanie wyrobów medycznych, edukacji na temat zdrowia czy działalności ogólnie informacyjnej na temat zdrowia i leków, jest wymagająca. Jedną z ról przypisanym aptekom jest ochrona zdrowia publicznego, zapisana w art. 86 ust.1 u. p. f.. Definiując zdrowie publiczne należy zwrócić uwagę na to, że obejmuje ona profilaktykę, promowanie zdrowia i zdrowego stylu życia, ale i również wszelkie działania prowadzące do polepszenia komfortu życia oraz jego długości. Taką ogromną wiedzę muszą posiadać farmaceuci, aby dobrze wykonywać swój zawód, a dodatkowo mogą nieustannie poszerzać swoją wiedzę o nowe informacje związane ze zdrowiem oraz nowoczesnymi formami leczenia. Wiąże się to również z dużą odpowiedzialnością za swoje działania (Czech, Drozd, Fedorowicz i in. 2021). W społeczeństwie istnieją pewne wymagania stawiane przed farmaceutami, które reguluje Kodeks Etyki Aptekarza, a jest to:

- przestrzeganie praw człowieka oraz przykuwanie uwagi do roli swojej pracy, dbając o godność zawodu farmaceuty – nie należy dopuszczać się takich czynności, które mogą wpływać na dobro pacjenta w aptece ani żadnych czynności wskazujących lub sugerujących pohańbienie godności zawodu farmaceuty. Celowe złe doradzanie, sprzedaż wybranych wyrobów farmaceutycznych bez recepty czy też zmiany dawkowania leków na receptę nie powinny mieć miejsca,
- troska o pacjentów, którzy zwrócą się z pomocą do farmaceuty,
- równe traktowanie wszystkich pacjentów, bez względu na różne czynniki takie jak na przykład płeć, kolor skóry czy sytuację materialną,
- spełnianie najwyższych standardów fachowych i etycznych (Zielińska i in. 2018).

Apteki w życiu pacjentów są kluczowe – są to miejsca w których mogą zakupić potrzebne im leki. Dodatkowo farmaceuci znając skład leków mogą zaproponować tańsze zamienniki oraz wskazać pozycje refundowane. Warto zaznaczyć, że stroną podaży w rynku farmaceutycznym nie jest jedynie pacjent – są też organizacje takie jak szpitale, domy opieki, domy zajmujące się osobami w podeszłym wieku. Przyczynia się to do wzrostu popytu na leki. Warto zaznaczyć, że również zdrowe osoby dokonują zakupów w aptekach – na przykład w ramach profilaktyki kupując witaminy, dermokosmetyki oraz środki higieny (Szalotka, Szalotka i Ulrich 2012).

Wykonywanie zawodu farmaceuty jest owiane poświęceniem, fachową wiedzą oraz swoją misją niesienia pomocy pacjentom. Zdarzają się przypadki, że ludzi w pierwszej kolejności szukają pomocy w aptece. Ludzie, jako członkowie społeczności, powinni darzyć zaufaniem zawód jakim jest farmaceuta – ponieważ zawierają takim ludziom swoje zdrowie. W Polsce promocja zdrowia jest określona jako przyjmowanie różnego rodzaju inicjatyw przez organy, które zostały powołane do realizacji określonych zadań z zakresu ochrony zdrowia. Do promocji zdrowia są również dopuszczone podmioty, które mają na celu rozpowszechnianie zdrowego trybu życia, ale i również pobudzanie troski o środowiskowe i indywidualne elementy sprzyjające zdrowiu wraz z samodzielnym dbaniem o zdrowie (Krekora, Świerczyński i Traple 2020). Promocja zdrowia prowadzona przez farmaceutów w miejscach sprzedaży leków może przybierać różne formy. Mogą oni służyć poradnictwem w zakresie leków, ale i również promować zdrowy tryb życia.

## **2. Materiał i metody**

Badanie zostało przeprowadzone za pomocą kwestionariusza ankietowego zamieszczonego w Internecie w dniach od 17.08.2023 do 04.10.2023. W badaniu udział wzięło 90 osób.

Badanie zostało wykonane za pomocą kwestionariusza ankietowego umieszczonego w Internecie. Próbkowanie do badania odbywało się za pomocą doboru uczestników którzy kupują leki w aptekach oraz są pełnoletni. Przedstawiono tabelę z charakterystyką respondentów (Tab.1).

**Tab. 1.** Charakterystyka respondentów.

Wyszczególnienie	Struktura respondentów	
	Liczba względna	Liczba bezwzględna
Ogółem	100%	90
Wiek		
18-25	60%	54
26-30	15,6%	14
31-40	15,6%	14
41+	8,8%	8
Płeć		
Kobieta	82,2%	74
Mężczyzna	17,8%	16
Miejsce zamieszkania		
Wieś	21,1%	19
Miasto	78,9%	71

W badaniu wzięło udział 90 respondentów. Wśród badanych było 82,2% kobiet i 17,8% mężczyzn. Najwięcej respondentów było w przedziale wiekowym 18-25 lat, 60%. W przedziale wiekowym 26-30 lat było 15,6% badanych. Badani w wieku 31-40 lat stanowili również 15,6% ankietowanych. Powyżej osoby w wieku od 41 lat i wyżej stanowili 8,8% badanych. Zdecydowana większość respondentów zamieszkuje miasta, 78,9% respondentów, a 21,1% ankietowanych zamieszkuje obszary wiejskie.

Badania ankietowe należą do metod empirycznych. Badania ankietowe zakładały brak bezpośredniego kontaktu między badaczem, a respondentem – były one przeprowadzone w całości w Internecie za pomocą kwestionariusza. Pozwoliło to, na spokojne i dokładnie wypełnianie kwestionariuszy badawczych przez osoby badane (Majetun, 2016). Badania skoncentrowały się na jednym problemie badawczym, który dokładnie dotyczył postaw pacjentów aptek w stosunku do pracowników – farmaceutów.

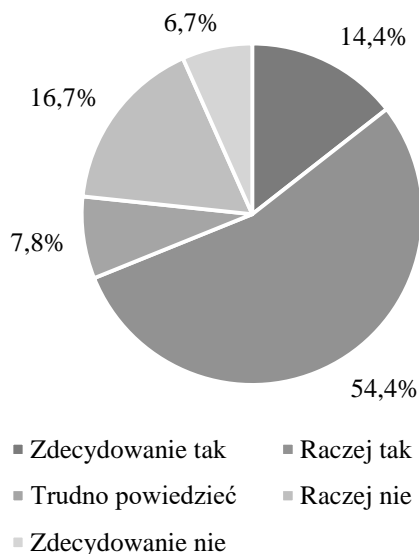
### 3. Wyniki

Wzrost zainteresowania zakresem obowiązków farmaceutów w na przełomie 2023 i 2024 roku jest dość znaczący. Farmaceuci współpracują z lekarzami wspierając pacjentów. Niejednokrotnie są również pierwszymi pracownikami ochrony zdrowia z którymi kontaktuje się pacjent. Dodatkowo służą oni pomocom pacjentom, którzy zgłaszają się po porady. W tej części artykułu zostały przedstawione autorskie badania na temat postaw pacjentów aptek w stosunku do farmaceutów. Pierwszym pytaniem, zadany respondentom było pytanie o rolę farmaceuty jako sprzedawcy leków przepisanych przez lekarza w oczach klientów aptek (Rys. 1).

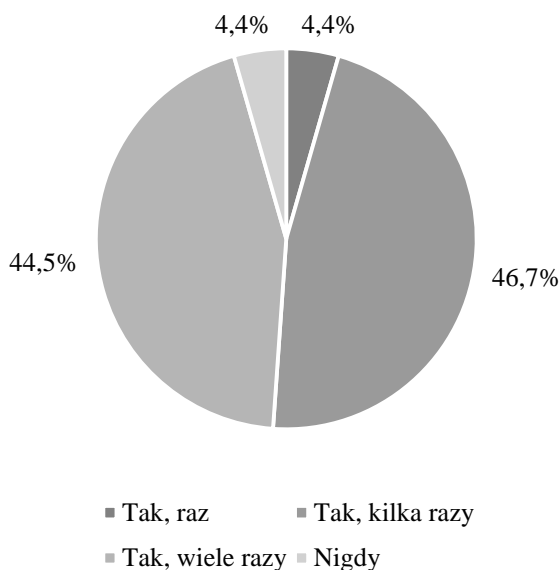
Ponad połowa ankietowanych uważa, że raczej głównym zadaniem farmaceuty jest sprzedawanie leków zapisanych przez lekarza jest to 54,4% badanych. Z kolei 16,7% badanych twierdzi, że raczej nie jest to głównym zadaniem, a 6,7% twierdzi że zdecydowanie nie jest to głównym zadaniem farmaceuty. Jednak 14,7% ankietowanych uważa, że jest to główne zadanie farmaceuty, a 7,8% trudno jest określić jednoznacznie. Można stwierdzić że większości osób ankietowanych w grupie badawczej jest przeświadczenie że głównym zadaniem farmaceuty jest sprzedawanie leków przepisanych na receptę przez lekarza. Następne pytanie zadane respondentom dotyczyło korzystania z porady farmaceuty na temat leku na różne dolegliwości (Rys. 2.).

Z porady farmaceuty w aptekach nigdy nie korzystało jedynie 4,4% osób badanych i również 4,4% korzystało tylko raz. To że kilka razy korzystano z rady farmaceuty w aptecę deklaruje 46,7% badanych a 44,5% badanych twierdzi że wiele razy korzystało z takiej porady. Zdecydowana

większość respondentów korzystało z takiej formy raz lub kilka razy lub wiele razy. Następnie zapytano respondentów o promowanie zdrowego stylu życia w aptekach (Rys.3.).



**Rys. 1.** Sprzedaż leków jako główne zadanie farmaceuty.

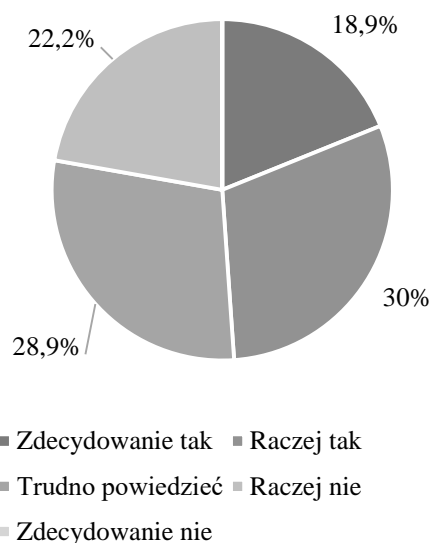


**Rys.2.** Korzystanie z porady farmaceuty na temat leku na różne dolegliwości

Największa część respondentów 41,2% uważa, że promowanie zdrowego stylu życia w aptekach zdecydowanie powinno się odbywać. Z kolei 35,6% badanych jest zdania, że raczej powinno się to odbywać. 14,4% badanych trudno stwierdzić czy takie promowanie powinny odbywać się w aptekach, a 8,8% uważa że raczej nie. Nikt z badanych nie odpowiedział, że zdecydowanie nie powinno promować się zdrowego stylu życia w aptekach. Z badań wynika, że apteka mogłaby być odpowiednim miejscem na promowanie zdrowego stylu życia. Kolejne zadaniem respondentom pytaniem dotyczyło wpływu na przeciwdziałanie farmaceutów w kwestii uzależniania się od leków i środków psychoaktywnych (Rys. 4).



Rys. 3. Promowanie zdrowego stylu życia w aptekach przez farmaceutów.



Rys. 4. Wpływ farmaceutów w kwestii uzależnienia się od leków i środków psychoaktywnych.

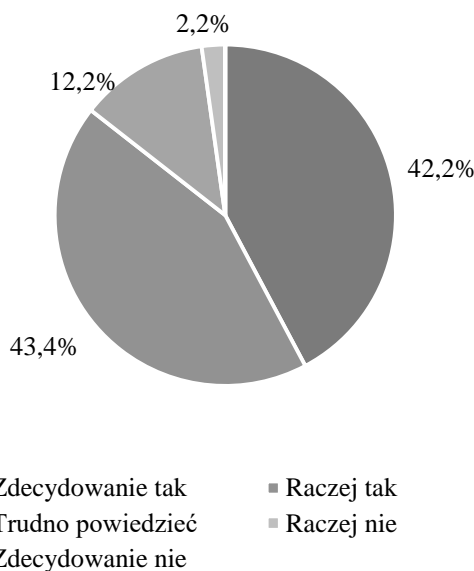
Wśród badanych 30% z nich uważa, że raczej farmaceuci mają wpływ na przeciwdziałanie uzależnieniu się od leków i środków psychoaktywnych, a 18,9% respondentów uważa, że zdecydowanie mają na to wpływ. Trudno określić to 28,9% ankietowanych, a 22,2% badanych twierdzi, że raczej nie mają na to wpływu. Nikt z badanych nie zaznaczył odpowiedzi „zdecydowanie nie”. Wyniki wskazują na to, że farmaceuci mają wpływ na przeciwdziałanie uzależniania się od leków i środków psychoaktywnych. Następnym pytaniem zadany respondentom było pytanie o wpływ farmaceutów na poprawę stanu zdrowia ludzi (Rys. 5.).

Prawie połowa badanych 46,7% jest zdania, że farmaceuci raczej mają wpływ na poprawę stanu zdrowia ludzi, a 27,8% ankietowanych uważa że zdecydowanie mają na to wpływ. Z kolei 16,7% badanych trudno określić czy farmaceuci mają wpływ na poprawę stanu zdrowia ludzi czy nie.

Jednak 7,7% badanych twierdzi, że raczej farmaceuci nie mają wpływu na poprawę stanu zdrowia ludzi, a 1,1% ankietowanych jest zdania, że zdecydowanie nie mają na to wpływu. Wyniki wskazują na to, że zdaniem badanych farmaceuci, mają wpływ na poprawę stanu zdrowia ludzi. Kolejnym pytaniem zadaniem w kwestionariuszu ankietowym było pytanie o to czy rola farmaceuty jest ważna w życiu społecznym (Rys. 6.)



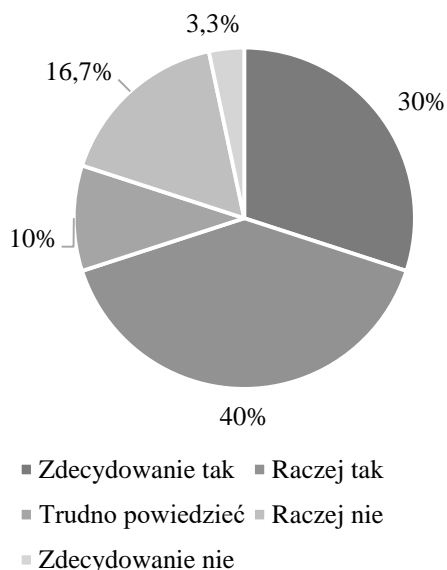
**Rys. 5.** Wpływ farmaceutów na poprawę stanu zdrowia ludzi.



**Rys. 6.** Ważność roli farmaceuty w życiu społecznym.

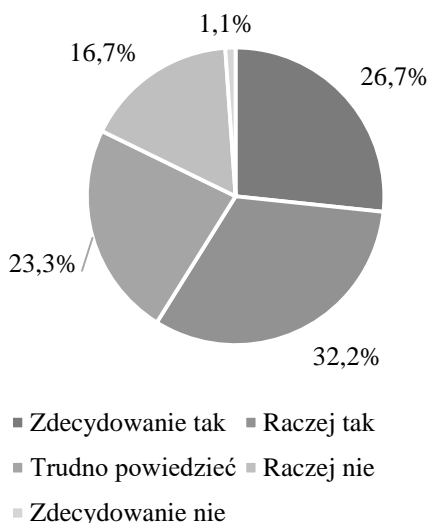
Największa część respondentów 43,4% twierdzi, że raczej ważna jest rola farmaceuty w życiu społecznym a 42,2% badanych twierdzi, że zdecydowanie ważna jest rola farmaceuty w życiu społecznym. 12,2% badanych znaczyło odpowiedź trudno powiedzieć, a 2,2% badanych twierdzi że raczej nie jest to ważna rola w życiu społecznym. Nikt z badanych nie zaznaczył odpowiedzi zdecydowanie nie. Z badań wynika że rola farmaceuty w życiu społecznym jest ważną

i cenioną rolę. Następne pytanie zadane respondentom dotyczyło szerokiej wiedzy farmaceutów na temat które pacjenci nie znajdują nigdzie indziej (Rys. 7.).



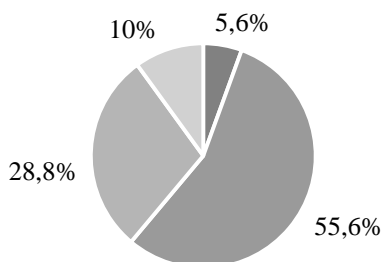
**Rys. 3.** Posiadanie szerokiej wiedzy przez farmaceutów na temat leków.

Większość badanych, 40%, jest zdania, że farmaceuci raczej posiadają szeroką wiedzę na temat leków której pacjent nie znajdzie nigdzie indziej, a 30% badanych twierdzi, że zdecydowanie taką wiedzę posiadają. 10% ankietowanych nie ma zdania w tym temacie. Z kolei 17,7% ankietowanych jest zdania, że farmaceuci takiej wiedzy raczej nie posiadają, a 3,3% badanych jest zdania, że zdecydowanie szerokiej wiedzy na temat leków nie posiadają. Badania pokazują, że pacjenci uważają że farmaceuci w aptekach posiadają ogromną, a niekiedy i również szeroką wiedzę na temat leków które są sprzedawane w aptekach. Następne zapytano badanych o to czy korzystali z pomocy farmaceutów w procesie dochodzenia od uzależnień (Rys. 8.).



**Rys. 4.** Pomoc farmaceutów w odchodzeniu od uzależnień.

Zdaniem 32,2% badanych pomoc farmaceutów w odchodzeniu od uzależnień raczej jest potrzebna. Z kolei 26,7% badanych twierdzi zdecydowanie, że taka pomoc jest potrzebna. Trudno to określić 23,3% badanych. Jednak 16,7% ankietowanych jest zdania, że pomoc farmaceuty w dochodzeniu od uzależnień raczej nie jest potrzebna, a 1,1% badanych twierdzi, że zdecydowanie nie jest potrzebna. Z badań wynika, że pomoc farmaceutów byłaby potrzebna większości osobom badanych, które zdecydowały się na rzucenie uzależnień. Następnie zadano respondentom pytania, które dotyczyło tego, w jaki sposób farmaceuci mogą pomagać pacjentom w odchodzeniu od uzależnień (Rys. 9.)



- Spotkania z klientami aptek
- Udzielanie rzetelnych informacji
- Polecanie konkretnych wyrobów farmaceutycznych
- Nie ma takiej potrzeby

**Rys. 5.** Sposoby na wsparcie pacjentów aptek w procesie odchodzenia od uzależnień.

Ponad połowa respondentów, 55,6%, stwierdziło, że dobrym sposobem na udzielanie wsparcia w aptekach jest udzielanie przez farmaceutów rzetelnych informacji. Z kolei 28,8% badanych jest zdania, że dobrym sposobem na wsparcie pacjentów aptek w procesie odchodzenia od uzależnień jest polecenie konkretnych wyrobów farmaceutycznych. Część badanych 10% stwierdziła że nie ma takiej potrzeby, aby farmaceuci wspierali pacjentów w procesie odchodzenia od uzależnień, a 5,6 proc stwierdziło, że dobrym sposobem na wsparcie pacjentów podczas odchodzenia od uzależnień są spotkania z klientami aptek.

#### **4. Dyskusja i wnioski**

Farmaceuci są zaangażowani w zdrowie i życie pacjentów aptek. Służą poradą, pomocą oraz dobierają odpowiednie leki bez recepty na różne dolegliwości. Może wydawać się, że jedyną rolą farmaceutów w aptece jest sprzedaż leków – jest to jednak bardzo mylne spostrzeżenie. Często w pierwszej chwili zapomina się o ważnej i odpowiedzialnej roli aptekarzy jaką jest poradnictwo oraz przestrzeganie Kodeksu Etyki. Ich społeczna rola jest kluczowa w procesie utrzymywania dobrego poziomu zdrowia pacjentów aptek. Wiele osób korzysta z porady farmaceutów w różnych przypadkach. Farmaceuci często są pierwszymi osobami z którymi ma styczność pacjent. Wyniki badania pokazują jak ważna jest rola farmaceuty w społeczeństwie biorąc pod uwagę kwestie społeczne. Ważną rolą farmaceutów jest również promowanie zdrowego stylu życia w miejscach sprzedaży leków. Aby promować zdrowy styl życia ważnym jest też to, aby mieć ogromną wiedzę farmaceutyczną. Poradnictwo jak i promowanie zdrowego stylu życia wymaga odpowiedzialności oraz wyspecjalizowanej i dokładnej wiedzy z zakresu zdrowia. Niekiedy również jest to wiedza bardzo obszerna, a pacjenci mogą korzystać z wiedzy farmaceutów w aptekach. Farmaceuci dodatkowo spełniają swoją ważną funkcję w pomocy oraz wsparciu osób, które wychodzą

z uzależnień – swoją wiedzą medyczną oraz poradami w miejscu sprzedaży leków. Najbardziej cenioną pomocą przez respondentów jest udzielanie dokładnych i rzetelnych informacji.

Badani byli w większości zdania, że głównym zadaniem farmaceutów w aptekach jest sprzedaż leków – jednak w kolejnych pytaniach okazało się, że jedynie mały odsetek klientów aptek nigdy nie korzystał z rady farmaceuty w aptece. Wskazuje to na pewną nieścisłość w obrazie farmaceuty – z jednej strony sprzedaje taka osoba leki, ale również doradza w miarę swoich kompetencji i możliwości. Praca nad wizerunkiem zawodu farmaceuty jest ważna. Pacjenci aptek często zapominają, że pracownicy aptek to osoby dostarczające i często też nadzorujące farmakoterapię, ale i również są swoistymi doradcami zdrowotnymi w zakresie edukowania na temat leków. Badanie wykazało również przychylność pacjentów aptek do promowania zdrowego stylu życia w miejscach sprzedaży leków. Związane jest to również z przeciwdziałaniem farmaceutów w kwestii uzależniania się od leków i środków psychoaktywnych, gdyż jest to ważne jeśli mowa o ochronie zdrowia pacjentów. Ponadto farmaceuci też poniekąd dbają o zdrowie pacjentów aptek, poprzez swoje doradztwo oraz wiedzę na temat leków. Ich szeroka wiedza na temat preparatów medycznych jest bardzo wysoka. Respondenci w badaniu uznali, że ufają farmaceutom w kwestii wyboru leków i też korzystają z ich porad w kwestii zdrowotnych. Wskazuje to na wysoki poziom zaufania do farmaceutów. Pozornie wydawać się może, że farmaceuci jedynie sprzedają leki, jednak ich rola w społeczeństwie – jako jeden z podstawowych elementów ochrony zdrowia ludzi – jest znacznie ważniejsza. Wizerunek farmaceutów zmienia się na przestrzeni lat – dobrą drogą w kwestii budowania wizerunku farmaceutów jest edukowanie społeczeństwa na temat roli i funkcji jakie spełniają oraz jak obszerną drogę edukacji muszą przejść kandydaci, aby zostać farmaceutami.

Farmaceuci nie tylko sprzedają leki w aptekach, ale też służą profesjonalnym doradztwem pacjentom. Angażują się w edukację zdrowotną ludzi przez co przyczyniają się do podnoszenia świadomości na temat leków i zdrowia. Ważne jest, aby doceniać pracę i trud włożony w sprawowanie tego zawodu przez farmaceutów. Są to osoby nie tylko pracujące w aptekach, ale też angażujące się, służące radą oraz edukujące społeczeństwo w zakresie zdrowia, profilaktyki i prawidłowego leczenia.

## **5. Literatura**

- Czech M., Drozd M., Fedorowicz O. i in. (2021) „Zawód farmaceuty. Komentarz praktyczny”, s. 48-49.
- Karkowska D. (2012) „Zawody medyczne”, s. 163.
- Krekora M., Świerczyński M., Traple E. (2020) „Prawo farmaceutyczne”, s. 454.
- Majetun M. Matejun M., Metodyka badań ankietowych w naukach o zarządzaniu - ujęcie modelowe, [w:] Lisiński M., Ziębicki B. (red.), Współczesne problemy rozwoju metodologii zarządzania, Fundacja Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie, Kraków 2016, s. 340.
- Szalonka K. „Kierunki zmian orientacji rynkowej aptek”, „Problemy Zarządzania, Finansów i Marketingu” wydanie 28, Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego, 2013, s.82.
- Szalonka K., Szalonka M., Ullrich U. „Wpływ otoczenia na zachowania podmiotów na rynku farmaceutycznym” „Problemy Zarządzania, Finansów i Marketingu” wydanie 24, 2012, s. 128-129.
- Suchocka J. „Ekonomia zdrowia i opieki zdrowotnej”, s. 27.
- Zielińska E., Kubiak R., Kubicki L. (2018) „System Prawa Medycznego. Tom I, Pojęcie, źródła i zakres prawa medycznego”, s. 319.