

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XVII

REDAKCJA
JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

**Innowacje w medycynie.
Przegląd wybranych technologii XXI wieku**

Tom 17

Redakcja
Jakub Kufel
Piotr Lewandowski

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH
TECHNOLOGII XXI W.

TOM XVII

REDAKCJA

JAKUB KUFEL

PIOTR LEWANDOWSKI

ARCHAEGRAPH

Wydawnictwo Naukowe

Redakcja
Jakub Kufel, Piotr Lewandowski

Opieka naukowa
dr hab. n. med. Zbigniew Nawrat, prof. IPS

Recenzenci:
dr hab. n. med. Zbigniew Nawrat, prof. IPS
mgr Karol Krystek
lek. Jakub Kufel
lek. Piotr Lewandowski
lek. Iga Paszkiewicz
lek. Katarzyna Bragiel-Łączek
lek. Wiktoria Bartnikowska
lek. Marcin Gołowski

Korekta redaktorska, skład i projekt okładki:
Karol Łukomiak

© Copyright by authors & ArchaeGraph

ISBN: 978-83-67959-72-8

Wersja elektroniczna dostępna na stronie internetowej wydawcy:
www.archaeograph.pl

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

ŁÓDŹ, SIERPIEŃ 2024

SPIS TREŚCI

Przedmowa	9
Etyka wykorzystania sztucznej inteligencji w opiece zdrowotnej	11
Karolina Zięba, Jakub Kmiec, Zuzanna Złotnicka, Jakub Kufel, Paweł Krupa, Sebastian Kościjański	
Wykorzystanie sztucznej inteligencji w wykrywaniu czerniaka skóry: aktualne zastosowania, wyzwania i perspektywy	33
Michał Azierski, Aleksandra Gašior, Emilia Wiśniewska, Aleksandra Sosin, Maria Kucharska	
Zastosowanie algorytmów sztucznej inteligencji w przemyśle farmaceutycznym – wyzwania i perspektywy	49
Michał Bielówka, Aleksandra Wocław, Oliwia Wydmańska, Dominika Kaczyńska, Kinga Kwiatkowska, Alicja Pluta	
Sztuczna inteligencja w dermatologii, czy to może się udać?	63
Agata Sokołowska, Aneta Rasińska, Martyna Szczepanik, Paulina Redel	
Wykorzystanie wirtualnej rzeczywistości w neurorehabilitacji deficytów neurologicznych	83
Konrad Gigoń, Joanna Jureczko, Michał Tutaj, Martyna Nowak, Sara Rakotoarison, Agnieszka Sawina	

CRISPR/Cas9 i CAR-T cell czyli zrewolucjonizowana, celowana immunoterapia przeciwnowotworowa	97
Aleksandra Skowronek, Zofia Graca, Jakub Kołodziej, Kacper Mamla	
CRISPR/Cas9 jako obiecujące narzędzie do modyfikacji genów w leczeniu anemii sierpowatokrwinkowej - przegląd głównych osiągnięć i dalszych wyzwań	111
Zuzanna Złotnicka, Sebastian Kościjański, Paweł Krupa, Karolina Zięba, Jakub Kmieć	
Nowe strategie terapeutyczne w leczeniu dystrofii mięśniowej Duchenne’a – pierwsza zatwierdzona terapia genowa	125
Lidia Ziętek, Robert Kasza, Sara Salam, Monika Mielcarek	
Przeciwciała monoklonalne będące inhibitorami CGRP jako nowoczesna terapia leczenia migreny	149
Jakub Słota, Jakub Warecki, Magdalena Trólka, Wiktoria Ignacy, Aleksandra Zdunek	
Przewlekła białaczka limfocytowa- znajomość mechanizmów rozwoju jako klucz do skutecznej terapii	169
Jakub Kołodziej, Aleksandra Skowronek, Zofia Graca, Kacper Mamla	
Leczenie biologiczne łuszczykowego zapalenia stawów	199
Piotr Granatowski, Aleksandra Kaluża, Nikita Skorgowski, Daria Rost, Karolina Gancarczyk, Piotr Głodek	
Rola TREM2 w leczeniu choroby Alzheimer	217
Maciej Baron, Bartosz Bula, Natalia Ubysz, Łukasz Zniszczoł, Andrzej Skrzypiec, Anna Budzyńska, Małgorzata Wachowicz	
Białko tau - postępowanie w leczeniu choroby Alzheimer	237
Robert Kasza, Lidia Ziętek, Monika Mielcarek, Sara Salam, Julia Hagno	
Zuranolon – pierwszy doustny preparat do leczenia depresji poporodowej	265
Julia Gawron, Witold Kimla, Tomasz Furgoł, Łukasz Grajcarek, Marcin Jezierzański, Tola Kotkiewicz	

Waloktokogen roksaparwoweku – przełom w leczeniu Hemofilii typu A	289
Piotr Głodek, Piotr Granatowski, Aleksandra Kaluża, Nikita Skorgowski, Daria Rost, Karolina Gancarczyk	
Hemofilia – dynamiczny rozwój metod leczenia	303
Julia Hagno, Aleksandra Leszczyk, Jakub Lisik	
Modafinil, czyli alternatywa dla zaburzeń leczonych z użyciem środków psychostymulujących	319
Nina Jankowska, Mateusz Gołębiowski, Tymoteusz Borowski, Joanna Bogacz, Maria Zimoń	
Metody leczenia bruksizmu	333
Kamila Kuśpiel, Julia Pamulak	
Podwójna Sekwencyjna Defibrylacja (DSED) – innowacja w leczeniu opornego na defibrylację migotania komór	351
Łukasz Czogalik, Martyna Żurek, Zofia Graca, Aleksandra Skowronek, Jakub Kołodziej	
Mosquirix™ i R21/Matrix-M™ – szczepionki w profilaktyce malarii	371
Aleksandra Kaluża, Nikita Skorgowski, Daria Rost, Karolina Gancarczyk, Piotr Głodek, Piotr Granatowski	
Szczepionki przeciw HPV jako innowacyjna szansa na lepszą przyszłość	387
Magdalena Trólka, Wiktoria Ignacy, Aleksandra Zdunek, Jakub Słota, Jakub Warecki	
Lecznicze zastosowania i zagrożenia związane z ayahuaską	407
Wiktoria Ignacy, Jakub Słota, Aleksandra Zdunek, Jakub Warecki, Magdalena Trólka	
Przeszczep mikrobioty jelita jako nowy sposób na walkę z cukrzycą typu 2	421
Gabriela Bołoz, Natalia Kryus, Zofia Koźlicka	

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów – przegląd aktualnej wiedzy	449
Zuzanna Kolanko, Aleksandra Kotapka, Aleksander Kubiak, Julia Jeziorna	
Zwalczanie gruźlicy - wybrane zagadnienia	467
Aleksandra Zdunek, Daria Kaczor, Kalina Wnęczak	

PRZEDMOWA

Szanowni Czytelnicy,

Z wielką radością prezentujemy Państwu siedemnastą edycję monografii „Innowacje w Medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w.”. Ta wyjątkowa publikacja gromadzi prace młodych naukowców, którzy dzielą się swoimi najnowszymi badaniami i odkryciami. Monografia zawiera 25 rozdziałów poświęconych przełomowym osiągnięciom, które zyskały szczególne znaczenie w ostatnich latach.

Niniejsze kompendium wiedzy oferuje szczegółowy przegląd najnowszych innowacji w medycynie i technologiach medycznych. Rozdziały obejmują szeroki zakres tematów, od zaawansowanych metod diagnostycznych i nowatorskich technologii, przez zastosowanie komórek macierzystych w terapii, aż po innowacyjne terapie schorzeń neurodegeneracyjnych i psychicznych. Znajdą tu Państwo również prace dotyczące nowatorskich metod leczenia nowotworów, chorób wewnętrznych oraz specjalistycznych dziedzin medycyny. Ponadto, książka porusza tematy związane z wpływem stylu życia na zdrowie oraz nowoczesnymi podejściami w chirurgii plastycznej.

Monografia jest skierowana do szerokiego grona odbiorców – od menedżerów, przez nauczycieli akademickich, po praktykujących lekarzy oraz wszystkich pasjonatów medycyny. Każdy rozdział jest wynikiem ciężkiej pracy i zaangażowania autorów, którym pragniemy serdecznie podziękować.

Mamy nadzieję, że niniejsze wydanie będzie cennym źródłem wiedzy, inspirującym do dalszych badań i tworzenia innowacyjnych projektów naukowych.

Jakub Kufel

Piotr Lewandowski

Redaktorzy naukowci

ETYKA WYKORZYSTANIA SZTUCZNEJ INTELIGENCJI W OPIECE ZDROWOTNEJ

**Karolina Zięba, Jakub Kmieć, Zuzanna Złotnicka, Jakub Kufel,
Paweł Krupa, Sebastian Kościjański**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Ingerencja sztucznej inteligencji (AI) rewolucjonizuje obszar opieki zdrowotnej, zwiastując nową erę innowacji medycznych, których celem jest usprawnienie procesów diagnostycznych i lepsza opieka nad pacjentami. Niemniej jednak, równoległe z jej rozwojem, uwidocznieniu ulega szereg implikacji etycznych związanych z prywatnością, uczciwością, bezpieczeństwem, przejrzystością i odpowiedzialnością za narzędzia AI, proces ich wdrażania i zastosowania. Jedynym sposobem na wykorzystanie potencjału, jaki niosą ze sobą narzędzia AI, jest stosowanie podstawowych zasad etyki oraz poszanowanie praw pacjenta. Celem poniższego rozdziału jest przybliżenie kwestii etycznych wykorzystania AI, istniejących ram prawnych dotyczących jej stosowania oraz ukazanie obawy, które trapią głównych potencjalnych beneficjentów procesu - pacjentów.

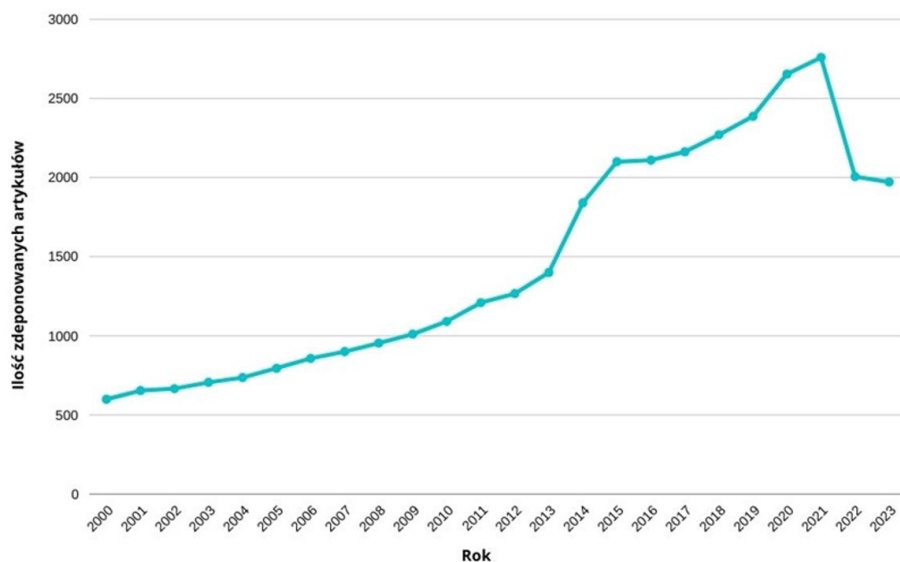
Słowa kluczowe: sztuczna inteligencja, etyka, regulacje prawne, opieka zdrowotna

Abstract: The interference of artificial intelligence (AI) is revolutionizing the healthcare sector, heralding a new era of medical innovations aimed at improving diagnostic processes and better patient care. Nevertheless, parallel to its development, a range of ethical implications related to privacy, fairness, security, transparency, and accountability for AI tools, their implementation process, and applications becomes evident. The only way to harness the potential that AI tools bring is by adhering to basic ethical principles and respecting patient rights. The aim of the following chapter is to bring closer the ethical issues of AI usage, existing legal frameworks regarding its application, and to highlight the concerns that afflict the main potential beneficiaries of the process - the patients.

Keywords: artificial intelligence, ethics, legal regulations, healthcare

WPROWADZENIE

Badania nad sztuczną inteligencją rozwijają się niezwykle dynamicznie, rodząc różne istotne kwestie związane z etyką, bezpieczeństwem, kalkulacją ryzyka [Wykres 1.]. Nie podlega dyskusji, iż fundamentalnymi dla rozwoju sztucznej inteligencji w sferze opieki zdrowotnej powinny być podstawowe zasady literatury bioetycznej (godność człowieka, szacunek dla autonomii, nieszkodzenie, dobroczynność, sprawiedliwość), w połączeniu z respektowaniem praw człowieka i jego dobrostanu. Jeśli dodamy do tego przejrzystość metody, odpowiedzialność twórców i skuteczność terapii otrzymujemy solidny fundament dla etycznego rozwoju AI [1]. Nie jest on jednak gwarantem powszechnej akceptacji, zwłaszcza w gronie pacjentów. Beneficjenci wykorzystania sztucznej inteligencji w sferze opieki zdrowotnej reprezentują szereg obaw i zastrzeżeń związanych z wykorzystaniem narzędzi AI w procesie diagnozowania i leczenia. Uśmierzenie wszelkich niepokojów społecznych dotyczących prywatności danych zdrowotnych i roli danych osobowych w technologiach sztucznej inteligencji to ważny dialog, który należy kultywować między podmiotami świadczącymi opiekę zdrowotną, programistami, decydentami oraz obecnymi i przyszłymi pacjentami [2].



Wykres 1. Wykres przedstawiający ilość zdeponowanych artykułów traktujących o AI w opiece zdrowotnej na przestrzeni lat 2000-2023

ANTROPOMORFIZACJA SZTUCZNEJ INTELIGENCJI

Aby możliwa była produktywna ingerencja w obszar AI, należy rozpocząć od zbadania kluczowych dla etyki pojęć przypisywanych sztucznej inteligencji. Jednym z nich jest antropomorfizm. Antropomorfizm jest ogólnie definiowany jako nadawanie typowo ludzkich uczuć, stanów psychicznych i behawioralnych obiektom nieożywionym [3]. Powszechnym zabiegiem stało się nadawanie przedmiotom sfery AI i innowacjom cech ludzkich. Fakt ten, pociąga za sobą wiele oczekiwań ze strony pacjentów, a na twórców i propagatorów AI nakłada jeszcze większą odpowiedzialność etyczną. Na potrzeby dalszych rozważań należy odejść od wyobrażenia sobie antropomorfizacji jako niezmiennej tendencji ludzkiego umysłu, na rzecz zwyczajnego procesu poznawczego, któremu towarzyszą dwie kluczowe determinanty motywacyjne [4]. Pierwszą z nich jest potrzeba „doświadczenia umiejętności”, czyli efektywne współdziałanie z otaczającym światem (rozumienie, przewidywanie, kontrolowanie i nadawanie sensu) [5]. Druga to ludzka potrzeba i chęć nawiązania więzi społecznych, które, w przypadku braku ludzi faktycznie, można z łatwością rozszerzyć się na ludzkie połączenie z bytami nieludzkimi [6]. Tendencja do postrzegania sztucznej inteligencji w kontekście ludzkim (zarówno emocjonalnie, poznawczo jak i moralnie) jest pod istotnym wpływem zarówno fikcyjnej narracji (literackie science fiction, filmy i seriale), oraz relacji medialnych na temat sztucznej inteligencji i robotów [7]. W efekcie otrzymujemy wadliwą komunikację, co przekłada się na fałszywe oczekiwania co do technologii, tego czym jest i co może zrobić. Stąd niektórzy obawiają się możliwości manipulacji umysłowej przy podejmowaniu decyzji, a niektórzy wykazują obawy związane z naruszeniem prywatności pacjentów [8,9].

Chociaż istnieje bogata historia filozoficznych definicji etyki w odniesieniu do ludzkich zachowań, zastosowanie tych samych koncepcji i zasad do sztucznej inteligencji może być obarczone problemami. Istotne jest, aby dążyć do zwiększenia świadomości społecznej w kwestii tego, iż etyczne wykorzystanie sztucznej inteligencji nie zależy bezpośrednio od narzędzi AI, a kształtowanie etyki wykorzystania AI rozpoczyna się już od momentu tworzenia pomysłów, projektowania i trwa przez cały okres procesu użytkowania [10].

KLASYFIKACJA ZAGROŻEŃ ETYCZNYCH

Integracja sztucznej inteligencji i robotyki z obszarem opieki zdrowotnej to niewątpliwie przełom mogący zrewolucjonizować diagnostykę, proces leczenia

i opieki nad pacjentem [11]. Technologie te, już dziś, odciążają pracowników ochrony zdrowia i wpływają na precyzję i skuteczność praktyk medycznych [12]. Jednakże równolegle z rozwojem AI na polu systemów opieki zdrowotnej, pojawiają się liczne i kluczowe implikacje etyczne tego procesu [13]. Dotyczą one sfer prywatności, bezpieczeństwa danych, odpowiedzialności, przejrzystości, uczciwości i ludzkiej autonomii. Zrozumienie, uwzględnienie i respektowanie kwestii etycznych jest niezbędne do pełnego wykorzystania potencjału sztucznej inteligencji w opiece zdrowotnej, z jednoczesnym poszanowaniem praw pacjentów, pracowników służby zdrowia i ogółu społeczeństwa [14].

Prywatność i bezpieczeństwo danych

Wykorzystanie sztucznej inteligencji w każdej dziedzinie generuje ogromną liczbę wrażliwych danych użytkowników. Zapewnienie prywatności i bezpieczeństwa jest warunkiem koniecznym do utrzymania zaufania użytkowników i integralności danych [15]. Utrata kontroli nad dostępem do danych stanowi kluczową obawę pacjentów, na których ujawnienie wrażliwych danych może mieć poważny wpływ psychologiczny [16]. Niezbędne jest wdrożenie solidnych metod szyfrowania i przestrzeganie uznanych na całym świecie standardów bezpieczeństwa danych, takich jak rozporządzenie o ochronie danych w Unii Europejskiej, oraz regularna aktualizacja stosowanych protokołów bezpieczeństwa [17]. Aby wyeliminować naruszenia spowodowane błędem ludzkim, istotnym aspektem jest edukacja personelu medycznego w zakresie utrzymania bezpieczeństwa danych [18]. Należy dążyć również do anonimizacji danych pacjentów, gdy tylko jest to tylko możliwe. W tym celu modele sztucznej inteligencji powinny być w głównej mierze szkolone na danych zdecentralizowanych [19]. Proponowane rozwiązania obejmują między innymi szyfrowanie homomorficzne (HE), które umożliwią obliczenia na zaszyfrowanych danych przy jednoczesnym zachowaniu prywatności danych i umożliwieniu bezpiecznego przetwarzania bez konieczności deszyfrowania. Z kolei bezpieczne obliczenia wielostronne (SMPC) rozdzielają obliczenia pomiędzy wieloma stronami, uniemożliwiając indywidualny dostęp do danych innych osób. Rozwiązania te mają kluczowe znaczenie w ochronie zdrowia, gdzie rygorystyczne przepisy chronią prywatność i dane pacjentów. Dzięki wdrożeniu tych metod wrażliwe informacje można przetwarzać skutecznie i bezpiecznie, zapewniając jednocześnie zgodność ze standardami ochrony danych w placówkach opieki zdrowotnej [20].

Stronniczość i uczciwość

Algorytmy sztucznej inteligencji mogą w sposób niezamierzony utrwaląć błędy w danych dotyczących opieki zdrowotnej, prowadząc tym samym do rozbieżności w procesie diagnozowania i leczenia [21]. Stronnicze gromadzenie danych oraz brak różnorodności i przejrzystości danych szkoleniowych promuje tym samym niesprawiedliwość wyników. Szczególnie w odniesieniu do cech demograficznych, takich jak płeć i pochodzenie etniczne, coraz częściej zauważane są szkodliwe skutki stronniczości modeli. Badania wykazały również słabsze wskaźniki wdrażania w przypadku określonych chorób na obszarach wiejskich, w grupach mniejszości rasowych i etnicznych, u osób bez ubezpieczenia lub z niewystarczającym ubezpieczeniem, a także u osób z niższym wykształceniem i dochodami [22, 23]. Aby złagodzić stronniczość należy korzystać z jak najbardziej różnorodnych, a przede wszystkim reprezentatywnych zbiorów danych podczas szkolenia modeli AI [24]. Najlepszą praktyką w tej sferze będzie powołanie zespołów interdyscyplinarnych, złożonych z socjologów i etyków, którzy skupią się na ocenie potencjalnego wpływu systemów sztucznej inteligencji na społeczeństwo i identyfikacji stronniczości w procesach decyzyjnych [25].

Jednocześnie, pacjenci i świadczeniodawcy muszą rozumieć uzasadnienie zaleceń opartych na sztucznej inteligencji. Wdrażanie tylko zrozumiałych dla świadczeniodawców technik AI, umożliwi lepszą komunikację na linii lekarz-pacjent, a nawet częściowe zrozumienie procesu decyzyjności AI przez pacjenta, niewątpliwie wpłynie na zwiększenie jego zaufania [26].

Odpowiedzialność

Ustanowienie podmiotu odpowiedzialności jest kluczowym wyzwaniem w procesie wdrażania AI w opiece zdrowotnej. Warunkiem stosowania AI respektującego podstawowe zasady etyczne jest ustalenie, kto będzie odpowiedzialny za błędy i zdarzenia niepożądane [16]. Problem z rozproszeniem odpowiedzialności ma miejsce, gdy istnieje wiele opcji i zaangażowanych jest kilka czynników, co utrudnia jednoznaczne przypisanie odpowiedzialności [27]. Należy dążyć do stworzenia przejrzystych łańcuchów odpowiedzialności za AI oraz protokołów określających rolę i zakres obowiązków producentów, instytucji opieki zdrowotnej i pracowników ochrony zdrowia, takich jak wytyczne Światowej Organizacji Zdrowia [28]. Wszelkie incydenty błędów systemu AI i działania niepożądane powinny być natychmiast zgłaszane przez użytkowników i pracowników w ściśle

określonym mechanizmie postępowania [29]. Odpowiedzialność wymaga, aby wszystkie zainteresowane strony przyjęły na siebie obowiązek zapewnienia etycznego wdrożenia sztucznej inteligencji. Odpowiedzialna sztuczna inteligencja podkreśla również znaczącą rolę, jaką interwencje edukacyjne mogą odegrać w zapewnianiu powszechnej wiedzy i świadomości oraz promowaniu akceptacji społecznej i uczestnictwa [30].

Przejrzystość i zaufanie

Znalezienie równowagi między dokładnością a wyjaśnialnością jest kluczowe, szczególnie w sytuacjach podejmowania decyzji obarczonych wysokim ryzykiem, a takim obszarem jest niewątpliwie ochrona zdrowia [31]. Wyjaśnialność AI to zdolność systemu opartego na sztucznej inteligencji do zapewnienia osobie zrozumienia, dlaczego doszedł do określonej prognozy lub decyzji. Z medycznego punktu widzenia istotne jest rozróżnienie dwóch poziomów wyjaśnialności w systemach AI. Pierwszy poziom dotyczy zrozumienia, w jaki sposób system wyciąga wnioski w sensie ogólnym, natomiast drugi poziom obejmuje wyjaśnienie procesu szkoleniowego, który umożliwia systemowi uczenie się na przykładach i wytwarzanie wyników. Z prawnego punktu widzenia świadoma zgoda, certyfikacja, zatwierdzenie i odpowiedzialność to krytyczne aspekty związane z wyjaśnialnością wyrobów medycznych [32]. Pomimo istniejących wytycznych dotyczących przejrzystej sprawozdawczości, słabo udokumentowane modele medycznej sztucznej inteligencji są nadal powszechne, a przejrzystość wymagana w przypadku godnej zaufania sztucznej inteligencji pozostaje niespełniona [33]. Ponieważ klinicyści często nie są już w stanie w pełni zrozumieć wewnętrznego działania i obliczeń wspomagających podejmowanie decyzji, nie są w stanie wyjaśnić pacjentowi, w jaki sposób uzyskano określone wyniki lub zalecenia [34]. Brak priorytetowego traktowania wyjaśnialności w systemach wspomagania decyzji klinicznych może zagrozić podstawowym wartościom etycznym w medycynie i może mieć niekorzystny wpływ zarówno na zdrowie indywidualne, jak i publiczne [35]. Przy właściwym zastosowaniu wyjaśnialne systemy wspomagania decyzji oparte na sztucznej inteligencji mogą nie tylko przyczynić się do tego, aby pacjenci mieli poczucie większej wiedzy i wiedzy, ale także mogą promować dokładniejsze postrzeganie ryzyka [36]. To z kolei może zwiększyć motywację pacjentów do angażowania się we wspólne podejmowanie decyzji [37]. Aby mieć pewność, że medyczna sztuczna inteligencja spełni pokładane w niej nadzieje, należy uwrażliwić programistów, pracowników służby zdrowia i prawodawców

na wyzwania i ograniczenia nieprzejrzystych algorytmów w medycznej sztucznej inteligencji, a także wspierać w przyszłości współpracę multidyscyplinarną [38].

Wpływ na pracowników ochrony zdrowia

Włączenie sztucznej inteligencji w obszar ochrony zdrowia nie tylko zmienia obraz opieki nad pacjentem, ale w dużym stopniu wpływa na zmianę obecnej roli i obowiązków pracowników ochrony zdrowia. Rola pracowników wymaga niejako zdefiniowania na nowo. Przykładowo, w niedługim czasie, rola radiologa może skupiać się nie na interpretacji obrazów, a w dużej mierze na kontrolowaniu algorytmów AI wykorzystywanych w diagnostyce [39]. Wymaga to nowych umiejętności i nawyków, a w pracownikach może budzić obawy związane z przeniesieniem lub utratą stanowisk pracy. W tym obszarze względy etyczne obejmują zapewnienie płynnego przejścia i przekwalifikowania się pracownikom, których stanowiska uległy automatyzacji [40]. Ramy etyczne powinny promować efektywną pracę zespołową, opartą na jasno określonym podziale ról i obowiązków [41]. Synergizm człowiek-sztuczna inteligencja wymaga optymalizacji, aby możliwe było wykorzystanie potencjału obydwu stron przy jednoczesnym zachowaniu ludzkiej wiedzy i nadzoru [42]. Jednocześnie, zadaniem nadzoru etycznego jest promowanie ustawicznego kształcenia i szkolenia pracowników ochrony zdrowia, aby mogli nadążać z postępem AI i utrzymywać swoje kompetencje, a tym samym — zapewnić bezpieczeństwo pacjentom [16].

Implikacje społeczne

Integracja sztucznej inteligencji i robotyki w opiece zdrowotnej nie ogranicza się jedynie do klinicznego zastosowania, a wywiera znaczący wpływ na społeczeństwo. Niewątpliwą korzyścią dla pacjentów, wynikającą z rozwoju AI, jest większa dostępność do narzędzi opieki zdrowotnej. Telemedycyna i zdalne monitorowanie oparte na sztucznej inteligencji umożliwiają lepszy dostęp do opieki zdrowotnej populacjom o ograniczonej dostępności, znosząc tym samym dysproporcje geograficzne w świadczeniu opieki zdrowotnej [43]. Jednak, kiedy narzędzia sztucznej inteligencji wykluczają populacje o ograniczonym dostępie do technologii i ograniczonych umiejętnościach cyfrowych, etyka procesu okazuje się być wątpliwa [44]. Należy unikać szkolenia algorytmów AI na zbiorach stroniczych, aby nie doszło do pogłębiania nierówności społecznych, a dostęp i jakość świadczeń były jak najbardziej zoptymalizowane. Nie możemy dopuścić,

aby przepaść cyfrowa negatywnie wpłynęła na społeczeństwa marginalizowane. Względy etyczne powinny dążyć do przezwyciężenia tej przepaści i zapewnienia pacjentom równego dostępu do opieki zdrowotnej opartej na sztucznej inteligencji [45].

WYZWANIA I REGULACJE PRAWNE

Zastosowanie rozwiązań wykorzystujących sztuczną inteligencję w sferze opieki zdrowotnej niesie za sobą szereg wyzwań regulacyjnych i prawnych wymagających dokładnego rozważenia. Krajobraz przepisów regulujących zastosowanie AI jest niezwykle złożony. Jego najistotniejsze składowe stanowią kwestie odpowiedzialności i rozliczalności oraz własności intelektualnej. Względy etyczne w wymiarze prawnym i regulacyjnym obejmują wprowadzenie przepisów, które w równym stopniu dbają o rozwój zastosowań AI i bezpieczeństwo pacjentów [46]. Powinny również podkreślać istotę standardów interoperacyjności, dla bezproblemowego integrowania z istniejącą strukturą opieki zdrowotnej [47]. Ustanowienie jasnych ram odpowiedzialności umożliwi jasne jej rozdzielenie pomiędzy producentów, instytucje opieki zdrowotnej i pracowników ochrony zdrowia. Pacjenci mają pełne prawo do informacji o roli AI w procesie leczenia. Ramy etyczne powinny uwzględniać ich świadomą zgodę na wykorzystanie zastosowań AI w procesie opieki zdrowotnej [48].

Istniejące ramy etyczne

- Etyka lekarska — autonomia, dobroczynność, nieszkodzenie i sprawiedliwość leżące u podstaw etyki lekarskiej stanowią podstawę praktyk etycznych również w kwestiach stosowania sztucznej inteligencji w opiece zdrowotnej. Przestrzeganie zasad etyki lekarskiej gwarantuje pacjentom odpowiednią opiekę lekarską podczas każdego z etapów leczenia [49].
- Raport z Belmont — szacunek dla pacjentów, dobroczynność i sprawiedliwość oraz istota dobrowolnej i świadomej zgody pacjenta są znaczącym elementem etycznej praktyki wykorzystania AI. Poruszony w raporcie sprawiedliwy rozdział korzyści i obciążeń powinien stać się nieodzownym elementem etycznej praktyki zastosowania AI.
- Etyka IEEE — etyka działalności organizacji Instytutu Inżynierów Elektryków i Elektroników zapewnia kompleksowe wytyczne dotyczące

etycznego rozwoju i wdrażania autonomicznych i inteligentnych systemów, w tym sztucznej inteligencji i robotyki. Kładzie nacisk na przejrzystość, odpowiedzialność i priorytetowe traktowanie wartości ludzkich we wszystkich dziedzinach zastosowań AI [51].

- Konwencja Rady Europy w sprawie sztucznej inteligencji – jako podstawowe zasady projektowania, rozwijania i wykorzystania systemów AI wymienione zostały: konieczność przestrzegania zasady równości i niedyskryminacji przez systemy AI; należyta ochrona danych (w tym danych osobowych), zapewnienie rozliczalności i odpowiedzialności prawnej za szkody lub naruszenia praw człowieka spowodowane przez system AI, tworzenie mechanizmów nadzoru oraz wymogów w zakresie przejrzystości i możliwości dokonania audytu, spełnienie odpowiednich wymogów odnoszących się do bezpieczeństwa (w tym w zakresie jakości, integralności i bezpieczeństwa danych, a także cyberbezpieczeństwa i odporności systemu AI) oraz zapewnienie kontrolowanego środowiska regulacyjnego do testowania systemów AI pod nadzorem właściwych organów [52].

Istotne jest, aby istniejące ramy etyczne były na bieżąco aktualizowane i nadszły nad ekspresyjnym rozwojem sztucznej inteligencji. Powinny one obejmować mechanizmy ciągłej oceny i aktualizacji, aby stawiać czoła pojawiającym się implikacjom etycznym równoległe z ich pojawieniem się [52]. Współpraca międzynarodowa między interesariuszami jest niezbędna do opracowania wytycznych odzwierciedlających różnorodne perspektywy kulturowe, prawne i etyczne, pozwalające jednocześnie na dostosowanie zaleceń do indywidualnych potrzeb pacjentów. Globalny konsensus w tej kwestii przyczyni się do etycznego wykorzystania AI na całym świecie [53].

AMPLIFIKACJE ETYCZNE WYKORZYSTANIA AI – OPINIE PACJENTÓW

Pacjenci są jednymi z najważniejszych beneficjentów, którzy wchodzi w bezpośrednią interakcję z technologiami i aplikacjami. Spostrzeżenia pacjentów mogą mieć wpływ na powszechne stosowanie klinicznej sztucznej inteligencji. Pacjenci powinni mieć pewność, że zastosowania kliniczne AI nie wyrządzą im krzywdy, a co więcej - przyniosą korzyści. Chociaż interakcja człowiek-sztuczna inteligencja może poprawić wyniki opieki zdrowotnej, przed włączeniem jej do rutynowej opieki klinicznej należy uwzględnić możliwe wymiary obaw i zagrożeń.

Badanie na podstawie stanu pacjenta

Badanie eksperymentalnym prowadzone na grupie 634 pacjentów w stanie ostrym lub przewlekłym miało na celu porównanie z trzech różnych rodzajów spotkań klinicznych między pacjentami a lekarzami (tj. zastosowania klinicznego AI jako technologii zastępującej, zastosowania klinicznego AI jako technologii wspomagającej oraz bez sztucznej inteligencji — tradycyjna wizyta osobista). Przedmiotem zainteresowania badania były kwestie związane z prywatnością, zaufaniem, barierami komunikacyjnymi, obawami dotyczącymi przejrzystości standardów regulacyjnych, ryzykiem i odpowiedzialnością [54].

Biorąc pod uwagę kontrastujący charakter chorób przewlekłych i ostrych, można spodziewać się, że pacjenci cierpiący na choroby o odmiennym gwałtowności przebiegu, będą różnie postrzegać sztuczną inteligencję w świadczeniu opieki zdrowotnej. Poprzednie badania wykazują, że pacjenci łatwiej ufają algorytmowi lub systemowi sztucznej inteligencji w warunkach niskiego ryzyka [55].

W grupie badanych istotne różnice ($P < 0,05$) pomiędzy różnymi grupami stwierdzono w przypadku następujących zmiennych: troska o prywatność, zaufanie, bariery komunikacyjne, obawy dotyczące przejrzystości standardów regulacyjnych, kwestie odpowiedzialności i korzyści.

Pacjenci cierpiący na ostrą, przejściową, krótkotrwałą chorobę byli znacznie bardziej zaniepokojeni prywatnością informacji zdrowotnych, gdy korzystano z zastosowań klinicznych AI w interakcji z lekarzem, w porównaniu z tradycyjnymi, osobistymi kontaktami z lekarzami ($P = 0,03$). Nie stwierdzono znaczących różnic pod względem postrzeganych obaw dotyczących prywatności wśród pacjentów z chorobami przewlekłymi w poszczególnych scenariuszach.

Przekonanie, że zanonimizowane dane można ponownie zidentyfikować za pomocą modeli sztucznej inteligencji, co zwiększa prawdopodobieństwo naruszenia prywatności i danych, stanowi jedną z głównych obaw pacjentów [56]. Z drugiej strony, systemy sztucznej inteligencji wymagają ogromnych zbiorów danych. W związku z tym pacjenci obawiają się, że informacje o ich stanie zdrowia mogą być gromadzone lub udostępniane bez pozwolenia w celach innych niż leczenie [57]. Dlatego, w celu zmniejszenia obaw dotyczących prywatności, pacjenci mogą preferować bezpośrednie kontakty z lekarzem.

Jeśli chodzi o zaufanie, wyniki pokazały, że pacjenci cierpiący na choroby przewlekłe uznali zastosowania kliniczne sztucznej inteligencji za mniej godne zaufania w porównaniu z tradycyjnymi procesami diagnostyki i leczenia ($= 0,004$).

Zaufanie do lekarzy było także istotnie wyższe w przypadku pacjentów z ostrymi schorzeniami ($p < 0,001$).

Według poprzednich badań charakter modeli sztucznej inteligencji (takich jak głębokie uczenie się) może zwiększać brak przejrzystości w odniesieniu do systemów sztucznej inteligencji i zagrażać zaufaniu pacjentów, co skutkuje większym przekonaniem o ryzyku [58]. Kiedy pacjenci nie są w stanie zrozumieć wewnętrznego działania aplikacji AI, mogą wykazywać mniejsze zaufanie do sposobu, w jaki generowane są rozwiązania i zalecenia dotyczące leczenia. Dlatego osoby cierpiące na choroby zarówno przewlekłe jak i ostre mogą chętniej ufać bezpośrednim interakcjom pacjent-lekarz w zakresie kontroli objawów i leczenia.

Jeśli chodzi o bariery komunikacyjne, pacjenci obawiali się, że zastosowania kliniczne sztucznej inteligencji mogą zmniejszyć lub wyeliminować ludzki aspekt relacji między pacjentami a profesjonalnymi świadczeniodawcami w porównaniu z bezpośrednimi interakcjami z lekarzem zarówno w przypadku ostrego ($P = 0,01$), jak i przewlekłego ($P < 0,001$) stanu chorobowego. Podobną zależność zaobserwowano, gdy oprócz interakcji z lekarzem stosowane były kliniczne narzędzia AI — nadal istniały znacznie większe obawy dotyczące braku relacji międzyludzkich niż w przypadku bezpośrednich wizyt lekarskich zarówno w przypadku ostrej ($P = 0,03$), jak i przewlekłej ($P = 0,005$) choroby.

Punkt ten jest zgodny z wcześniejszymi badaniami, w których podkreślono, że wykorzystanie aplikacji AI w świadczeniu usług (w tym usług opieki zdrowotnej) może powodować godne uwagi bariery komunikacyjne między klientem a usługodawcą [59]. Poleganie na zastosowaniach klinicznych AI może ograniczyć interakcje między lekarzami i pacjentami [60]. Konsumenci mogą odmówić korzystania z aplikacji AI, ponieważ potrzebują interakcji społecznych [61]. Technologia sztucznej inteligencji zasadniczo zmienia tradycyjnie przyjętą komunikację na linii lekarz-pacjent. Utrata bezpośrednich sygnałów i osobistej interakcji stanowi poważny powód do zmartwień zarówno dla pacjentów jak i lekarzy. Sztuczna inteligencja niewątpliwie stwarza wyzwania dla interakcji pacjent-lekarz. Klinicyści muszą nauczyć się interakcji z systemem sztucznej inteligencji w celu świadczenia opieki zdrowotnej, a pacjenci muszą starać się zmniejszyć swój strach przed technologią [62].

Wyniki pokazały, że pacjenci byli znacznie bardziej zaniepokojeni przejrzystością standardów regulacyjnych dotyczących oceny algorytmów i narzędzi AI w porównaniu z przejrzystością wytycznych dotyczących monitorowania wyników praktyk lekarskich zarówno w przypadku ostrej ($P = 0,002$), jak i przewlekłej ($P = 0,02$) choroby.

Kwestie regulacyjne stanowią krytyczne wyzwanie dla stosowania sztucznej inteligencji w opiece zdrowotnej, ponieważ zasady i wytyczne dotyczące zastosowań sztucznej inteligencji nie są jeszcze wystarczająco przejrzyste [63]. Nadal konieczne jest, aby organy regulacyjne sformalizowały standardy oceny i utrzymania bezpieczeństwa sztucznej inteligencji w wielu krajach [64].

Postrzeżenie korzyści i przekonania potencjalnych użytkowników o ryzyku mogą mieć niebagatelny wpływ na przyszłe przyjęcie przez nich aplikacji AI. Pacjenci najprawdopodobniej nie będą decyzyjni w kwestii tego, jakich narzędzi pracownicy służby zdrowia powinni używać w swojej praktyce, ale z pewnością mogą podkreślić możliwe obawy, wyzwania i bariery, które mogą powstrzymać ich od wspierania i korzystania z narzędzi wdrażanych i promowanych przez klinicystów.

Systematyczny przegląd badań opinii publicznej

Dokonano przeglądu reprezentatywnych dla kraju badań opinii publicznej na temat sztucznej inteligencji w Stanach Zjednoczonych, ze szczególnym uwzględnieniem obszarów związanych z opieką zdrowotną [65].

Badanie przeprowadzone w 2015 r. przez Monmouth University Polling Institute (n=1005) wykazało, że 70% Amerykanów słyszało o określeniu „sztuczna inteligencja” lub „AI” [66]. Większość osób ma bezpośredni kontakt ze sztuczną inteligencją za pośrednictwem telefonów komórkowych i inteligentnych asystentów osobistych, takich jak Alexa (Amazon) i Cortana (Microsoft Corporation), Siri (Apple) i Google Assistant (Google). Badanie przeprowadzone w 2020 r. przez grupę badawczą SCIMEP (n=2700) wykazało, że 83% Amerykanów korzystało ze smartfonów, a 29% Amerykanów potwierdziło, że korzysta z inteligentnych asystentów osobistych „co najmniej raz” lub „kilka razy w tygodniu” [67].

W ankiecie Vanity Fair/60 Minutes z 2016 r. (n=1021) zapytano respondentów, które dziedziny najprawdopodobniej odniosą korzyści z postępów w zakresie sztucznej inteligencji. Nieco mniej niż połowa (44%) respondentów odpowiedziała „medycyna”, znajdując się na szczycie listy. Dla porównania 23% odpowiedziało „nauki wojskowe”, a 13% odpowiedziało „produkcja samochodów” [68]. Jednocześnie badanie SCIMEP z 2020 r. (n=2700) wykazało, że około połowa Amerykanów (48%) miała „niewielką” lub „żadną” świadomość dotyczącą stosowania sztucznej inteligencji do skuteczniejszego diagnozowania chorób, a tylko jedna piąta Amerykanów (19%) miała lub „dużą” świadomość wykorzystania sztucznej inteligencji w opiece zdrowotnej [67]. Z kolei postrzegane

prawdopodobieństwo poprawy zdrowia jednostek przez sztuczną inteligencję było dodatnio powiązane z ich wykształceniem i dochodami.

Chociaż Amerykanie generalnie pozytywnie oceniają wykorzystanie technologii AI do rozwoju zdrowia publicznego i medycyny, ich podejście staje się coraz bardziej ostrożne, jeśli chodzi o umożliwienie AI podejmowania ważnych decyzji dotyczących zdrowia osobistego. W ankiecie przeprowadzonej w 2021 r. przez Pew Research Center (n=10 260) zapytano, jak „podekscytowani lub zaniepokojeni” byliby respondenci, „gdyby programy komputerowe oparte na sztucznej inteligencji mogły diagnozować problemy medyczne” [69]. Wyniki zostały podzielone: 40% respondentów było „bardzo” lub „raczej” podekscytowanych, 24% równie zaniepokojonych i podekscytowanych, a 35% „raczej” lub „bardzo” zaniepokojonych. Z innego przykładu wynika, że badanie Vanity Fair/60 Minutes z 2016 r. (n=1021) wykazało, że tylko 8% respondentów czuło się komfortowo, pozwalając sztucznej inteligencji decydować o ich opiece u schyłku życia [68].

Postrzeganie przez pacjentów wykorzystania sztucznej inteligencji w badaniach przesiewowych

Czterystu trzydziestu ośmiu pacjentów poddawanych badaniom przesiewowym siatkówki na cukrzycę w całej Nowej Zelandii wzięło udział w ankiecie dotyczącej ich opinii na temat technologii sztucznej inteligencji w badaniach przesiewowych siatkówki.

Z przeprowadzonej ankiety wynika, że 73% uczestników było świadomych istnienia sztucznej inteligencji, ale tylko 59% wiedziało, że tę technologię można wykorzystać do postawienia diagnozy. Młodszy wiek i większa liczba posiadanych urządzeń elektronicznych były dodatnio skorelowane ze świadomością AI; *Wartość r* korelacji Pearsona wyniosła odpowiednio 0,21 i 0,25 ($P < 0,001$, test dwustronny). 93 % uczestników w wieku poniżej 25 lat stwierdziło, że zdaje sobie sprawę, czym jest sztuczna inteligencja, w porównaniu z 64% uczestników w wieku powyżej 65 lat. Około połowy uczestników stwierdziła, że ufa badaniu wzroku wspomaganemu sztuczną inteligencją tak samo jak badaniu przeszkolonego pracownika służby zdrowia. Z tym stwierdzeniem zgodziło się 27% osób w wieku poniżej 25 lat w porównaniu z 55% osób w wieku powyżej 65 lat. 36% uczestników nadal wołałoby program badań przesiewowych prowadzonych przez człowieka, nawet gdyby oznaczał dłuższy czas oczekiwania na wyniki [70].

PODSUMOWANIE

Etyka wykorzystania sztucznej inteligencji w opiece zdrowotnej to obszar, który stawia przed nami wiele wyzwań i możliwości. Sztuczna inteligencja może przynieść ogromne korzyści w poprawie diagnozy, leczenia i zarządzania opieką zdrowotną, ale jednocześnie niesie ze sobą liczne zagrożenia i dylematy moralne, które należy uwzględnić i rozwiązać.

Podstawowym aspektem etycznym dotyczącym wykorzystania AI w opiece zdrowotnej jest zapewnienie jej bezpiecznego, skutecznego i sprawiedliwego stosowania. Konieczne jest zachowanie przejrzystości w procesach podejmowania decyzji przez algorytmy AI oraz odpowiednia ocena ich wiarygodności i dokładności, aby uniknąć potencjalnych błędów diagnostycznych lub nieprawidłowych zaleceń terapeutycznych.

Innym istotnym aspektem jest ochrona prywatności i bezpieczeństwa danych pacjentów. Wprowadzenie AI do opieki zdrowotnej generuje ogromne ilości danych medycznych, co stawia przed nami pytania dotyczące sposobu gromadzenia, przechowywania i wykorzystania tych informacji. Konieczne jest zapewnienie odpowiednich mechanizmów ochrony danych, zapobiegających naruszeniom prywatności i nieautoryzowanemu dostępowi do informacji medycznych.

Ponadto istnieje również kwestia odpowiedzialności za decyzje podejmowane przez systemy AI. Kto ponosi odpowiedzialność za ewentualne błędy lub szkody wynikające z zastosowania sztucznej inteligencji w diagnozie, lub leczeniu pacjentów? Wprowadzenie jasnych ram prawnych i etycznych może pomóc w rozwiązaniu tego problemu.

Wreszcie, istotne jest również uwzględnienie potencjalnych konsekwencji społecznych i ekonomicznych związanych z wprowadzeniem AI do opieki zdrowotnej. Konieczne jest zapewnienie, aby korzyści wynikające z wykorzystania AI były równomiernie rozprowadzone, a nowe technologie nie zwiększały nierówności w dostępie do wysokiej jakości opieki zdrowotnej.

W rezultacie, opracowanie zrównoważonej i odpowiedzialnej strategii wykorzystania sztucznej inteligencji w opiece zdrowotnej wymaga uwzględnienia szerokiego spektrum wartości etycznych, w tym uczciwości, przejrzystości, sprawiedliwości społecznej i poszanowania prywatności pacjentów. Dążenie do osiągnięcia tych celów będzie kluczowe dla zapewnienia, że sztuczna inteligencja przyniesie rzeczywiste korzyści dla pacjentów i społeczeństwa jako całości.

REFERENCJE

- [1] Saheb T, Saheb T, Carpenter DO. Mapping research strands of ethics of artificial intelligence in healthcare: A bibliometric and content analysis. *Computers in Biology and Medicine*. 2021;135:104660. doi:10.1016/j.combiomed.2021.104660
- [2] Rajpurkar P, Chen E, Banerjee O, Topol EJ. AI in health and medicine. *Nat Med*. 2022;28(1):31-38. doi:10.1038/s41591-021-01614-0
- [3] Airenti G. The Cognitive Bases of Anthropomorphism: From Relatedness to Empathy. *Int J of Soc Robotics*. 2015;7(1):117-127. doi:10.1007/s12369-014-0263-x)
- [4] Epley N, Waytz A, Cacioppo JT. On seeing human: A three-factor theory of anthropomorphism. *Psychological Review*. 2007;114(4):864-886. doi:10.1037/0033-295x.114.4.864
- [5] Epley N, Waytz A, Akalis S, Cacioppo JT. When We Need A Human: Motivational Determinants of Anthropomorphism. *Social Cognition*. 2008;26(2):143-155. doi:10.1521/soco.2008.26.2.143
- [6] Epley N. A Mind like Mine: The Exceptionally Ordinary Underpinnings of Anthropomorphism. *Journal of the Association for Consumer Research*. 2018;3(4):591-598. doi:10.1086/699516
- [7] Bartneck C. Robots In The Theatre And The Media. Unpublished. Published online 2013. doi:10.13140/RG.2.2.28798.79682
- [8] Hartzog, W. Unfair and deceptive robots. *Maryland Law Review*. 2015. 785: 74
- [9] Kaminski, M., M. Rueben, C. Grimm, and W. D. Smart. 2017. Averting robot eyes. *Maryland Law Review* 76:983
- [10] Lyons JB, Hobbs K, Rogers S, Clouse SH. Responsible (use of) AI. *Front Neuroergonomics*. 2023;4. doi:10.3389/fnrgo.2023.1201777
- [11] Fernández-Alemán JL, Señor IC, Lozoya PÁO, Toval A. Security and privacy in electronic health records: A systematic literature review. *Journal of Biomedical Informatics*. 2013;46(3):541-562. doi:10.1016/j.jbi.2012.12.003

- [12] Obermeyer Z, Powers B, Vogeli C, Mullainathan S. Dissecting racial bias in an algorithm used to manage the health of populations. *Science*. 2019;366(6464):447-453. doi:10.1126/science.aax2342
- [13] Mittelstadt BD, Allo P, Taddeo M, Wachter S, Floridi L. The ethics of algorithms: Mapping the debate. *Big Data & Society*. 2016;3(2):205395171667967. doi:10.1177/2053951716679679
- [14] Calo R, Froomkin AM, Kerr I. Artificial intelligence policy: a primer and roadmap. *SSRN Electron J*. 2017;51:399
- [15] Darby A, Strum MW, Holmes E, Gatwood J. A Review of Nutritional Tracking Mobile Applications for Diabetes Patient Use. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2016;18(3):200-212. doi:10.1089/dia.2015.0299
- [16] Price WN II, Cohen IG. Privacy in the age of medical big data. *Nat Med*. 2019;25(1):37-43. doi:10.1038/s41591-018-0272-7
- [17] Suresh H, Gutttag JV. A Framework for Understanding Sources of Harm throughout the Machine Learning Life Cycle. *arXiv*. Published online 2019. doi:10.48550/ARXIV.1901.10002
- [18] Calders T, Verwer S. Three naive Bayes approaches for discrimination-free classification. *Data Min Knowl Disc*. 2010;21(2):277-292. doi:10.1007/s10618-010-0190-x
- [19] Dwork C, Hardt M, Pitassi T, Reingold O, Zemel R. Fairness Through Awareness. Published online 2011. doi:10.48550/ARXIV.1104.3913
- [20] Sabry F, Eltaras T, Labda W, Alzoubi K, Malluhi Q. Machine Learning for Healthcare Wearable Devices: The Big Picture. Wu Y, ed. *Journal of Healthcare Engineering*. 2022;2022:1-25. doi:10.1155/2022/4653923
- [21] European Data Protection Board. Guidelines 3/2019 on processing of personal data through video devices. 2019
- [22] Khoury MJ, Bowen S, Dotson WD, et al. Health equity in the implementation of genomics and precision medicine: A public health imperative. *Genetics in Medicine*. 2022;24(8):1630-1639. doi:10.1016/j.gim.2022.04.009

- [23] Istasy P, Lee WS, Iansavichene A, et al. The Impact of Artificial Intelligence on Health Equity in Oncology: Scoping Review. *J Med Internet Res.* 2022;24(11):e39748. doi:10.2196/39748
- [24] Corbett-Davies S, Gaebler JD, Nilforoshan H, Shroff R, Goel S. The Measure and Mismeasure of Fairness. *arXiv.* Published online 2018. doi:10.48550/ARXIV.1808.00023
- [25] Buolamwini J, Gebru T. Gender shades: Intersectional accuracy disparities in commercial gender classification. *Proceedings of the 1st Conference on Fairness, Accountability and Transparency.* 2018:77–91
- [26] Wachter S, Mittelstadt B, Floridi L. Transparent, explainable, and accountable AI for robotics. *Sci Robot.* 2017;2(6). doi:10.1126/scirobotics.aan6080
- [27] Coeckelbergh M. Artificial Intelligence, Responsibility Attribution, and a Relational Justification of Explainability. *Sci Eng Ethics.* 2019;26(4):2051-2068. doi:10.1007/s11948-019-00146-8
- [28] Caruana R, Lou Y, Gehrke J, Koch P, Sturm M, Elhadad N. Intelligible Models for HealthCare. *Proceedings of the 21th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining.* Published online August 10, 2015. doi:10.1145/2783258.2788613
- [29] Ribeiro MT, Singh S, Guestrin C. “Why Should I Trust You?” *Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining.* Published online August 13, 2016. doi:10.1145/2939672.2939778
- [30] Obasa AE, Palk AC. Responsible application of artificial intelligence in health care. *SAfrJ Sci.* 2023;119(5/6). doi:10.17159/sajs.2023/14889
- [31] Hagos DH, Rawat DB. Recent Advances in Artificial Intelligence and Tactical Autonomy: Current Status, Challenges, and Perspectives. *Sensors.* 2022;22(24):9916. doi:10.3390/s22249916
- [32] Amann J, Blasimme A, Vayena E, Frey D, Madai VI. Explainability for artificial intelligence in healthcare: a multidisciplinary perspective. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2020;20(1)

- [33] Fehr J, Jaramillo-Gutierrez G, Oala L, et al. Piloting a Survey-Based Assessment of Transparency and Trustworthiness with Three Medical AI Tools. *Healthcare*. 2022;10(10):1923. doi:10.3390/healthcare10101923 doi:10.1186/s12911-020-01332-6
- [34] Bjerring JC, Busch J. Artificial Intelligence and Patient-Centered Decision-Making. *Philos Technol*. 2020;34(2):349-371. doi:10.1007/s13347-019-00391-6
- [35] Chaddad A, Peng J, Xu J, Bouridane A. Survey of Explainable AI Techniques in Healthcare. *Sensors*. 2023;23(2):634. doi:10.3390/s23020634
- [36] Politi MC, Dizon DS, Frosch DL, Kuzemchak MD, Stiggelbout AM. Importance of clarifying patients' desired role in shared decision making to match their level of engagement with their preferences. *BMJ*. 2013;347(dec02 1):f7066-f7066. doi:10.1136/bmj.f7066
- [37] Stacey D, Légaré F, Lewis K, et al. Decision aids for people facing health treatment or screening decisions. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017;2017(4). doi:10.1002/14651858.cd001431.pub5
- [38] Amann J, Blasimme A, Vayena E, Frey D, Madai VI. Explainability for artificial intelligence in healthcare: a multidisciplinary perspective. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2020;20(1). doi:10.1186/s12911-020-01332-6
- [39] Elwyn G, Frosch D, Thomson R, et al. Shared Decision Making: A Model for Clinical Practice. *J GEN INTERN MED*. 2012;27(10):1361-1367. doi:10.1007/s11606-012-2077-6
- [40] Sinsky C, Colligan L, Li L, et al. Allocation of Physician Time in Ambulatory Practice: A Time and Motion Study in 4 Specialties. *Ann Intern Med*. 2016;165(11):753. doi:10.7326/m16-0961
- [41] Emanuel EJ, Wachter RM. Artificial Intelligence in Health Care. *JAMA*. 2019;321(23):2281. doi:10.1001/jama.2019.4914
- [42] Ayala Solares JR, Diletta Raimondi FE, Zhu Y, et al. Deep learning for electronic health records: A comparative review of multiple deep neural architectures. *Journal of Biomedical Informatics*. 2020;101:103337. doi:10.1016/j.jbi.2019.103337

- [43] World Medical Association Declaration of Helsinki. *JAMA*. 2013;310(20):2191. doi:10.1001/jama.2013.281053
- [44] van Kolfschooten H, Shachar C. The Council of Europe's AI Convention (2023–2024): Promises and pitfalls for health protection. *Health Policy*. 2023;138:104935. doi:10.1016/j.healthpol.2023.104935
- [45] World Health Organisation. Digital health. 2019
- [46] Summary of recommendations regarding COVID-19 in children with diabetes: Keep Calm and Mind your Diabetes Care and Public Health Advice. *Pediatr Diabetes*. 2020;21(3):413-414. doi:10.1111/pedi.13013
- [47] Food and Drug Administration. Proposed regulatory framework for modifications to artificial intelligence/machine learning (AI/ML)-based software as a medical device (SaMD). 2019
- [48] Naik N, Hameed BMZ, Shetty DK, et al. Legal and Ethical Consideration in Artificial Intelligence in Healthcare: Who Takes Responsibility? *Front Surg*. 2022;9. doi:10.3389/fsurg.2022.862322
- [49] Brady AP, Neri E. Artificial Intelligence in Radiology—Ethical Considerations. *Diagnostics*. 2020;10(4):231. doi:10.3390/diagnostics10040231
- [50] IEEE Global Initiative on Ethics of Autonomous and Intelligent Systems. Ethically aligned design: a vision for prioritizing human well-being with autonomous and intelligent systems. 2019
- [51] Nagai H, Nakazawa E, Akabayashi A. The creation of the Belmont Report and its effect on ethical principles: a historical study. *Monash Bioeth Rev*. 2022;40(2):157-170. doi:10.1007/s40592-022-00165-5
- [52] Winfield AFT, Booth S, Dennis LA, et al. IEEE P7001: A Proposed Standard on Transparency. *Front Robot AI*. 2021;8. doi:10.3389/frobt.2021.665729
- [53] Ruger JP. Ethics of the social determinants of health. *The Lancet*. 2004;364(9439):1092-1097. doi:10.1016/s0140-6736(04)17067-0

- [54] Sivarajah U, Wang Y, Olya H, Mathew S. Responsible Artificial Intelligence (AI) for Digital Health and Medical Analytics. *Inf Syst Front.* 2023;25(6):2117-2122. doi:10.1007/s10796-023-10412-7
- [55] Esmailzadeh P, Mirzaei T, Dharanikota S. Patients' Perceptions Toward Human–Artificial Intelligence Interaction in Health Care: Experimental Study. *J Med Internet Res.* 2021;23(11):e25856. doi:10.2196/25856
- [56] Xu J. Overtrust of Robots in High-Risk Scenarios. *Proceedings of the 2018 AAAI/ACM Conference on AI, Ethics, and Society.* Published online December 27, 2018. doi:10.1145/3278721.3278786
- [57] Reddy S, Allan S, Coghlan S, Cooper P. A governance model for the application of AI in health care. *Journal of the American Medical Informatics Association.* 2019;27(3):491-497. doi:10.1093/jamia/ocz192
- [58] Vayena E, Blasimme A, Cohen IG. Machine learning in medicine: Addressing ethical challenges. *PLoS Med.* 2018;15(11):e1002689. doi:10.1371/journal.pmed.1002689
- [59] <https://www.nuffieldfoundation.org/sites/default/files/files/Ethical-and-Societal-Implications-of-Data-and-AI-report-Nuffield-Foundat.pdf>
- [60] Lu L, Cai R, Gursoy D. Developing and validating a service robot integration willingness scale. *International Journal of Hospitality Management.* 2019;80:36-51. doi:10.1016/j.ijhm.2019.01.005
- [61] Vayena E, Blasimme A, Cohen IG. Machine learning in medicine: Addressing ethical challenges. *PLoS Med.* 2018;15(11):e1002689. doi:10.1371/journal.pmed.1002689
- [62] Gursoy D, Chi OH, Lu L, Nunkoo R. Consumers acceptance of artificially intelligent (AI) device use in service delivery. *International Journal of Information Management.* 2019;49:157-169. doi:10.1016/j.ijinfomgt.2019.03.008
- [63] Hair JF, Ringle CM, Sarstedt M. PLS-SEM: Indeed a Silver Bullet. *Journal of Marketing Theory and Practice.* 2011;19(2):139-152. doi:10.2753/mtp1069-6679190202

- [64] Cath C. Governing artificial intelligence: ethical, legal and technical opportunities and challenges. *Phil Trans R Soc A*. 2018; 376(2133):20180080. doi:10.1098/rsta.2018.0080
- [65] Reddy S, Allan S, Coghlan S, Cooper P. A governance model for the application of AI in health care. *Journal of the American Medical Informatics Association*. 2019;27(3):491-497. doi:10.1093/jamia/ocz192
- [66] Beets B, Newman TP, Howell EL, Bao L, Yang S. Surveying Public Perceptions of Artificial Intelligence in Health Care in the United States: Systematic Review. *J Med Internet Res*. 2023;25:e40337. doi:10.2196/40337
- [67] https://www.monmouth.edu/polling-institute/reports/monmouthpoll_us_042015/
- [68] <https://osf.io/k82d6/>
- [69] <https://www.icpsr.umich.edu/web/ICPSR/studies/34601/versions/V1>
- [70] https://www.pewresearch.org/internet/wp-content/uploads/sites/9/2022/03/PI_2022.03.17_ai-he-TOPLINE.pdf
- [71] Yap A, Wilkinson B, Chen E, et al. Patients Perceptions of Artificial Intelligence in Diabetic Eye Screening. *Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*. 2022;11(3):287-293. doi:10.1097/apo.0000000000000525

WYKORZYSTANIE SZTUCZNEJ INTELIGENCJI W WYKRYWANIU CZERNIAKA SKÓRY: AKTUALNE ZASTOSOWANIA, WYZWANIA I PERSPEKTYWY

Michał Azierski^{1,2}, Aleksandra Gąsior¹, Emilia Wiśniewska¹,
Aleksandra Sosin¹, Maria Kucharska¹

1. Studenckie Koło Naukowe MedTech przy Centrum Kształcenia Zdalnego
i Analizy Efektów Edukacyjnych, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach,
Śląski Uniwersytet Medyczny

2. Studenckie Koło Analiz Informatycznych i Sztucznej Inteligencji
przy Katedrze Radiologii i Medycyny Nuklearnej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach,
Śląski Uniwersytet Medyczny

Abstrakt: W ostatnich dekadach, rozwój i zastosowanie sztucznej inteligencji (SI) w dziedzinie medycyny, a w szczególności w diagnostyce czerniaka, przeobraziło podejście do wczesnego rozpoznawania i leczenia tego agresywnego rodzaju raka skóry. Niniejsza praca koncentruje się na aktualnych zastosowaniach, wyzwaniach i przyszłych perspektywach włączenia technologii SI do diagnostyki czerniaka, z naciskiem na zwiększenie dokładności, szybkości oraz możliwości prognostycznych w ocenie ryzyka czerniaka. Omówione zostały kluczowe metody, takie jak algorytmy uczenia maszynowego i głębokiego uczenia, które wykorzystują obrazy dermatoskopowe i histopatologiczne w celu identyfikacji cech charakterystycznych dla czerniaka. Zwrócono również uwagę na znaczenie dużej, zróżnicowanej i dobrze zanotowanej bazy danych obrazowych w skutecznym treningu modeli AI, a także wyzwania takie jak integracja tych technologii w praktyce klinicznej, zapewnienie prywatności danych, oraz potrzeba standardów i protokołów w zakresie stosowania SI. Praca podkreśla również potencjał zastosowania narzędzi wspieranych przez SI w monitorowaniu postępów choroby, co może przyczynić się do lepszych wyników leczenia oraz zwiększyć jakość życia pacjentów. W konkluzji, mimo wyzwań, perspektywy wykorzystania SI w diagnostyce czerniaka są obiecujące, a kontynuacja badań i rozwój technologiczny mogą znacznie przyspieszyć osiągnięcie postępów w tej krytycznej dziedzinie medycyny.

Słowa kluczowe: Sztuczna inteligencja, czerniak, diagnostyka, uczenie maszynowe, głębokie uczenie

Abstract: In recent decades, the development and application of artificial intelligence (AI) in medicine, particularly in the diagnosis of melanoma, has transformed the approach to early detection and treatment of this aggressive type of skin cancer. This paper focuses on the current applications, challenges, and future prospects of integrating AI technologies into melanoma diagnostics, emphasizing improvements in accuracy, speed, and prognostic capabilities in assessing melanoma risk. Key methods such as machine learning and deep learning algorithms that utilize dermatoscopic and histopathological images to identify features characteristic of melanoma are discussed. Attention is also given to the importance of a large, diverse, and well-annotated image database for effective AI model training, as well as challenges such as integrating these technologies into clinical practice, ensuring data privacy, and the need for standards and protocols in AI usage. The paper also highlights the potential of AI-supported tools in monitoring disease progression, which could contribute to better treatment outcomes and enhance patient quality of life. In conclusion, despite the challenges, the prospects for using AI in melanoma diagnosis are promising, and continued research and technological development can significantly accelerate advancements in this critical area of medicine.

Keywords: Artificial intelligence, melanoma, diagnostics, machine learning, deep learning

WSTĘP

Sztuczna inteligencja poczyniła znaczne postępy w różnych dziedzinach, w tym w leczeniu i prognozowaniu czerniaka, bardzo agresywnej postaci raka skóry [1]. Wczesne wykrywanie i dokładne prognozowanie mają kluczowe znaczenie dla skutecznego leczenia czerniaka [2]. Obecne techniki sztucznej inteligencji, takie jak algorytmy uczenia maszynowego i głębokiego uczenia się, przyniosły obiecujące wyniki w zakresie poprawy dokładności diagnostyki czerniaka, oceny ryzyka i przewidywania prognostycznego [3].

Sztuczna Inteligencja

Sztuczna inteligencja (SI), definiowana jako zbiór algorytmów i programów komputerowych naśladujących ludzką zdolność do myślenia i rozumowania, stanowi kluczowy obszar badań w dziedzinie informatyki. Pierwsze pojawienie się terminu „sztuczna inteligencja” miało miejsce w 1956 roku podczas konferencji w Dartmouth, którą zorganizował John McCarthy, poświęconej właśnie tej tematyce [4]. Od tego czasu, sztuczna inteligencja ewoluowała, przyspieszając swój rozwój znacząco w latach osiemdziesiątych XX wieku, co było możliwe dzięki postępowi w technologii komputerowej [5]. Znaczącym osiągnięciem w tej dziedzinie było opracowanie sieci neuronowych, które są złożonymi programami komputerowymi mającymi na celu symulację pracy ludzkiego mózgu. Realizują one to zadanie poprzez analizę i identyfikację wzorców w dużych zbiorach danych, co pozwala na modelowanie złożonych procesów poznawczych w sposób

przypominający ludzki mózg. Sieci neuronowe, jako kluczowy element sztucznej inteligencji, przyczyniły się do znaczącego przyspieszenia badań i rozwoju w tej dziedzinie [6]. Sztuczna inteligencja jest szeroko rozgałęzioną dziedziną naukową, obejmującą różnorodne poddziedziny. Do najważniejszych z nich należą uczenie maszynowe i głębokie uczenie (deep learning). Uczenie maszynowe wykorzystuje algorytmy zdolne do uczenia się z danych bez bezpośredniego programowania, co pozwala na automatyczne doskonalenie wydajności modeli [7]. Głębokie uczenie, będące podzbiorem uczenia maszynowego, stosuje wielowarstwowe sieci neuronowe do analizy danych, co umożliwia rozwiązywanie jeszcze bardziej skomplikowanych problemów, takich jak rozpoznawanie mowy czy analiza obrazów [8].

Czerniak

Czerniak, znany naukowo jako melanoma, to złośliwy nowotwór skóry, który wywodzi się z melanocytów – komórek odpowiedzialnych za produkcję melaniny, pigmentu nadającego kolor skórze, włosom i oczom. Jego agresywność wynika z szybkiej zdolności do metastazowania i odporności na tradycyjne terapie [9]. Poniżej przedstawiono szczegółową charakterystykę patomorfologiczną oraz kluczowe aspekty biologiczne tego nowotworu.

Charakterystyka patomorfologiczna czerniaka

- **Morfologia komórkowa:** Komórki czerniaka są heterogenne pod względem kształtu i wielkości, z wyraźnie zaznaczonymi jądrami i zmienną ilością cytoplazmy. Często obserwuje się atypowe mitozy, co jest wyrazem wysokiej proliferacji komórek nowotworowych [9].
- **Architektura tkankowa:** W początkowym stadium rozwoju, czerniak często manifestuje się jako proliferacja melanocytów w warstwie podstawnej naskórka, co jest znane jako fazę radialnego wzrostu. Przejście w fazę pionowego wzrostu charakteryzuje się naciekiem komórek nowotworowych w głąb skóry właściwej, co przekłada się na większe ryzyko metastaz [9].
- **Barwnik melaniny:** Chociaż czerniak jest związany z produkcją melaniny, to intensywność barwienia może się różnić. Melanina może być obfita, dając ciemne zabarwienie tkanki nowotworowej, lub rzadka,

co może prowadzić do pojawienia się czerniaków amelanotycznych, trudniejszych do zdiagnozowania [9, 13].

Właściwości biologiczne

- **Mutacje genetyczne:** Czerniak charakteryzuje się wysoką częstością mutacji w genach takich jak BRAF, NRAS, i KIT, które odgrywają kluczową rolę w regulacji ścieżek sygnałowych kontrolujących proliferację, przeżycie i różnicowanie komórek [10].
- **Mikrośrodowisko nowotworowe:** Mikrośrodowisko czerniaka składa się z komórek nowotworowych, komórek układu odpornościowego, fibroblastów i komórek śródbłonka, co wpływa na progresję choroby i odpowiedź na terapię. Komunikacja parakrynną i autokrynną w mikrośrodowisku może przyczyniać się do oporności na terapię i promowania metastaz [11].
- **Ścieżki sygnałowe:** Ścieżki sygnałowe takie jak MAPK/ERK i PI3K/AKT są często aktywowane w czerniaku, co prowadzi do niekontrolowanej proliferacji komórek nowotworowych i ich przetrwania [12].

Metody diagnostyki czerniaka

Istnieje wiele metod rozpoznawania czerniaka, w tym badanie wzrokowe, dermoskopia i analiza histopatologiczna. Kontrola wzrokowa to pierwszy krok w wykrywaniu czerniaka, podczas którego pracownicy ochrony zdrowia wizualnie badają skórę pod kątem podejrzanych zmian. Dermoskopia, znana również jako mikroskopia epiluminescencyjna, to nieinwazyjna technika, która wykorzystuje urządzenie powiększające i źródło światła do badania powierzchni skóry bardziej szczegółowo. Dermoskopia pozwala na uwidocznienie specyficznych cech, takich jak wzorce sieci barwnikowej, asymetria i nieregularne granice, pomagając we wczesnym wykryciu i różnicowaniu zmian czerniaka od znamion łagodnych [14]. Analiza histopatologiczna polega natomiast na badaniu próbek tkanek pod mikroskopem. mikroskopu w celu sprawdzenia obecności komórek nowotworowych [15].

Spektrofotometria i obrazowanie wielospektralne

Spektrofotometria i obrazowanie wielospektralne to techniki nieinwazyjne, które zyskały na znaczeniu w diagnostyce czerniaka. Technologie te wykorzystują różne długości fal światła w celu uzyskania informacji widmowych ze zmian skórnych. Analizując absorpcję i odbicie światła o różnych długościach fal, maszyny te mogą dostarczyć szczegółowych informacji na temat struktury zmian skórnych, pigmentacji i unaczynienia. Dane te mogą mieć kluczowe znaczenie w różnicowaniu zmian łagodnych i złośliwych, co ostatecznie pomoże we wczesnym wykryciu czerniaka [16].

Systemy mapowania pieprzyków

Systemy mapowania pieprzyków, takie jak fotografia całego ciała i sekwencyjne cyfrowe obrazowanie dermoskopowe, są cennymi narzędziami do monitorowania i śledzenia zmian zmian skórnych w czasie. Systemy te rejestrują w regularnych odstępach czasu obrazy o wysokiej rozdzielczości całej powierzchni skóry lub określonych zmian. Zaawansowane algorytmy następnie analizują te obrazy, aby zidentyfikować wszelkie zmiany w rozmiarze, kształcie, kolorze lub teksturze zmian. Wykrywając subtelne zmiany, które mogą wskazywać na rozwój czerniaka, systemy mapowania znamion odgrywają kluczową rolę we wczesnym wykrywaniu i interwencji [17].

Odbiciowa mikroskopia konfokalna (RCM)

Odbiciowa mikroskopia konfokalna to nieinwazyjna technika obrazowania, która umożliwia wizualizację w czasie rzeczywistym zmian skórnych na poziomie komórkowym. Tworząc obrazy architektury komórkowej skóry o wysokiej rozdzielczości, RCM umożliwia identyfikację charakterystycznych cech czerniaka, takich jak komórki pagetoidalne i nieuporządkowane struktury skórne. Technologia ta zapewnia dermatologom cenny wgląd w morfologię zmian skórnych, zwiększając dokładność diagnostyki czerniaka bez konieczności stosowania procedur inwazyjnych [18].

Obrazowanie optoakustyczne

Obrazowanie optoakustyczne, zwane również obrazowaniem fotoakustycznym, stanowi najnowocześniejszą metodę diagnostyki czerniaka. Ta nieinwazyjna technika łączy światło lasera i ultradźwięki w celu generowania obrazów tkanek i naczyń krwionośnych o wysokiej rozdzielczości. Wykrywając specyficzne wzorce absorpcji optycznej związane z czerniakiem, obrazowanie optoakustyczne stanowi potężne narzędzie do wczesnego wykrywania i charakteryzowania zmian skórnych. Jej zdolność do jednoczesnego dostarczania informacji funkcjonalnych i anatomicznych czyni ją obiecującą technologią w dziedzinie diagnostyki czerniaka [19].

AKTUALNE ZASTOSOWANIA SZTUCZNEJ INTELIGENCJI W ROZPOZNAWANIU CZERNIAKA

Obecne zastosowania sztucznej inteligencji w rozpoznawaniu czerniaka okazały się bardzo obiecujące, ponieważ zrewolucjonizują dziedzinę dermatologii. Algorytmy sztucznej inteligencji, szczególnie te oparte na uczeniu maszynowym i głębokim uczeniu się, są coraz częściej wykorzystywane do wspomagania wykrywania, klasyfikacji i prognozowania czerniaka. Jedną z głównych metod, za pomocą których sztuczna inteligencja pomaga w identyfikacji czerniaka, jest analiza obrazów zmian skórnych [20]. Dermatolodzy często rejestrują obrazy podejrzanych zmian skórnych za pomocą dermoskopii, a algorytmy sztucznej inteligencji można wytrenować tak, aby analizowały te obrazy pod kątem cech wskazujących na czerniaka. Dzięki technikom głębokiego uczenia się modele AI mogą nauczyć się identyfikować wzorce i struktury na obrazach, które mogą nie być oczywiste dla ludzkiego oka. Pozwala to na dokładniejsze i spójne wykrywanie czerniaka, potencjalnie zmniejszając liczbę pominiętych diagnoz i niepotrzebnych biopsji [20, 21].

Cechy analizy obrazów w diagnostyce czerniaka

Analizując obrazy zmian skórnych pod kątem wykrywania czerniaka, uwzględnia się kilka ważnych czynników obrazowych. Czynniki te odgrywają kluczową rolę w szkoleniu algorytmów AI i poprawie dokładności diagnostyki czerniaka. Do kluczowych czynników obrazu branych pod uwagę w analizie należą:

1. **Asymetria:** Algorytmy AI są szkolone w zakresie oceny symetrii zmian skórnych, ponieważ asymetria jest częstą cechą czerniaka. Algorytmy porównują rozkład kolorów, wzorów i kształtów pomiędzy dwiema połówkami zmiany [22].
2. **Kolor i pigmentacja:** Kolor i pigmentacja zmiany skórnej są ważnymi czynnikami w wykrywaniu czerniaka. Algorytmy AI są w stanie analizować kolor i pigmentację zmian skórnych poprzez badanie rozmieszczenia i intensywności różnych kolorów w obrębie zmiany. Porównując kolor i pigmentację zmiany ze znanymi wzorami czerniaka, algorytmy AI mogą zidentyfikować nieprawidłowe lub podejrzane różnice kolorystyczne co może wskazywać na obecność czerniaka [22].
3. **Nieregularność granic:** Algorytmy AI mogą oceniać granice zmian skórnych pod kątem nieprawidłowości. Nieregularne granice są częstą cechą czerniaka i mogą wskazywać na jego złośliwy charakter. Analizując kształt, gładkość i postrzępienie granic zmian, algorytmy AI mogą zidentyfikować nieprawidłowości, które mogą sugerować obecność czerniaka [22].
4. **Tekstura:** Tekstura zmiany skórnej może dostarczyć ważnych wskazówek w wykrywaniu czerniaka. Algorytmy AI mogą analizować drobne szczegóły i wzory powierzchni zmian skórnych, aby zidentyfikować wszelkie nieprawidłowości lub nieprawidłowości, które mogą wskazywać na czerniaka [22].
5. **Rozmiar:** W analizie uwzględnia się wielkość i kształt zmian skórnych, gdyż niektóre wymiary i kształty, które wcześniej zostały wyuczone przez algorytm, mogą budzić podejrzenie czerniaka [22].
6. **Wzrost i ewolucja:** Algorytmy sztucznej inteligencji mogą śledzić wzrost i ewolucję zmian skórnych w czasie. Analizując sekwencyjne obrazy zmian skórnych wykonane w różnych punktach czasowych, algorytmy AI mogą wykryć wszelkie zmiany w rozmiarze, kształcie, kolorze lub teksturze, które mogą wskazywać na postęp czerniaka [22].

Oprócz powyższych czynników algorytmy AI mogą uwzględniać także inne cechy, takie jak obecność owrzodzeń, krwawień czy zmian satelitarnych. Te czynniki obrazu, systematycznie analizowane przez algorytmy AI, przyczyniają się do dokładniejszej i bardziej niezawodnej identyfikacji czerniaka, ostatecznie pomagając we wczesnym wykrywaniu i prognozowaniu [20, 21, 22].

ZBIORY DANYCH OBRAZOWYCH

Zbiory danych obrazowych odgrywają kluczową rolę w rozwoju i doskonaleniu algorytmów sztucznej inteligencji stosowanych w diagnostyce czerniaka. Odpowiednio szerokie i zróżnicowane bazy danych są niezbędne do trenowania i walidacji modeli predykcyjnych, które analizują zdjęcia zmian skórnych pod kątem różnych cech charakterystycznych dla czerniaka, takich jak asymetria, nieregularne granice, różnorodność kolorów czy średnica zmian [23]. Dane te są wykorzystywane do uczenia maszynowego i głębokiego uczenia, co pozwala modelom AI na naukę rozpoznawania wzorców związanych z malignizacją zmian skórnych. Wyzwania w gromadzeniu danych obejmują zapewnienie reprezentatywności zbiorów dla różnych typów skóry, wieku, płci i grup etnicznych, co jest kluczowe dla unikania stronniczości i zwiększania ogólnej dokładności modeli. Jakość i anotacja obrazów, wysokiej jakości z dokładnymi adnotacjami, są niezbędne, gdyż nieprecyzyjne oznaczenia mogą prowadzić do błędów w uczeniu maszynowym [24]. Ponadto, gromadzenie i wykorzystanie medycznych danych obrazowych wymaga przestrzegania przepisów dotyczących prywatności i ochrony danych osobowych, co często wymaga uzyskania zgody od pacjentów [25]. Istnieją zbiory danych, które są udostępniane publicznie i mogą być wykorzystywane do celów badawczych i edukacyjnych, takie jak Dermofit Image Library czy ISIC Archive (International Skin Imaging Collaboration), które są globalną inicjatywą mającą na celu poprawę wykrywania czerniaka poprzez udostępnianie danych obrazowych do naukowych badań nad czerniakiem. Zastosowanie odpowiednio dużych i zróżnicowanych zbiorów danych pozwala na zwiększenie skuteczności algorytmów AI w realnych warunkach klinicznych, co jest kluczowe w kontekście globalnej populacji pacjentów. Właściwe zarządzanie tymi zbiorami, zapewnienie ich jakości i etyczne wykorzystanie są decydujące dla osiągnięcia postępów w precyzyjnej diagnostyce i personalizowanej medycynie [26].

KOMERCYJNIE DOSTĘPNE ROZWIĄZANIA

W ostatnich latach, zastosowanie sztucznej inteligencji w diagnostyce czerniaka zaowocowało opracowaniem i wprowadzeniem na rynek wielu innowacyjnych rozwiązań komercyjnych. Te technologie zmieniły sposób, w jaki lekarze i pacjenci mogą identyfikować i monitorować zmiany skórne. Poniżej przedstawiono kilka przykładów komercyjnie dostępnych narzędzi opartych na AI, które wspomagają wykrywanie czerniaka:

1. **Aplikacje do analizy obrazu:** Różne aplikacje mobilne wykorzystują algorytmy sztucznej inteligencji do oceny zdjęć zmian skórnych wykonanych przez użytkowników na ich smartfonach. Użytkownicy mogą szybko uzyskać wstępną ocenę zmiany, co pomaga w decyzji o konieczności konsultacji ze specjalistą. Przykłady takich aplikacji to SkinVision i Miiskin, które analizują zdjęcia pod kątem niepokojących cech, takich jak asymetria, nieregularne granice czy niejednolita pigmentacja [27].
2. **Systemy dermoskopii cyfrowej:** Zaawansowane urządzenia dermoskopowe, takie jak DermEngine i MoleScope, oferują wysokiej jakości obrazy dermoskopowe, które są następnie analizowane przy użyciu algorytmów sztucznej inteligencji. Te systemy pozwalają na dokładne monitorowanie zmian skórnych i archiwizację danych, co jest kluczowe dla wczesnego wykrywania i leczenia czerniaka [28].
3. **Platformy zarządzania danymi dermatologicznymi:** Platformy takie jak Total Dermatology Platform oferują zintegrowane rozwiązania zarządzania danymi pacjentów, które łączą obrazy dermoskopowe, wyniki badań i historię medyczną. Wykorzystują one AI do analizy zgromadzonych danych w celu wczesnego wykrywania zmian nowotworowych oraz monitorowania postępów w leczeniu [29].
4. **Narzędzia wspomagające diagnozę w placówkach medycznych:** Wiele urządzeń klasy medycznej, takich jak Vectra WB360, używa sztucznej inteligencji do analizy zdjęć całego ciała, identyfikując i śledząc liczne zmiany skórne. Te systemy są szczególnie przydatne w klinikach dermatologicznych, gdzie precyzyjne monitorowanie zmian skórnych może przyczynić się do szybszej i bardziej precyzyjnej diagnozy [30].

WYZWANIA

Sztuczna Inteligencja (SI) stała się kluczowym narzędziem w wspomaganiu diagnostyki czerniaka, oferując obiecujące perspektywy w wykrywaniu oraz klasyfikacji tej złośliwej formy nowotworu skóry. Jednak mimo znaczących postępów, implementacja technologii SI w praktyce klinicznej napotyka liczne wyzwania, które muszą zostać rozwiązane, aby maksymalizować jej efektywność i niezawodność. Poniżej przedstawiono najważniejsze z nich:

1. **Dostępność i jakość danych:** Jakość i ilość danych treningowych mają decydujący wpływ na skuteczność modeli sztucznej inteligencji. Zbiory danych muszą być reprezentatywne, zróżnicowane i pochodzić

- z różnorodnych grup etnicznych oraz demograficznych, co jest kluczowe dla uniknięcia stronniczości i błędów w diagnostyce. Często dane są nierównomiernie rozłożone, co może prowadzić do nadmiernego dostosowania się modeli do specyficznych cech występujących w danych treningowych, niekoniecznie reprezentatywnych dla ogólnej populacji [31].
2. **Integracja z istniejącymi systemami klinicznymi:** Integracja modeli AI z istniejącymi systemami medycznymi może być trudna ze względu na różnorodność infrastruktury technologicznej w różnych ośrodkach zdrowia. Wymaga to spersonalizowanych rozwiązań oraz zdolności do adaptacji technologii do lokalnych specyfikacji i wymogów [32].
 3. **Zrozumienie i interpretacja wyników:** Wyjaśnialność decyzji podejmowanych przez algorytmy sztucznej inteligencji stanowi jedno z największych wyzwań. Klinicyści potrzebują jasnych i zrozumiałych wskazań, jak model doszedł do konkretnego wniosku, aby móc zaufać i efektywnie korzystać z rekomendacji SI w praktyce medycznej [33].
 4. **Regulacje prawne i etyczne:** Wprowadzenie SI do diagnostyki medycznej pociąga za sobą szereg kwestii prawnych i etycznych, takich jak prywatność danych, odpowiedzialność za błędy diagnostyczne oraz zgodność z międzynarodowymi standardami ochrony danych osobowych. Tworzenie odpowiednich regulacji, które będą wspierać innowacje, jednocześnie chroniąc prawa pacjentów, jest niezbędne [34].
 5. **Szkolenie i zaufanie personelu medycznego:** Personel medyczny musi być odpowiednio przeszkolony, aby efektywnie korzystać z narzędzi SI. To obejmuje zrozumienie możliwości i ograniczeń technologii, co jest kluczowe dla budowania zaufania i właściwego wykorzystania systemów AI w medycynie [35].
 6. **Odporność na zmiany w środowisku diagnostycznym:** Modele sztucznej inteligencji używanych w diagnostyce czerniaka wymagają regularnych aktualizacji, aby dostosować się do nowych odkryć naukowych i zmieniających się wzorców choroby. Utrzymanie aktualności modeli w dynamicznie zmieniającym się środowisku klinicznym jest trudne, ale niezbędne do utrzymania ich skuteczności [36].

Adresowanie tych wyzwań będzie kluczowe dla dalszego rozwoju i integracji sztucznej inteligencji w diagnostyce czerniaka, co może znacznie przyczynić się do poprawy wyników leczenia i jakości życia pacjentów [31].

PERSPEKTYWY

Postęp w dziedzinie sztucznej inteligencji (SI) otwiera nowe możliwości dla diagnostyki i leczenia czerniaka, oferując perspektywy znacznej poprawy skuteczności wykrywania i monitorowania tego złośliwego nowotworu skóry. Wzrost dostępności zaawansowanych technologii i lepsze zrozumienie procesów biologicznych stojących za czerniakiem pozwalają przewidywać kilka kluczowych kierunków rozwoju w tej dziedzinie [31, 37]. Po pierwsze, rozwój głębokich sieci neuronowych i zaawansowanych algorytmów uczenia maszynowego może prowadzić do stworzenia jeszcze bardziej precyzyjnych i efektywnych systemów diagnostycznych. Takie systemy będą w stanie rozpoznawać subtelne niuanse w obrazach dermatoskopowych, które mogą umknąć nawet doświadczonym dermatologom. Dalsze badania nad interpretowalnością modeli SI mogą również pomóc lekarzom w lepszym zrozumieniu decyzji diagnostycznych podejmowanych przez algorytmy, zwiększając ich zaufanie do tych technologii [38]. Po drugie, integracja danych z różnych źródeł, w tym obrazu dermatoskopowe, dane genetyczne i informacje kliniczne, może pozwolić na stworzenie kompleksowych modeli predykcyjnych. Te modele będą w stanie dostarczyć szczegółowych prognoz dotyczących rozwoju i odpowiedzi na leczenie czerniaka, co umożliwi personalizację terapii na niespotykaną dotąd skalę [37, 38]. Po trzecie, postęp w technologiach mobilnych i aplikacjach wspieranych przez SI stwarza możliwości dla lepszego monitorowania stanu skóry pacjentów na bieżąco. Aplikacje te mogą umożliwić użytkownikom regularne przeglądy stanu ich skóry i szybką reakcję na potencjalnie niepokojące zmiany, co jest kluczowe dla wczesnego wykrywania czerniaka [39]. Ponadto, rozwój i implementacja standardów etycznych i regulacji prawnych dotyczących wykorzystania danych medycznych i sztucznej inteligencji w medycynie będzie miała kluczowe znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa i prywatności pacjentów, jednocześnie umożliwiając efektywne wykorzystanie tych zaawansowanych technologii [40]. W rezultacie, perspektywy wykorzystania sztucznej inteligencji w wykrywaniu czerniaka są obiecujące, jednak ich pełne zrealizowanie będzie wymagało dalszych badań, innowacji technologicznych oraz współpracy między badaczami, klinicystami, a przemysłem technologicznym. Zintegrowane podejście, które obejmuje zarówno technologiczne, jak i humanistyczne aspekty opieki medycznej, może przyczynić się do znaczącej poprawy wyników leczenia czerniaka, zmniejszając jednocześnie obciążenie dla systemów opieki zdrowotnej [41].

PODSUMOWANIE

W ciągu ostatnich dekad, wykorzystanie sztucznej inteligencji (SI) w medycynie, a szczególnie w diagnostyce i monitoringu czerniaka, zyskało na znaczeniu dzięki swojemu potencjałowi do zwiększania dokładności diagnostycznej i personalizacji terapii. Ten przegląd ukazał różnorodność zastosowań, wyzwań oraz perspektyw związanych z integracją technologii SI w praktyce klinicznej, szczególnie w kontekście rozpoznawania czerniaka. Stosowanie algorytmów sztucznej inteligencji w diagnozowaniu czerniaka demonstruje znaczący postęp w zdolnościach predykcyjnych tych narzędzi, przewyższając często tradycyjne metody diagnostyczne stosowane przez dermatologów. Jednakże, dla pełnej efektywności, algorytmy te muszą być ciągle doskonalone i testowane na coraz większych oraz bardziej zróżnicowanych zbiorach danych, aby zapewnić ich uniwersalność i niezawodność w różnych środowiskach klinicznych. Zastosowanie SI do wykrywania czerniaka wiąże się również z koniecznością adresowania wyzwań etycznych, regulacyjnych oraz technologicznych. Wymaga to współpracy interdyscyplinarnej między informatykami, klinicystami, pacjentami oraz regulatorami, aby stworzyć ramy, które wspierają innowacje przy jednoczesnym zapewnieniu bezpieczeństwa i prywatności danych pacjentów. W kontekście przyszłych perspektyw, rozwój technologii SI oferuje obiecujące możliwości dla dalszego postępu w diagnostyce czerniaka. Możliwości te obejmują lepsze zrozumienie biologicznych mechanizmów nowotworu, co może prowadzić do nowych metod leczenia oraz bardziej celowanych terapii. Ponadto, poprawa dostępności technologii mobilnych i aplikacji zdrowotnych zwiększa potencjał dla bieżącego monitorowania i wczesnego wykrywania niepokojących zmian skórnych przez pacjentów. Podsumowując, sztuczna inteligencja reprezentuje dynamicznie rozwijające się narzędzie, które może znacząco przyczynić się do postępu w diagnozowaniu i leczeniu czerniaka. Pełne wykorzystanie tego potencjału wymaga jednak nieustannych badań, rozwoju technologicznego oraz odpowiedzialnej implementacji, które razem mogą doprowadzić do znaczącej poprawy wyników dla pacjentów na całym świecie.

REFERENCJE

- [1] Haenssle HA, Fink C, Schneiderbauer R, et al. Man against machine: diagnostic performance of a deep learning convolutional neural network for dermoscopic melanoma recognition in comparison to 58 dermatologists. *Ann Oncol.* 2018;29(8):1836-1842.

- [2] Swetter SM, Tsao H, Bichakjian CK, et al. Guidelines of care for the management of primary cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80(1):208-250.
- [3] Esteva A, Kuprel B, Novoa RA, et al. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. *Nature*. 2017; 542(7639):115-118.
- [4] McCarthy J, Minsky ML, Rochester N, Shannon CE. A Proposal for the Dartmouth Summer Research Project on Artificial Intelligence. 1956.
- [5] Crevier D. AI: The Tumultuous History of the Search for Artificial Intelligence. Basic Books; 1993.
- [6] McCulloch WS, Pitts W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The Bulletin of Mathematical Biophysics*. 1943;5(4):115-133.
- [7] Samuel AL. Some Studies in Machine Learning Using the Game of Checkers. *IBM J Res Dev*. 1959;3(3):210-229.
- [8] LeCun Y, Bengio Y, Hinton G. Deep learning. *Nature*. 2015;521(7553):436-444.
- [9] Barnhill RL, Piepkorn M, Busam KJ. Pathology of Melanoma. W: Barnhill's Dermatopathology. 3rd ed. McGraw-Hill Education; 2014.
- [10] Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417(6892):949-954.
- [11] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med*. 2013;19(11):1423-1437.
- [12] Flaherty KT, Hodi FS, Fisher DE. From genes to drugs: targeted strategies for melanoma. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(5):349-361.
- [13] Scolyer RA, Thompson JF, Vilain RE. Amelanotic melanoma: a comprehensive review. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(10):1387-1401.
- [14] Marghoob AA, Malvehy J, Braun RP. An Atlas of Dermoscopy. 2nd ed. CRC Press; 2012.

- [15] Elder DE, Massi D, Scolyer RA, Willemze R. WHO Classification of Skin Tumours. 4th ed. International Agency for Research on Cancer; 2018.
- [16] Scope A, Benvenuto-Andrade C, Agero AL, et al. In vivo reflectance confocal microscopy imaging of melanocytic skin lesions: consensus terminology glossary and illustrative images. *J Am Acad Dermatol.* 2007;57(4):644-658.
- [17] Menzies SW, Emery JD, Staples MP, et al. Impact of dermoscopic and histopathologic diagnostic information on the treatment decision in clinically equivocal melanocytic skin lesions. *J Invest Dermatol.* 2008;128(10):2388-2394.
- [18] Rajadhyaksha M, González S, Zavislan JM, et al. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: Advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol.* 1999;113(3):293-303.
- [19] Manohar S, Vaartjes SE, van Hespden JC, et al. Initial results of in vivo non-invasive cancer imaging in the human breast using near-infrared photoacoustics. *Opt Express.* 2007;15(19):12277-12285.
- [20] Haenssle HA, Fink C, Schneiderbauer R, et al. Man against machine: diagnostic performance of a deep learning convolutional neural network for dermoscopic melanoma recognition in comparison to 58 dermatologists. *Ann Oncol.* 2018;29(8):1836-1842.
- [21] Esteva A, Kuprel B, Novoa RA, et al. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. *Nature.* 2017;542(7639):115-118.
- [22] Codella NCF, Gutman D, Celebi ME, et al. Skin lesion analysis toward melanoma detection: A challenge at the 2017 International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), hosted by the International Skin Imaging Collaboration (ISIC). *IEEE Trans Med Imaging.* 2018;37(1):272-282.
- [23] Combalia M, Codella NCF, Rotemberg V, et al. BCN20000: Dermoscopic Lesions in the Wild. *Bioinformatics.* 2019;35(21):4466-4472.
- [24] Tschandl P, Rosendahl C, Kittler H. The HAM10000 dataset: a large collection of multi-source dermoscopic images of common pigmented skin lesions. *Sci Data.* 2018;5:180161.

- [25] Gostin LO, Halabi SF, Wilson K. Health Data and Privacy in the Digital Era. *JAMA*. 2018;320(3):233-234.
- [26] Codella NCF, Gutman D, Celebi ME, et al. Skin Lesion Analysis Toward Melanoma Detection: A Challenge at the 2017 International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), hosted by the International Skin Imaging Collaboration (ISIC). *IEEE Trans Med Imaging*. 2018;37(1):272-282.
- [27] Wolf JA, Moreau JF, Akilov O, et al. Diagnostic Inaccuracy of Smartphone Applications for Melanoma Detection. *JAMA Dermatol*. 2013;149(4):422-426.
- [28] Rajadhyaksha M, Marghoob A, Rossi A, et al. Reflectance confocal microscopy for skin diseases. *Semin Cutan Med Surg*. 2013;32(2):101-110.
- [29] Tognetti L, Cartocci A, Del Duca E, et al. Advanced digital health platforms in dermatology. *Digital Health*. 2020;6:1-10.
- [30] Haenssle HA, Fink C, Schneiderbauer R, et al. Man against machine: diagnostic performance of a deep learning convolutional neural network for dermoscopic melanoma recognition in comparison to 58 dermatologists. *Ann Oncol*. 2018;29(8):1836-1842.
- [31] Chartrand G, Cheng PM, Vorontsov E, et al. Deep learning: A primer for radiologists. *Radiographics*. 2017;37(7):2113-2131.
- [32] Topol EJ. High-performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nat Med*. 2019;25(1):44-56.
- [33] Holzinger A, Biemann C, Pattichis CS, Kell DB. What do we need to build explainable AI systems for the medical domain? *ArXiv Preprint ArXiv:1712.09923*. 2017.
- [34] Cohen IG, Amarasingham R, Shah A, et al. The legal and ethical concerns that arise from using complex predictive analytics in health care. *Health Aff*. 2014;33(7):1139-1147.
- [35] Jha S, Topol EJ. Adapting to artificial intelligence: radiologists and pathologists as information specialists. *JAMA*. 2016;316(22):2353-2354.

- [36] Kelly CJ, Karthikesalingam A, Suleyman M, Corrado G, King D. Key challenges for delivering clinical impact with artificial intelligence. *BMC Med.* 2019;17(1):195.
- [37] Esteva A, Kuprel B, Novoa RA, et al. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. *Nature.* 2017; 542(7639):115-118.
- [38] Liu Y, Kohlberger T, Norouzi M, et al. Artificial intelligence–based breast cancer nodal metastasis detection: Insights into the black box for pathologists. *Arch Pathol Lab Med.* 2019;143(7):859-868.
- [39] Rat C, Hild S, Rault Sérandour J, et al. Use of smartphone applications for melanoma detection in real life: a cross-sectional survey study. *Dermatology.* 2020;236(5):375-382.
- [40] Cohen IG, Amarasingham R, Shah A, et al. The legal and ethical concerns that arise from using complex predictive analytics in health care. *Health Aff.* 2014;33(7):1139-1147.
- [41] Topol EJ. High-performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nat Med.* 2019;25(1):44-56.

ZASTOSOWANIE ALGORYTMÓW SZTUCZNEJ INTELIGENCJI W PRZEMYSŁE FARMACEUTYCZNYM – WYZWANIA I PERSPEKTYWY

**Michał Bielówka¹, Aleksandra Wocław², Oliwia Wydmańska²,
Dominika Kaczyńska¹, Kinga Kwiatkowska², Alicja Pluta³**

1. Studenckie Koło Naukowe Analiz Komputerowych i Sztucznej Inteligencji przy Katedrze Radiologii i Medycyny Nuklearnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe im. Zbigniewa Religi przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
3. Collegium Medicum im. dr. Władysława Biegańskiego Uniwersytetu Jana Długosza w Częstochowie

Abstrakt: Sztuczna inteligencja (ang. *Artificial Intelligence* - AI) staje się kluczowym elementem rewolucji w przemyśle farmaceutycznym. Sztuczna Inteligencja umożliwia analizę ogromnych zbiorów danych medycznych, identyfikację wzorców klinicznych oraz prognozowanie wyników terapeutycznych. W kontekście odkrywania nowych leków, AI może znacząco przyspieszyć proces ich projektowania poprzez analizę danych molekularnych i klinicznych. Sztuczna inteligencja może identyfikować potencjalne cele terapeutyczne leków oraz pomóc również w predykcji interakcji lek-cel. Jednym z najbardziej kluczowych aspektów, w których AI ma bardzo duży potencjał jest pomoc w projektowaniu leków o większej skuteczności i mniejszej toksyczności, jednocześnie zmniejszając koszty tego procesu. W zakresie automatyzacji procesów produkcyjnych, AI analizuje bardzo duże ilości danych pochodzących z procesów produkcyjnych, identyfikuje anomalie i optymalizuje planowanie produkcji. Pomimo obiecujących możliwości, wprowadzenie AI do przemysłu farmaceutycznego wymaga dostosowania regulacji, zapewnienia transparentności algorytmów oraz odpowiedniego przeszkolenia personelu.

Słowa kluczowe: sztuczna inteligencja, AI, uczenie maszynowe, przemysł farmaceutyczny, farmakologia

Abstract: Artificial Intelligence (AI) is becoming a key element of revolution in the pharmaceutical industry. AI enables the analysis of vast amounts of medical data, identification of clinical patterns, and forecasting therapeutic outcomes. In the context of drug discovery, AI can significantly expedite the drug design process through the analysis of molecular and clinical data. Artificial Intelligence can identify potential therapeutic targets for drugs and also aid in predicting drug-target interactions. One of the most crucial aspects where AI holds great potential is in assisting the design of drugs with greater efficacy and reduced toxicity, thereby reducing process costs. In the field of automating production processes, AI analyses huge amount of data from production processes, identifies anomalies, and optimizes production planning. Despite promising possibilities, the integration of AI into the pharmaceutical industry requires regulatory adjustments, ensuring algorithm transparency, and appropriate personnel training.

Keywords: artificial intelligence, AI, machine learning, pharmaceutical industry, pharmacology

WPROWADZENIE

Sztuczna inteligencja (ang. *Artificial Intelligence* - AI) zdecydowanie rewolucjonizuje dziedzinę medycyny i farmacji, zdobywając coraz większą popularność jako potężne narzędzie wspierające praktykę lekarską, działalność farmaceutyczną oraz badania naukowe [1]. AI manifestuje się jako kluczowy punkt postępu w tych dziedzinach, przyczyniając się do doskonalenia diagnostyki, personalizacji terapii oraz optymalizacji procesów badawczych. W rękach lekarzy, farmaceutów i naukowców AI pełni istotną rolę, umożliwiając precyzyjną analizę ogromnych zbiorów danych medycznych, identyfikację wzorców klinicznych oraz prognozowanie potencjalnych wyników terapeutycznych. Dodatkowo, AI wspomaga decyzje kliniczne poprzez dostarczanie kompleksowych analiz obrazowych, interpretację wyników badań laboratoryjnych i generowanie rekomendacji terapeutycznych opartych na aktualnych danych. Integracja sztucznej inteligencji z przemysłem farmaceutycznym przyczynia się do zwiększenia efektywności procesu odkrywania nowych leków i optymalizacji ich produkcji, skracając również czas wymienionych procesów i znacząco zmniejszając koszty [2].

Jednym z najbardziej obiecujących zastosowań sztucznej inteligencji jest odkrywanie i opracowywanie nowych leków. Tradycyjne metody badań i rozwoju są czasochłonne i kosztowne. AI może znacząco przyspieszyć ten proces, analizując ogromne ilości danych molekularnych i klinicznych w celu identyfikacji nowych celów terapeutycznych i projektowania leków o wyższej skuteczności i mniejszej toksyczności [3]. Przykładem tego są prowadzone badania testujące modele oparte na sztucznej inteligencji w odkrywaniu nowych antybiotyków skutecznie zwalczających odporne na leki bakterie [4]. Kolejnym obszarem, w którym AI

odgrywa kluczową rolę, jest personalizacja medycyny. Sztuczna inteligencja może analizować dane pacjentów, w tym ich historię medyczną, styl życia i genetykę, aby przewidywać ryzyko chorób, dobierać optymalne leki i dawki dla każdego pacjenta oraz monitorować reakcje na leczenie. System IBM Watson Health udowadnia swoje znaczenie, pomagając lekarzom w doborze chemioterapii dla pacjentów z rakiem płuc [5], a firma Lunit wytycza nowe szlaki w diagnostyce raka piersi, oferując system AI o bardzo wysokiej dokładności wykrywania choroby na mammografiach [6]. Oprócz wyżej wymienionych przykładów, sztuczna inteligencja ma szerokie zastosowanie w wielu innych dziedzinach medycyny i farmacji, takich jak: rozwijanie robotyki chirurgicznej, która umożliwi precyzyjne i małoinwazyjne operacje [7], opracowywanie nowych metod leczenia chorób, takich jak terapia genowa i immunoterapia [8] oraz usprawnianie zarządzania systemami opieki zdrowotnej, co prowadzi do lepszej koordynacji opieki nad pacjentem i obniżenia kosztów.

Celem tego rozdziału jest przegląd literatury dotyczącej zastosowania sztucznej inteligencji w przemyśle farmaceutycznym oraz przedstawienie przeszkód, które stoją przed szerokim wdrożeniem AI w medycynie i farmacji.

ZASTOSOWANIE AI W ODKRYWANIU I OPRACOWYWANIU NOWYCH LEKÓW

Proces innowacyjnego opracowywania nowatorskich leków na podstawie zrozumienia celu biologicznego znany jest jako projektowanie leków (ang. *drug design*) [9]. Rozwój technologii sztucznej inteligencji w ostatnich latach może znacząco wpłynąć na ten proces. Komputerowe wspomaganie projektowania leków (ang. *Computer-aided drug design* - CADD) łączy różne narzędzia komputerowe w celu identyfikacji i rozwijania obiecujących kierunków w opracowywaniu i rozwoju leków. CADD obejmuje chemię obliczeniową, modelowanie molekularne, projektowanie molekularne i racjonalne projektowanie leków. Aby prognozować terapeutyczną skuteczność i potencjalne skutki uboczne, konieczne jest opracowanie technik, które systematycznie zajmują się dużymi ilościami danych, jak na przykład: tradycyjne CADD, uczenie maszynowe (ang. *machine learning* - ML) oraz innowacyjne technologie głębokiego uczenia się (*deep learning* - DL) [10].

Komputerowe wspomaganie projektowania leków (CADD) odgrywa kluczową rolę w procesie projektowania nowych leków, przynosząc liczne korzyści i przyspieszając proces opracowywania i rozwoju farmaceutyków. Przede wszystkim, CADD umożliwia efektywne wykorzystanie danych biologicznych

i chemicznych w celu identyfikacji potencjalnych celów terapeutycznych oraz związków chemicznych, które mogą prowadzić do stworzenia skutecznych leków. CADD integruje narzędzia oparte na sztucznej inteligencji w celu predykcji interakcji między cząsteczkami leku a celem biologicznym. Wykorzystanie technologii AI w tym kontekście pozwala na bardziej skuteczną predykcję **właściwości chemicznych i biologicznych molekuł**, co potencjalnie może znacząco przyspieszyć proces odkrywania leków. Pozwala to na optymalizację struktury molekularnej leku zanim przejdzie on do laboratorium, dzięki czemu zarówno czas potrzebny na ten proces jak i koszty ulegają zmniejszeniu. Ponadto, CADD może przyczynić się do identyfikacji potencjalnych efektów ubocznych i problemów bezpieczeństwa już na etapie projektowania, co ma istotne znaczenie dla dalszego rozwoju leku [11, 12].

W kontekście przemysłu farmaceutycznego technologie ML są używane do analizy dużych zbiorów danych biologicznych, chemicznych i klinicznych. Mogą one identyfikować wzorce, zależności i korelacje, co wspomaga w wyborze potencjalnych celów terapeutycznych oraz optymalnych struktur molekularnych leków. ML umożliwia także prognozowanie skuteczności i bezpieczeństwa leków na podstawie danych z różnych źródeł [13]. Z kolei techniki głębokiego uczenia (DL) wykorzystują zaawansowane sieci neuronowe do analizy danych o strukturze molekularnej i biologicznej. Dzięki temu można identyfikować subtelne zależności między cechami chemicznymi a aktywnością biologiczną, co prowadzi do bardziej precyzyjnego projektowania leków. Modele oparte na DL mogą również pomóc w predykcji toksyczności potencjalnych leków oraz znacząco przyspieszyć proces identyfikacji interakcji lek-cel na początkowym etapie projektowania leków [14].

Predykcja bioaktywności

Skuteczność cząsteczek leków zależy od ich powinowactwa do docelowego białka lub receptora. Cząsteczki leku, które nie wykazują żadnej interakcji lub powinowactwa do docelowego białka nie będą w stanie zapewnić odpowiedzi terapeutycznej. W niektórych przypadkach opracowane cząsteczki leku wchodzi w interakcję z niezamierzonymi białkami lub receptorami, co prowadzi do toksyczności. Z tego powodu powinowactwo wiązania leku z docelowym białkiem lub receptorem (ang. *drug target binding affinity* - DTBA) jest niezbędne do przewidywania interakcji lek-cel. Metody oparte na sztucznej inteligencji mogą mierzyć powinowactwo wiązania leku, biorąc pod uwagę cechy lub podobieństwa

leku i jego celu. Interakcje oparte na cechach rozpoznają ugrupowania chemiczne leku i cząsteczki docelowej w celu określenia wektorów cech. Natomiast w interakcji opartej na podobieństwie uwzględnia się podobieństwo pomiędzy lekiem a celem i zakłada się, że podobne leki będą oddziaływać z tymi samymi celami [15].

Dostępne są aplikacje internetowe, takie jak ChemMapper oraz ‘metoda zespołu podobieństwa’ (ang. *similarity ensemble approach* - SEA), które służą do predykcji interakcji między lekiem a jego celem. Wiele strategii wykorzystujących uczenie maszynowe (ML) i głębokie uczenie (DL) zostało opracowanych do określenia DTBA, takich jak KronRLS, SimBoost, DeepDTA i PADME. Metody oparte na ML, takie jak KronRLS, oceniają podobieństwo między lekami a cząsteczkami. Podobnie, SimBoost wykorzystuje drzewa regresji (ang. *regression trees*) do predykcji DTBA, biorąc pod uwagę zarówno cechy jak i podobieństwa między nimi [16].

Metody DL wykazały poprawę wyników w porównaniu z ML, ponieważ wykorzystują metody oparte na sieciach neuronowych, które nie zależą od dostępności struktury trójwymiarowej białka. DeepDTA, PADME, WideDTA i DeepAffinity to tylko niektóre metody DL stosowane do pomiaru DTBA. DeepDTA akceptuje dane dotyczące leków w formie tekstowego zapisu struktur chemicznych, czyli SMILES (ang. *Simplified Molecular Input Line Entry System*), gdzie sekwencje aminokwasów wprowadza się jako dane wejściowe dotyczące białka i dla reprezentacji jednowymiarowej struktury leku. WideDTA to metoda DL oparta na sieciach neuronowych konwolucyjnych (ang. *convolutional neural network* – CNN), która uwzględnia SMILES ligandu, sekwencje aminokwasów oraz domeny i motywy białka jako dane wejściowe do oceny DTBA [17].

Predykcja właściwości fizykochemicznych

Właściwości fizykochemiczne leków, takie jak rozpuszczalność, stopień jonizacji i wewnętrzna przepuszczalność w dużym stopniu wpływają na ich właściwości farmakokinetyczne i rodzinę docelowych receptorów, dlatego ich uwzględnienie podczas projektowania nowych leków jest bardzo istotne. Sztuczna inteligencja może pomóc w predykcji właściwości fizykochemicznych potencjalnych leków.

Kumar et al. opracowali sześć modeli predykcyjnych opartych na AI, a dokładniej na maszynach wektorów nośnych (ang. *Support Vector Machines* – SVM), pulsujących sieciach neuronowych (ang. *Spiking Neural Networks* – SSNs), algorytmach k-najbliższych sąsiadów (ang. *K-Nearest Neighbors* - KNN), Liniowej

analizie dyskryminacyjnej (ang. *Linear discriminant analysis* – LDA), algorytmach probalistycznych sieci neuronowych (*probabilistic neural network* – PNN) i regresji metodą cząstkowych najmniejszych kwadratów (ang. *Partial Least Squares* – PLS). Badacze wykorzystali 745 związków do uczenia modeli. Następnie modele wykorzystano w 497 związkach do predykcji ich wchłaniania w pętłach jelitowych na podstawie parametrów obejmujących m.in. pole powierzchni cząsteczkowej, masę cząsteczkową, całkowitą liczbę wodoru, refrakcję molekularną, objętość cząsteczkową, całkowite pole powierzchni polarnej, wskaźnik rozpuszczalności i wiązania obrotowe. Autorzy udowodnili, że algorytmem o największej dokładności predykcji stopnia wchłaniania związków w jelitach jest SVM. We wnioskach Kumar et al. sugerują, że maszyny wektorów nośnych mogą być użyteczne na wstępnych etapach projektowania i opracowywania leków [18].

Predykcja toksyczności

Predykcja toksyczności dowolnej cząsteczki leku jest niezbędna, aby uniknąć skutków niepożądanych. Jako badania wstępne często stosuje się testy komórkowe *in vitro*, po których przeprowadza się badania na zwierzętach. Proces ten jest czasochłonny i kosztowny. Obecnie jest kilka narzędzi dostępnych, które mogą rozwiązać ten problem, takie jak LimTox admetSAR, Toxtree i pkCSM [19-22]. Zaawansowane podejścia oparte na sztucznej inteligencji poszukują podobieństw między związkami lub prognozują toksyczność związku na podstawie cech wejściowych. Konkurs o nazwie Tox21 Data Challenge zorganizowany przez Narodowy Instytut Zdrowia (NIH), Agencję Ochrony Środowiska (EPA) i amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) był inicjatywą mającą na celu ocenę kilku technik obliczeniowych w celu predykcji toksyczności 12707 związków i leków środowiskowych. Algorytm ML o nazwie DeepTox, zaprojektowany przez Mayr et al. przewyższał wszystkie inne metody, identyfikując cechy statyczne i dynamiczne w deskryptorach chemicznych cząsteczek, takie jak masa cząsteczkowa i siły Van der Waalsa, dzięki czemu mógł skutecznie przewidzieć toksyczność cząsteczki w oparciu o wstępnie zdefiniowane 2500 cech toksykoforów [23].

Predykcja docelowej struktury białka

Narzędzie AI, AlphaFold, oparte na głębokich sieciach neuronowych (ang. *deep neural network* – DNN), wykorzystano do analizy odległości między

sąsiadującymi aminokwasami i odpowiadającymi im kątami wiązań peptydowych w celu predykcji docelowej struktury białka 3D i wykazało doskonałe wyniki poprzez prawidłową predykcję 25 z 43 struktur [24].

W badaniu przeprowadzonym przez AlQurashi, autor wykorzystał rekurencyjne sieci neuronowe (ang. recurrent neural networks – RNN) do predykcji struktury białka. Opracowano trzyetapowy model o nazwie rekurencyjna sieć geometryczna (ang. *recurrent geometric network* - RGN), obejmujący obliczenia, geometrię i końcową ocenę. Wynik był generowany w formie struktury 3D białka. AlQurashi w dyskusji twierdzi, że jego metoda oparta na RNN będzie szybsza niż AlphaFold pod względem czasu potrzebnego na przewidywanie struktury białka [25]. Jednak AlphaFold prawdopodobnie charakteryzuje się większą dokładnością w predykcji struktur białek.

Predykcja interakcji lek-białko

Interakcje lek-białko odgrywają kluczową rolę w efektywnej terapii farmakologicznej. Przewidywanie interakcji leku z receptorem lub białkiem jest niezbędne do zrozumienia jego skuteczności, efektywności, a także potencjalnych działań niepożądanych.

W ostatnich latach wykonano wiele badań, w których testowano różne metody sztucznej inteligencji w celu dokładnej predykcji interakcji ligand-białko co skutkowałoby zapewnieniem lepszej skuteczności terapeutycznej [26-28]. Wang et al. opisali model wykorzystujący SVM, który został wytrenowany na 15 000 interakcji białko-ligand. W efekcie odkryto dziewięć nowych związków i ich interakcje z czterema kluczowymi białkami docelowymi [29].

Yu et al. przedstawili systematyczne podejście, które skutecznie integruje informacje chemiczne, genomyczne i farmakologiczne na potrzeby predykcji interakcji lek-cel w oparciu o dwie metody sztucznej inteligencji: losowego lasu decyzyjnego (ang. *Random Forest* - RF) i SVM. Wydajność uzyskanych modeli oceniono i zweryfikowano za pomocą pięciokrotnej wewnętrznej walidacji krzyżowej i czterech niezależnych walidacji zewnętrznych. Optymalne modele wykazują imponującą skuteczność przewidywania interakcji lek-cel, ze zgodnością 82,83%, czułością 81,33% i swoistością 93,62% [30].

WYKORZYSTANIE AI W AUTOMATYZACJI PROCESÓW PRODUKCYJNYCH I KONTROLI JAKOŚCI

Automatyzacja procesów produkcyjnych w przemyśle farmaceutycznym odgrywa kluczową rolę w zapewnieniu wysokiej jakości leków, bezpieczeństwa i wydajności. W tym kontekście sztuczna inteligencja (AI) staje się coraz bardziej istotnym narzędziem, oferując szeroki wachlarz możliwości automatyzacji i optymalizacji. Jednym z kluczowych obszarów zastosowania AI w automatyzacji procesów produkcyjnych jest analiza danych i kontrola jakości. Sztuczna inteligencja może analizować ogromne ilości danych generowanych w czasie rzeczywistym przez procesy produkcyjne, identyfikując wzorce i anomalie, które mogą wskazywać na potencjalne problemy. Systemy AI mogą analizować obrazy i dane z czujników w celu monitorowania parametrów procesu, takich jak temperatura, ciśnienie i przepływ, w celu zapewnienia zgodności z normami i specyfikacjami. Algorytmy uczenia maszynowego mogą identyfikować wzorce w danych w celu predykcji awarii i problemów z jakością, umożliwiając profilaktyczne działania konserwacyjne. Systemy oparte na AI mogą optymalizować planowanie produkcji i harmonogramy, uwzględniając dostępność surowców, moce przerobowe i terminy realizacji zamówień [31, 32].

WYZWANIA I OGRANICZENIA

Wprowadzenie sztucznej inteligencji do przemysłu farmaceutycznego wiąże się z istotnymi wyzwaniami, takimi jak złożoność regulacji związanych z bezpieczeństwem leków, potrzeba integracji danych z różnych źródeł, konieczność zapewnienia transparentności algorytmów decyzyjnych, a także zagadnienia etyczne związane z odpowiedzialnym wykorzystaniem danych pacjentów [33].

Złożoność regulacji związanych z bezpieczeństwem leków w kontekście wprowadzenia sztucznej inteligencji obejmuje kilka kluczowych aspektów. Agencje regulacyjne muszą dostosować istniejące ramy prawne do uwzględnienia specyficznych wyzwań związanych z wykorzystaniem algorytmów i systemów sztucznej inteligencji w procesie tworzenia i monitorowania leków. Konieczne jest również opracowanie jasnych wytycznych dotyczących bezpieczeństwa i skuteczności algorytmów AI, aby zapewnić, że procesy te są zgodne z najwyższymi standardami medycznymi [34].

Dodatkowo, regulacje muszą uwzględniać dynamiczny charakter sztucznej inteligencji, która może ewoluować i dostosowywać się w trakcie użytkowania.

To wymaga elastyczności i zdolności do szybkiego reagowania na zmiany, zarówno ze strony producentów leków, jak i agencji regulacyjnych. Ponadto, konieczność zapewnienia odpowiedniej transparentności w działaniu algorytmów oraz dostępności danych, na których są one oparte, stanowi dodatkowe wyzwanie, zwłaszcza w kontekście poufności informacji medycznych pacjentów [35].

W rezultacie, skomplikowane struktury regulacyjne muszą być dostosowane do nowoczesnych technologii, aby umożliwić innowacje w dziedzinie farmaceutycznej przy jednoczesnym zapewnieniu bezpieczeństwa, skuteczności i zgodności z normami etycznymi.

Inne wyzwania uniemożliwiające pełne przyjęcie sztucznej inteligencji w przemyśle farmaceutycznym to brak wykwalifikowanego personelu do obsługi platform opartych na sztucznej inteligencji oraz ograniczony budżet organizacji działających w przemyśle farmaceutycznym.

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach wpływ sztucznej inteligencji na przemysł farmaceutyczny, w szczególności na procesy odkrywania i opracowywania leków, jest coraz bardziej zauważalny. W kontekście odkrywania nowych leków, AI wspomaga proces projektowania poprzez analizę dużych zbiorów danych biologicznych i chemicznych, przyspieszając tym samym proces badawczy. Dodatkowo, AI umożliwia predykcję właściwości fizykochemicznych, bioaktywności, toksyczności leków, identyfikację struktury białka docelowego oraz interakcji lek-białko. Ponadto sztuczna inteligencja może również pomóc w automatyzacji procesów produkcyjnych poprzez analizę danych, monitorowanie parametrów procesu oraz optymalizację planowania produkcji. Jednakże, wprowadzenie AI do przemysłu farmaceutycznego wiąże się z szeregiem wyzwań, takich jak konieczność dostosowania regulacji prawnych, zapewnienia transparentności działania algorytmów oraz braku wykwalifikowanego personelu. Pomimo tych wyzwań, potencjał sztucznej inteligencji w naukach farmaceutycznych jest bardzo obiecujący.

REFERENCJE

- [1] Koski E, Murphy J. AI in Healthcare. *Stud Health Technol Inform.* 2021;284:295-299. doi:10.3233/SHTI210726A
- [2] Jiang F, Jiang Y, Zhi H, et al. Artificial intelligence in healthcare: past, present and future. *Stroke Vasc Neurol.* 2017;2(4):230-243. Published 2017 Jun 21. doi:10.1136/svn-2017-000101
- [3] Sahu A, Mishra J, Kushwaha N. Artificial Intelligence (AI) in Drugs and Pharmaceuticals. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2022;25(11):1818-1837. doi:10.2174/1386207325666211207153943A
- [4] Stokes JM, Yang K, Swanson K, et al. A Deep Learning Approach to Antibiotic Discovery [published correction appears in *Cell.* 2020 Apr 16;181(2):475-483]. *Cell.* 2020;180(4):688-702.e13. doi:10.1016/j.cell.2020.01.021
- [5] IBM. Artificial Intelligence in Medicine | IBM. www.ibm.com. Published 2020. <https://www.ibm.com/topics/artificial-intelligence-medicine>
- [6] Larsen M, Olstad CF, Lee CI, et al. Performance of an AI System for Breast Cancer Detection on Screening Mammograms from BreastScreen Norway. *Radiology Artificial intelligence.* Published online April 10, 2024. doi:<https://doi.org/10.1148/ryai.230375>
- [7] Elendu C, Amaechi DC, Elendu TC, et al. Ethical implications of AI and robotics in healthcare: A review. *Medicine (Baltimore).* 2023;102(50):e36671. doi:10.1097/MD.00000000000036671
- [8] Danaeifar M, Najafi A. Artificial Intelligence and Computational Biology in Gene Therapy: A Review. *Biochem Genet.* Published online April 18, 2024. doi:10.1007/s10528-024-10799-1
- [9] Zhou S-F, Zhong W-Z. Drug Design and Discovery: Principles and Applications. *Molecules.* 2017; 22(2):279. <https://doi.org/10.3390/molecules22020279>
- [10] Zhang L, Tan J, Han D, Zhu H. From machine learning to deep learning: progress in machine intelligence for rational drug discovery. *Drug Discov Today.* 2017;22(11):1680-1685. doi:10.1016/j.drudis.2017.08.010

- [11] Vemula D, Jayasurya P, Sushmitha V, Kumar YN, Bhandari V. CADD, AI and ML in Drug Discovery: A Comprehensive Review. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Published online November 2022;106324. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106324>
- [12] Del Carmen Quintal Bojórquez N, Campos MRS. Traditional and Novel Computer-Aided Drug Design (CADD) Approaches in the Anticancer Drug Discovery Process. *Curr Cancer Drug Targets*. 2023;23(5):333-345. doi:10.2174/1568009622666220705104249
- [13] Vamathevan J, Clark D, Czodrowski P, et al. Applications of machine learning in drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(6):463-477. doi:10.1038/s41573-019-0024-5
- [14] Gupta R, Srivastava D, Sahu M, Tiwari S, Ambasta RK, Kumar P. Artificial intelligence to deep learning: machine intelligence approach for drug discovery. *Mol Divers*. 2021;25(3):1315-1360. doi:10.1007/s11030-021-10217-3
- [15] Shim J, Hong ZY, Sohn I, Hwang C. Prediction of drug-target binding affinity using similarity-based convolutional neural network. *Sci Rep*. 2021;11(1):4416. Published 2021 Feb 24. doi:10.1038/s41598-021-83679-y
- [16] Öztürk H, Özgür A, Ozkirimli E. DeepDTA: deep drug-target binding affinity prediction. *Bioinformatics*. 2018;34(17):i821-i829. doi:10.1093/bioinformatics/bty593
- [17] Nag S, Baidya ATK, Mandal A, et al. Deep learning tools for advancing drug discovery and development. *3 Biotech*. 2022;12(5):110. doi:10.1007/s13205-022-03165-8
- [18] Kumar R, Sharma A, Siddiqui MH, Tiwari RK. Prediction of Human Intestinal Absorption of Compounds Using Artificial Intelligence Techniques. *Curr Drug Discov Technol*. 2017;14(4):244-254. doi:10.2174/1570163814666170404160911
- [19] Cañada A, Capella-Gutierrez S, Rabal O, Oyarzabal J, Valencia A, Krallinger M. LimTox: a web tool for applied text mining of adverse event and toxicity associations of compounds, drugs and genes. *Nucleic Acids Res*. 2017;45(W1):W484-W489. doi:10.1093/nar/gkx462

- [20] Yang H, Lou C, Sun L, et al. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics*. 2019;35(6):1067-1069. doi:10.1093/bioinformatics/bty707
- [21] Contrera JF. Validation of Toxtree and SciQSAR in silico predictive software using a publicly available benchmark mutagenicity database and their applicability for the qualification of impurities in pharmaceuticals. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2013;67(2):285-293. doi:10.1016/j.yrtph.2013.08.008
- [22] Pires DE, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J Med Chem*. 2015;58(9):4066-4072. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00104
- [23] Yang X, Wang Y, Byrne R, Schneider G, Yang S. Concepts of Artificial Intelligence for Computer-Assisted Drug Discovery. *Chem Rev*. 2019;119(18):10520-10594. doi:10.1021/acs.chemrev.8b00728
- [24] Paul D, Sanap G, Shenoy S, Kalyane D, Kalia K, Tekade RK. Artificial intelligence in drug discovery and development. *Drug Discov Today*. 2021;26(1):80-93. doi:10.1016/j.drudis.2020.10.010
- [25] AlQuraishi M. End-to-End Differentiable Learning of Protein Structure. *Cell Syst*. 2019;8(4):292-301.e3. doi:10.1016/j.cels.2019.03.006
- [26] Tian K, Shao M, Wang Y, Guan J, Zhou S. Boosting compound-protein interaction prediction by deep learning. *Methods*. 2016;110:64-72. doi:10.1016/j.ymeth.2016.06.024
- [27] Tsubaki M, Tomii K, Sese J. Compound-protein interaction prediction with end-to-end learning of neural networks for graphs and sequences. *Bioinformatics*. 2019;35(2):309-318. doi:10.1093/bioinformatics/bty535
- [28] Wei L, Long W, Wei L. MDL-CPI: Multi-view deep learning model for compound-protein interaction prediction. *Methods*. 2022;204:418-427. doi:10.1016/j.ymeth.2022.01.008
- [29] Wang F, Liu D, Wang H, et al. Computational screening for active compounds targeting protein sequences: methodology and experimental validation. *J Chem Inf Model*. 2011;51(11):2821-2828. doi:10.1021/ci200264h

- [30] Yu H, Chen J, Xu X, et al. A systematic prediction of multiple drug-target interactions from chemical, genomic, and pharmacological data. *PLoS One*. 2012;7(5):e37608. doi:10.1371/journal.pone.0037608
- [31] Transforming pharmaceutical manufacturing: The AI revolution. *European Pharmaceutical Review*. <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/article/190733/transforming-pharmaceutical-manufacturing-the-ai-revolution/>
- [32] Vora LK, Gholap AD, Jetha K, Thakur RRS, Solanki HK, Chavda VP. Artificial Intelligence in Pharmaceutical Technology and Drug Delivery Design. *Pharmaceutics*. 2023;15(7):1916. Published 2023 Jul 10. doi:10.3390/pharmaceutics15071916
- [33] Murphy K, Di Ruggiero E, Upshur R, Willison DJ, Malhotra N, Cai JC, Malhotra N, Lui V, Gibson J. Artificial intelligence for good health: a scoping review of the ethics literature. *BMC Med Ethics*. 2021 Feb 15;22(1):14. doi: 10.1186/s12910-021-00577-8. PMID: 33588803; PMCID: PMC7885243
- [34] Keskinbora KH. Medical ethics considerations on artificial intelligence. *J Clin Neurosci*. 2019 Jun;64:277-282. doi: 10.1016/j.jocn.2019.03.001. Epub 2019 Mar 14. PMID: 30878282
- [35] Banavar, Guruduth. "Learning to trust artificial intelligence systems." Report, IBM, Armonk, NY (2016)

SZTUCZNA INTELIGENCJA W DERMATOLOGII, CZY TO MOŻE SIĘ UDAĆ?

Agata Sokołowska, Aneta Rasińska, Martyna Szczepanik, Paulina Redel

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Sztuczna inteligencja (AI) to dziedzina informatyki, która tworzy systemy komputerowe naśladujące ludzką inteligencję. W ostatnich dekadach, dzięki rozwojowi mocy obliczeniowej i ulepszeniom sprzętu oraz oprogramowania, potencjał AI w medycynie znacznie wzrósł. Wirtualna AI obejmuje elektroniczne rejestry zdrowotne, obrazowanie medyczne i wsparcie lekarzy w diagnozowaniu, a fizyczna AI to roboty asystujące w salach operacyjnych. AI jest używana w różnych dziedzinach medycyny, w tym w dermatologii, gdzie pomaga w rozpoznawaniu chorób skórnych, w tym raka skóry. Badania wykazują, że AI osiąga porównywalne wyniki z dermatologami w diagnozowaniu nowotworów skóry. Oprócz tego, AI może dostosowywać zalecenia leczenia, uwzględniając dane pacjentów. Inne zastosowania AI obejmują charakteryzację stanów skórnych takich jak łuszczyca i przewlekłe rany. Powstaje też coraz więcej aplikacji wykorzystujących technologię AI do wstępnej diagnozy chorób skórnych. W dziedzinie dermatopatologii, sztuczna inteligencja może być wykorzystywana do analizy mikroskopowych obrazów zmian skórnych, gdzie badania wskazują na wysoką dokładność algorytmów uczenia maszynowego w rozpoznawaniu różnych chorób skórnych, porównywalną z dermatologami. Pomimo obiecujących możliwości, integracja AI w praktykę dermatologiczną niesie ze sobą pewne wyzwania związane z dokładnością, wszechstronnością i zależnością od danych wejściowych. Wszystkie wymienione zastosowania, korzyści i komplikacje związane z wykorzystaniem AI w dermatologii są dalej omawiane w niniejszym artykule.

Słowa kluczowe: AI, choroby skóry, dermatologia, sztuczna inteligencja

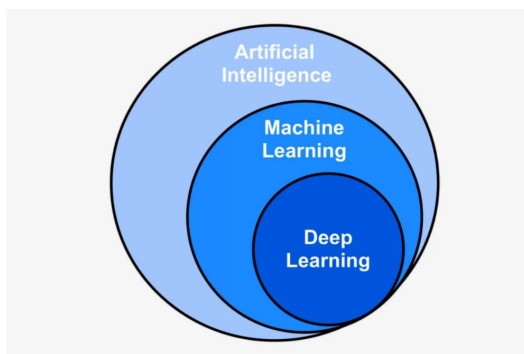
Abstract: Artificial intelligence (AI) is a field of computer science that develops computer systems mimicking human intelligence. In recent decades, due to advancements in computational power and improvements in hardware and software, the potential of AI in medicine has significantly increased. Virtual AI encompasses electronic health records, medical imaging, and support for physicians in diagnosis, while physical AI includes robots assisting in operating rooms. AI is utilized in various medical fields, including dermatology, where it aids in the recognition of skin diseases, including skin cancer. Studies show that AI achieves comparable results to dermatologists in diagnosing skin tumors. Additionally, AI can tailor treatment recommendations, taking into account patient data. Other applications of AI include characterizing skin conditions such as psoriasis and chronic wounds. Furthermore, there is a growing number of applications utilizing AI technology for preliminary diagnosis of skin diseases. In the field of dermatopathology, artificial

intelligence can be used to analyze microscopic images of skin lesions, with research indicating high accuracy of machine learning algorithms in recognizing various skin diseases comparable to dermatologists. Despite promising capabilities, the integration of AI into dermatological practice presents certain challenges related to accuracy, versatility, and dependency on input data. All mentioned applications, benefits, and complications associated with the use of AI in dermatology are further discussed in this paper.

Keywords: AI, artificial intelligence, dermatology, skin diseases

WPROWADZENIE

Sztuczna inteligencja (AI – artificial intelligence) to dziedzina informatyki, która odnosi się do rozwoju dużych modeli językowych w systemach komputerowych, które wykonują zadania wymagające ludzkiej inteligencji. Ma na celu wykorzystanie algorytmów i modeli do symulowania ludzkich funkcji poznawczych, rozpoznawania wzorców, uczenia się, rozumowania, komunikacji i podejmowania decyzji [1]. Sztuczna inteligencja została po raz pierwszy zdefiniowana na słynnej konferencji w Dartmouth College w 1956 roku [2]. W latach 70 badacze medyczni odkryli zastosowanie AI w naukach medycznych [3]. W 1976 roku Gunn jako pierwszy z powodzeniem zbadał zastosowanie technologii sztucznej inteligencji w chirurgii, analizując możliwość diagnozowania ostrego bólu brzucha za pomocą analizy komputerowej [4]. Jednak na tamten czas słabo rozwinięta technologia hamowała szerokie możliwości wykorzystania sztucznej inteligencji. Rozwój mocy obliczeniowej w ostatnich dekadach, dzięki ulepszeniom w sprzęcie komputerowym i oprogramowaniu ujawnił potencjał AI do ulepszania obecnych praktyk medycznych. Na dzień dzisiejszy urządzenia AI używane w medycynie dzielą na dwie kategorie. Pierwsza obejmuje techniki uczenia maszynowego (ML – machine learning) (rycina 1.), Uczenie maszynowe to podzbiór sztucznej inteligencji, który opiera się na tworzeniu modeli komputerowych zdolnych do samodzielnego uczenia się, podejmowania decyzji i przewidywania rezultatów na podstawie dostarczonych danych. Takie modele nieustannie doskonalą swoją dokładność dzięki danym, które analizują [5]. Druga kategoria obejmuje metody przetwarzania języka naturalnego (NLP – natural language processing), które wyodrębniają informacje z nieustrukturyzowanych danych, takich jak notatki kliniczne lub czasopisma medyczne, a następnie uzupełniają i wzbogacają bazy danych. Procedury NLP mają na celu przekształcanie tekstów w dane strukturalne, które mogą być następnie analizowane przez techniki ML [6].



Rycina 1. Na rycinie przedstawiono schematycznie hierarchie sztucznej inteligencji oraz jej poddziedzin: uczenia maszynowego i głębokiego uczenia [7]

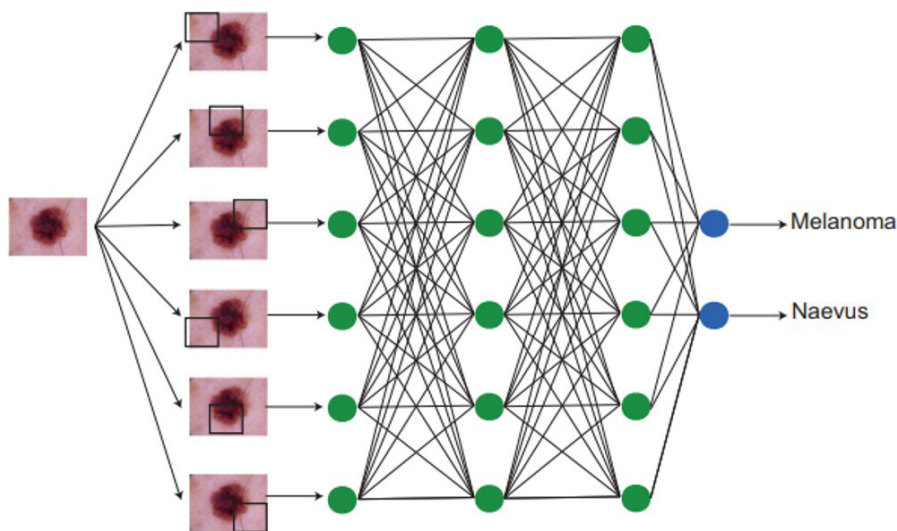
Sztuczna inteligencja znajduje coraz więcej zastosowań w wielu dziedzinach medycyny, takich jak chirurgia [8], kardiologia [9], czy anestezjologia [10]. Coraz więcej mówi się też o zastosowaniach sztucznej inteligencji w dermatologii. AI staje się potężnym narzędziem dla dermatologów, dzięki swojej zdolności do efektywnego rozpoznawania wzorców i cech chorób dermatologicznych, przykładowo we wspomaganiu wczesnego wykrywania raka skóry. Wstępne badania prowadzone do tej pory wykazały, że sztuczna inteligencja osiąga wyniki porównywalne z dermatologami w klasyfikacji raków skóry [11,12]. AI może również personalizować zalecenia dotyczące leczenia, wykorzystując dane pacjentów, w tym historię medyczną, objawy i wyniki leczenia [13]. Dodatkowe zastosowania AI obejmują charakteryzację stanów skórnych, takich jak owrzodzenia [14] i autoimmunologiczne zapalne dermatozy, np. łuszczyca [15], oraz chirurgiczne leczenie schorzeń dermatologicznych [16]. Celem tej pracy jest omówienie aktualnych perspektyw na stosowanie sztucznej inteligencji w dermatologii, jak również zwrócenie uwagi na trudności związane z zastosowaniem rozwiązań opartych na sztucznej inteligencji w tej praktyce klinicznej.

AI W WYKRYWANIU I KLASYFIKACJI RAKA SKÓRY

Rak skóry, w tym czerniak i rak kolczystokomórkowy, to najczęściej występujący typ raka w populacji kaukaskiej, a jego zachorowalność rośnie na całym świecie [17]. Sztuczna inteligencja znajduje swoje zastosowanie głównie w przypadku czerniaka, ponieważ jego wczesne wykrycie jest kluczowe dla rokowania pacjentów. Szacowana pięcioletnia przeżywalność w przypadku czerniaka spada z ponad 99% w przypadku wykrycia go w najwcześniejszych stadiach do około

14% w najpóźniejszych stadiach [18]. Na ten moment powstaje coraz więcej badań wskazujących na korzystny potencjał w wykorzystaniu AI jako narzędzia wstępnej diagnozy i klasyfikacji raka skóry, co może w przyszłości zredukować liczbę śmiertelnych przypadków oraz ułatwić pacjentom uzyskanie szybszej pomocy w zakresie diagnostyki i leczenia tych nowotworów.

Pierwsze publikacje naukowe opisujące wykorzystanie technologii komputerowej do nieinwazyjnej diagnostyki nowotworów skóry zaczęły pojawiać się pod koniec lat 2000, co zostało udokumentowane w publikacji Maglogiannisa i Doukasa [19]. Przełom nastąpił w 2017, kiedy Esteva i in. [18] opisali testowanie sieci neuronowej głębokiego uczenia (CNN - convolutional neural network) do klasyfikacji obrazowej. CNN to rodzaj ML, który symuluje przetwarzanie biologicznych neuronów i jest najnowocześniejszą siecią do rozpoznawania wzorców w analizie obrazów medycznych (rycina 2.). W tym przypadku CNN nie był ograniczony przez ręcznie wykonane kryteria segmentacji, jak we wcześniejszych pracach [20,21], lecz rozkładała obrazy cyfrowe do poziomu pikseli i tworzyła własne wskazówki diagnostyczne.



Rycina 2. Na rycinie przedstawiono schemat ilustrujący wykonywanie zadań klasyfikacyjnych w sieciach neuronowych głębokiego uczenia (CNN) [22]

Inne prace również potwierdzają wyższą skuteczność AI przy wykorzystaniu technologii CNN. W badaniu przeprowadzonym w 2018 Haenssle i in. użyli zestawu danych dermoskopowych, zawierającego ponad sto tysięcy zdjęć łagodnych zmian skórnych i czerniaków, aby wytrenować algorytm głębokiego uczenia

i porównali jego wyniki z 58 dermatologami. W pierwszym etapie diagnozowania używano tylko dermoskopii, podczas gdy w drugim do dermoskopii dodano informacje kliniczne i zdjęcia pacjentów. Na pierwszym poziomie dermatolodzy osiągnęli swoistość 71,3%, na poziomie drugim wzrosła do 75,7%. Krzywa ROC głębokiego uczenia CNN wykazała znacznie wyższą swoistość niż u dermatologów na poziomie pierwszym ($p < 0,01$), oraz poziomie II ($p < 0,01$). W tym badaniu CNN przewyższyło większość dermatologów, sugerując obiecującą przyszłość dla wykrywania czerniaka przy pomocy obrazów dermoskopowych [11]. Podobnie korzystne predykcje dla wykorzystania AI w diagnostyce i klasyfikacji czerniaka wykazuje coraz więcej badań [23-27]. Inne artykuły badawcze wykazały bardzo dobre wyniki w użyciu AI do klasyfikacji raka skóry innego niż czerniak w porównaniu z łagodnymi i przednowotworowymi zmianami, z różną skutecznością między różnymi systemami sztucznej inteligencji [28,29].

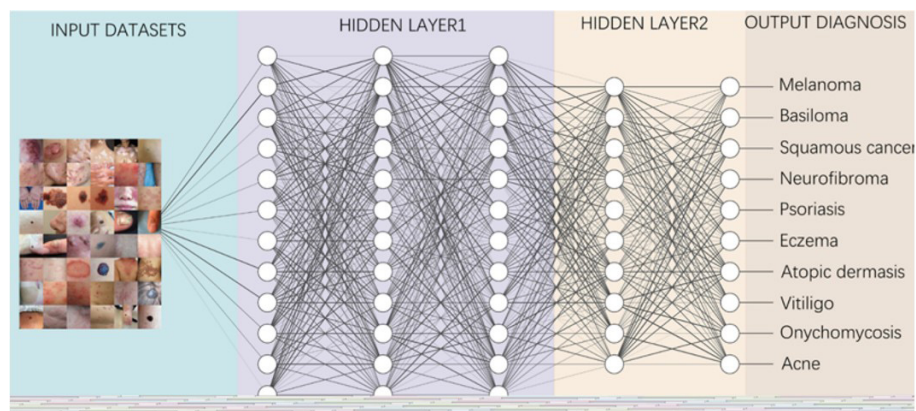
Aplikacje na smartfony jako narzędzie ułatwiające diagnozę raka skóry

Ze względu na wysoką częstość występowania nowotworów skóry, coraz więcej osób wymaga szybkiej diagnozy i stałego monitorowania, co może powodować duże obciążenie dla specjalistów. Sytuację można złagodzić poprzez polepszanie technik samokontroli pacjentów i wykorzystanie systemów wspomaganie decyzji przez mniej doświadczonych lekarzy. Diagnoza przy użyciu sztucznej inteligencji jest obiektywna, nie mają na nią wpływu czynniki zewnętrzne, natomiast diagnoza dokonywana przez dermatologa jest ściśle związana z subiektywnymi obserwacjami i podlega wpływom czynników zewnętrznych. Jeśli zastosuje się odpowiednie regulacje, wykorzystanie AI do wykrywania i monitorowania postępu raka skóry, może to doprowadzić do zmniejszenia liczby biopsji [30]. Włączenie AI do aplikacji na smartfony może też nauczyć ludzi, jak przeprowadzać badania skóry i przysyłać informacje do lekarza. W ostatnich latach aplikacje na smartfony powszechnie dostępne do diagnozowania czerniaka. Jeśli są skuteczne, mogą potencjalnie zapewnić natychmiastową ocenę ryzyka złośliwości i podjęcie dalszych działań, istnieje jednak ryzyko, że czerniaki zostaną pominięte, a leczenie opóźnione, jeśli aplikacja błędnie stwierdzi, że zmiana jest niskiego ryzyka [31]. W badaniu oceniającym dokładność diagnostyczną aplikacji na smartfony w celu wykluczenia naciekającego czerniaka skóry i nietypowych wewnątrzskórkowych wariantów melanocytarnych u dorosłych z podejrzanymi zmianami skórnymi [32]. Przeanalizowano cztery aplikacje na smartfony z AI, z których jedna klasyfikowała zmiany skórne jako czerniaki, reszta natomiast jako zmiany

wysokiego ryzyka lub zmiany „problemowe”. Czułość tych aplikacji wyniosła od 7% do 73%, a swoistość od 37% do 94%, co dowiodło, że w obecnym stanie te aplikacje mogą pomijać czerniaki i są potencjalnie niebezpieczne, ponieważ dają fałszywe poczucie bezpieczeństwa u użytkowników, jednakże jest potencjał na przyszłe sukcesy w zakresie stosowania takich aplikacji.

INNE CHOROBY SKÓRY

Badania prowadzone w temacie używania AI w dermatologii są prowadzone głównie nad rakiem skóry, jednakże coraz więcej badaczy interesuje się też zastosowaniem sztucznej inteligencji w szerszym zakresie schorzeń dermatologicznych. W 2020 roku Liu i in. opublikowali wyniki szkolenia sieci neuronowej do diagnozowania 26 najczęstszych schorzeń skóry, porównując dokładność sztucznej inteligencji do certyfikowanych dermatologów, lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej i pielęgniarek. Algorytm sztucznej inteligencji prawidłowo zdiagnozował 66% przypadków, gdzie u praktykujących medyków było to kolejno 63% u dermatologów, 44% u lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej, a u pielęgniarek zaledwie 40%. Przy przeprowadzaniu diagnozy różnicowej uwzględniającej trzy najbardziej prawdopodobne diagnozy, dokładność sztucznej inteligencji osiągnęła 90%, znacznie przewyższając dermatologów (75%) [33]. Podejmowane są też próby połączenia dermatoskopii z metodami uczenia maszynowego w celu poprawy dokładności diagnozy takich schorzeń jak trądzik różowaty i inne choroby zapalne skóry twarzy [34]. Podobnie jak w raku skóry, system diagnozy i klasyfikacji innych schorzeń dermatologicznych opiera się na sieciach głębokiego uczenia się (rycina 3.)



Rycina 3. Na rycinie przedstawiono hierarchię wdrażania sztucznej inteligencji w rozpoznawaniu zmian skórnych [35]

Istotne staje się też szkolenie dermatologów w różnych aspektach dermatologii. W Polsce stworzono symulator medyczny TutorDerm, który docelowo będzie służył do poszerzania szerokiego zakresu umiejętności dermatologicznych, na dzień dzisiejszy jest narzędziem do nauki laseroterapii dermatologicznej [36].

Rany przewlekłe

W przypadku przewlekłych ran podjęto próby oceny tempa gojenia się przy użyciu AI, jednak na ten moment jest ciężko wykorzystać AI w ocenie skuteczności interwencji terapeutycznych. Podejmowane były próby wykorzystania przetwarzania obrazów i metod wizji maszyny do określenia powierzchni rany [37,38]. Zastosowano też aktywny kontur, statystyczny kolor i model kolorów Bayesa do wykrycia obrysu rany [39]. Metody te wykazały wysoką dokładność segmentacji dla obrazów o zróżnicowanych tonacjach skóry, ale niską wydajność przy homogenicznych tonacjach skóry. Jedno z badań w tym temacie [40] zidentyfikowało powierzchnię, wykrywanie infekcji i przewidywanie tempa gojenia się za pomocą głęboko uczonej sieci neuronowej.

Łuszczyca

W ostatnim czasie dokonano również znaczących postępów w zastosowaniu algorytmów sztucznej inteligencji do identyfikacji i klasyfikacji łuszczycy. Te algorytmy jak we wcześniej wspomnianych schorzeniach wykazują wydajność porównywalną lub przewyższającą wyniki dermatologów. Przeprowadzono serię badań [41-43] mających na celu identyfikację zmian łuszczykowych, gdzie użyto ML, oraz analizy głównych składowych (PCA - principal component analysis) do selekcji cech dominujących w skórze, a następnie poddania ich klasyfikacji opartej na maszynach wektorów wspierających (SVM - support vector machine). Sklasyfikowano 540 obrazów skóry, oddzielając obrazy tkanek zdrowych i zmienionych chorobowo, uzyskując dokładność klasyfikacji na poziomie 100%. Opracowano też różne systemy diagnostyki wspomaganą komputerowo do klasyfikacji obrazów i określania poziomu ryzyka łuszczycy [44], oraz zaprojektowano modele predykcyjne ML do określania odpowiedzi na leczenie biologiczne w przypadku łuszczycy oraz do rozróżnienia łuszczycy od łuszczykowego zapalenia stawów za pomocą markerów genetycznych [45,46].

Sztucznej inteligencji użyto też do identyfikacji i rozróżnienia grupy chorób (łuszczyca, łupież pstry, liszaj płaski, liszajec różowy, przewlekłe zapalenie skóry,

łuszczyca rumieniowa). AI poradziło sobie lepiej niż analizowane algorytmy klasyfikacyjne [47]. Dodatkowo, wykorzystując system obrazowania wielospektralnego oparty na użyciu smartfonu, łupież pstry i łuszczyca skóry głowy pacjentów mogły być rozróżniane z wrażliwością wynoszącą od 65% do 75% i specyficznością od 70% do 80%, umożliwiając pacjentom samodzielną kontrolę i samodiagnostykę obszarów dotkniętych chorobą przy użyciu smartfonów [48].

Aplikacje na smartfony jako narzędzie do wykrywania chorób skórnych

W 2018 roku stworzono sieć neuronową Skinive. Jest ona wykorzystywana w aplikacjach przeznaczonych dla przedstawicieli zawodów medycznych (Skinive MD App) i użytkowników prywatnych (Skinive App). W 2020 skierowano działania sieci na nienowotworowe choroby skóry, czyli te najtrudniejsze do rozpoznania przez sieć neuronową, ponieważ w przeciwieństwie do nowotworów skóry, mogą nie mieć określonych lokalizacji i obrazu klinicznego, który w wielu dermatozach jest łudząco podobny. W 2021 roku opcje diagnozy sieci neuronowej Skinive zostały rozbudowane o kolejne grupy chorób dermatologicznych: wirusowe i grzybicze zakażenia skóry oraz schorzenia takie jak łojotokowe zapalenie skóry i liszaj płaski. Udoskonalono także możliwości sieci do rozpoznawania trądziku i zakażeń skóry wywoływanych przez wirus HPV. Wydajność i skuteczność sieci neuronowej została potwierdzona przez przeprowadzone testy online (ponad 650 000 według stanu na październik 2022 roku). Jednocześnie rozpoznano prawie 43 000 przypadków trądziku, 2000 przypadków zakażeń grzybiczych skóry i ponad 11 000 przypadków zmian o wysokim ryzyku onkologicznym [49]. Wiele innych systemów jest dostępnych komercyjnie do wspomaganie diagnozy zmian barwnikowych skóry, w tym systemy ekspertów DANAOS, DBDermo-Mips, MoleAnalyser [50], oraz aplikacje na smartfony, takie jak SkinVision, DermaAid, Skin 10, MoleScope, które mają na celu przesiewowe badania i podstawową identyfikację zmian skórnych, oraz śledzenie zmian w pieprzykach na skórze [45]. Powstała też aplikacja stworzona przez zespół polskich dermatologów – mTrichoscopy. Jest to bezpłatna aplikacja, która uczy diagnozować stan skóry i włosów [51]. Zastosowanie takiej technologii daje perspektywy na szybszą i łatwiejszą diagnozę szerokiego spektrum chorób dermatologicznych w przyszłości.

SZTUCZNA INTELIGENCJA W DERMATOPATOLOGII

Koncepcja sztucznej inteligencji w dermatopatologii rozpoczęła się już w 1987 roku, kiedy to na osobistym komputerze użyto systemu opartego na tekście o nazwie TEGUMENT14. System ten został zaprojektowany do identyfikacji 986 diagnoz histopatologicznych za pomocą obrazów mikroskopowych i osiągnął dokładność diagnostyczną na poziomie 91,8% w porównaniu z dermatopatologiem [52], niestety w tamtym okresie, ze względu na brak technologii potrzebnej do przechwytywania obrazu całości preparatu mikroskopowego, koncepcja analizy obrazów niezależnej od człowieka została uznana za niepraktyczną. Jednak w obecnych czasach, jest to realna możliwość dla dokładnej klasyfikacji rutynowych diagnoz [53].

Przeprowadzono badanie, na potrzeby którego algorytmy głębokiego uczenia się zostały zaprojektowane do rozpoznawania obrazów całego preparatu mikroskopowego znamienia skórniego, rogowacenia łojotokowego i guza podstawnokomórkowego. Obrazy zostały rozłożone na piksele, a dane zostały przeanalizowane. W porównaniu do dokładności diagnostycznej mikroskopii świetlnej przez patologa, dokładność algorytmów głębokiego uczenia się wynosiła odpowiednio 99,3% dla znamiona skórniego, 99,5% dla guza podstawnokomórkowego i 100% dla rogowacenia łojotokowego [54].

Badania odnośnie możliwości stosowania sztucznej inteligencji a dermatopatologii są na ten moment nieliczne. W jednym z najbardziej obszernych wykorzystano zestaw ponad 2000 obrazów histopatologicznych do oceny dokładności dwóch architektur uczenia się AI w rozróżnianiu czerniaka od znamion. Uzyskano wysoką ogólną dokładność, w tym 92% wrażliwości i 94% swoistości [55]. Podobnie, Cruz-Roa et al. wykorzystali zestaw 1417 obrazów histopatologicznych do stworzenia systemu uczenia się AI, która rozróżnia rak podstawnokomórkowy od tkanki normalnej z dokładnością 91,4% [56]. Sztuczna inteligencja jako samodzielne narzędzie w dermatopatologii pozostaje na ten moment problematyczna, ponieważ konwolucyjne sieci neuronowe (CNN - convolutional neural networks) zostały opracowane w celu rozpoznania ograniczonego rodzaju zmian, takich jak znamię, rogowacenie łojotokowe i rak podstawnokomórkowy [53]. Większość zmian poddawanych biopsji w praktyce klinicznej nie mieści się w tak wąskich kategoriach. AI może w przyszłości spełniać rolę narzędzia pomocnego dla dermatopatologów. W miarę jak jej technologia będzie rozwijana, może być wykorzystywana do przeprowadzania wstępnych ocen, co może okazać się pomocne w sytuacjach w których występuje duża liczba preparatów i brak

odpowiedniej ilości wyszkolonych dermatopatologów. AI będzie umożliwiało w takiej sytuacji zapewnienie pacjentom diagnozy potencjalnie złośliwych zmian w odpowiednio szybkim czasie. Sukces tej technologii zależy od bliskiej współpracy między inżynierami, dermatologami, patologami i dermatopatologami [57].

OGRANICZENIA I KOMPLIKACJE W STOSOWANIU AI W DERMATOLOGII

Zanim sztuczna inteligencja zostanie wdrożona jako stały dodatek, lub nawet zastępstwo pracy dermatologów, istotne jest wyeliminowanie ograniczeń związanych z jej rozwojem. Algorytmy AI mogą być przydatne jako narzędzie pomocy w miejscach, gdzie brakuje dermatologów, jednak na dzień dzisiejszy trudno określić dokładność tych algorytmów, oraz ich możliwości działania bez nadzoru lekarza. Głównym ograniczeniem ML jest trudność w wyjaśnieniu, jak algorytmy dochodzą do swoich wniosków. Algorytm ML możemy porównać do czarnej skrzynki, która przyjmuje dane wejściowe i generuje wyniki bez wyjaśnienia, jak zostały one uzyskane, więc jeżeli algorytm błędnie zdiagnozuje złośliwą zmianę, nie jest on w stanie wyjaśnić, dlaczego wybrał właśnie taką diagnozę, co stwarza potencjalne niebezpieczeństwo dla pacjenta [45]. Dla CNN trudno jest wprowadzić systemy wyuczone z konkretnego zestawu danych do innych zestawów danych, co zostało już udokumentowane w przeszłości [58]. Istniejące dane mogą zawierać pewne wzorce, korelujące w danym badaniu z określonymi cechami, które CNN jest wytrenowany do przewidywania. Jeżeli w populacji ogólnej te wzorce nie korelują faktycznie z tymi cechami, jakość przewidywania jest ograniczona, a fałszywe korelacje wkradają się do algorytmu predykcyjnego [59]. Dodatkowo w stosowaniu ML jakość danych wejściowych determinuje jakość wyników, więc jeżeli te dane są źle oznaczone, wyniki algorytmu będą odzwierciedlać te nieścisłości [60]. Należy też pamiętać, że sieci neuronowe wymagają dużych ilości danych. Może to być problematyczne, gdy AI jest stosowane w przypadku choroby o niskiej częstości występowania, lub gdy dane są uogólniane w różnych populacjach. Większość programów uczenia maszynowego opiera się na danych pacjentów pochodzących z populacji o jasnej karnacji, więc mogą one działać gorzej na obrazach zmian skórnych u osób o ciemniejszej karnacji [61]. W porównaniu do AI, lekarze mają też znacznie więcej możliwości postawienia diagnozy. Przykładowo, wiele zmian dermatologicznych ulega rozwojowi w czasie, czego kontrola i analiza jest kluczowa dla diagnozy [62,63]. Lekarze mogą o taki rozwój zmiany zapytać pacjenta i obserwować przebieg w czasie, podczas gdy algorytmy

zazwyczaj działają na podstawie bieżącego wyglądu, ignorując dynamiczne różnice w zmianie na przestrzeni czasu [60]. Przed wprowadzeniem sztucznej inteligencji do stałej praktyki dermatologów należy też uregulować sytuację prawną w przypadku wystąpienia zdarzenia niepożądanego, spowodowanego złą decyzją podjętą przez AI. Odpowiedzialność w takich sytuacjach nadal pozostaje szarą strefą, którą należy rozwiązać [64]. Warto też wspomnieć, że opieka nad pacjentem nie ogranicza się tylko do diagnozy, algorytm nie jest w stanie zastąpić holistycznego, ludzkiego podejścia [65].

PODSUMOWANIE

Każda nowa technologia ma swoje zalety i wady. Sukces sztucznej inteligencji w dermatologii zależy od jej przyszłego rozwoju i doskonalenia. Obecny społeczny i prawny kontekst opieki zdrowotnej jest lepiej przygotowany do stopniowego włączania AI jako narzędzia wspomagającego decyzje lekarzy, zwłaszcza w poprawie podejmowania decyzji przez osoby niespecjalistyczne. Może się to okazać szczególnie użyteczne w usługach dermatologicznych ze względu na ciągle rosnące obciążenie rakiem skóry, jak i innymi schorzeniami dermatologicznymi. Ograniczenia w stosowaniu AI w dermatologii są bardzo wyraźne, ale biorąc pod uwagę szybki wzrost wydajności modeli sztucznej inteligencji i nieustannie spadającą liczbę lekarzy, integracja AI w opiekę zdrowotną może stać się kluczowa dla sprawnego funkcjonowania opieki medycznej w przyszłości. Nie można zapominać, że istnieje jeszcze kilka wyzwań, które trzeba rozwiązać. Konieczne jest przeprowadzenie większej liczby badań, aby stale zwiększać dowody na użyteczność sztucznej inteligencji. Ponadto, aby wspierać algorytmy ML w diagnozowaniu, powinny one być w stanie uwzględniać bardziej zróżnicowaną strukturę danych. Mało prawdopodobne jest, że AI zagrozi profesji lekarza i zastąpi specjalistów dermatologii w najbliższej przyszłości, jednak może ona stanowić okazję do osobistego uczenia się, poprawy usług i wyprzedzenia specjalistów, którzy będą przeciwni jej stosowaniu, co może być transformujące dla przyszłego systemu opieki zdrowotnej. Na podstawie sukcesów badań nad sztuczną inteligencją w innych krajach możemy przypuszczać, że jej przyszłość również w Polsce jest obiecująca, a dalsze badania i rozwój technologii będą kluczowe dla pełnego wykorzystania jej potencjału jako niesie ze sobą technologia AI. Z pewnością można stwierdzić, że rozpoczyna się nowa era w strefie dermatologii, jak i w szeroko pojętej medycynie.

REFERENCJE

- [1] Chen M, Decary M. Artificial intelligence in healthcare: An essential guide for health leaders. *Healthcare Management Forum*. 2020;33(1):10-18. doi:<https://doi.org/10.1177/0840470419873123>
- [2] Schlessinger DI, Chhor G, Gevaert O, Swetter SM, Ko J, Novoa RA. Artificial intelligence and dermatology: opportunities, challenges, and future directions. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*. 2019;38(1):E31-37. doi:<https://doi.org/10.12788/j.sder.2019>
- [3] Patel VL, Shortliffe EH, Stefanelli M, et al. The coming of age of artificial intelligence in medicine. *Artificial Intelligence in Medicine*. 2009;46(1):5-17. doi:<https://doi.org/10.1016/j.artmed.2008.07.017>
- [4] Ramesh A, Kambhampati C, Monson J, Drew P. Artificial intelligence in medicine. *Annals of The Royal College of Surgeons of England*. 2004;86(5):334-338. doi:<https://doi.org/10.1308/147870804290>
- [5] Kufel J, Bargieł-Łączek K, Kocot S, et al. What Is Machine Learning, Artificial Neural Networks and Deep Learning?—Examples of Practical Applications in Medicine. *Diagnostics*. 2023;13(15):2582. doi:<https://doi.org/10.3390/diagnostics13152582>
- [6] Murff HJ, FitzHenry F, Matheny ME, et al. Automated Identification of Postoperative Complications Within an Electronic Medical Record Using Natural Language Processing. *JAMA*. 2011;306(8). doi:<https://doi.org/10.1001/jama.2011.1204>
- [7] Jeffrey C. Explainer: What is Machine Learning? TechSpot. Published July 8, 2020.
- [8] Moglia A, Georgiou K, Georgiou E, Satava RM, Cuschieri A. A systematic review on artificial intelligence in robot-assisted surgery. *International Journal of Surgery*. 2021;95:106151. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2021.106151>
- [9] Lopez-Jimenez F, Attia Z, Arruda-Olson AM, et al. Artificial Intelligence in Cardiology: Present and Future. *Mayo Clinic Proceedings*. 2020;95(5):1015-1039. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.01.038>

- [10] Lonsdale H, Jalali A, Gálvez JA, Ahumada LM, Simpao AF. Artificial Intelligence in Anesthesiology. *Anesthesia & Analgesia*. 2020;130(5):1111-1113. doi:<https://doi.org/10.1213/ane.0000000000004751>
- [11] Haenssle HA, Fink C, Schneiderbauer R, et al. Man against machine: diagnostic performance of a deep learning convolutional neural network for dermoscopic melanoma recognition in comparison to 58 dermatologists. *Annals of Oncology*. 2018;29(8):1836-1842. doi:<https://doi.org/10.1093/annonc/mdy166>
- [12] Zakhem GA, Fakhoury JW, Motosko CC, Ho RS. Characterizing the role of dermatologists in developing artificial intelligence for assessment of skin cancer. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2021;85(6):1544-1556. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.01.028>
- [13] Patel S, Wang JV, Motaparthy K, Lee JB. Artificial intelligence in dermatology for the clinician. *Clinics in Dermatology*. Published online March 2021. doi:<https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2021.03.012>
- [14] Mukherjee R, Manohar DD, Das DK, Achar A, Mitra A, Chakraborty C. Automated Tissue Classification Framework for Reproducible Chronic Wound Assessment. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-9. doi:<https://doi.org/10.1155/2014/851582>
- [15] Shrivastava VK, Londhe ND, Sonawane RS, Suri JS. A novel and robust Bayesian approach for segmentation of psoriasis lesions and its risk stratification. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2017;150:9-22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2017.07.011>
- [16] Lim H, Lee DH, Cho M, et al. Comparison of Efficacy Between Novel Robot-Assisted Laser Hair Removal and Physician-Directed Hair Removal. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2015;33(10):509-516. doi:<https://doi.org/10.1089/pho.2015.3948>
- [17] Apalla Z, Lallas A, Sotiriou E, Lazaridou E, Ioannides D. Epidemiological trends in skin cancer. *Dermatology Practical & Conceptual*. 2017;7(2). doi:<https://doi.org/10.5826/dpc.0702a01>

- [18] Esteva A, Kuprel B, Novoa RA, et al. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. *Nature*. 2017;542(7639):115-118. doi:<https://doi.org/10.1038/nature21056>
- [19] Maglogiannis I, Doukas CN. Overview of Advanced Computer Vision Systems for Skin Lesions Characterization. *IEEE Transactions on Information Technology in Biomedicine*. 2009;13(5):721-733. doi:<https://doi.org/10.1109/titb.2009.2017529>
- [20] Fidalgo Barata A, Celebi E, Marques J. Improving Dermoscopy Image Classification Using Color Constancy. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*. Published online 2014:1-1. doi:<https://doi.org/10.1109/jbhi.2014.2336473>
- [21] Kaya S, Bayraktar M, Kockara S, et al. Abrupt skin lesion border cutoff measurement for malignancy detection in dermoscopy images. *BMC Bioinformatics*. 2016;17(S13). doi:<https://doi.org/10.1186/s12859-016-1221-4>
- [22] Du-Harpur X, Watt FM, Luscombe NM, Lynch MD. What is AI? Applications of artificial intelligence to dermatology. *British Journal of Dermatology*. 2020;183(3):423-430. doi:<https://doi.org/10.1111/bjd.18880>
- [23] Jones OT, Matin RN, Schaar M van der, et al. Artificial intelligence and machine learning algorithms for early detection of skin cancer in community and primary care settings: a systematic review. *The Lancet Digital Health*. 2022;4(6):e466-e476. doi:[https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(22\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(22)00023-1)
- [24] Takiddin A, Schneider J, Yang Y, Abd-Alrazaq A, Househ M. Artificial Intelligence for Skin Cancer Detection: A Scoping Review (Preprint). *Journal of Medical Internet Research*. Published online July 27, 2020. doi:<https://doi.org/10.2196/22934>
- [25] Brinker TJ, Hekler A, Enk AH, et al. Deep learning outperformed 136 of 157 dermatologists in a head-to-head dermoscopic melanoma image classification task. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2019;113:47-54. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.04.001>

- [26] Man against machine reloaded: performance of a market-approved convolutional neural network in classifying a broad spectrum of skin lesions in comparison with 96 dermatologists working under less artificial conditions. *Annals of Oncology*. 2020;31(1):137-143. doi:<https://doi.org/10.1016/j.annonc.2019.10.013>
- [27] Maron RC, Weichenthal M, Utikal JS, et al. Systematic outperformance of 112 dermatologists in multiclass skin cancer image classification by convolutional neural networks. *European Journal of Cancer*. 2019;119:57-65. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.06.013>
- [28] Han SS, Kim MS, Lim W, Park GH, Park I, Chang SE. Classification of the Clinical Images for Benign and Malignant Cutaneous Tumors Using a Deep Learning Algorithm. *Journal of Investigative Dermatology*. 2018;138(7):1529-1538. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.01.028>
- [29] Gomolin A, Netchiporouk E, Gniadecki R, Litvinov IV. Artificial Intelligence Applications in Dermatology: Where Do We Stand? *Frontiers in Medicine*. 2020;7. doi:<https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00100>
- [30] Das K, Cockerell CJ, Patil A, et al. Machine Learning and Its Application in Skin Cancer. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(24):13409. doi:<https://doi.org/10.3390/ijerph182413409>
- [31] De A, Sarda A, Gupta S, Das S. Use of artificial intelligence in dermatology. *Indian Journal of Dermatology*. 2020;65(5):352. doi:https://doi.org/10.4103/ijd.ijd_418_20
- [32] Chuchu N, Takwoingi Y, Dinnes J, et al. Smartphone applications for triaging adults with skin lesions that are suspicious for melanoma. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Published online December 4, 2018. doi:<https://doi.org/10.1002/14651858.cd013192>
- [33] Liu Y, Jain A, Eng C, et al. A deep learning system for differential diagnosis of skin diseases. *Nature Medicine*. 2020;26(6):900-908. doi:<https://doi.org/10.1038/s41591-020-0842-3>

- [34] Ge L, Li Y, Wu Y, Fan Z, Song Z. Differential Diagnosis of Rosacea Using Machine Learning and Dermoscopy. *ProQuest*. Published online 2022;1465-1473. doi:<https://doi.org/10.2147/CCID.S373534>
- [35] Li Z, Koban KC, Schenck TL, Giunta RE, Li Q, Sun Y. Artificial Intelligence in Dermatology Image Analysis: Current Developments and Future Trends. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(22):6826. doi:<https://doi.org/10.3390/jcm11226826>
- [36] Projekt TutorDerm. *InventionMed*. Published 2017.
- [37] Jørgensen LB, Sørensen JA, Jemec GB, Yderstraede KB. Methods to assess area and volume of wounds - a systematic review. *International Wound Journal*. 2015;13(4):540-553. doi:<https://doi.org/10.1111/iwj.12472>
- [38] Shetty R, Sreekar H, Lamba S, Gupta A. A novel and accurate technique of photographic wound measurement. *Indian Journal of Plastic Surgery*. 2012;45(2):425. doi:<https://doi.org/10.4103/0970-0358.101333>
- [39] Mukherjee R, Tewary S, Routray A. Diagnostic and Prognostic Utility of Non-Invasive Multimodal Imaging in Chronic Wound Monitoring: a Systematic Review. *Journal of Medical Systems*. 2017;41(3). doi:<https://doi.org/10.1007/s10916-016-0679-y>
- [40] Wang C, Yan X, Smith M, et al. A unified framework for automatic wound segmentation and analysis with deep convolutional neural networks. *IEEE Xplore*. doi:<https://doi.org/10.1109/EMBC.2015.7318881>
- [41] Shrivastava VK, Londhe ND, Sonawane RS, Suri JS. A novel approach to multiclass psoriasis disease risk stratification: Machine learning paradigm. *Biomedical Signal Processing and Control*. 2016;28:27-40. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bspc.2016.04.001>
- [42] Shrivastava VK, Londhe ND, Sonawane RS, Suri JS. Reliability analysis of psoriasis decision support system in principal component analysis framework. *Data & Knowledge Engineering*. 2016;106:1-17. doi:<https://doi.org/10.1016/j.datak.2016.09.001>
- [43] Shrivastava VK, Londhe ND, Sonawane RS, Suri JS. First review on psoriasis severity risk stratification: An engineering perspective. *Computers in Biology and Medicine*. 2015;63:52-63. doi:<https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2015.05.005>

- [44] Shrivastava VK, Londhe ND, Sonawane RS, Suri JS. Computer-aided diagnosis of psoriasis skin images with HOS, texture and color features: A first comparative study of its kind. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 2016;126:98-109. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2015.11.013>
- [45] Chan S, Reddy V, Myers B, Thibodeaux Q, Brownstone N, Liao W. Machine Learning in Dermatology: Current Applications, Opportunities, and Limitations. *Dermatology and Therapy*. 2020;10(3):365-386. doi:<https://doi.org/10.1007/s13555-020-00372-0>
- [46] Patrick MT, Stuart PE, Raja K, et al. Genetic signature to provide robust risk assessment of psoriatic arthritis development in psoriasis patients. *Nature Communications*. 2018;9(1):4178. doi:<https://doi.org/10.1038/s41467-018-06672-6>
- [47] Verma AK, Pal S, Kumar S. Classification of Skin Disease using Ensemble Data Mining Techniques. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2019;20(6):1887-1894. doi:<https://doi.org/10.31557/apjcp.2019.20.6.1887>
- [48] Kim S, Kim J, Hwang M, et al. Smartphone-based multispectral imaging and machine-learning based analysis for discrimination between seborrheic dermatitis and psoriasis on the scalp. *Biomedical Optics Express*. 2019;10(2):879-891. doi:<https://doi.org/10.1364/BOE.10.000879>
- [49] Viktor Shpudeiko, Sokolov KO, Sidaruk H. Artificial intelligence in solving dermatological problems. *Przegląd dermatologiczny*. 2022;109(5):361-367. doi:<https://doi.org/10.5114/dr.2022.125685>
- [50] Korotkov K, Garcia R. Computerized analysis of pigmented skin lesions: A review. *Artificial Intelligence in Medicine*. 2012;56(2):69-90. doi:<https://doi.org/10.1016/j.artmed.2012.08.002>
- [51] Aplikacja mobilna mTrichoskopy dla dermatologów. animativ.pl.
- [52] Potter B, Ronan SG. Computerized dermatopathologic diagnosis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1987;17(1):119-131. doi:[https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(87\)70183-2](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(87)70183-2)

- [53] Wells A, Patel S, Lee JB, Motaparathi K. Artificial intelligence in dermatopathology: Diagnosis, education, and research. *Journal of Cutaneous Pathology*. 2021;48(8):1061-1068. doi:<https://doi.org/10.1111/cup.13954>
- [54] Olsen TG, Jackson BH, Feeser TA, et al. Diagnostic Performance of Deep Learning Algorithms Applied to Three Common Diagnoses in Dermatopathology. *Journal of Pathology Informatics*. 2018;9(1):32. doi:https://doi.org/10.4103/jpi.jpi_31_18
- [55] Xie P, Zuo K, Zhang Y, Li F, Yin M, Lu K. Interpretable Classification from Skin Cancer Histology Slides Using Deep Learning: A Retrospective Multicenter Study. *arXiv (Cornell University)*. Published online January 1, 2019. doi:<https://doi.org/10.48550/arxiv.1904.06156>
- [56] Cruz-Roa AA, Arevalo Ovalle JE, Madabhushi A, González Osorio FA. A Deep Learning Architecture for Image Representation, Visual Interpretability and Automated Basal-Cell Carcinoma Cancer Detection. *Advanced Information Systems Engineering*. Published online 2013:403-410. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-642-40763-5_50
- [57] Ibraheim MK, Gupta R, Gardner JM, Elsensohn A. Artificial Intelligence in Dermatopathology: An Analysis of Its Practical Application. *Dermatopathology*. 2023;10(1):93-94. doi:<https://doi.org/10.3390/dermatopathology10010014>
- [58] Hendrycks D, Gimpel K. A Baseline for Detecting Misclassified and Out-of-Distribution Examples in Neural Networks. *arXiv.org*. doi:<https://doi.org/10.48550/arXiv.1610.02136>
- [59] Maron RC, Hekler A, Krieghoff-Henning E, et al. Reducing the Impact of Confounding Factors on Skin Cancer Classification via Image Segmentation: Technical Model Study. *Journal of Medical Internet Research*. 2021;23(3):e21695. doi:<https://doi.org/10.2196/21695>
- [60] Phillips M, Marsden H, Jaffe W, et al. Assessment of Accuracy of an Artificial Intelligence Algorithm to Detect Melanoma in Images of Skin Lesions. *JAMA Network Open*. 2019;2(10):e1913436. doi:<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.13436>

- [61] Adamson AS, Smith A. Machine Learning and Health Care Disparities in Dermatology. *JAMA Dermatology*. 2018;154(11):1247. doi:<https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2018.2348>
- [62] Winkler JK, Sies K, Fink C, et al. Collective human intelligence outperforms artificial intelligence in a skin lesion classification task. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2021;19(8):1178-1184. doi:<https://doi.org/10.1111/ddg.14510>
- [63] Frischhut N, Zelger B, Andre F, Zelger BG. The spectrum of melanocytic nevi and their clinical implications. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2022;20(4):483-504. doi:<https://doi.org/10.1111/ddg.14776>
- [64] Hartmann T, Passauer J, Hartmann J, Schmidberger L, Manfred Kneilling, Volc S. Basic principles of artificial intelligence in dermatology explained using melanoma. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2024;22(3):339-347. doi:<https://doi.org/10.1111/ddg.15322>
- [65] Loh E. Medicine and the rise of the robots: a qualitative review of recent advances of artificial intelligence in health. *BMJ Leader*. 2018;2(2):59-63. doi:<https://doi.org/10.1136/leader-2018-000071>
- [66] Lim BCW, Flaherty G. Artificial intelligence in dermatology: are we there yet? *British Journal of Dermatology*. 2019;181(1):190-191. doi:<https://doi.org/10.1111/bjd.17899>

WYKORZYSTANIE WIRTUALNEJ RZECZYWISTOŚCI W NEUROREHABILITACJI DEFICYTÓW NEUROLOGICZNYCH

**Konrad Gigoń, Joanna Jureczko, Michał Tutaj, Martyna Nowak,
Sara Rakotoarison, Agnieszka Sawina**

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Akademia Śląska w Katowicach

Abstrakt: Urazy mózgu (Traumatic Brain Injury - TBI) należą w dzisiejszych czasach do cichej epidemii. Rozwój motoryzacji zwiększa prawdopodobieństwo doznania urazu mózgowia, który może skutkować poważnymi w skutkach deficytami neurologicznymi, znacznie ograniczającymi funkcjonowanie osób nimi dotkniętych. Tradycyjna terapia tego typu zaburzeń jest możliwa, lecz często ciężka i mało efektywna. Próbuje się implementację nowych technologii, takich jak wirtualna rzeczywistość w celu usprawnienia aktualnych technik neurorehabilitacji. Aktualne badania prezentują obiecujące wyniki, wskazujące na zwiększenie efektywności tych terapii dzięki takiemu połączeniu. W tym rozdziale, autorzy dokonali przeglądu aktualnej literatury z zakresu zastosowania technologii wirtualnej rzeczywistości w neurorehabilitacji deficytów neurologicznych w TBI, oraz dokonali podsumowania najnowszych wyników badań.

Słowa kluczowe: neurorehabilitacja, TBI, deficyty neurologiczne, wirtualna rzeczywistość

Abstract: Traumatic Brain Injuries (TBI) nowadays constitute a silent epidemic. The development of motorization increases the likelihood of experiencing a traumatic brain injury, which can result in serious neurological deficits significantly limiting the functioning of affected individuals. Traditional therapy for such disorders is possible but often challenging and less effective. Attempts are being made to implement new technologies, such as virtual reality, to enhance current neurorehabilitation techniques. Current research presents promising results indicating increased effectiveness of these therapies through such integration. In this chapter, the authors conducted a review of the current literature on the application of virtual reality technology in the neurorehabilitation of neurological deficits in TBI, and summarized the latest research findings.

Keywords: neurorehabilitation, TBI, neurological deficits, virtual reality

WSTĘP

Choroby przyczyniające się do zaburzeń neurologicznych są istotnym problemem w dziedzinie medycyny, który przyczynia się do pogorszenia jakości życia pacjentów oraz ich rodzin [1]. Do powszechniejszych należą urazy mózgu (Traumatic Brain Injury – TBI). TBI to uszkodzenie mózgu, mające najczęściej związek z wypadkami komunikacyjnymi oraz upadkami, w przebiegu których ma miejsce nagłe i gwałtowne przekazanie energii kinetycznej na czaszkę. Ubytki neurologiczne powstałe w jego wyniku mogą być stałe lub wykazywać progresję. Objawiają się różnorodnie, w postaci objawów psychologicznych oraz motorycznych, zaburzeń mowy, czy deficytów poznawczo-behawioralnych, zaburzeń pamięci, zaburzeń osobowości, utraty przytomności [2]. Częstość występowania TBI w populacji europejskiej wynosi około 260 przypadków na 100 000 osób na rok, z towarzyszącą śmiertelnością na poziomie około 25 przypadków na 100 000 osób na rok. Wartości te jednak mogą się różnić w zależności od kraju [3]. Oznacza to więc, że odsetek osób, które przeżywają wynosi ok. 60%, co tym samym wiąże się z pewnym odsetkiem osób, które mogą wymagać neurorehabilitacji, wynikającej z zaistniałych deficytów neurologicznych oraz niepełnosprawności na skutek urazu [4,5]. Problem TBI jest istotny również ze względu na wiek osób, które on dotyka. Duży odsetek osób, które doświadczają TBI to osoby z przedziału wiekowego 0-44 lat. Skutkuje to znaczną liczbą osób, które do końca życia będą zmagaly się z utrudnieniami w życiu codziennym, będących efektem niepełnosprawności nabytej przy urazie mózgu [5]. Nowoczesne technologie zwiększają jednak ilość możliwości oraz perspektywy na skuteczne leczenie powikłań TBI. Jednym z takich nowatorskich podejść jest wykorzystanie wirtualnej rzeczywistości (Virtual Reality – VR) w neurorehabilitacji. Do tego celu wykorzystywane są urządzenia oraz programy takie jak gogle VR, komputery stacjonarne, kamery wideo, systemy śledzenia ruchu i rękawiczki do wykrywania gestów. VR dostarcza realistycznych doświadczeń, tworząc wirtualne środowiska (Virtual Environments - VEs), które są bardzo zbliżone do codziennego otoczenia. Zapewnia to środowisko, w którym w sposób powtarzalny i kontrolowany można wykonywać ćwiczenia rehabilitacyjne. Kolejne badania analizujące użyteczność powyższych systemów w rehabilitacji dostarczają nowych danych dotyczących ich skuteczności w neurorehabilitacji. Największym problemem jest jednak liczność tych systemów, która znacznie utrudnia uzyskanie jednolitych konkluzji w tej kwestii [6]. Wstępne wyniki wskazują mimo to, że implementacja tych urządzeń i systemów wykazuje korzyści oraz przewagę nad klasycznymi i dotychczas stosowanym

metodami, poprawiając poznawczo-behawioralne oraz ruchowe zdolności niepełnosprawnego pacjenta [7]. Celem tej pracy jest przybliżenie potencjalnych technologii, oraz podział ogólny technik jakimi dysponuje aktualnie medycyna. Zostanie również opisany sposób w jaki są te techniki wykorzystywane, na przykładzie osób, które doświadczyły uszkodzeń mózgu w wyniku urazu, a także jakie są ich dotychczasowe efekty terapeutyczne.

CZYM JEST VR

Definicja wirtualnej rzeczywistości (VR) nie jest obecnie ujednoczona. Podsumowując użytkowane dotychczas opisy tej technologii, można określić ją jako technologię komputerową, która umożliwia użytkownikom interakcję z trójwymiarowym, generowanym komputerowo środowiskiem za pomocą różnych urządzeń, takich jak klawiatura i myszka, gogle VR, rękawice do śledzenia ruchu czy kontrolery. Wirtualna rzeczywistość symuluje realistyczne doświadczenia poprzez tworzenie wirtualnych środowisk, w których użytkownicy mogą poruszać się, eksplorować i wchodzić w interakcję z obiektami oraz innymi uczestnikami [8].

PODZIAŁ VR

VR obejmuje szeroki obszar rozwiązań i technologii. W zależności od intensywności i jakości odczuć wywoływanych przez świat wygenerowany komputerowo, można wyróżnić kilka głównych rodzajów rzeczywistości wirtualnej.

Nieimersyjna wirtualna rzeczywistość (Non-immersive Virtual Reality)

W tym typie rzeczywistości osoba nie wchodzi całkowicie w wirtualny świat. Jest to najbardziej powszechny rodzaj VR, z którym mamy do czynienia podczas korzystania z komputerów, tabletów, smartfonów, telewizorów lub innych urządzeń elektronicznych. Ponieważ wirtualny świat jest wyświetlany na monitorach komputerowych lub dużych telewizorach, a interakcja odbywa się za pomocą urządzeń wejściowych, takich jak klawiatury, myszy lub kontrolery, osoba nie odczuwa obecności w wirtualnym świecie. Zamiast tego, osoba może jednocześnie doświadczać zarówno rzeczywistego świata, na przykład fizyczne otoczenie w pokoju, jak i zawartości wirtualnego świata, np. pozycję awatara w grze komputerowej [9].

W pełni immersyjna wirtualna rzeczywistość (Fully Immersive Virtual Reality)

W tym typie rzeczywistości osoba jest całkowicie zanurzona i ma wrażenie obecności w wirtualnym świecie. Osoba wchodzi do wirtualnego świata za pomocą specjalistycznego sprzętu, takiego jak gogle do wirtualnej rzeczywistości (HMD – Head-mounted Display), kombinezon, rękawice danych i pokój immersyjny. Czujniki zamontowane na kombinezonie mogą być używane do monitorowania ruchów osoby [10]. Celem tego dodatkowego sprzętu jest wyeliminowanie przepływu informacji sensorycznej ze świata rzeczywistego i zastąpienie go informacją wygenerowaną komputerowo. To utrzymuje iluzję, że wirtualny świat jest rzeczywistym światem [11].

Rozszerzona rzeczywistość (Augmented Reality)

W rozszerzonej rzeczywistości część wirtualnych elementów nakłada się na otoczenie rzeczywiste. Dzięki temu użytkownik może doświadczać świata wzbogaconego o komputerowo generowane informacje, które zostają nałożone na rzeczywiste obiekty w otoczeniu. Urządzenia elektroniczne, takie jak smartfony czy tablety, wyposażone w kamery, pozwalają obecnie na rejestrację obrazów z otaczającego świata, które mogą być urozmaicone animacjami lub innymi cyfrowymi treściami wybranymi z aplikacji VR. Korzystanie z takiego systemu wizualnego za pomocą przenośnych urządzeń, takich jak inteligentne okulary, umożliwi użytkownikowi dostrzeganie elementów wirtualnego świata, chociaż nie jest w stanie z nimi wchodzić w bezpośrednią interakcję [12].

Mieszana rzeczywistość (Mixed Reality)

Ten typ hybrydowej rzeczywistości stanowi odmianę rzeczywistości rozszerzonej, w której rzeczywiste i wirtualne elementy są w stanie ze sobą współdziałać, co pozwala użytkownikowi na interakcję zarówno z realnymi, jak i wirtualnymi obiektami [13]. Kontynuacja rozwoju technologii cyfrowych może nawet umożliwić projekcję trójwymiarowych hologramów w rzeczywistej przestrzeni oraz interakcję użytkownika z projekcjami cyfrowymi [14].

Poszerzona rzeczywistość (Extended Reality)

Poszerzona rzeczywistość (XR) to ogólny termin obejmujący wszystkie technologie immersyjne, w tym obecne technologie, takie jak wyżej wymieniona rozszerzona rzeczywistość (AR), VR lub mieszana rzeczywistość (MR), oraz przyszłe technologie, które jeszcze nie zostały stworzone [13].

NEUROREHABILITACJA PRZY UŻYCIU VR

Neurorehabilitacja w TBI jest obszernym zagadnieniem oraz procesem, który zawiera w sobie wczesne działania następujące zaraz po urazie, jak i działania długoterminowe, polegające na ćwiczeniach kognitywno-behawioralnych oraz motorycznych [15]. Odpowiednio dobrane ćwiczenia oraz procedury, wprowadzone na wczesnym etapie leczenia powikłań TBI, wykazują znaczną poprawę w większości deficytów wynikających choroby. Rehabilitacja jednak musi opierać się na licznych działaniach tak by objąć jak największy zakres występujących deficytów, a także musi zostać odpowiednio dobrany do indywidualnych potrzeb samego pacjenta [16]. Wprowadzenie tych działań odpowiednio wcześnie, często jest niestety ograniczane przez czynniki wynikające z braku środków, takich jak odpowiednie placówki oraz sprzęt do rehabilitacji, czy też niedoborów odpowiednio wykształconego personelu, co znacząco może pogorszyć wyniki neurorehabilitacji [17]. W poprawie tych wyników może jednak pomóc implementacja różnych innowacyjnych technik, które jak wykazują kolejne badania, znacznie poprawiają efektywność rehabilitacji. Również dzięki dużej powtarzalności oraz łatwiejszemu użytkowaniu, zmniejszają nakład środków w postaci wykwalifikowanego personelu, co również może przynieść korzyści w tym obszarze medycyny [7].

Rehabilitacja funkcji motorycznych

Implementacja VR w rehabilitacji funkcji motorycznych znajduje zastosowanie w rehabilitacji utrzymywania równowagi, czy też umiejętności posługiwania się kończynami. Największe korzyści są obserwowane w obszarze samopoczucia pacjenta poddanego rehabilitacji. Wygenerowane symulacyjnie środowisko sprawia, że sesje rehabilitacyjne są przyjemniejsze, co w efekcie zwiększa współpracę oraz motywację pacjenta, co jest szczególnie obserwowane w populacji pediatrycznej [18]. Wprowadzenie ów środowiska odbywa się przy użyciu różnego

rodzaju kontrolerów montowanych na ciele, oraz zakładanego na głowę zestawu VR do wyświetlania obrazu [19].

Włączenie ćwiczeń i zadań opartych na VR do programu rehabilitacyjnego znacząco poprawia funkcje motoryczne i umiejętności upośledzonych kończyn górnych u osób z urazami mózgu. Przyczyniają się do poprawy różnych subiektywnych i obiektywnych miar funkcjonalnych, takich jak ARAT (Action Research Arm Test), AROM (Active Range Of Motion), oraz do znaczącego wzrostu objętości istoty szarej w rejonach mózgu odpowiedzialnych za funkcje motoryczne, co sugeruje potencjalne neuroplastyczne zmiany w odpowiedzi na terapię VR. Znaczący wzrost istoty szarej został odnotowany w kilku podkorowych strukturach, takich jak hipokamp, przednia część zakrętu obręczy i jądrze ogoniastym, jak również w obszarach mózgu związanych z funkcjami motorycznymi, takimi jak obszar Brodmann 6. Interwencje VR przynoszą również korzyści w postaci znaczącej poprawy funkcji motorycznych takich jak zakres ruchu, siła mięśni, czy elastyczność w stawach [20]. Zmiany te przyczyniają się do najistotniejszej kwestii związanej z rehabilitacją, mianowicie do poprawy funkcji motorycznych w zakresie codziennych czynności u pacjentów z uszkodzeniem mózgu, co znacząco poprawia ich jakość życia [21].

Rehabilitacja dolnego aparatu ruchu, wymaga od pacjentów jak i terapeutów dużego nakładu pracy. Efektywność tego procesu w znacznej mierze zależy od dużej intensywności ćwiczeń oraz dużej powtarzalności ruchów na których polega dane ćwiczenie [22]. Z tego powodu coraz częściej sięga w obszary robotyki. Roboty takie jak np. Lokomat czy system GRAIL umożliwiają zwiększenie intensywności z zapewnieniem dobrej repetycyjności, wraz z zmniejszeniem nakładu w postaci wyspecjalizowanego personelu który prowadzi rehabilitację. Wpływa to w znaczący sposób na poprawę chodu u pacjentów z nabytym urazem mózgu. Urządzenia takie w połączeniu z technologiami VR są w stanie dodatkowo poprawić efektywność tego procesu, poprzez implementację wirtualnego środowiska przy użyciu ekranów (2D w Lokomacie, cylindryczny ekran 180° w systemie GRAIL), w którym można zapewniać ćwiczenia oraz wyzwania dla pacjenta. Skutkuje ono zwiększeniem motywacji oraz poprawieniem samopoczucia pacjenta. Duża powtarzalność sesji rehabilitacyjnych ma wpływ na zmiany oraz funkcjonowanie struktur mózgu odpowiedzialnych za naukę chodzenia. Dodatkowo, przy dodatku odpowiednich ćwiczeń wymagających uwagi i skupienia pacjenta w wirtualnym środowisku, mają one również pozytywny wpływ na funkcje poznawcze. Powyższe korzyści stosowania VR w połączeniu z powtarzalnością ruchów pacjenta, zapewnianą przez urządzenia takie jak Lokomat

czy system GRAIL, zapewnia wysoce skuteczny proces rehabilitacji, który jest sprawniejszy od klasycznej rehabilitacji manualnej [23,24].

Rehabilitacja funkcji poznawczo-emocjonalnych

W następstwie TBI, częstą konsekwencją są zaburzenia funkcji poznawczych, polegająca w głównej mierze na zaburzeniach uwagi, pamięci, zachowań społecznych i komunikacji, planowania i funkcji wykonawczych. Zaburzenia te w negatywny sposób wpływają na zdolności pacjenta do wykonywania codziennych czynności takich jak przygotowywanie jedzenia, prowadzenie pojazdów, robienie zakupów i tym podobne [25]. Użycie VR w tym przypadku umożliwia ocenę tych ubytków i zaburzeń [26], jak i prezentuje wiele ćwiczeń pozwalających na ich rehabilitację przy zapewnieniu odpowiednich warunków, stymulacji, powtarzalności ćwiczeń, będąc tym samym metodą mało kosztowną, oraz dającą pole do popełniania przez pacjenta błędów w bezpiecznym środowisku, w wyniku których w przypadku faktycznych czynności mogłyby dojść do szkód dla zdrowia pacjenta. Przykładami takich ćwiczeń są symulacje w których pacjent ma możliwość zrobienia posiłku w wirtualnej kuchni, czy pobrania pieniędzy z bankomatu i zrobienia zakupów w wirtualnym sklepie [27,28,29]. Ćwiczenia te sprzyjają poprawie funkcji poznawczych, ukierunkowując różne aspekty, takie jak uwaga, pamięć i funkcje wykonawcze, co pomaga pacjentom z TBI odzyskać podstawowe funkcje w życiu społecznym. Dodatkowo, trening w VR zapewnia ciągłe sprzężenie zwrotne, pozwalając pacjentom na zwiększenie świadomości swoich ruchów i poprawę funkcji motorycznych oraz poznawczych poprzez mechanizmy neuroplastyczności. VR może symulować sytuacje z życia codziennego lub sytuacje abstrakcyjne, umożliwiając powtarzalne i zróżnicowane treningi w bezpiecznym środowisku. Zapewnia elastyczność, umożliwiając dostosowanie sensoryczne, może być nawet dostosowany do treningu w domu, zmniejszając obciążenie wynikające tradycyjnych sesji rehabilitacyjnych [30]. Dodatkowo, poprawa różnych aspektów funkcji poznawczych, takich jak pamięć, funkcje wykonawcze i uwaga, może mieć potencjał w poprawie umiejętności rozwiązywania problemów i wyników zawodowych, prowadząc do reintegracji społecznej oraz ułatwiając znalezienie zatrudnienia [31].

Powszechnymi konsekwencjami TBI są również deficyty emocjonalne i behawioralne, które wpływają na funkcje obejmujące świadomość oraz regulację emocji. Objawiają się one jako rozdrażnienie, agresja, depresja, zaburzenia empatii czy upośledzenie rozpoznawania emocji innych osób, co często ma negatywne

efekty na samopoczucie, jakość życia oraz funkcjonowanie w społeczeństwie. Rehabilitacja takiego stanu psychologicznego polega w znacznej mierze na psychoterapii ukierunkowanej na ćwiczenia, które mają na celu poprawę funkcji emocjonalnych. Dodatkowo leczenie może posiadać elementy farmakoterapii, na bazie leków antydepresyjnych [32]. Wiele badań wskazuje, że najważniejszym obszarem odpowiadającym za powyższe funkcje jest hipokamp mózgu. Obszar ten wykazuje zjawisko neurogenezy w dorosłym wieku, na którą można wpływać poprzez odpowiedni dobór ćwiczeń (np. psycho-edukacyjne ćwiczenia poprawiające kontrolę nad emocjami). Podejrzewa się że rozwój tego obszaru, może wpływać na poprawę funkcji emocjonalnych i behawioralnych. Oprócz tego obszar ten jest odpowiedzialny za szereg innych funkcji takich jak nauka i pamięć [33,34]. Wraz z rozwojem technologii VR, pojawiają się nowe możliwości w rehabilitacji zaburzeń emocjonalno-behawioralnych. Zastosowanie kompleksowych i trójwymiarowych wirtualnych środowisk generowanych w grach komputerowych w VR, umożliwiają intensywną stymulację obszaru hipokampa, co jak wykazują niektóre badania, stymuluje zjawisko neurogenezy. Jak w powyższym opisie, proces ten wpływa na poprawę funkcji, za które odpowiada hipokamp, co istotnie wpływa na polepszenie jakości życia i samopoczucia pacjenta z deficytami funkcji tego obszaru [35].

PODSUMOWANIE

Deficyty neurologiczne nabyte w wyniku TBI, stanowią istotny problem terapeutyczny. Wynika to z ograniczonej regeneracji układu nerwowego. Wielokrotnie, skutkują one znacznym ograniczeniem funkcjonowania w codziennym życiu. Neurorehabilitacja jest użytecznym narzędziem w zmniejszaniu negatywnych skutków tych urazów, jednak nie zapewnia zadowalającej skuteczności oraz istnieje potrzeba usprawnienia jej. Takim usprawnieniem okazuje się być zastosowanie opisanej powyżej technologii VR. Badania wskazują, iż poprawia ona wyniki rehabilitacji zarówno zaburzeń motorycznych jak i poznawczo-behawioralnych.

W przypadku zaburzeń motorycznych, korzyści zastosowania VR nie wynikają bezpośrednio z wpływu na fizyczne ćwiczenia stosowane w rehabilitacji, lecz z wpływu na sferę psychologiczną pacjenta. Możliwość wygenerowania interesującego i angażującego w ćwiczenie środowiska, pozytywnie wpływa na samopoczucie, skupienie oraz poziom motywacji pacjenta. Zwiększona motywacja i chęć wykonywania ćwiczeń umożliwia z kolei przedłużenie oraz zwiększoną intensywność ćwiczeń. W efekcie, ma to pośredni wpływ na efektywność terapii,

a w konsekwencji na szybszą poprawę stanu neurologicznego pacjenta. Dodatkowo, VR zmniejsza nakład pracy personelu medycznego, ponieważ środowisko w którym pacjent ćwiczy jest w większości generowane w programie komputerowym, co w połączeniu z odpowiednim urządzeniem rehabilitacyjnym jak np. Lokomat, zmniejsza wielkość przestrzeni (odpowiednio wielka sala) i sprzętu (piłki rehabilitacyjne, poręcze, itp.) wymaganych do rehabilitacji. Przekłada się to na zmniejszenie kosztów związanych z wymaganym sprzętem oraz przestrzenią, a także z obsługującym go personelem.

W kwestii rehabilitacji poznawczo-behawioralnej, korzyści wynikające z zastosowania VR posiadają bardziej bezpośredni mechanizm. Zwiększenie efektywności tych ćwiczeń wynika przede wszystkim z możliwości zapewnienia odpowiedniego środowiska oraz zestawu ćwiczeń. W rehabilitacji poznawczo-behawioralnej, są to między innymi programy umożliwiające powtarzalne ćwiczenie czynności z życia codziennego (gotowanie, zakupy, prowadzenie pojazdów), oraz stwarzające tym samym przestrzeń, w której pacjent może popełniać błędy, bez doświadczania jednoczesnych konsekwencji, które by się z nimi wiązały w rzeczywistości. W rehabilitacji deficytów emocjonalnych, korzyści wynikają z kolei z dużej efektywności stymulacji hipokampu, a tym samym poprawy jego funkcjonowania, co skutkuje poprawą regulacji emocji.

Technologie VR prezentują obiecujące kierunki dalszego rozwoju rehabilitacji u pacjentów z TBI. Jest to istotny obszar, którego dalszy rozwój ma szansę poprawić funkcjonowanie w społeczeństwie tej grupy pacjentów. Istnieje jednak konieczność dalszych prac i badań, które mogłyby usprawnić te techniki.

REFERENCJE

- [1] Pringsheim T, Fiest K, Jette N. The international incidence and prevalence of neurologic conditions. *Neurology*. 2014;83(18):1661-1664. doi:10.1212/wnl.0000000000000929
- [2] Mckee AC, Daneshvar DH. The neuropathology of traumatic brain injury. *Handbook of Clinical Neurology*. 2015:45-66. doi:10.1016/b978-0-444-52892-6.00004-0
- [3] Brazinova A, Rehorcikova V, Taylor MS, i in. Epidemiology of Traumatic Brain Injury in Europe: A Living Systematic Review. *Journal of Neurotrauma*. 2021;38(10):1411-1440. doi:10.1089/neu.2015.4126

- [4] Scholten AC, Haagsma JA, Panneman MJM, van Beeck EF, Polinder S. Traumatic Brain Injury in the Netherlands: Incidence, Costs and Disability-Adjusted Life Years. *Mohapatra S, red. PLoS ONE*. 2014;9(10):e110905. doi:10.1371/journal.pone.0110905
- [5] Majdan M, Plancikova D, Brazinova A, i in. Epidemiology of traumatic brain injuries in Europe: a cross-sectional analysis. *The Lancet Public Health*. 2016;1(2):e76-e83. doi:10.1016/s2468-2667(16)30017-2
- [6] Voinescu A, Sui J, Stanton Fraser D. Virtual Reality in Neurorehabilitation: An Umbrella Review of Meta-Analyses. *JCM*. 2021;10(7):1478. doi:10.3390/jcm10071478
- [7] Bonanno M, De Luca R, De Nunzio AM, Quartarone A, Calabrò RS. Innovative Technologies in the Neurorehabilitation of Traumatic Brain Injury: A Systematic Review. *Brain Sciences*. 2022;12(12):1678. doi:10.3390/brainsci12121678
- [8] Kardong-Edgren S (Suzie), Farra SL, Alinier G, Young HM. A Call to Unify Definitions of Virtual Reality. *Clinical Simulation in Nursing*. 2019;31:28-34. doi:10.1016/j.ecns.2019.02.006
- [9] Ventura S, Brivio E, Riva G, Baños RM. Immersive Versus Non-immersive Experience: Exploring the Feasibility of Memory Assessment Through 360° Technology. *Front Psychol*. 2019;10. doi:10.3389/fpsyg.2019.02509
- [10] Bohil CJ, Alicea B, Biocca FA. Virtual reality in neuroscience research and therapy. *Nat Rev Neurosci*. 2011;12(12):752-762. doi:10.1038/nrn3122
- [11] Sanchez-Vives MV, Slater M. From presence to consciousness through virtual reality. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(4):332-339. doi:10.1038/nrn1651
- [12] Arena F, Collotta M, Pau G, Termine F. An Overview of Augmented Reality. *Computers*. 2022;11(2):28. doi:10.3390/computers11020028
- [13] Morimoto T, Kobayashi T, Hirata H, i in. XR (Extended Reality: Virtual Reality, Augmented Reality, Mixed Reality) Technology in Spine Medicine: Status Quo and Quo Vadis. *JCM*. 2022;11(2):470. doi:10.3390/jcm11020470

- [14] Saito Y, Sugimoto M, Imura S, i in. Intraoperative 3D Hologram Support With Mixed Reality Techniques in Liver Surgery. *Annals of Surgery*. 2020;271(1):e4-e7. doi:10.1097/sla.0000000000003552
- [15] Oberholzer M, Müri RM. Neurorehabilitation of Traumatic Brain Injury (TBI): A Clinical Review. *Medical Sciences*. 2019;7(3):47. doi:10.3390/medsci7030047
- [16] Lewis FD, Horn GJ. Neurologic continuum of care: Evidence-based model of a post-hospital system of care. *NRE*. 2015;36(3):243-251. doi:10.3233/nre-151213
- [17] Eghbali M, Khankeh H, Hosseini SA, Ebadi A, Rahimi-Movaghar V. Factors Affecting the Implementation of Early Rehabilitation Care in Patients with Traumatic Brain Injury: A Multidisciplinary Perspective. *Med J Islam Republ Iran*. październik 2021. doi:10.47176/mjiri.35.147
- [18] Aida J, Chau B, Dunn J. Immersive virtual reality in traumatic brain injury rehabilitation: A literature review. *NRE*. 2018;42(4):441-448. doi:10.3233/nre-172361
- [19] Gatica-Rojas V, Méndez-Rebolledo G. Virtual reality interface devices in the reorganization of neural networks in the brain of patients with neurological diseases. *Neural Regen Res*. 2014;9(8):888. doi:10.4103/1673-5374.131612
- [20] Keller J, Štětkářová I, Macri V, i in. Virtual reality-based treatment for regaining upper extremity function induces cortex grey matter changes in persons with acquired brain injury. *J NeuroEngineering Rehabil*. 2020;17(1). doi:10.1186/s12984-020-00754-7
- [21] Tramontano M, Belluscio V, Bergamini E, i in. Vestibular Rehabilitation Improves Gait Quality and Activities of Daily Living in People with Severe Traumatic Brain Injury: A Randomized Clinical Trial. *Sensors*. 2022;22(21):8553. doi:10.3390/s22218553
- [22] Esquenazi A, Lee S, Packel AT, Braitman L. A Randomized Comparative Study of Manually Assisted Versus Robotic-Assisted Body Weight Supported Treadmill Training in Persons With a Traumatic Brain Injury. *PM&R*. 2012;5(4):280-290. doi:10.1016/j.pmrj.2012.10.009

- [23] Maggio MG, Torrisi M, Buda A, i in. Effects of robotic neurorehabilitation through lokomat plus virtual reality on cognitive function in patients with traumatic brain injury: A retrospective case-control study. *International Journal of Neuroscience*. 2019;130(2):117-123. doi:10.1080/00207454.2019.1664519
- [24] Beretta E, Cesareo A, Maghini C, i in. An Immersive Virtual Reality Platform to Enhance Walking Ability of Children with Acquired Brain Injuries. *Methods Inf Med*. 2017;56(02):119-126. doi:10.3414/me16-02-0020
- [25] Barman A, Chatterjee A, Bhide R. Cognitive Impairment and Rehabilitation Strategies After Traumatic Brain Injury. *Indian Journal of Psychological Medicine*. 2016;38(3):172-181. doi:10.4103/0253-7176.183086
- [26] Zhang L, Abreu BC, Masel B, i in. Virtual Reality in the Assessment of Selected Cognitive Function After Brain Injury. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. 2001;80(8):597-604. doi:10.1097/00002060-200108000-00010
- [27] Besnard J, Richard P, Banville F, i in. Virtual reality and neuropsychological assessment: The reliability of a virtual kitchen to assess daily-life activities in victims of traumatic brain injury. *Applied Neuropsychology: Adult*. 2015;23(3):223-235. doi:10.1080/23279095.2015.1048514
- [28] Fong KN, Chow KY, Chan BC, i in. Usability of a virtual reality environment simulating an automated teller machine for assessing and training persons with acquired brain injury. *J NeuroEngineering Rehabil*. 2010;7(1). doi:10.1186/1743-0003-7-19
- [29] Levy CE, Miller DM, Akande CA, Lok B, Marsiske M, Halan S. V-Mart, a Virtual Reality Grocery Store. *Am J Phys Med Rehabil*. 2019;98(3):191-198. doi:10.1097/phm.0000000000001041
- [30] Alashram AR, Annino G, Padua E, Romagnoli C, Mercuri NB. Cognitive rehabilitation post traumatic brain injury: A systematic review for emerging use of virtual reality technology. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2019;66:209-219. doi:10.1016/j.jocn.2019.04.026

- [31] Man DWK, Poon WS, Lam C. The effectiveness of artificial intelligent 3-D virtual reality vocational problem-solving training in enhancing employment opportunities for people with traumatic brain injury. *Brain Injury*. 2013;27(9):1016-1025. doi:10.3109/02699052.2013.794969
- [32] Neumann D. Treatments for Emotional Issues After Traumatic Brain Injury. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*. 2017;32(5):283-285. doi:10.1097/htr.0000000000000337
- [33] Cameron HA, Glover LR. Adult Neurogenesis: Beyond Learning and Memory. *Annu Rev Psychol*. 2015;66(1):53-81. doi:10.1146/annurev-psych-010814-015006
- [34] Neumann D, Malec JF, Hammond FM. Reductions in Alexithymia and Emotion Dysregulation After Training Emotional Self-Awareness Following Traumatic Brain Injury: A Phase I Trial. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*. 2017;32(5):286-295. doi:10.1097/htr.0000000000000277
- [35] Clemenson GD, Stark CEL. Virtual Environmental Enrichment through Video Games Improves Hippocampal-Associated Memory. *J Neurosci*. 2015;35(49):16116-16125. doi:10.1523/jneurosci.2580-15.2015

CRISPR/CAS9 I CAR-T CELL CZYLI ZREWOLUCJONIZOWANA, CELOWANA IMMUNOTERAPIA PRZECIWNOWOTWOROWA

Aleksandra Skowronek, Zofia Graca, Jakub Kołodziej, Kacper Mamlą

Studenckie Koło Naukowe im. Prof. Zbigniewa Religi przy Katedrze Biofizyki w Zabrze,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Od wielu lat podstawowym leczeniem pacjentów hematologicznych jest chemioterapia. Punktem zwrotnym dla tych, u których poprzednie linie terapii zawiodły, stała się terapia CAR-T-cells, która dała nadzieję na uzyskanie dla nich całkowitej remisji. Pomimo tak obiecujących efektów sama metoda jest kosztowna oraz obciążona dużym ryzykiem, takim jak zespół uwolnienia cytokin (CRS) czy zespół toksyczności neurologicznej związanej z komórkami efektorowymi układu odpornościowego (ICANS). Do tej pory testowano wiele środków aby zminimalizować cenę oraz skutki uboczne, jednak żaden z nich nie przyniósł korzystnych efektów. Obiecująca okazała się ostatnio odkryta technologia edycji genów - skupione, regularnie rozłożone krótkie powtórzone sekwencje palindromiczne (CRISPR) / nukleaza związana z CRISPR9 (Cas9). Połączenie tych dwóch metod daje szansę na ograniczenie toksyczności CAR T-cells a także zredukowanie potencjalnych kosztów. Przedstawiona praca ma na celu uwidocznienie skuteczności, możliwości, ale także potencjalnych wyzwań we wprowadzeniu takiego zestawienia w praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe: CAR-T cells, CRISPR-Cas9, edycja genomu, immunoterapia, nowotwory hematologiczne

Abstract: For many years, chemotherapy has been the primary treatment for hematological patients. A turning point for those in whom previous-line therapies failed has been CAR-T-cell therapy, which has provided hope for achieving complete remission. Despite such promising results, the method itself is costly and associated with significant risks, such as cytokine release syndrome (CRS) or immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS). Numerous efforts have been made to minimize the cost and side effects, but none have yielded favorable results thus far. Recently discovered gene-editing technology - clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) / CRISPR-associated nuclease9 (Cas9) - has shown promise. Combining these two methods offers the chance to reduce CAR T-cell toxicity and potential costs.

The presented work aims to highlight the effectiveness, possibilities, but also potential challenges in implementing such a combination in clinical practice.

Keywords: CAR-T cells, CRISPR-Cas9, genome editing, hematological malignancies, immunotherapy

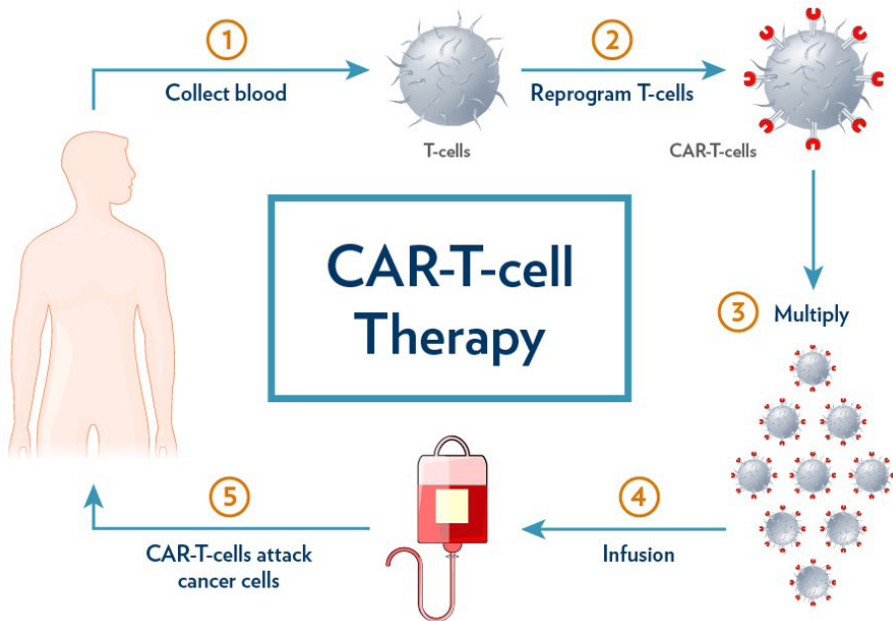
WSTĘP

Na przestrzeni ostatnich lat medycyna w zakresie leczenia chorób nowotworowych osiągnęła niewyobrażalny progres. Wiele odmian głównie chorób proliferacyjnych jest obecnie uważanych bardziej za chorobę przewlekłą niż o piorunującym przebiegu. Jest to zasługa nie tylko coraz lepszej diagnostyki i wzrostu czujności nowotworowej pacjentów, ale również rozwoju coraz dokładniejszych sposobów leczenia choroby pierwotnej. Pomimo tak zauważalnego postępu, do tej pory zmagamy się z dobraniem bezpiecznego i przede wszystkim skutecznego leczenia, często śmiertelnej dla pacjenta diagnozy. Przełomowym momentem leczenia chorób hematologicznych w praktyce klinicznej stała się immunoterapia CAR-T- cells, mająca na celu wprowadzenie do organizmu pacjenta zmodyfikowanych genetycznie limfocytów, atakujących konkretne komórki nowotworowe [1]. Jednak z czasem odkrywania kolejnych pozytywnych aspektów terapii, pojawiły się też przeciwności, takie jak cena, dostępność czy skutki uboczne samej metody- stąd narodził się pomysł promocji zmienionych komórek metodą CRISPR/Cas. W 2020 roku laureatkami Nagrody Nobla w dziedzinie chemii zostały Emmanuelle Charpentier i Jennifer Doudna. Zostały one nagrodzone za odkrycie, opracowanie i przekształcenie nieznanego dotąd mechanizmu immunologicznego bakterii, zwanego aktualnie CRISPR, w narzędzie zdolne do edycji prawie każdego genomu [2]. Innowacja ta otworzyła drogę na eksplorowanie nowych i udoskonalanie znanych już metod leczenia celowanego, na których oparta jest duża część skutecznych terapii przeciwnowotworowych, dających nadzieję na pokonanie niekontrolowanego rozrostu.

CAR-T

Immunoterapia CAR-T polega na pobraniu i wyizolowaniu z krwi obwodowej pacjenta limfocytów T. Następnie poddaje się je modyfikacji genetycznej w warunkach laboratoryjnych. Za pomocą wirusowego wektora wprowadza się chimeryczny receptor antygenowy (*ang. chimeric antigen receptor, CAR*), którego

zadaniem jest wiązanie części zmiennej przeciwciała. Nowo zaprogramowana komórka staje się chimerą, składającą się z limfocytu T oraz dołączonego do niego wspomnianego przeciwciała. Ich zadaniem od teraz będzie atakowanie komórek nowotworowych posiadających konkretne antygeny [3]. Tak przygotowany zestaw jest podawany pacjentom w postaci dożylniej dyfuzji. Do tej pory powstały aż cztery, stopniowo udoskonalane generacje CARs, różniące się budową i wzrostem skuteczności [4].



Rycina 1. Mechanizm terapii CAR-T.

1. Pobranie krwi od pacjenta 2. Przeprogramowanie własnych limfocytów T 3. Powielanie komórek 4. Podanie pacjentowi nowo powstałych komórek we wlewie 5. Atakowanie przez komórki CAR składowych nowotworu [<https://medicine.musc.edu/departments/surgery/news-and-announcements/2021/june/car-t-cell-therapy-research>]

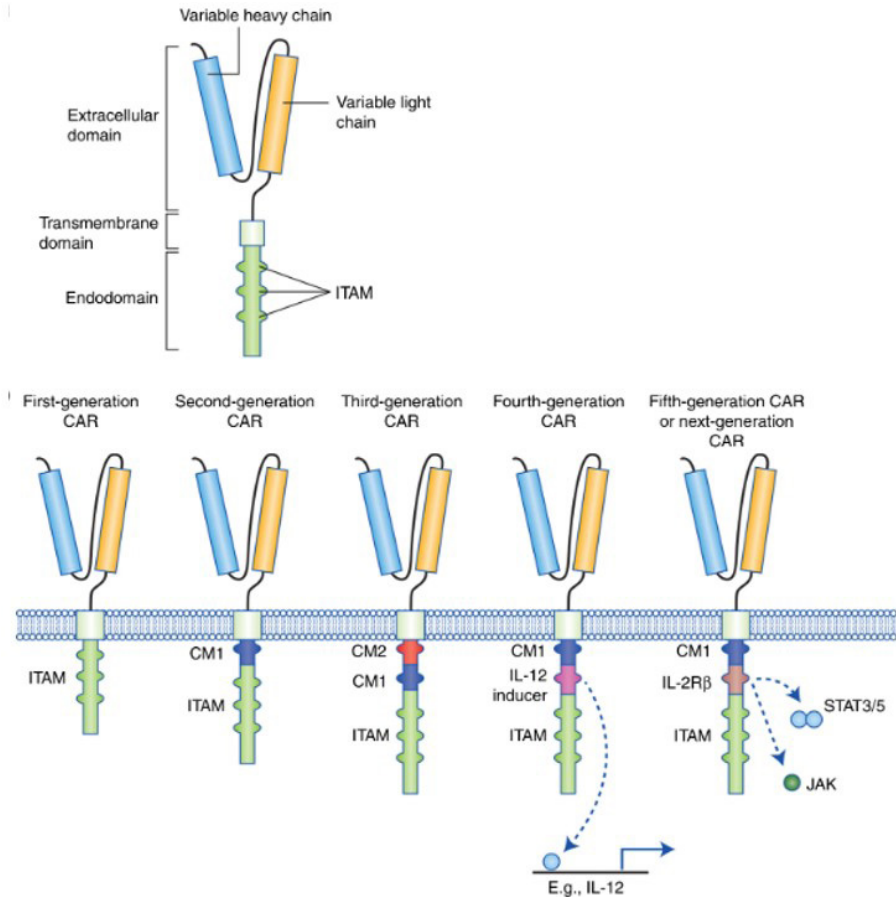
Budowa limfocytów CAR i ich generacji

Do tej pory powstało 5 generacji limfocytów CAR, jednak ich budowa jest ciągle udoskonalana z myślą o powstawaniu kolejnych, ulepszonych wersji. Pierwszorzędowe CAR-y zawierały domeny przypominające budową fizjologiczne TCR-y (*ang. T-cell receptor*)- domenę wewnętrzną CD3ζ lub FcεRIγ bez dodatkowych cząsteczek kostymulujących. Jednak taka forma nie była zdolna do produkowania odpowiedniej ilości Il-2, która musiała być dodatkowo

uzupełniana, aby terapia zachowała minimalną skuteczność. Ponadto proliferacja wspomnianych komórek *in vivo* była zbyt słaba, aby wykorzystać tę generację jako lek. Z tego powodu narodził się pomysł dołączenia cząsteczki kostymulującej, tj. CD28, 4-1BB lub OX-40, która wzmacniała sygnał aktywujący zwiększając proliferację i cytotoksyczność- tak powstała druga generacja. Kolejny wariant budowy (trzecia generacja) zyskał już dwie cząsteczki kostymulujące, których kombinacje składają się na parę z cząsteczek: CD28, CD137, CD134, 4-1BB lub OX-40. Tak precyzyjnie połączony kompleks może wywoływać określone reakcje limfocytów, np. zmniejszać sekrecję IL-10. Jednak nawet tak dobre skumulowanie siły działania kostymulantów nie zwiększyło przeżywalności w mikrośrodoisku guzów litych, co stało się największą wadą trzeciej generacji. Komórki CAR-T czwartej generacji swoją budową przypominają generację drugą, jednak wzbogacone są o jądrowy czynnik aktywowanych limfocytów (*ang. nuclear factor of activated T cells, NFAT*)- nazwane zostały komórkami przekierowanymi na uniwersalne zabijanie za pomocą cytokin (*ang. T cells redirected for universal cytokine-mediated killing, TRUCK*). Powstały system jest zdolny do wydzielania dodatkowo m.in. IL-12 czy IL-18, co zwiększyło przeżywalność tych komórek w toksycznym środowisku guza [1,5]. Piąta, najnowsza do tej pory generacja CAR-ów, pozostaje dalej na poziomie badań. W swojej budowie przypominającej również drugą generację, zawierają skróconą domenę cytoplazmatyczną dla receptora IL-2 związaną z czynnikiem transkrypcyjnym STAT3. Jednak na przewidywane korzyści z takiego połączenia tj. wzmocnienie trzech synergistycznych sygnałów stymulujących proliferację i przeżycie w mikrośrodoisku nowotworowym musimy poczekać jeszcze na dokładniejszy rozwój badań [6].

Możliwe powikłania terapii

Mimo wysokiej skuteczności, terapia CAR-T nie jest pierwszą linią leczenia chorób limfoproliferacyjnych. Jest to spowodowane m.in. wysokim wskaźnikiem toksyczności. Owe działania niepożądane są wynikiem konstrukcji komórek CAR, ale także celem- rodzajem nowotworu. Do najbardziej niebezpiecznych powikłań terapii należy zespół uwalniania cytokin (*ang. cytokine release syndrome, CRS*), zespół aktywacji makrofagów (*ang. macrophage activation syndrome, MAS*) lub zespół hemofagocytowy (*ang. hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH*) a także zespół neurotoksyczności związany z komórkami efektorowymi układu odpornościowego (*ang. immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS*), który charakteryzuje się podwyższonym poziomem cytokin w płynie



Ryc. 2 Budowa powstałych do tej pory generacji komórek CAR-T [6]

mózgowo-rdzeniowym oraz uszkodzeniem bariery krew-mózg. Najlepiej udokumentowanymi przypadkami skutków ubocznych są pacjenci leczeni terapią przeciwko CD19, która od niedawna została zatwierdzona przez FDA (*Agencja Żywności i Leków, ang. Food and Drug Administration*). Prawie połowa chorych wykazywała nadmierną produkcję cytokin i masową kolonizację limfocytów T in vivo. Taka sytuacja w połączeniu z ciężką aktywacją krzyżową komórek odpornościowych u niektórych pacjentów doprowadza do CRSu czy MASu, na który składa się CRS i połączenie jednego lub wielu z poniższych: podwyższony poziom ferrytyny i enzymów wątrobowych, hemofagocytoza, niewydolność nerek, splenomegalia, obrzęk płuc lub brak aktywności komórek NK. Jest to połączenie stanowiące często bezpośrednie zagrożenie życia. CRS jest wynikiem intensywnej

aktywacji podawanych komórek CAR-T, prowadzącej do uwolnienia ogromnych ilości cytokin. Objawy łagodnego CRS obejmują gorączkę, zmęczenie, biegunkę, bóle głowy, wysypkę, bóle stawów i mięśni. W przypadkach cięższych pacjenci mogą prezentować hipotensję, niewydolność serca, niewydolność krążenia, niewydolność oddechową, niewydolność nerek, niewydolność wielonarządową, a nawet prowadzić do zgonu. Patofizjologicznie uważa się, że CRS jest głównie mediowane przez IL-6, dlatego leczenie opiera się na blokadzie receptora IL-6 przy użyciu tocilizumabu i kortykosteroidów. Warto zauważyć, że HLH/MAS wtórne do terapii komórkami CAR-T może być odporne na blokadę IL-6 i zamiast tego wymagać chemioterapii. Z kolei objawy kliniczne ICANS obejmują dezorientację, bóle głowy, deficyty uwagi, trudności w znajdowaniu słów, ogniskowe deficyty neurologiczne, encefalopatię, obrzęk mózgu, przemijającą śpiączkę lub napady padaczkowe. Neurotoksyczność po terapii komórkami CAR-T jest stosunkowo częsta i może wystąpić u nawet 67% pacjentów leczonych z powodu białaczki oraz u 62% pacjentów leczonych z powodu chłoniaka. Wszystkie te elementy wskazują, że terapia CAR-T ma przed sobą jeszcze wiele wyzwań, aby móc uznać ją za całkowicie bezpieczną [7].

METODA CRISPR/CAS9

Technologia CRISPR/Cas9 (*ang. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR Associated Nuclease9*) została opracowana na podstawie układu odpornościowego bakterii i archeonów, które używają tej metody w celu nabycia odporności na bakteriofagi [8]. Mechanizm ten polega na precyzyjnym wycięciu i włączeniu fragmentów obcego DNA w loci CRISPR własnego genomu co umożliwia bakteriom szybkie rozpoznanie i pokonanie infekcji. Spośród wszystkich poznanych rodzajów CRISPR-Cas wykorzystywanych przez organizmy bezjądrowe, jedynie typ II znalazł zastosowanie w inżynierii biomedycznej jako przyszłość i uzupełnienie m.in. terapii immunologicznych [9].

Mechanizm działania

Cały proces można podzielić na trzy główne części: adaptację, ekspresję i interferencję. Podczas pierwszego etapu dochodzi do włączenia wirusowego lub plazmidowego fragmentu DNA (*ang. protospacer*) do locus CRISPR genomu bakterii. Dokładny mechanizm nie jest jeszcze do końca poznany. Efektem jest powstanie na tzw. końcu liderowym- czyli na jednym z końców locus- zduplikowanej

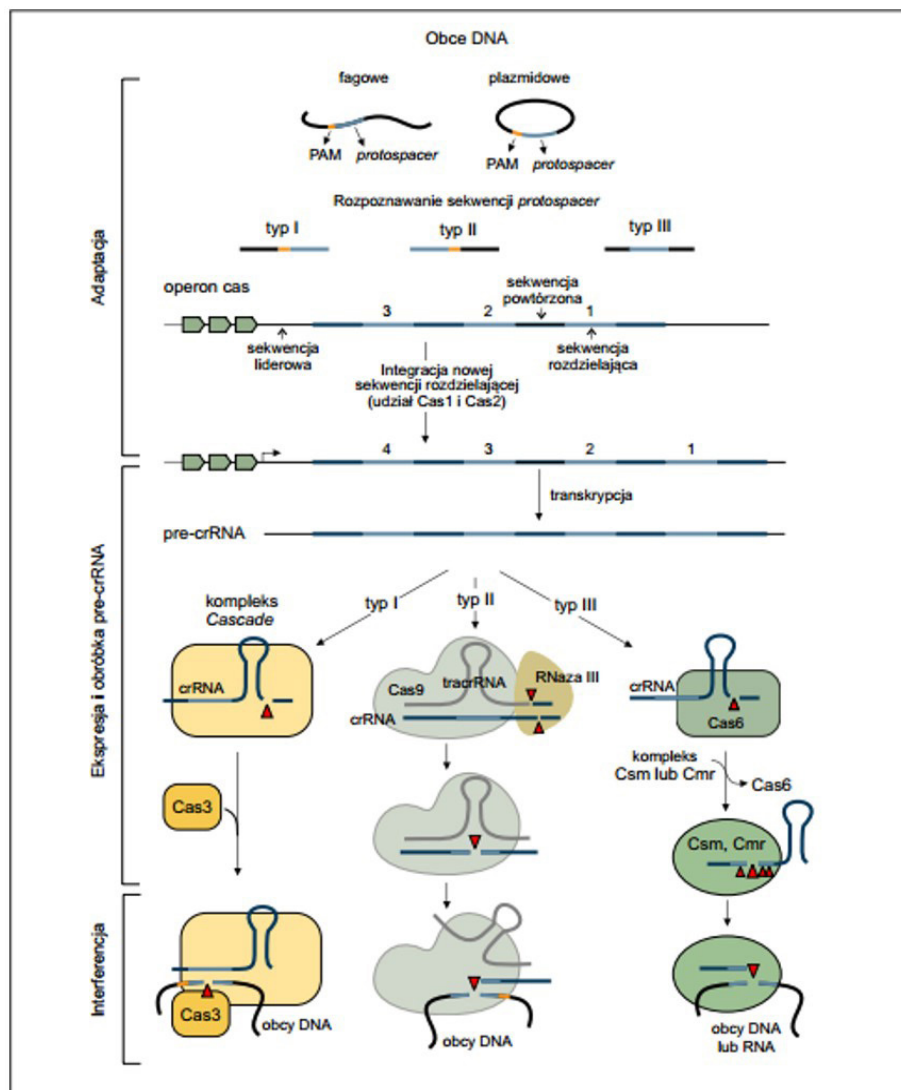
sekwencji powtórzonej rozdzielonej sekwencją rozdzielającą. Podsumowując, powstaje system: powtórzenie proste-sekwencja rozdzielająca-powtórzenie proste [9]. Kolejnym etapem jest ekspresja, podczas której zachodzi transkrypcja całego nowo wprowadzonego fragmentu DNA. Powstaje dojrzałe CRISPR RNA (crRNA) częściowo komplementarne do obcego odcinka materiału genetycznego [10]. Ostatnim elementem jest interferencja polegająca na destrukcji obcego genomu. Dzieje się to za pomocą połączenia crRNA z białkami Cas. Tak powstały kompleks rybonukleoproteinowy ma możliwość hydrolizowania wiązań fosfodiestrowych pomiędzy kwasami nukleinowymi rozpoznanych fragmentów. Białko Cas przecina obie nici obcego DNA [9,11].

Systemy ekspresji genomu zostały podzielone na trzy główne klasy. Przyszłością rozwoju immunoterapii obecnie jest system II, który znacznie różni się od pozostałych typów. Jego charakterystycznym elementem jest duże wielodomenowe białko-Cas9, odpowiadające za trawienie nici DNA obcego genomu. Jednak typ II wykorzystywany w inżynierii genomowej różni się od naturalnego brakiem etapu adaptacji. Aby dokonać zmian w określonym fragmencie genomu, konieczne jest dostarczenie komórce odpowiednich elementów systemu z zewnątrz. Ich obecność prowadzi do tymczasowej ekspresji, jednakże efektem jest trwała modyfikacja genomu [9].

ULEPSZENIE TERAPII CAR-T METODĄ CRISPR/CAS9

Aby zapobiec wielu wspomnianym już wcześniej zagrożeniom związanym z terapią CAR-T rozpoczęto próby modyfikowania komórek CAR za pomocą metody CRISPR/Cas9. CRS czy ICANS, w przebiegu których można zaobserwować wysoki poziom cytokin, charakteryzują się nadmiernie aktywowanymi reakcjami zapalnymi toczącymi się w organizmie pacjenta [12]. W celu zminimalizowania toksyczności przeprowadzono badanie, w którym dzięki CRISPR/Cas9 został zakłócony czynnik stymulujący kolonie granulocytów i makrofagów (*ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GMF*). Badanie wykazało redukcję CRS i neurozapalenia bez cech osłabienia samej terapii CAR-T [13].

Kolejną przeciwnością dla wprowadzenia immunoterapii z użyciem komórek CAR w codzienność kliniczną jest trudność uzyskania odpowiedniej liczby oraz wysokiej jakości limfocytów T pobranych od pacjenta. Klasyczne receptory CAR pochodzą z autologicznych komórek co jest wysoce zindywidualizowanym, czasochłonnym i kosztownym procesem. Ponadto kondycja zdrowotna osób



Ryc.3 Mechanizm działania CRISPR-Cas9- adaptacja, ekspresja i interferencja [9]

jest radykalnie obniżona. To wszystko prowadzi do trudności w pobraniu odpowiedniej ilości i jakości komórek potrzebnych do zmodyfikowania i ponownego podania w ramach immunoterapii. Te ograniczenia skłoniły do poszukiwań bardziej uniwersalnych rozwiązań- komórek już gotowych do użycia dla każdego, pobranych od zdrowych dawców. Potencjalnie byłyby to komórki, dla których modyfikacja genetyczna i wprowadzenie ich jako uniwersalna terapia stałyby się dużo mniej kosztownym procesem, dostępnym większej liczbie chorych. Aby

to osiągnąć trzeba stawić czoła trzem głównym przeszkodom: choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (*ang. graft-versus-host disease, GVHD*), odrzucenie przeszczepionych komórek przez biorcę oraz poprawienie profilu bezpieczeństwa biologicznego w celu uzyskania silniejszej aktywności skierowanej przeciwko chorobie. Podawanie allogenicznych limfocytów T zawierających endogenne receptory $\alpha\beta$ (TCR), odpowiedzialne za rozpoznawanie antygeny mogą wykryć alloantygeny biorcy powodując GVHD. Dodatkowo ludzki antygen leukocytarny (*ang. human leukocyte antigen, HLA*), należący do kompleksu zgodności tkanekowej (*ang. major histocompatibility complex, MHC*) po przeszczepieniu obcych komórek z dużą dozą prawdopodobieństwa doprowadzi do szybkiego odrzucenia przez biorcę. Do tej pory próbowano różnych sposobów na wyciszenie zarówno HLA, jak i TCR na uniwersalnych komórkach CAR-T. Pojawienie się CRISPR/Cas9 jako bardzo prostej, efektywnej i stosunkowo taniej metody edycji genomu, dało nadzieję na przełom w tej kwestii [14].

Przeprowadzono badania, w których wyciszono za pomocą CRISPR/Cas9 łańcuch beta TCR i beta-2-mikroglobuliny cząsteczki HLA-I. Wyniki ukazały zachowanie funkcji terapeutycznych *in vitro* oraz *in vivo* bez wywołania GVHD [15,16]. Jednak wyłączenie łańcucha beta-2-mikroglobuliny oraz podsystemu HLA-I stanowi potencjalne zagrożenie dla przeżycia komórek CAR-T. Takie połączenie wywołuje aktywację komórek NK, których działanie prowadzi do odrzucenia terapii. Aby obejść taką ewentualność obecnie można wzbogacić genetycznie limfocyty T tak aby wyrażały HLA-E lub wytwarzały przeciwciała przeciwko komórkom NK [17].

Kolejną przeciwnością może być hamowanie aktywności zmodyfikowanych limfocytów T. Fizjologicznie posiadają one receptory inhibicyjne lub cząsteczki sygnalizujące, takie jak CTLA-4, PD-1, LAG-3 i TIM-3, pełniące funkcję sygnału ujemnego sprzężenia zwrotnego, kontrolującego odpowiedź tych komórek. Ekspresja tych receptorów na komórkach CAR-T prowadzi do wyczerpania limfocytów T. Guzy lite, ale także nowotwory krwi wykształciły zdolność do aktywowania m.in. PD-1, co powoduje obniżenie skuteczności układu odpornościowego [18]. W ostatnich latach ukazały się badania potwierdzające powstanie -dzięki metodzie CRISPR/Cas9-specjalnych przeciwciał przeciwko receptorom hamującym, uniemożliwiają tym samym wyłączenie aktywności zmodyfikowanych komórek CAR-T.

Do czynników regulujących odpowiedź limfocytów T należy także receptor Fas, będący częścią rodziny receptorów śmierci związanych z czynnikiem martwicy nowotworów α . Wraz ze swoim ligandem (FasL) uczestniczą w apoptozie

limfocytów T. Połączenie się tego kompleksu może znacznie osłabić siłę działania immunoterapii CAR-T. Wyłączenie receptora Fas za pomocą CRISPR/Cas9 może doprowadzić do powstania zmodyfikowanych komórek CAR odpornych na apoptozę, co potencjalnie może zwiększyć skuteczność i trwałość całej terapii [14].

Obecnie wiele protokołów produkcji komórek CAR opiera się na ich transdukcji *ex vivo*, dzięki wykorzystaniu wirusowego wektora zawierającego sekwencję receptora chimerycznego [19]. Mimo, że metoda ta uważana jest za ogólnie bezpieczną i zatwierdzoną przez FDA, istnieje ryzyko transformacji zmodyfikowanych komórek CAR przez mutagenезę insercyjną genów supresorowych onkogenów [20]. Ponadto lentiwirusy integrują się w połowie losowo, co może prowadzić do zmiennej ekspresji CAR na powierzchniach komórek i powstawania jedynie częściowo optymalnego produktu terapeutycznego immunoterapii [21]. Wprowadzenie zmodyfikowanej sekwencji dla receptora CAR pod kontrolą silnego egzogenego promotora może spowodować wysoką i niekontrolowaną ekspresję tego receptora generującą sygnały toniczne niezależne od obecności ligandu czy innego sygnału egzogenego. Cały proces może indukować m.in systemową produkcję cytokin, co konsekwentnie doprowadzi do szybkiego wyczerpania limfocytów T [22,23]. Aby rozwiązać te problemy związane z wykorzystywaniem wirusowego wektora rozpoczęto próby wykorzystania metody CRISPR/Cas9, która mogłaby potencjalnie dostarczyć kasetę DNA kodującą CAR do określonej lokalizacji genomowej. Taki mechanizm pozwoliłby na wstawienie sekwencji CAR w konkretne, wybrane wcześniej miejsce. Przykładowo, anty-CD19 CAR można ukierunkować w lokalizację genu odpowiedzialnego za kodowanie receptora α limfocytów T, co przypuszczalnie doprowadzi do jednolitej ekspresji CAR, zmniejszonej sygnalizacji tonicznej oraz zmniejszeniem wyczerpania wraz ze wzrostem skuteczności leczenia. Dodatkową korzyścią w tej sytuacji staje się wytworzenie bardziej uniwersalnego produktu, który tak jak wspomniano wyżej, znacznie zmniejszyłby koszty leczenia i tym samym zwiększył dostępność [21].

PODSUMOWANIE

Terapia CAR-T od paru ostatnich lat staje się dla wielu pacjentów hematologicznych jedyną szansą na uzyskanie remisji. Pomimo wielu pozytywnych i obiecujących aspektów, immunoterapia wciąż zmagą się z wieloma ograniczeniami. Do głównych przeciwności należy przede wszystkim toksyczność samego leczenia i ewentualne działania niepożądane takie jak CRS, MAS czy ICANS. Ponadto

samo pobranie i indywidualne zmodyfikowanie autologicznych limfocytów T jest wysoce kosztowne, a tym samym trafia do ograniczonej grupy pacjentów, którzy mają możliwość sfinansowania takiego leczenia. Sama terapia zmagą się dodatkowo z problemem możliwości wyczerpania komórek CAR w organizmie pacjenta, co znacznie zmniejsza skuteczność tej metody. Do tej pory naukowcy wykorzystywali wiele narzędzi inżynierii genetycznej, aby pokonać wspomniane przeszkody, jednak okazały się one nieskuteczne. Nadzieją okazała się niedawno nagrodzona nagrodą Nobla metoda CRISPR/Cas9. Jej działanie często określane “nożyczkami genetycznymi” opiera się na mechanizmie odporności bakterii i archeonów. Potencjalne połączenie obu składowych, a właściwie modyfikacja elementów immunoterapii za pomocą CRISPR/Cas9 może umożliwić ulepszenie działania komórek CAR tak, aby zminimalizować skutki uboczne samej terapii oraz zwiększyć skuteczność. Istnieje jeszcze wiele płaszczyzn, w których można wykorzystać takie połączenie, zatem nie pozostaje nam nic innego jak oczekiwać kolejnych przeprowadzonych badań w tym kierunku.

REFERENCJE

- [1] Kołodziej J, Skowronek A, Graca Z, Żurek M, Czogalik Ł, Zięba K. Immunoterapia CAR-T cells – podstawowy mechanizm działania i wykorzystanie w leczeniu nowotworów. *ArchaeGraph*. 2023.
- [2] Cohen J. CRISPR, the revolutionary genetic ‘scissors’, honored by Chemistry Nobel. *science.org*. 7.10.2020.
- [3] Kieraszińska A, Ciunowicz D, Węgierska M, Stoczyńska-Fidelus E, Rieske P. CAR-T therapy in oncology and other fields of medicine. *Alergologia Polska - Polish Journal of Allergology*. 2021;8(2):77-91. doi:10.5114/pja.2021.106685.
- [4] Hong M, Clubb JD, Chen YY. Engineering CAR-T Cells for Next-Generation Cancer Therapy. *Cancer Cell*. 2020;38(4):473-488. doi:10.1016/j.ccell.2020.07.005
- [5] Reis A. From the first to the fifth generation of CAR-T cells - ProteoGenix. ProteoGenix. 3.08.2021. Dostęp 18.05.2024. <https://www.proteogenix.science/scientific-corner/car-t/car-t-generations/>

- [6] Tokarew N, Ogonek J, Endres S, et al. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells. *Br J Cancer*. 2019;120:26-37. doi:10.1038/s41416-018-0325-1
- [7] Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021;11(4):69. Published 2021 Apr 6. doi:10.1038/s41408-021-00459-7
- [8] Mollanoori H, Shahraki H, Rahmati Y, Teimourian S. CRISPR/Cas9 and CAR-T cell, collaboration of two revolutionary technologies in cancer immunotherapy, an instruction for successful cancer treatment. *Hum Immunol*. 2018;79(12):876-882. doi:10.1016/j.humimm.2018.09.007
- [9] Czarnek M, Bereta J. System CRISPR-Cas – od odporności bakterii do inżynierii genomowej. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. (2016);70(null):901-916. <https://doi.org/10.5604/17322693.1216379>.
- [10] Brouns SJ, Jore MM, Lundgren M, et al. Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. *Science*. 2008;321(5891):960-964. doi:10.1126/science.1159689
- [11] Garneau J, Dupuis MÈ, Villion M, et al. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. *Nature*. 2010;468:67-71. doi:10.1038/nature09523
- [12] Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy - assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(1):47-62. doi:10.1038/nrclinonc.2017.148
- [13] Hu KJ, Yin ETS, Hu YX, Huang H. Combination of CRISPR/Cas9 System and CAR-T Cell Therapy: A New Era for Refractory and Relapsed Hematological Malignancies. *Curr Med Sci*. 2021;41(3):420-430. doi:10.1007/s11596-021-2391-5
- [14] Mollanoori H, Shahraki H, Rahmati Y, Teimourian S. CRISPR/Cas9 and CAR-T cell, collaboration of two revolutionary technologies in cancer immunotherapy, an instruction for successful cancer treatment. *Hum Immunol*. 2018;79(12):876-882. doi:10.1016/j.humimm.2018.09.007

- [15] Liu X, Zhang Y, Cheng C, et al. CRISPR-Cas9-mediated multiplex gene editing in CAR-T cells. *Cell Res.* 2017;27(1):154-157. doi:10.1038/cr.2016.142
- [16] Ren J, Liu X, Fang C, Jiang S, June CH, Zhao Y. Multiplex Genome Editing to Generate Universal CAR T Cells Resistant to PD1 Inhibition. *Clin Cancer Res.* 2017;23(9):2255-2266. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-1300
- [17] Liu X, Zhao Y. CRISPR/Cas9 genome editing: Fueling the revolution in cancer immunotherapy. *Curr Res Transl Med.* 2018;66(2):39-42. doi:10.1016/j.retram.2018.04.003
- [18] Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(8):486-499. doi:10.1038/nri3862
- [19] Zhang C, Liu J, Zhong JF, Zhang X. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res.* 2017;5:22. Published 2017 Jun 24. doi:10.1186/s40364-017-0102-y
- [20] McGarrity GJ, Hoyah G, Winemiller A, et al. Patient monitoring and follow-up in lentiviral clinical trials. *J Gene Med.* 2013;15(2):78-82. doi:10.1002/jgm.2691
- [21] Dimitri A, Herbst F, Fraietta JA. Engineering the next-generation of CAR T-cells with CRISPR-Cas9 gene editing. *Mol Cancer.* 2022;21(1):78. Published 2022 Mar 18. doi:10.1186/s12943-022-01559-z
- [22] Frigault MJ, Lee J, Basil MC, et al. Identification of chimeric antigen receptors that mediate constitutive or inducible proliferation of T cells. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(4):356-367. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0186
- [23] Ajina A, Maher J. Strategies to Address Chimeric Antigen Receptor Tonic Signaling. *Mol Cancer Ther.* 2018;17(9):1795-1815. doi:10.1158/1535-7163.MCT-17-1097

CRISPR/CAS9 JAKO OBIECUJĄCE NARZĘDZIE DO MODYFIKACJI GENÓW W LECZENIU ANEMII SIERPOWATOKRWINKOWEJ - PRZEGLĄD GŁÓWNYCH OSIĄGNIĘĆ I DALSZYCH WYZWAŃ

Zuzanna Złotnicka, Sebastian Kościjański, Paweł Krupa,
Karolina Zięba, Jakub Kmieć

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Anemia sierpowatokrwinkowa (SCD) to choroba uwarunkowana genetycznie, której patomechanizm opiera się na mutacji punktowej genu kodującego łańcuch β hemoglobiny. W efekcie dochodzi do produkcji patologicznej hemoglobiny HbS, która powoduje, że powstające erytrocyty przyjmują sierpowaty kształt. Najczęstszą manifestacją kliniczną są powikłania naczyniowo-okluzyjne (VOCs). Przez długi czas szukano alternatywnych metod leczenia dla transfuzji hematopoetycznych komórek macierzystych, pobranych od dopasowanego dawcy. Rozwiązaniem okazało się wykorzystanie systemu CRISPR/Cas9 do modyfikacji genów komórek autologicznych, pobranych od chorego i wszczepienie ich z powrotem pacjentowi. Na szczególną uwagę zasługują trzy podejścia wykorzystujące wspomniany system: korekta mutacji SCD przy użyciu matrycy dawcy DNA, modyfikacja genów *in vivo* oraz zatwierdzone przez FDA podejście opierające się na indukcji hemoglobiny płodowej poprzez modyfikację genu BCL11A. Preparat z edytowanymi komórkami, których DNA zmodyfikowano przy wykorzystaniu ostatniego z wymienionych podejść, funkcjonuje pod nazwą handlową Casgevy. Mimo ogromnych osiągnięć w tej dziedzinie, nadal czyhają pewne wyzwania, takie jak na przykład ryzyko wystąpienia mutacji poza celem w obrębie genomu. Dlatego konieczne są dalsze badania, aby w pełni zoptymalizować omówioną terapię genową.

Słowa kluczowe: anemia sierpowatokrwinkowa, CRISPR/Cas9, łańcuch β hemoglobiny, modyfikacja genów

Abstract: Sickle cell disease (SCD) is a genetically determined disease whose pathomechanism is based on a point mutation of the gene encoding the hemoglobin β chain. As a result, pathological hemoglobin HbS is produced, which causes the resulting erythrocytes to assume a sickle shape. The most common clinical manifestation is vaso-occlusive crises (VOC). For a long time, alternative treatments to the transfusion of hematopoietic stem cells from a matched donor have been sought. The solution turned out to be use the CRISPR/Cas9 system to edit the genes of autologous cells taken from the patient and implant them back into the patient. Three approaches using this system are particularly noteworthy: SCD mutation correction using a donor DNA template, in vivo gene editing, and the FDA-approved approach based on the induction of fetal hemoglobin by editing the BCL11A gene. The preparation with edited cells whose DNA was modified using the last mentioned approach is known as Casgevy. Despite great achievements in this field, some challenges remain, such as the risk of off-target mutations within the genome. Therefore, further research is necessary to fully optimize the discussed gene therapy.

Key words: CRISPR/Cas9, gene editing, sickle cell disease, the hemoglobin β chain

WSTĘP

Anemia sierpowatokrwinkowa (*sickle cell disease*, SCD) jest chorobą genetyczną, dziedziczną autosomalnie recesywnie, która wynika z mutacji punktowej w genie HBB kodującym łańcuch β hemoglobiny. Specyficzna zmiana polega na wymianie kwasu glutaminowego na walinę w pozycji 6. łańcucha β (Glu6Val), w wyniku czego ostatecznie koduje hemoglobinę sierpowatą, która polimeryzuje po odlenieniu i ma tendencję do wytwarzania nieprawidłowych (w kształcie półksiężyca) czerwonych krwinek [1,2]. Sierpowate retikulocyty (nieodjrzałe krwinki czerwone) w SCD mają zwiększone właściwości adhezyjne, co może wywołać proces okluzyjny naczyń [3]. Zatykanie naczyń włosowatych w anemii sierpowatej może prowadzić do poważnych problemów systemowych, w tym przewlekłej niedokrwistości, która często wymaga regularnych transfuzji krwi. Powikłania tej choroby obejmują trudne do leczenia owrzodzenia podudzi, uszkodzenia oczu, udary, przełomy naczyniowe, którym towarzyszy ostry ból oraz zawały narządów. Pacjenci z anemią sierpowatą często cierpią również na przewlekłą hemolizę, co prowadzi do trwałej niedokrwistości. Powikłania obejmują również zwiększone ryzyko infekcji z powodu upośledzenia funkcji śledziony, co jest wynikiem jej wielokrotnych zawałów i w konsekwencji auto-splenektomii [2]. Naprzeciw wspomnianym problemom wynikającym z SCD wychodzi terapia genowa. Precyzyjne i zweryfikowane metody rozpoznawania, cięcia i naprawy DNA są niezbędne w korekcji genów. W ostatnich dziesięcioleciach strategię precyzyjnych modyfikacji genomu za pośrednictwem embrionalnych komórek macierzystych w drodze rekombinacji homologicznej

były ograniczone do niektórych organizmów [4]. W 2020 roku Emmanuelle Charpentier i Jennifer Doudna otrzymały Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii za badania nad endonukleazą zgrupowaną w regularnie rozmieszczone krótkie powtórzenia palindromowe (CRISPR) oraz metodę modyfikacji DNA związaną z białkiem 9 CRISPR (CRISPR/Cas9) [4]. Era modyfikacji genomu CRISPR/Cas9 rozpoczęła się, gdy funkcja genu mogła być zakłócona przez indukcję pęknięć dwuniciowego DNA za pośrednictwem systemu CRISPR/Cas9 oraz niehomologiczną naprawę genu lub jego wymianę, a także zmiany w specyficznych zasadach lub insercję sekwencji kodujących oznakowane epitopy białek. Pierwsze kliniczne zastosowania CRISPR/Cas9 rozpoczęły się od badań nad β -talasemią oraz wcześniej wspomnianą anemią sierpowatokrwinkową [4].

BADANIA PRZEDKLINICZNE ZWIĄZANE Z MODYFIKACJĄ GENÓW EX VIVO LUDZKICH HSPC

W tych badaniach wykorzystano myszy model z niedoborem odporności, któremu przeszczepiono komórki ze zmodyfikowanymi genami. Celem ich była ocena długoterminowego przyjęcia się tych komórek w organizmie. W większości przypadków do modyfikacji tej zastosowano właśnie system CRISPR/Cas9 pochodzący ze *Streptococcus pyogenes* [5].

Hodowla komórkowa

Hodowlę utworzono z ludzkich hematopoetycznych komórek macierzystych/progenitorowych (*Hematopoietic stem and progenitor cell*, HSPC) wykazujących ekspresję antygeny CD34. Można je wyizolować z krwi pępowinowej, szpiku kostnego czy krwi obwodowej. Aczkolwiek w większości badań wykorzystano HSPC pochodzące z krwi obwodowej. Aby zwiększyć skuteczność modyfikacji (co wykazano), wyizolowane komórki CD34+ przed stymulacją hodowano w pożywce z cytokinami przez kilka dni [5,6]. Z kolei dla wydajnej stymulacji ekspansji komórek HSPC ze zmodyfikowanymi genami optymalne były: niska gęstość komórek w hodowli oraz zastosowane czynniki samoodnawiania krwiotwórczych komórek macierzystych takie jak UM171 i Stem-Regenin 1 (SR1). Dzięki temu możliwe było uzyskanie wysokiego potencjału wszczepienia w mysim modelu [5,7,8]. W celu oceny białka globiny po modyfikacji genów (z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej lub

cytometrii przepływowej) komórki HSPC były hodowane w pożywce promującej różnicowanie linii erytroidalnej [5].

Modyfikacja genów z wykorzystaniem CRISPR/Cas9

System CRISPR/Cas9 zawiera nukleazę kierowaną przez RNA i celującą w sekwencje genomowe o długości 20 par zasad azotowych, które są komplementarne do RNA kierującego CRISPR (gRNA). Enzym po rozpoznaniu konkretnej sekwencji przecina w tym miejscu DNA tworząc pęknięcia dwuniciowe, które mogą być naprawiane przez dwa endogenne mechanizmy naprawy eukariotycznego DNA: łączenie niehomologicznych końców (non-homologous end joining-NHEJ) oraz naprawa poprzez rekombinację homologiczną (Homologous recombination-HR). Wymienione mechanizmy naprawcze mogą doprowadzić do powstania zmian w miejscu pęknięcia DNA co wiąże się z modyfikacją genu. System CRISPR/Cas9 dzięki swojej elastyczności i zdolności do edycji multipleksowej, można zastosować do jednoczesnego namierzania różnych sekwencji DNA i generowania dużych rearanżacji genomowych (np. delecji, inwersji, duplikacji i translokacji) [9]. Przez lata próbowano zoptymalizować w jak najlepszy sposób system do modyfikacji genów oraz sposób jego dostarczania do komórek HSPC w celu maksymalizacji efektywności edycji genomu i minimalizacji toksyczności komórkowej [5,9]. Początkowo wykorzystywano system oparty na plazmidzie w celu ekspresji Cas9 i gRNA. Niestety okazało się to mało efektywne oraz wykazywało dość wysoką toksyczność wobec badanych komórek [5,10]. Później zdecydowano się, jednak na dostarczanie gRNA i Cas9 w postaci wstępnie skompleksowanej rybonukleoproteiny (RNP), wykazującej minimalną cytotoxyczność i wywołującą odpowiedź na uszkodzenie DNA (DNA damage response-DDR) [5,9]. Preferowaną metodą wprowadzenia RNP do komórek była elektroporacja według protokołu nukleofekcji. Umożliwiła ona bezpośrednie i szybkie dostarczanie odczynnika do HSPC oraz przedostanie się go do jądra komórkowego i następnie natychmiastowe rozpoczęcie cięcia genomu [5]. Dodatkowo, modyfikacje chemiczne dokonane w syntetycznych gRNA jeszcze bardziej zwiększyły skuteczność modyfikacji genomu w hematopoetycznych komórkach macierzystych i progenitorowych CD34 + [11].

Wszczepienie komórek myszom

Jako gospodarze przeszczepu ludzkich hematopoetycznych komórek macierzystych posłużyły dwa powszechnie stosowane w tym celu mysie szczepy: NSG i NBSGW. Pierwszy z wymienionych (NSG) ma w sobie szereg mutacji, które hamują układ odpornościowy gospodarza. Myszy te wymagają kondycjonowania mieloablacyjnego (napromieniowywania i niszczenia własnego szpiku) w celu osiągnięcia wysokiego poziomu ludzkiego chimeryzmu i lepszego przyjęcia się przeszczepu. Poza tym ten szczep nie wspiera normalnej ludzkiej erytropoezy, w związku z czym wszczepione komórki poddaje się różnicowaniu erytroidalnemu poza organizmem myszy w celu oceny ekspresji białka globiny i częstotliwości edycji w liniach erytroidalnych [5,12]. Drugi szczep (NBSGW) z kolei nie wymaga zabiegu kondycjonowania, a to dzięki występującej w nim mutacji allelu Kit W41, która sprawia, że występuje u tych mysz schorzenie przypominające anemię aplastyczną. Możliwe jest u niego wszczepienie zarówno linii mieloidalnej oraz limfoidalnej jak i erytroidalnej. Ogólnie wykazano w badaniach, że nienapromieniowane myszy NBSGW osiągnęły podobnie wysoki poziom ludzkiego chimeryzmu do napromieniowanych mysz NSG oraz że myszy NBSGW sprzyjają seryjnym przeszczepom ludzkich hematopoetycznych komórek macierzystych. To co daje myszom NBSGW przewagę i sprawia, że są obiecujące w badaniach nad zrozumieniem biologii ludzkich HSPC, to na pewno brak konieczności ich napromieniowywania oraz wysoki odsetek wykrytych u nich (po przeszczepie) ludzkich komórek erytroidalnych de novo w szpiku. Mimo wszystko nadal, jednak brakuje u nich sygnałów do całkowitego zakończenia ludzkiej erytrogenyzy [12].

MODYFIKACJA GENU BCL11A

Jest to jedno z podejść, które dość niedawno amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) dopuściła w postaci preparatu o nazwie handlowej Casgevy (exagamglogene autotemcel) do leczenia chorych na anemię sierpowatokrwinkową. Zatwierdzenie leku dotyczyło leczenia niedokrwistości sierpowatokrwinkowej u pacjentów w wieku ≥ 12 lat z nawracającymi powikłaniami naczyniowo-okluzyjnymi. Lek został poza tym dopuszczony do leczenia β -talasemii (polegającej na upośledzonej syntezie białka globiny). Jest to niebywałe osiągnięcie w tej dziedzinie nauki [13].

BCL11A jako regulator poziomu hemoglobiny płodowej (HbF)

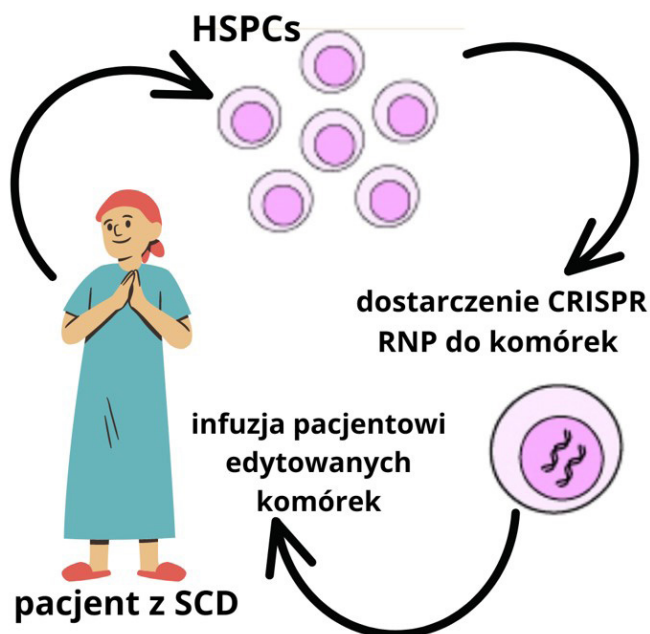
Poziom HbF, który u dorosłych stanowi znikomy procent hemoglobiny całkowitej może być potraktowany jako krytyczny modyfikator ciężkości klinicznej niedokrwistości sierpowatokrwinkowej. Podwyższony poziom HbF może bowiem zakłócać polimeryzację hemoglobiny sierpowatej i w ten sposób zmniejszać uszkodzenie erytrocytów i wydłużać także ich żywotność. Hemoglobina ta pozostaje, jednak pod stałą kontrolą wzmacniacza erytroidalnego BCL11A (kodującego białko regulatorowe wiążące się z DNA), który tłumii jej ekspresję w organizmie dorosłego człowieka poprzez bezpośrednią represję genu γ -globiny co potwierdzono w badaniach. Reguluje on więc proces przełączenia hemoglobiny płodowej ($\alpha 2\gamma 2$) w hemoglobinę dorosłych ($\alpha 2\beta 2$). Dlatego przy prężnie rozwijających się terapiach genowych, uwagę skupiono m.in. właśnie na tym podejściu, które polegało na modyfikacji genu BCL11A i w konsekwencji wyhamowaniu jego funkcji represora hemoglobiny płodowej [14]. Należy jednak pamiętać, że gen ten odgrywa różne role w różnych liniach krwiotwórczych. Naukowcy w swoich badaniach wykorzystali system CRISPR w celu uszkodzenia miejsca wiązania czynnika GATA1 (stymulującego ekspresję BCL11A) w obrębie wzmacniacza BCL11A. Spowodowało to specyficzne dla linii erytroidalnej zmniejszenie ekspresji tego genu i terapeutyczną indukcję ekspresji płodowej γ -globiny we wszczepianych komórkach HSPC, nie zakłócając przy tym funkcji genu BCL11A w innych liniach komórkowych. Wyniki analizy klonalnej potomstwa komórek CD34 + HSPC ze zmodyfikowanym genem BCL11A, wskazywały na dużą efektywność procesu modyfikacji. Badania na immunoniekompetentnych myszach, którym wszczepiono te komórki wykazały, że modyfikacja ta nie zaburzyła w żaden sposób funkcji komórek macierzystych. W trakcie badań okazało się także, że jeden z mechanizmów naprawy DNA, czyli NHEJ (non-homologous end joining) jest lepszy pod względem efektywności w modyfikacji genetycznej od mechanizmów: HDR (homology directed repair) oraz MMEJ (microhomology-mediated end joining) [5].

Lek Casgevy (exagamglogene autotemcel)

Lek został oficjalnie zatwierdzony przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków w dniu 8 grudnia 2023 r. i jest to jednocześnie pierwsza terapia anemii sierpowatokrwinkowej wykorzystująca CRISPR/Cas9, którą zaakceptowało FDA. Tydzień później zatwierdziła go także Europejska Agencja Leków (EMA). Jest on

dla pacjentów, dla których przeszczep hematopoetycznych komórek macierzystych nie jest przeciwwskazany i nie ma dla nich dostępnego, dopasowanego pod względem HLA dawcy tych komórek [13]. Exagamglogene autotemcel to po prostu populacja genetycznie zmodyfikowanych *ex vivo* przez system CRISPR/Cas9 autologicznych, hematopoetycznych komórek macierzystych i progenitorowych posiadających antygen CD34+. Opiera się to na mechanizmie wspomnianym wcześniej, czyli dochodzi do modyfikacji w krytycznym miejscu wiązania czynnika transkrypcyjnego (GATA1) w specyficznym dla erytroidów regionie wzmacniającym genu BCL11A. Jest on dostępny w postaci dyspersji lub zawiesiny do infuzji dożylniej w pojedynczej dawce wynoszącej $4-13 \times 10^6$ komórek/ml. Proces uzyskiwania, edycji i infuzji komórek przedstawiono schematycznie na rycinie 1. [5,15]. Przed leczeniem pacjent musi jednak zostać poddany kondycjonowaniu mieloablacyjnemu (chemioterapia wysokodawkowa) – procesowi, który niszczy komórki szpiku kostnego, aby można je było zastąpić zmodyfikowanymi komórkami Casgevy [16]. Wstępną skuteczność eksagamglogenu autotemcel wykazano w trwającym 24 miesiące jednoramiennym, otwartym, wieloośrodkowym badaniu fazy 1/2/3 (NCT03745287; CLIMB -121) z pojedynczą dawką u pacjentów w wieku 12–35 lat chorujących na ciężką niedokrwistość sierpowatokrwinkową. Kwalifikujący się pacjenci mieli genotyp $\beta S / \beta S$, $\beta S / \beta 0$ lub $\beta S / \beta +$, ich stan ogólny oceniany za pomocą skal Lansky'ego lub Karnofsky'ego był na poziomie $\geq 80\%$ oraz doświadczali oni wcześniej ≥ 2 ciężkich powikłań naczyniowo-okluzyjnych w każdym z 2 lat poprzedzających badanie przesiewowe. Ciężkie powikłania naczyniowo-okluzyjne zdefiniowano jako wystąpienie ≥ 1 z następujących objawów: ostry ból wymagający wizyty w placówce medycznej i zastosowania leków przeciwbólowych (opioidy lub dożylnie niesteroidowe leki przeciwzapalne) lub transfuzji krwinek czerwonych, ostry zespół klatki piersiowej, priapizm trwający > 2 godz. i wymagający wizyty w placówce medycznej oraz sekwestracja śledziony. Pacjentów poddano najpierw mobilizacji i aferezie w celu pobrania hematopoetycznych komórek CD34+ (do modyfikacji przy użyciu CRISPR/Cas9), a następnie wspomnianemu kondycjonowaniu mieloablacyjnemu, zanim dokonano wlewu tych komórek ze zmodyfikowanym materiałem genetycznym. Ponadto pacjentów poddano wymianie czerwonych krwinek lub prostym transfuzjom ≥ 8 tygodni przed mobilizacją w celu osiągnięcia docelowego poziomu hemoglobiny S stanowiącego $< 30\%$ hemoglobiny całkowitej, utrzymując jednocześnie poziom hemoglobiny całkowitej na poziomie ≤ 11 g/dl. Celem obniżenia poziomu patologicznej hemoglobiny przed mobilizacją jest zmniejszenie ryzyka pojawienia się groźnych objawów anemii sierpowatokrwinkowej podczas

procesu mobilizacji [15]. Pierwszorzędownym kryterium oceny skuteczności był brak ciężkiego powikłania naczyniowo-okluzyjnego przez co najmniej 12 kolejnych miesięcy w 24-miesięcznym okresie obserwacji [13]. W momencie analizy tymczasowej (dane zbierane do czerwca 2023 r) przy medianie czasu obserwacji zdrowia pacjentów wynoszącej 19,3 miesiąca, aż 29 z 31 obserwowanych pacjentów osiągnęło pierwotny wynik skuteczności i nie wystąpiły u nich żadne ciężkie powikłania naczyniowo-okluzyjne przez ≥ 12 kolejnych miesięcy w ciągu pierwszych 24 miesięcy po podaniu eksagamglogenu autotemcelu. Poza tym nie było żadnego przypadku odrzucenia przeszczepu i u wszystkich pacjentów udało się pomyślnie wszczepić komórki. Nie zgłoszono także żadnych zagrażających życiu działań niepożądanych, a do najczęściej występujących należały: leukopenia, trombocytopenia, limfopenia, neutropenia z gorączką, nudności, zmniejszenie apetytu, owrzodzenia w jamie ustnej oraz bóle mięśniowo-szkieletowe. Obiecujące wyniki tego badania klinicznego doprowadziły, więc ostatecznie do zatwierdzenia exagamglogenu autotemcelu przez FDA. Pacjenci, którzy ukończyli badanie CLIMB-121, dostali możliwość włączenia się do obecnie trwającego badania CLIMB-131 oceniającego długoterminowe efekty leczenia preparatem Casgevy [13, 15, 17].



Rycina 1. Schemat uzyskiwania, modyfikacji przy użyciu CRISPR/Cas9 i infuzji komórek HSPCs [opracowanie własne, [5]

KOREKTA MUTACJI SCD PRZY UŻYCIU MATRYCY DAWCY DNA

Korekta mutacji powodującej anemię sierpowatą za pomocą edycji genów stanowi jedno z najprostszych i najskuteczniejszych podejść terapeutycznych do tej jednostki chorobowej. W tym podejściu kompleks CRISPR gRNA/Cas9 RNP ukierunkowany na gen HBB wraz z matrycą dawcy DNA są dostarczane do hematopoetycznych komórek macierzystych izolowanych od pacjentów z SCD, co prowadzi do korekcji przyczynowej mutacji za pośrednictwem mechanizmu naprawy homologicznej (HDR). Podczas badań oceniano skuteczność wielu wektorów wirusowych pod kątem dostarczania matrycy dawcy. Najlepszym wyborem okazały się wirusy związane z adenowirusami (AAV), ponieważ charakteryzuje je niska częstotliwość integracji wektora z genomowym DNA gospodarza oraz niskie ryzyko mutagenyzy insercyjnej i genotoksyczności [18]. Badania wykazały skuteczną, ukierunkowaną integrację w locus HBB w HSPC CD34+ przy użyciu kompleksu RNP w połączeniu z jednoniciowymi oligodeoksynukleotydamy (ssODN). W zróżnicowanych erytroblastach uzyskanych z komórek poddanych modyfikacji genów zaobserwowano wzrost średniego poziomu HbA1c oraz zmniejszenie fenotypu anemii sierpowatej. Komórki te, pochodzące od pacjentów z SCD, mogły wszczepić się w modele mysie NSG lub NBSGW, a korekcję genu obserwowano w standardowych okresach po przeszczepie [5, 19]. W ostatnich badaniach porównano skuteczność różnych metod dostarczania matrycy dawcy do HSPC zmodyfikowanych genem HBB, koncentrując się na wspólnym dostarczaniu kompleksu RNP wraz z matrycą ssODN lub matrycą zapakowaną w rAAV6. Wyniki pokazały, że metoda dostarczania matrycy dawcy wpływa na długoterminową trwałość tych komórek [18,20]. Badania *in vitro* wykazały, że rAAV6 przewyższał ssODN, powodując mniejszą toksyczność i większą skuteczność HDR. Jednak komórki poddane modyfikacji przy użyciu RNP i rAAV6 miały gorszą zdolność wszczepiania się u myszy NSBGW lub NSG co sugeruje, że rAAV6 obniża zdolność krwiotwórczą tych komórek [18,20]. Wyniki sugerują, że matryca ssODN może być bardziej odpowiednia do zastosowań klinicznych niż metody oparte na wirusach. Ponadto, stosowanie szablonu ssODN do korekcji genów ma dodatkowe zalety, takie jak łatwość produkcji i niski koszt, co ułatwia wprowadzenie tej metody w leczeniu anemii sierpowatej przy użyciu modyfikacji genów [5]. Co istotne, w kilku badaniach zaobserwowano wzrost poziomu HbF po zakłóceniu genu HBB w komórkach CD34+ HSPC. Może to wynikać z indukowanego przez Cas9 wyłączenia genu HBB, które zmniejsza dostępność łańcuchów β -globiny, co z kolei może prowadzić do zwiększonej

produkcji hemoglobiny z udziałem łańcuchów α -globiny i γ -globiny. Jednakże dokładny mechanizm molekularny stojący za tym wzrostem HbF nie jest jeszcze w pełni znany i wymaga dalszych badań i obserwacji [5,19].

MODYFIKACJA GENÓW *IN VIVO*

Podjęto próby opracowania technologii transdukcji/selekcji HSC *in vivo* przy użyciu nieintegrowalnych adenowirusów. Przeprowadzono edycję promotora HBG za pomocą CRISPR/Cas9 w transgenicznym myszom β -YAC/CD46 [21]. Ludzki wektor adenowirusowy skierowany na CD46 wyraża CRISPR/Cas9, który celuje w promotor HBG, aby reaktywować γ -globinę. Wektor ten zawiera również kasetę metylotransferazy O-6-metyloguaniny-DNA (MGMT P140K) do selekcji transdukowanych komórek *in vivo* przy użyciu leków chemioterapeutycznych. CD46 jest równomiernie wyrażany na HSPC, co umożliwi ukierunkowaną transdukcję wirusa na tkankę krwiotwórczą. Myszy β -YAC/CD46, posiadające ludzkie locus genu β -globiny, wyrażają CD46 na poziomie i wzorem podobnym do ludzkiego, co umożliwi bezpośrednią analizę *in vivo* reaktywacji γ -globiny z wykorzystaniem ludzkiego wektora adenowirusowego skierowanego na CD46. Metoda transdukcji HSPC *in vivo*, która obejmuje mobilizację HSPC ze szpiku kostnego do krwi obwodowej, a następnie dożylnie podanie wektora adenowirusowego (HDA β -HBG-CRISPR/mgmt), jest zaprojektowana w celu zwiększenia efektywności terapii genowej. Ten proces umożliwi manipulowanie genetyczne komórek macierzystych krwi, aby stymulować produkcję ludzkiej γ -globiny w erytrocytach dorosłych zwierząt, co wydaje się być obiecującym krokiem w kierunku leczenia chorób genetycznych związanych z hemoglobiną, takich jak anemia sierpowata czy talasemia. Co istotne, efekt reaktywacji γ -globiny utrzymuje się nawet po wtórnym przeszczepieniu HSPC, co sugeruje potencjał długoterminowego wpływu tej metody [22]. Zmobilizowane HSC, które zostają transdukowane do krwi obwodowej, mają zdolność migracji do szpiku kostnego, gdzie mogą się odnawiać. Ten mechanizm pozwala na kontynuację procesu leczenia oraz zapewnia potencjalnie długotrwałe korzyści [21, 22]. Modyfikacja genów *in vivo* w celu leczenia SCD jest obiecująca, ale stawia przed nami wiele wyzwań. Aby osiągnąć sukces, konieczna jest wysoka wydajność dostarczania *in vivo* oraz skuteczna modyfikacja w HSC w SCD, przy jednoczesnym unikaniu edycji komórek/tkanek poza celem. Istnieje również ryzyko niekontrolowanej ekspresji Cas9/gRNA przy wykorzystaniu wektorów wirusowych do dostarczania maszyn do modyfikacji genów *in vivo*, co może prowadzić do genotoksyczności

i aktywacji odpowiedzi immunologicznej. Istotne jest również porównanie różnych strategii podawania, takich jak podawanie ogólnoustrojowe i miejscowe, aby ustalić optymalną metodę. Aktualnie nieznanym jest odsetek HSC, które muszą zostać poddane modyfikacji *in vivo*, aby osiągnąć wyleczenie, ponieważ niezmodyfikowane HSC nadal mogą produkować sierpowate krwinki. Dalsze badania są niezbędne, aby lepiej zrozumieć te kwestie i rozwijać skuteczne strategie terapeutyczne [5, 23].

PODSUMOWANIE

Anemia sierpowatokrwinkowa to bardzo ciężka choroba, której leczenie do niedawna polegało na przeszczepieniu pacjentom hematopoetycznych komórek macierzystych, zazwyczaj od dopasowanych, spokrewnionych dawców. Ma to jednak pewne ograniczenia takie jak np. trudność w znalezieniu odpowiedniego dawcy czy ryzyko wystąpienia choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Dlatego właśnie naukowcy podjęli się poszukiwania metody modyfikacji DNA komórek autologicznych pacjentów, aby móc je później z powrotem wszczepić, osiągnąć pożądany efekt terapeutyczny i dzięki temu nie martwić się o dostępność dawców czy ryzyko choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Ostatecznie natrafiono na innowacyjną metodę modyfikacji genów *ex vivo* hematopoetycznych komórek macierzystych CD34+ z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas9. Metoda ta może wykorzystywać tak jak wspomniano różne podejścia takie jak indukcja HbF poprzez modyfikację genu BCL11A, korekta mutacji odpowiedzialnej za powstanie choroby przy użyciu matrycy dawcy DNA czy modyfikacja genów *in vivo*. Każde z tych podejść mogłoby w istotny sposób przyczynić się do poprawy stanu pacjentów chorych na anemię sierpowatokrwinkową. Na pewno niezwykłym osiągnięciem na ten moment jest zatwierdzenie przez FDA leku Casgevy, który właśnie opiera się na jednym z wymienionych podejść czyli indukcji HbF poprzez modyfikację genu BCL11A, a to za sprawą zadowolających wyników badania klinicznego. Na dokładne wyniki oceny długoterminowego efektu leku musimy jednak jeszcze poczekać. Co do pozostałych podejść to na pewno potrzeba jeszcze dalszych badań i ewentualnych ulepszeń, aby doprowadzić do ich zatwierdzenia, jednak są one równie obiecujące. Należy także pamiętać o wyzwaniach jakie stawia nam metoda wykorzystująca system CRISPR/Cas9 takich jak np. konieczność utrzymania wysokiej wydajności modyfikacji, występowanie działań niepożądanych u pacjentów po kondycjonowaniu mieloablacyjnym wykonywanym przed wszczepieniem komórek czy ryzyko wystąpienia mutacji poza

celem. To ostatnie wydaje się być szczególnie trudne do rozpracowania. Aktywność nukleazy Cas9 poza celem może powodować zakłócenia normalnej funkcji genów i niestabilność genomu poprzez duże rearanżacje chromosomów, co stanowi poważny problem w terapiach genowych u ludzi i może prowadzić do trudnych do przewidzenia skutków ubocznych. Mimo, że dostarczanie gRNA i Cas9 w postaci RNP oraz wykorzystanie wysokiej jakości nukleazy znacznie ogranicza ten efekt, to ryzyko nadal istnieje. Dlatego potrzebne są dalsze badania nad wykrywaniem i określaniem ilościowym tych zdarzeń niepożądanych, aby móc dokładnie zweryfikować potencjalne miejsca, w których wystąpiła mutacja, a także pomóc w optymalizacji strategii minimalizujących mutacje poza celem, bez utraty wydajności modyfikacji genów docelowych. Modyfikacja genów CRISPR/Cas9 to prężnie rozwijająca się technologia, więc z niecierpliwością czekamy na nowe aktualizacje dotyczące optymalizacji tej metody w leczeniu pacjentów z anemią sierpowatokrwinkową [5].

REFERENCJE

- [1] Alshabeeb MA, Alwadaani D, Al Qahtani FH, i in. Impact of Genetic Variations on Thromboembolic Risk in Saudis with Sickle Cell Disease. *Genes*. 2023;14(10):1919. doi:10.3390/genes14101919
- [2] Oteng-Ntim E, Meeks D, Seed PT, i in. Adverse maternal and perinatal outcomes in pregnant women with sickle cell disease: systematic review and meta-analysis. *Blood*. 2015;125(21):3316-3325. doi:10.1182/blood-2014-11-607317
- [3] Vichinsky E. Chronic organ failure in adult sickle cell disease. *Hematology*. 2017;2017(1):435-439. doi:10.1182/asheducation-2017.1.435
- [4] Doudna JA. The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature*. 2020;578(7794):229-236. doi:10.1038/s41586-020-1978-5
- [5] Park SH, Bao G. CRISPR/Cas9 gene editing for curing sickle cell disease. *Transfusion and Apheresis Science*. 2021;60(1):103060. doi:10.1016/j.transci.2021.103060]
- [6] Gundry MC, Brunetti L, Lin A, i in. Highly Efficient Genome Editing of Murine and Human Hematopoietic Progenitor Cells by CRISPR/Cas9. *Cell Reports*. 2016;17(5):1453-1461. doi:10.1016/j.celrep.2016.09.092

- [7] Charlesworth CT, Camarena J, Cromer MK, i in. Priming Human Repopulating Hematopoietic Stem and Progenitor Cells for Cas9/sgRNA Gene Targeting. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*. 2018;12:89-104. doi:10.1016/j.omtn.2018.04.017
- [8] Zonari E, Desantis G, Petrillo C, i in. Efficient Ex Vivo Engineering and Expansion of Highly Purified Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Populations for Gene Therapy. *Stem Cell Reports*. 2017;8(4):977-990. doi:10.1016/j.stemcr.2017.02.010
- [9] Lattanzi A, Meneghini V, Pavani G, i in. Optimization of CRISPR/Cas9 Delivery to Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells for Therapeutic Genomic Rearrangements. *Molecular Therapy*. 2019;27(1):137-150. doi:10.1016/j.ymthe.2018.10.008
- [10] Mandal PK, Ferreira LMR, Collins R, i in. Efficient Ablation of Genes in Human Hematopoietic Stem and Effector Cells using CRISPR/Cas9. *Cell Stem Cell*. 2014;15(5):643-652. doi:10.1016/j.stem.2014.10.004
- [11] Hendel A, Bak RO, Clark JT, i in. Chemically modified guide RNAs enhance CRISPR-Cas genome editing in human primary cells. *Nat Biotechnol*. 2015;33(9):985-989. doi:10.1038/nbt.3290
- [12] McIntosh BE, Brown ME, Duffin BM, i in. Nonirradiated NOD.B6.SCID Il2ry^{-/-} KitW41/W41 (NBSGW) Mice Support Multilineage Engraftment of Human Hematopoietic Cells. *Stem Cell Reports*. 2015;4(2):171-180. doi:10.1016/j.stemcr.2014.12.005
- [13] Parums DV. Editorial: First Regulatory Approvals for CRISPR-Cas9 Therapeutic Gene Editing for Sickle Cell Disease and Transfusion-Dependent β -Thalassemia. *Med Sci Monit*. 2024;30. doi:10.12659/msm.944204
- [14] Liu N, Hargreaves VV, Zhu Q, i in. Direct Promoter Repression by BCL11A Controls the Fetal to Adult Hemoglobin Switch. *Cell*. 2018;173(2):430-442.e17. doi:10.1016/j.cell.2018.03.016
- [15] Hoy SM. Exagamglogene Autotemcel: First Approval. *Mol Diagn Ther*. 2024;28(2):133-139. doi:10.1007/s40291-024-00696-z

- [16] Komunikat prasowy Agencji ds. Żywności i Leków (FDA). FDA zatwierdza pierwsze terapie genowe w leczeniu pacjentów z anemią sierpowatokrwinkową 8 grudnia 2023 r. Dostępne na stronie: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-ap-proves-first-gene-therapies-treat-residents-sickle-cell-disease>
- [17] Agencja Regulacyjna ds. Leków i Produktów Opieki Zdrowotnej (MHRA) Komunikat prasowy. MHRA zatwierdza pierwszą na świecie terapię genową, której celem jest leczenie niedokrwistości sierpowatokrwinkowej i b-talasemii zależnej od transfuzji. 16 listopada 2023 r. Dostępne na stronie: <https://www.gov.uk/government/news/mhra-authorises-world-first-gene-therapy-that-aims-to-cure-sickle-cell-disease-and-talasemia-zalezna-od-transfuzji>
- [18] Romero Z, Lomova A, Said S, i in. Editing the Sickle Cell Disease Mutation in Human Hematopoietic Stem Cells: Comparison of Endonucleases and Homologous Donor Templates. *Molecular Therapy*. 2019;27(8):1389-1406. doi:10.1016/j.ymthe.2019.05.014
- [19] Magis W, DeWitt MA, Wyman SK, i in. High-level correction of the sickle mutation is amplified in vivo during erythroid differentiation. *iScience*. 2022;25(6):104374. doi:10.1016/j.isci.2022.104374
- [20] Pattabhi S, Lotti SN, Berger MP, i in. In Vivo Outcome of Homology-Directed Repair at the HBB Gene in HSC Using Alternative Donor Template Delivery Methods. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*. 2019;17:277-288. doi:10.1016/j.omtn.2019.05.025
- [21] Li C, Psatha N, Sova P, i in. Reactivation of γ -globin in adult β -YAC mice after ex vivo and in vivo hematopoietic stem cell genome editing. *Blood*. 2018;131(26):2915-2928. doi:10.1182/blood-2018-03-838540
- [22] Wagner DL, Amini L, Wendering DJ, i in. High prevalence of *Streptococcus pyogenes* Cas9-reactive T cells within the adult human population. *Nat Med*. 2018;25(2):242-248. doi:10.1038/s41591-018-0204-6
- [23] Tong S, Moyo B, Lee CM, Leong K, Bao G. Engineered materials for in vivo delivery of genome-editing machinery. *Nat Rev Mater*. 2019;4(11):726-737. doi:10.1038/s41578-019-0145-9

NOWE STRATEGIE TERAPEUTYCZNE W LECZENIU DYSTROFII MIĘŚNIOWEJ DUCHENNE’A – PIERWSZA ZATWIERDZONA TERAPIA GENOWA

Lidia Ziętek, Robert Kasza, Sara Salam, Monika Mielcarek

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Dystrofia mięśniowa typu Duchenne’a to postępująca choroba wieku dziecięcego dziedziczona genetycznie. Osoby cierpiące na tą dystrofinopatię umierają w młodym wieku w wyniku patomechanizmów przebiegających podczas choroby. Obecnie istnieje farmakoterapia oparta na głównie na glikokortykosteroidach, które jedynie opóźniają proces choroby i występowanie niepożądanych objawów. Postęp badań doprowadził do stworzenia terapii genowej, której celem jest poprawa komfortu życia pacjenta oraz osiągnięcie lepszych efektów leczenia. Celem tej pracy jest przedstawienie nowych strategii terapeutycznych w leczeniu dystrofii mięśniowej Duchenne’a oraz przedstawienie pierwszej zatwierdzonej terapii genowej.

Słowa kluczowe: dystrofia mięśniowa Duchenne’a, terapia genowa

Abstract: Duchenne muscular dystrophy is a progressive genetically inherited childhood disease. People who suffer from this dystrophinopathy die as a result of the pathomechanisms occurring during the disease. Currently, there is pharmacotherapy based on the main glucocorticosteroids, which only delay the disease process and pose risks. Research progress has led to gene therapy, which aims to improve the patient's quality of life and apply the effects of treatment. The aim of this work is to present new therapeutic strategies for Duchenne muscular dystrophy and to present the first gene therapy.

Keywords: Duchenne muscular dystrophy, gene therapy

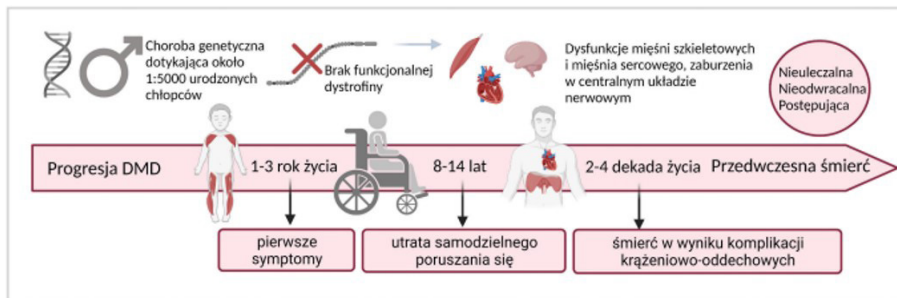
WSTĘP

Definicja „dystrofia mięśniowa” to termin obejmujący szereg zaburzeń, które są dziedziczne i prowadzą do postępującej choroby mięśni, która wynika z niewystarczającej ilości lub nawet całkowitego braku glikoprotein w błonie komórkowej miocytów. Dystrofinopatie to najczęstsze postacie postępujących dystrofii mięśniowych, należących do schorzeń allelicznych. Są to zaburzenia, których źródłem jest występowanie różnych mutacji jednego genu [1]. Dziedziczone są w sposób recesywny, sprzężony z chromosomem X i występują u 1 na 5000 do 1 na 6000 żywych urodzeń płci męskiej [2, 3]. Jedną z nich jest dystrofia mięśniowa Duchenne’a (ang. *Duchenne muscular dystrophy*, DMD). DMD to szybko postępująca, śmiertelna choroba nerwowo-mięśniowa, a także choroba genetyczna wieku dziecięcego, dotykająca 1:5000 noworodków płci męskiej. Jest to spowodowane występowaniem mutacji w genie kodującym białko dystrofinę, związanym z chromosomem X, które prowadzą do częściowego lub całkowitego braku tego białka. W następstwie choroba ta powoduje postępujące uszkodzenia mięśni, które skutkują występowaniem trudności w samodzielnym poruszaniu się chorego już w wieku dziecięcym i nastoletnim (około 8–13 lat) i ostatecznie śmiercią, wynikającą z niewydolności oddechowej i/lub serca, która następuje zwykle już w trzeciej dekadzie życia [4, 5, 6]. Na rycinie nr 1 został przedstawiony skrócony przebieg choroby u osób cierpiących na dystrofię mięśniową Duchenne’a.

Występowanie tej dystrofinopatii u noworodków płci żeńskiej jest bardzo rzadkie i szacuje się, że występuje mniej niż 1 przypadek na 1 000 000 urodzeń. Jeśli chodzi natomiast o kobiety, które są nosicielkami mutacji w genie kodującym białko dystrofinę, występującym tylko na jednym chromosomie X, to u około 2,5–19% przypadków występuje osłabienie mięśni szkieletowych, a u 7,3–16,7% rozwija się kardiomiopatia. Większość kobiet, będących nosicielkami, nie wykazuje jednak poważniejszych symptomów chorobowych [7, 8].

Pierwszy obraz kliniczny przypadku chorego na DMD został przedstawiony przez Edwarda Meryona w 1851 roku. Jednak nazewnictwo choroby przyjęło się od innego uczonego, francuskiego neurologa Guillaume’a Duchenne’a, ponieważ to on w latach 60. XIX wieku opisał oraz jako pierwszy sfotografował chorych cierpiących na DMD. W tamtym czasie nie znano patofizjologii i mechanizmu molekularnego wywołującego tą dystrofinopatię. Dopiero pod koniec XX wieku udało się zidentyfikować gen, który koduje budujące mięśnie szkieletowe białko - dystrofinę, natomiast patofizjologiczne źródło tej choroby udało się rozpoznać

i potwierdzić, dzięki wykazaniu braku lub częściowego braku tego funkcjonalnego białka w komórkach i tkankach pobranych z mięśni chorych [9, 10].



Rycina 1. Rycina przedstawiająca podstawowe informacje o progresji i przebiegu choroby u pacjentów chorych na DMD [8]

W 2020 roku w czasopiśmie *Orphanet Journal of Rare Diseases* opublikowano systematyczny przegląd, którego celem była zbiorcza ocena częstotliwości występowania DMD oraz jakość raportów z badań, które również przedstawiały globalną epidemiologię DMD. Z przeglądu wynika, że łącznie częstość występowania DMD na świecie wyniosła 7,1 przypadków (95% CI: 5,0–10,1) na 100 000 mężczyzn i 2,8 przypadków (95% CI: 1,6–4,6) na 100 000 w populacji ogólnej, natomiast jeśli chodzi o łączną liczbę przypadków urodzeń noworodków płci męskiej z DMD, wynosiła ona 19,8 (95 % CI: 16,6–23,6) na 100 000 żywych urodzeń [11].

PATOGENEZA I PRZEBIEG DYSTROFII MIĘŚNIOWEJ DUCHENNE’A

Wyjaśnienie patogenezy dystrofii mięśniowej Duchenne’a nie jest możliwe przez przedstawienie jednego toczącego się procesu, ponieważ w rzeczywistości są to mechanizmy patofizjologiczne, które zachodzą w organizmie jednocześnie na różnych etapach rozwijającej się choroby, przez co też w różnym stopniu wpływają na czas występowania i formę objawów. Jak już wcześniej wspomniano, dystrofia mięśniowa Duchenn’a wywołana jest mutacją w genie kodującym białko dystrofinę, co doprowadza do całkowitego lub częściowego niedoboru tego białka w organizmie chorego. W komórkach tkanki mięśniowej prądkowanej białko dystrofina jest białkiem strukturalnym, które oddziałuje w sposób pośredni lub bezpośredni z wieloma elementami tkanki, m.in. z sarkolemą, cytoszkieletem i związanymi z nim białkami strukturalnymi, kanałowymi oraz sygnalizacyjnymi.

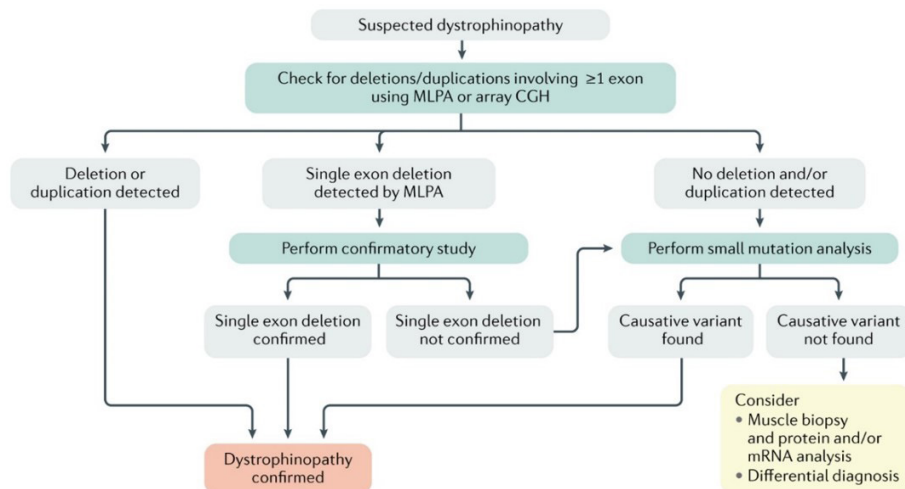
Zatem niedobór tego białka powoduje, że niemożliwe jest powstanie kompleksów białkowych związanych z dystrofina, a tym samym zaburzona jest interakcja między F-aktyną a macierzą zewnątrzkomórkową w tkance mięśniowej. Wynika z tego fakt, że kompleks ten odgrywa bardzo ważną rolę w utrzymywaniu integralności struktury tkanki, a także w aktywności skurczowej komórek mięśniowych. Z tego powodu jego brak bądź zaburzenie jego organizacji może prowadzić do nieprawidłowości w funkcjonowaniu komórek tkanki mięśniowej, jakimi jest zwiększenie podatności sarkolemy na uszkodzenia skurczowe, uszkodzenia komórek mięśniowych wywołanych nieodpowiednim ukrwieniem czy zwiększonej ilości wytwarzanych wolnych rodników. Pierwsze objawy choroby pojawiają się w bardzo wczesnym dzieciństwie. U chorych już w wieku od 1 do 3 lat można zauważyć m.in. opóźnienie w rozpoczęciu samodzielnego chodzenia, pojawienie się częstszych upadków podczas prób chodzenia, co związane jest z zajmowaniem przez procesy patologiczne mięśni łydek, ud i miednicy. Jak wcześniej wspomniano mięśnie pozbawione dystrofiny są bardziej wrażliwe na uszkodzenia, co w następstwie będzie powodowało stopniową utratę tkanki mięśniowej oraz możliwości jej prawidłowego funkcjonowania. Rozwój choroby i osłabienie mięśni powoduje, że chorzy w młodym wieku tracą możliwość samodzielnego poruszania się i zaczynają jeździć na wózku inwalidzkim. Wraz z pogłębianiem się choroby pojawiają się kolejne schorzenia ortopedyczne, takie jak przykurcze mięśni, skolioza, a także problemy z oddychaniem, wynikające ze zmiany rozmiarów klatki piersiowej jako następstwo atrofii mięśni oddechowych. U chorych na DMD bardzo często pojawiają się także kardiomiopatie, które powodują patologiczną przebudowę mięśnia sercowego, co prowadzi do dysfunkcji pracy serca i zaburzeń w układzie krążenia. Mutacje, uniemożliwiające wytwarzanie białka dystrofiny, dotyczą nie tylko białka obecnego w komórkach tkanki mięśniowej, ale często dotyczą one także jej izoform, tj. dystrofiny mózgowej. W wyniku tego pacjenci chorzy na DMD mogą cierpieć na upośledzenia umysłowe, zaburzone funkcje poznawcze, problemy w nauce, a także problemy behawioralne [7, 9, 13, 14]. W opublikowanym w 2019 r. artykule przedstawiono wyniki badania, w którym analizowano problemy neurorozwojowe i wyzwania związane z przystosowaniem psychospołecznym dotyczące chorych z mutacją DMD. Badaniem została objęta grupa 196 chłopców z tą dystrofinopatią, którzy nie przyjmowali wcześniej sterydów. U 39% badanych chłopców stwierdzono opóźnienie zdolności mowy, a średni wiek, w którym ta zdolność została przez nich nabyta wyniósł 28 miesięcy (zakres 7–66 miesięcy). Z kolei u 28% chorych występowały trudności

związane z nauką. U 4% badanych stwierdzono również problemy w przystosowaniu psychospołecznym, a u 5% chorych również zachowania buntownicze [15].

Postawienie dokładnej diagnozy jest niezbędne dla stworzenia spersonalizowanej terapii i leczenia dla pacjenta. Proces diagnostyczny rozpoczyna się już we wczesnym dzieciństwie, po wystąpieniu wspomnianych wcześniej charakterystycznych objawów, m.in. objawu Gowersa, czyli sytuacji gdy pacjent przy wstawaniu z ziemi musi użyć rąk i ramion, by podeprzeć się i stopniowo pionizować swoje ciało (jakby chciał się „wspiąć po sobie”). Szybkie rozpoznanie i skierowanie do specjalistów, tj. neurologa i genetyka pozwala nam zaoszczędzić czas, który jest bardzo ważny dla jak najszybszego rozpoczęcia leczenia. Rzadziej rozpoznanie stawia się na podstawie występowania objawów opóźnienia w rozwoju czy nieprawidłowości w morfologii, ponieważ są to objawy mało swoiste i mogą one stwarzać możliwość błędnego diagnozowania. Badanie delekcji i duplikacji genu dystrofiny jest zwykle pierwszym badaniem potwierdzającym, co wynika z faktu, iż u około 70% chorych na DMD potwierdzono obecność mutacji w eksonach w genie dystrofiny. Jeżeli wynik otrzymany jest negatywny, należy wykonać sekwencjonowanie genetyczne w celu wykrycia pozostałych typów mutacji przypisanych DMD. Ostatecznym badaniem rozstrzygającym, w sytuacji otrzymania wyników negatywnych we wcześniejszych dwóch badaniach, jest wykonanie biopsji mięśnia w celu wykazania obecności bądź braku białka dystrofiny przy pomocy metod immunohistochemicznych oraz Western Blot [9, 16, 17]. Na rycinie nr 2 został przedstawiony algorytm postępowania przy podejrzeniu DMD u pacjenta.

STRATEGIE LECZENIA FARMAKOLOGICZNEGO DYSTROFII MIĘŚNIOWEJ DUCHENNE'A

Niestety mimo ogromnego postępu medycyny i rozwoju stosowanych metod leczniczych do dziś nie istnieje lek, który dawałby całkowite szanse na wyleczenie chorych na DMD. Mimo to stworzenie opieki wielodyscyplinarnej umożliwiło poprawę komfortu życia u tych pacjentów oraz złagodziło przebieg choroby. Na całokształt leczenia i rehabilitacji składa się m.in. opieka neurologiczna, opieka kardiologiczna, opieka lekarzy ortopedów we współpracy z fizjoterapeutami, opieka chirurgiczna, a także opieka endokrynologiczna czy wsparcie ze strony psychiatrów i psychologów. W terapii DMD ważne jest również odpowiednio dobrane leczenie farmakologiczne. Od lat podstawą w leczeniu chorych



Rycina 2. Rycina przedstawiająca schemat postępowania w diagnostyce dystrofinopatii [9]

na dystrofie mięśniowej jest leczenie rehabilitacyjne połączone z glikokortykosteroidoterapią. Stosowanie glikokortykosteroidów pozwala na opóźnienie objawów choroby, dzięki czemu pacjenci są w stanie przede wszystkim dłużej zachować samodzielność w poruszaniu się.

Przeprowadzono również badania, które donoszą, iż wprowadzenie glikokortykosteroidoterapii u młodszych chorych przynosiło korzyści. Wykazano, że wspomniane leczenie kortykosteroidami u pacjentów z dystrofią mięśniową Duchenne'a pozwala zachować na dłuższy okres siłę mięśni i ich funkcje motoryczne, samodzielne poruszanie się, a także opóźnić wystąpienie skoliozy. Dodatkowo terapia zapobiega przed szybkim postępowaniem niewydolności oddechowej oraz opóźniają rozwój kardiomiopatii [9, 18, 19]. Nadmierny przyrost masy ciała jest najczęściej zgłaszanym skutkiem ubocznym leczenia sterydami i jednocześnie stanowi jedną z najczęstszych przyczyn przerwania leczenia. Wykazano również, że długotrwałe stosowanie kortykosteroidów spowalnia wzrost u chorych, przez co może nasilać niskorosłość związaną z DMD [20].

Obecnie głównymi glikokortykosteroidami stosowanymi u pacjentów z dystrofią są deflazakort i prednizon. Zarówno prednizon, jak i deflazakort to leki steroidowe, które osoby chore na DMD mogą przyjmować doustnie w postaci tabletek lub płynu. Ich działanie polega na zmniejszeniu stanu zapalnego w mięśniach, co wpływa na spowolnienie postępu objawów DMD. Ich stosowanie jest potwierdzone licznymi dowodami w badaniach klinicznych, potwierdzającymi

ich pozytywne działanie na poprawę przebiegu choroby i zwiększenie komfortu pacjenta przez m.in. poprawę siły i funkcji motorycznych mięśni [16, 21]. Jednak długotrwałe stosowanie sterydów może powodować inne problemy, takie jak spowolnienie wzrostu, zwiększenie masy ciała, zaburzenia hormonalne i zmniejszenie gęstości kości. W porównaniu z prednizonem, deflazacort ma mniejszą rozpuszczalność w tłuszczach, przez co powoduje mniejszą retencję sodu i ma mniejszy wpływ na metabolizm glukozy, dzięki czemu nie powoduje tak nadmiernego przyrostu masy ciała jak prednizon. W 2022 roku opublikowano wyniki badania retrospektywnego, porównującego działanie prednizonu i deflazacortu oraz płynące z ich stosowania korzyści i skutki uboczne. Autorzy badania donoszą, iż stosowanie deflazacortu przynosiło więcej korzyści, przez co jednocześnie rzadziej były dostrzegane skutki uboczne, niż u chorych stosujących prednizon [22, 23].

Jednak deflazacort oraz prednizon nie były i nie są jedynymi lekami stosowanymi w leczeniu pacjentów z DMD. Ataluren i eteplirsen to jedne z pierwszych z serii terapii specyficznych dla mutacji, które uzyskały zgodę organów regulacyjnych.

Ataluren jest pierwszym w swojej klasie lekiem doustnym, przeznaczonym dla osób z mutacją nonsensowną w genie dystrofiny. Jego działanie polega na promowaniu syntezy pełnej długości dystrofiny poprzez rybosomalny odczyt przedwczesnego kodonu stop w ramce odczytu, wywołanego mutacją nonsensowną w dystrofianie mRNA. Latem 2014 r. Komisja Europejska przyznała atalurenowi warunkowe pozwolenie na dopuszczenie do obrotu do stosowania w Unii Europejskiej u około 11% chłopców z DMD spowodowaną kodonem stop w genie dystrofiny. W badaniu nad stosowaniem atalurenu brało udział 174 randomizowanych pacjentów, z których 57 chorych przydzielono do grupy placebo, kolejnych 57 chorych do grupy, gdzie ataluren był podawany w dawce 40 mg/kg/dobę i pozostałych 60 chorych do grupy, gdzie ataluren był podawany w dawce 80 mg/kg/dobę. Jedynie jeden pacjent przerwał leczenie w 6. tygodniu z powodu nieprzebrzegania zaleceń, natomiast reszcie pozostałych 173 pacjentów udało się zakończyć udział w 48-tygodniowym badaniu. Wyniki tego badania wykazały, że ataluren stosowany w dawce 40 mg/kg/dobę wykazał pozytywny profil korzyści klinicznych u ambulatoryjnych pacjentów w wieku ≥ 5 lat z dystrofinopatią spowodowaną mutacją nonsensowną. Dodatkowo wyniki wskazywały na opóźnienie pogorszenia się zdolności chodzenia, co zapewniało bezpośrednią korzyść kliniczną i dało nadzieję na lepsze funkcjonowanie chorym na DMD chłopcom, w przyszłości leczonych atalurenem. Do wykazania pozytywnego wpływu leczenia na

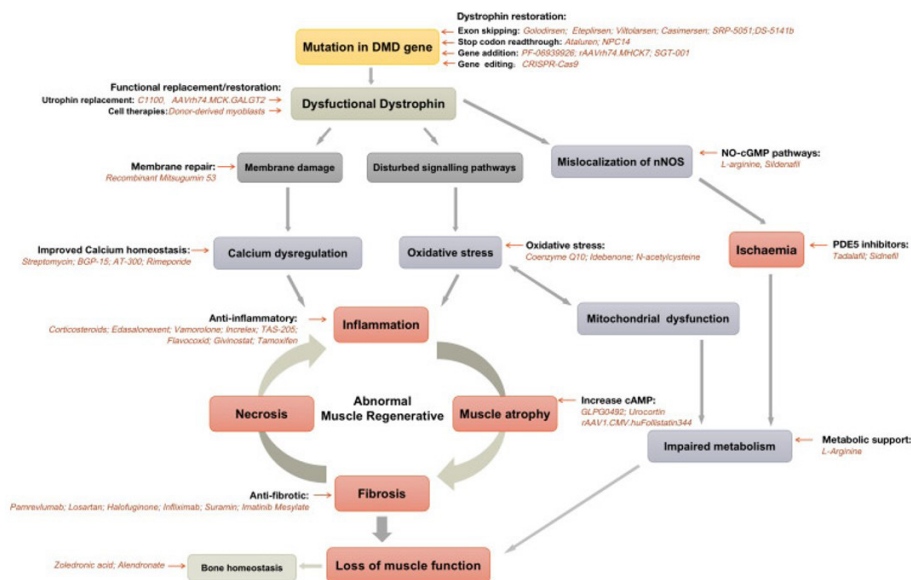
funkcjonalność mięśni zastosowano test funkcjonalności w czasie (*ang. time function test*, TFT) [24].

Opracowany przez Sarepta Therapeutics eteplirsen został zatwierdzony przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (*ang. Food and Drug Administration*, FDA) we wrześniu 2016 r., czyniąc go pierwszym lekiem na DMD zatwierdzonym w Ameryce. Eteplirsen to syntetyczny oligonukleotyd antysensowny, którego zadaniem jest pominięcie eksonu 51 w przetwarzaniu mRNA genu dystrofiny, który koduje białko niezbędne dla integralności mięśni. Eteplirsen wykazuje pozytywne efekty działania u pacjentów z DMD z obecnymi delecjami w genie dystrofiny (kończącymi się w eksonie 50 i zaczynającymi się od eksonu 52). Mutacje te dotyczą blisko 20,5% pacjentów z DMD z mutacjami delecyjnymi, czyli 14% wszystkich pacjentów z DMD. W małych badaniach klinicznych stwierdzono, że eteplirsen zwiększa poziom białka dystrofiny w mięśniach, na podstawie czego został dopuszczony do stosowania u pacjentów z dystrofią mięśniową Duchenne'a z potwierdzoną mutacją w genie dystrofiny podatną na pominięcie eksonu 51 [25, 26, 27, 28].

Nadzieją dla pacjentów obarczonych skutkami ubocznymi wynikającymi ze stosowania glikokortkosteroidów stał się vamorolon. Jest to doustny, selektywny kortykosteroid opracowany przez ReveraGen BioPharma i Santhera Pharmaceuticals do leczenia pacjentów z dystrofią mięśniową, który został zatwierdzony w USA w październiku 2023r. do leczenia dystrofii mięśniowej Duchenne'a u pacjentów w wieku 2 lat i starszych, a także otrzymał pozytywną opinię w Unii Europejskiej w październiku 2023 r. do leczenia DMD u pacjentów w wieku 4 lat i starszych. Jest steroidowym lekiem o działaniu przeciwzapalnym, którego celem jest wiązanie się z receptorem glukokortykoidowym i hamowanie prozapalnych szlaków NF- κ B. Zatwierdzenie opierało się na danych z badania fazy 2b VISION-DMD, uzupełnionych informacjami dotyczącymi bezpieczeństwa zebranymi z trzech otwartych badań. Wykazał skuteczność podobną do tradycyjnych kortykosteroidów, przy wyraźnie zmniejszonym ryzyku zdarzeń niepożądanych. Co warto wspomnieć, w badaniach nie zaobserwowano zahamowania wzrostu podczas stosowania vamorolonu w dawce 2 mg/kg/dobę lub 6 mg/kg/dobę ani w badaniu VISION-DMD, ani w otwartym badaniu długoterminowym. Wynik ten stanowi pozytywny aspekt, zważając na to, jak często z niskorosłością zmagają się chorzy na DMD [29].

Aktualnie w fazie badań i testów jest także wiele innych terapii, zarówno tych związanych z leczeniem farmakologicznymi, jak i tych ingerujących w genetykę. Do grup leków biorących udział w badaniach nad chorymi z dystrofią należą

m.in. leki ukierunkowane na miostatynę, związki zmniejszające zwłóknienie, leki przeciwwzapalne, związki przeciwutleniające, leki wpływające na rozszerzenie naczyń oraz leki poprawiające funkcję mitochondriów. Jednakże żaden z tych leków nie może być przepisywany osobom chorym na DMD do czasu ukończenia badań klinicznych i otrzymania zgody organów regulacyjnych [30]. Na rycinie nr 3 zostały przedstawione aktualne schematy dotyczące leczenia farmakologicznego w przypadku pacjentów cierpiących na dystrofię mięśniową Duchenne'a.

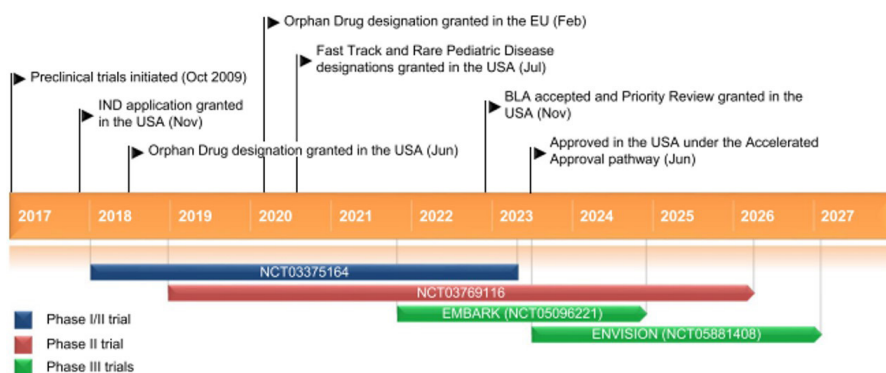


Rycina 3. Rycina przedstawiająca strategie leczenia farmakologicznego w terapii dystrofii Duchenn'a [30]

TERAPIA GENOWA ELEVIDYS

Wśród prowadzonych badań klinicznych zaistniała możliwość stworzenia terapii genowych lub molekularnych w celu leczenia DMD. Ułatwieniem dla tej idei był fakt, iż dystrofia mięśniowa Duchenn'a jest spowodowana mutacją bądź mutacjami w jednym genie. Pojawiła się więc szansa dla poczynienia postępów w leczeniu z zastosowaniem transferu genów dla tej jednostki chorobowej. Przykładem takiego rozwiązania okazała się terapia ELEVIDYS (delandistrogen moxeparovect-rokl; ELEVIDYS[®]), która jest terapią genową opartą na wykorzystaniu AAV (*ang. adeno-associated virus*), czyli wirusów związanych z adenowirusami. Jej zadaniem jest dostarczenie genu kodującego białko mikrodistrofinę,

czyli skróconej wersji białka dystrofiny, obecnej w prawidłowo funkcjonujących komórkach mięśniowych. Ta forma leczenia ma na celu złagodzić postępy choroby, dzięki zaopatrzeniu mięśni objętych procesami patologicznymi w gen kodujący funkcjonalną wersję dystrofiny. Terapia delandistrogen moxeparvovec, opracowana przez Sarepta Therapeutics, jest pierwszą terapią genową zatwierdzoną w czerwcu 2023 r. przez FDA do leczenia DMD w USA. Obecnie jest tam wskazana u ambulatoryjnych pacjentów pediatrycznych w wieku od 4 do 5 lat z DMD z potwierdzoną mutacją w genie DMD, u których nie występowała wcześniej żadna przyczyna medyczna, uniemożliwiająca podjęcia u nich leczenia choroby tą terapią. Na rycinie nr 4 na osi czasu zostały przedstawione najważniejsze wydarzenia związane z terapią genową ELEVIDYS.

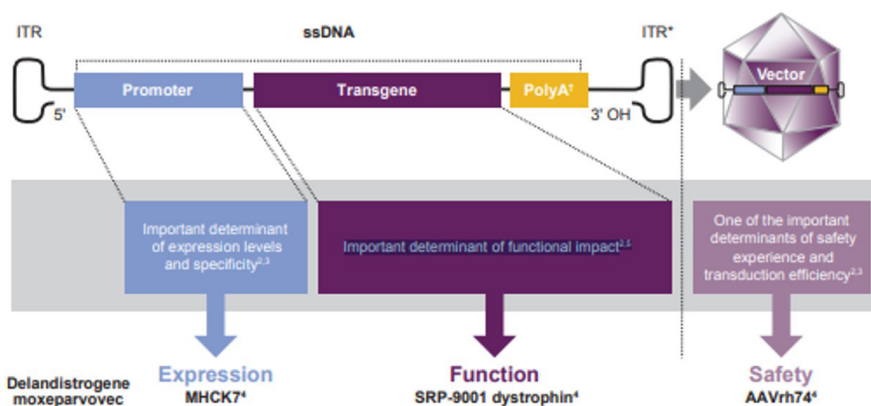


Rycina 4. Rycina przedstawiająca historię i przebieg w czasie badań klinicznych związanych z terapią genową ELEVIDYS [35]

Delandistrogen moxeparvovec jest eksperymentalnym lekiem, składającym się z rekombinowanego kapsydu AAVrh74, który nie podlega procesowi replikacji. Zawiera gen kodujący zmodyfikowane białko mikrodystrofiny, który wprowadzony jest na zasadzie transformacji, pod kontrolą promotora bądź wzmacniacza specyficznego dla mięśni (MHCK7) (rycina nr 5) [31,32,33,34,35].

Terapia ta została stworzona w celu uzyskaniu u chorych pacjentów ekspresji białka dystrofiny SRP-9001 [37, 38, 39]. W badaniach klinicznych potwierdzono, że w komórkach tkanki mięśni szkieletowych, serca, a nawet przepony dochodzi do transdukcji AAVrh74 [30, 34]. Rekomendowana dawka pojedynczego wlewu dożylnego stosowana w terapii zawiera 1.33×10^{14} genomów wektorowych na kilogram masy ciała pacjenta (vg/kg) lub 10 mL na kilogram masy ciała pacjenta [31]. Taki pojedynczy wlew dożylny został skorelowany z silną ekspresją

białka mikrodystryfyny i prawidłowym umiejscowieniem białka w sarkolemie, co udało się zmierzyć odpowiednio metodą Western Blot i metodą immunofluorescencji. Zjawiska te zostały zaobserwowane u pacjentów płci męskiej w wieku ≥ 4 to < 8 lat, poddanych terapii w warunkach laboratoryjnych i uczestniczących w 3 badaniach klinicznych, tj. dwuczęściowym badaniu krzyżowym fazy II (NCT03769116), fazie I badania (NCT04626674; ENDEAVOR) oraz fazie I/ badaniu pilotażowym fazy II badania (NCT03375164). Na rycinie nr 6 i 7 przedstawiono najważniejsze informacje związane z badaniami przeprowadzonymi w kierunku utworzonej terapii.



Rycina 5. Rycina przedstawiająca budowę leku delandistrogen moxeparvec [35]

Features and properties of delandistrogene moxeparvec

Alternative names	Delandistrogene moxeparvec-roki; Delandistrogenum moxeparvecum - Roche/Sarepta Therapeutics; ELEVIDYS; rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin; RG 6356; RO-7494222; SRP-9001
Class	Gene therapies
Mechanism of action	Dystrophin replacements; Gene transference
Route of administration	Intravenous infusion
Pharmacodynamics	Transduces skeletal and cardiac muscle cells, resulting in robust and sustained micro-dystrophin protein expression
Pharmacokinetics	Vector DNA identified in serum, saliva, urine and faeces after infusion
Most frequent treatment-emergent adverse events	Vomiting, decreased appetite, nausea, upper respiratory tract infection, pain in extremity, upper abdominal pain, irritability and procedural pain
ATC codes	
WHO ATC code	M09A-X15 (Delandistrogene moxeparvec)
EphMRA ATC code	M5 (Other Drugs for Disorders of the Musculo-Skeletal System)

Rycina 6. Rycina przedstawiająca cechy i właściwości terapii ELEVIDYS (delandistrogen moxeparvec-roki; ELEVIDYS[®]) [34]

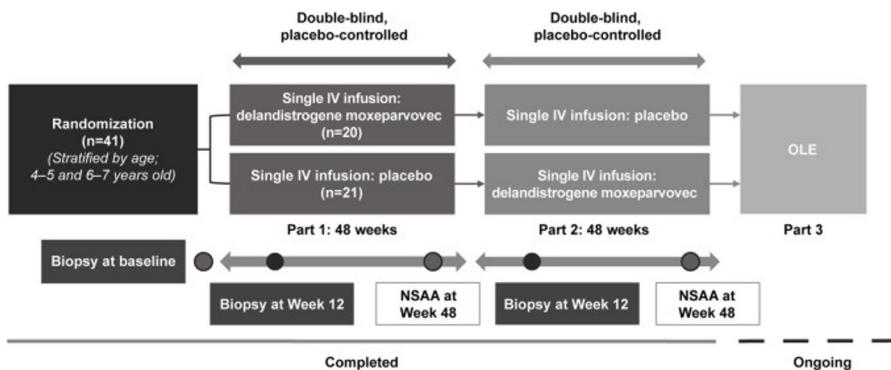
Key clinical trials of delandistrogene moxeparovec						
Drug	Indication	Phase	Status	Location	Identifier	Sponsor (Collaborator)
Delandistrogene moxeparovec	Duchenne muscular dystrophy	III	Active, not recruiting	Multinational	NCT05096221 (EMBARK)	Sarepta Therapeutics (Hoffmann-La Roche)
Delandistrogene moxeparovec	Duchenne muscular dystrophy	III	Not yet recruiting	USA	NCT05881408 (ENVISION)	Sarepta Therapeutics (Hoffmann-La Roche)
Delandistrogene moxeparovec	Duchenne muscular dystrophy	II	Active, not recruiting	USA	NCT03769116	Sarepta Therapeutics
Delandistrogene moxeparovec	Duchenne muscular dystrophy	II	Ongoing	Multinational	EudraCT 2022-000691-19 (ENVOL)	Hoffmann-La Roche
Delandistrogene moxeparovec	Duchenne muscular dystrophy	I/IIa	Completed	USA	NCT03375164	Sarepta Therapeutics
Delandistrogene moxeparovec	Duchenne muscular dystrophy	I	Enrolling by invitation	USA	NCT04626674 (ENDEAVOR)	Sarepta Therapeutics (Hoffmann-La Roche)

Rycina 7. Tabela przedstawiająca badania kliniczne prowadzące w kierunku stosowania terapii genowej ELEVIDYS (delandistrogen moxeparovec-rokl) [34]

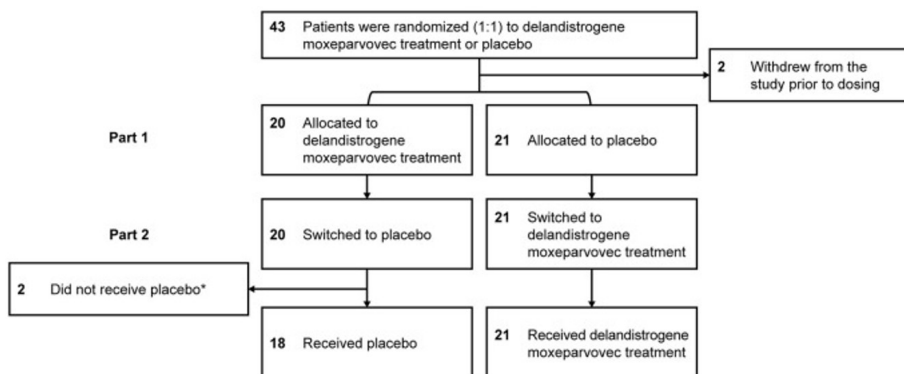
Dwuczęściowe badanie fazy II (NCT03769116)

Dwuczęściowe badanie fazy II (NCT03769116), z podwójnie ślepą próbą oraz kontrolowanym placebo, oceniało bezpieczeństwo i skuteczność pojedynczego dożylnego podania delandistrogenu mokseparovec, do którego zarejestrowano pacjentów z DMD w wieku ≥ 4 do < 8 lat. Badanie rozpoczęło się w grudniu 2018 r. i było przeprowadzane w dwóch ośrodków w Stanach Zjednoczonych: Nationwide Children's Hospital w Columbus w stanie Ohio oraz na Uniwersytecie Kalifornijskim w Los Angeles w Kalifornii. Pacjentów przydzielono losowo do dwóch grup: do grupy otrzymującej placebo ($n = 21$) oraz do grupy otrzymującej pojedynczy wlew delandistrogen mokseparovec ($n = 20$). W części 1. podwójnie ślepej próby, trwającej 48 tygodni, 20 pacjentom podano pojedynczo wlew dożylny zawierający transgen, a kolejnych 21 pacjentów otrzymało placebo. Do 2. części badania, trwającej również 48 tygodni, przystąpiło dalej 39 pacjentów, a 2 pacjentów nie mogło kontynuować badania z innych względów medycznych. Wszyscy chorzy uczestniczący w próbie byli leczeni steroidoterapią przed rozpoczęciem badania, przy czym 20 z nich stosowało codzienną terapię sterydami, w większości doustny prednizolon. Na rycinie nr 8 i 9 przedstawiono skrócony przebieg badania oraz rozkład pacjentów do poszczególnych grup w czasie jego trwania.

W wynikach badania naukowcy donoszą, że pojedyncze leczenie z zastosowaniem terapii delandistrogen mokseparovec doprowadziło do wzrostu stężenia białka dystrofiny SRP-9001 w mięśniach. Wyniki te sugerują, że zmodyfikowany gen w sposób skuteczny został przetransportowany do komórek tkanki mięśniowej, umożliwiając im wytworzenie zmodyfikowanego białka dystrofiny.



Rycina 8. Schemat przedstawiający przebieg badania NCT03769116 [39]



Rycina 9. Schemat przedstawiający rozkład pacjentów i podawane im substancje na poszczególnych etapach badania [39]

Rezultaty te zostały potwierdzone przez zmierzenie metodą Western Blot ekspresji dystrofiny SRP-9001, w komórkach tkanki mięśniowej pobranej za pomocą biopsji po 12 tygodniach od podania wlewu dożylnego pacjentom. Oprócz oceny ilościowej metodą Western Blot, o pozytywnych skutkach podania wlewu stanowiły również potwierdzenie lokalizacji białka dystrofiny oraz obecność kopii genomu wektora, co poświadczało o efektywnej próbie doprowadzenia transgenu do odpowiednich komórek. Dodatkowo wyniki badania wskazują na silną ekspresję dystrofiny SRP-9001 i ogólną poprawę punktacji pacjentów podczas testu NSAA do 2 lat po leczeniu, co było pozytywnym i obiecującym rezultatem, zwłaszcza iż zwykle osoby cierpiące na DMD w tym wieku zaczynają tracić funkcje motoryczne mięśni [40].

Ocena ambulatoryjna North Star (NSAA) to 17-punktowa skala oceny stosowana do pomiaru zdolności motorycznych u chodzących dzieci z dystrofią mięśniową Duchenne'a. Zwykle służy do monitorowania postępu choroby i efektów leczenia [41].

ENDEAVOR

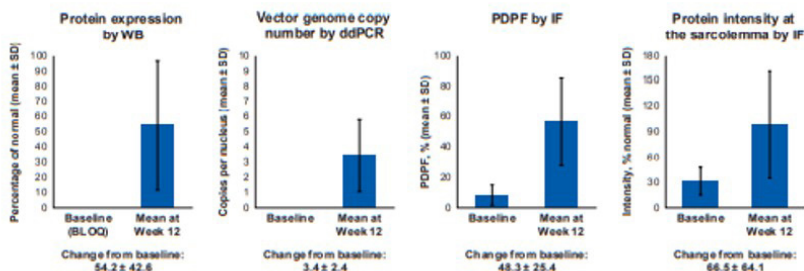
ENDEAVOR to dwuczęściowe, otwarte badanie fazy 1b (NCT04626674) oceniające ekspresję i bezpieczeństwo stosowania terapii opartej na delandistrogen moxeparvec w czterech kohortach pacjentów płci męskiej chorujących na DMD. Pierwszą kohortę stanowili pacjenci ambulatoryjni w wieku ≥ 4 do < 8 roku życia. Do drugiej kohorty zaliczani byli pacjenci również ambulatoryjni, ale w wieku ≥ 8 do < 18 roku życia. Grupa pacjentów leczonych nieambulatoryjnie stanowiła kohortę nr 3, natomiast do kohorty nr 4 zaliczani byli najmłodszy pacjenci ambulatoryjni w wieku ≥ 3 do < 4 roku życia. W głównym punkcie wyjściowym badania u chorych poddanych leczeniu stwierdzono zmianę w ilości ekspresji białka dystrofiny SRP-9001 w 12. tygodniu, w porównaniu z wartością wyjściową, co ustalono w stosunku ilościowym przy zastosowaniu metody Western Blot. Średnia zmiana ekspresji białka mikrodystrofiny w stosunku do głównego punktu końcowego, wyniosła 54,2% prawidłowego poziomu ekspresji dystrofiny. Na rycinie nr 10 zobrazowano wyniki tego badania.

W badaniu wykazano ekspresję dystrofiny SRP-9001, odpowiadającej kopiom genu wektora, co stanowiło potwierdzenie skuteczności działania leku na komórki docelowe. Autorzy badania donoszą, że leczenie z użyciem terapii genowej spowodowało poprawę sprawności i funkcji motorycznych u pacjentów poddanych badaniu. Dodatkowo, podczas badania u chorych przy stosowaniu terapii nie wystąpiły żadne zdarzenia niepożądane, które wiązały się z koniecznością przerwania badania ani nie odnotowano żadnych zgonów, co potwierdzało bezpieczeństwo stosowania terapii [36, 42].

Badanie fazy 1/2a (NCT03375164)

Otwarte, nierandomizowane, kontrolowane badanie fazy 1/2a (NCT03375164) przeprowadzono w Nationwide Children's Hospital w Columbus w stanie Ohio. Badanie rozpoczęło się 2 listopada 2017 r., a planowany czas obserwacji wyniósł 3 lata i zakończył się w marcu 2021 r. Do badania włączono 4 pacjentów płci męskiej chorujących na DMD, u których wcześniej nie

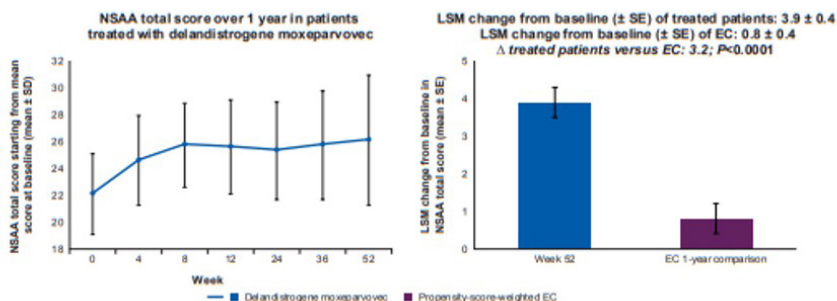
Expression data from Part 1, Cohort 1*



- Demonstration of SRP-9001 dystrophin expression corresponded with vector genome copies, confirming successful delivery of delandistrogene moxeparvec to target cells.

*N=20 patients in Cohort 1.

Functional results: NSAA



- Changes from baseline in NSAA were measured at Week 52 and compared with a propensity-score-weighted EC.
- Treatment with commercially representative delandistrogene moxeparvec material led to improvements in motor function.

Rycina 10. Rycina przedstawiająca wyniki badania potwierdzające skuteczność dostarczenia leku do komórek organizmu chorego oraz poprawę funkcji motorycznych [36]

stwierdzono obecności przeciwciał AAVrh74 oraz którzy przyjmowali stałą dawkę kortykosteroidów przez ≥ 12 tygodni. Głównym celem, jaki postawili sobie naukowcy w badaniu, było sprawdzenie bezpieczeństwa stosowanej terapii oraz ustalenie, czy transferowany gen jest dobrze tolerowany u chorych uczestniczących w badaniu w okresie 1 roku po podaniu wlewu. Końcowe wyniki dały dowody na skuteczność ogólnoustrojowej terapii genowej do możliwego wykorzystania w leczeniu pacjentów z DMD. Transfer genu mikrodystrofiny, którzy przebiegł pomyślnie, oceniono za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy, metodą immunofluorescencji i metodą Western Blot. Zjawisko to potwierdzono u każdego uczestniczącego pacjenta, wykazując średnio 3,3 kopii genomu

wektora na jądro wykryte metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy, co stanowiło potwierdzenie na skuteczności działania terapii i dostarczanie transgenu do docelowych komórek mięśni szkieletowych. Wyniki badania pokazują także, iż średnia ekspresja mikrodstrofiny po 12 tygodniach od leczenia wynosiła 95,8% i 74,3% normalnego poziomu ekspresji dystrofiny, z uwzględnieniem lub bez uwzględnienia tłuszczu lub zwłóknienia. Autorzy donoszą, że pojedynczy ogólnoustrojowy wlew podany pacjentom dystrofiny był dobrze przez nich tolerowany i miał pozytywny profil bezpieczeństwa. Dodatkowo w badaniu zwrócono uwagę na fakt, iż dostarczenie substancji do prawidłowej lokalizacji oraz silna ekspresja mikrodstrofiny korelowała w tym samym czasie ze spadkiem poziomu stężenia kinazy kreatynowej, a także z poprawą wyników w testach funkcjonalnych, jak m.in. NSAA. Autorzy wnioskuje i sugerują więc, że terapia genowa w leczeniu DMD ma obiecujące perspektywy, jeśli chodzi o poprawę funkcjonalną, a nawet większy potencjał niż poprawa obserwowana przy leczeniu standardowym, m.in. kortykosteroidami [43].

Zdarzenia niepożądane

Podczas trwania badań podawano delandistrogen mokseparvovec pojedynczo w postaci infuzji dożylniej. Wykazano odpowiedni profil bezpieczeństwa u pacjentów płci męskiej, zarówno ambulatoryjnych i nieambulatoryjnych w różnym wieku z DMD, który był możliwy do kontrolowania. Na podstawie danych z trzech badań: NCT03769116, NCT03375164 oraz kohort ENDEAVOR, przeprowadzono analizę występujących działań niepożądanych. Dowiedziono, że prawie wszyscy pacjenci, bo aż 96,5% zgłosiło zdarzenie niepożądane związane z leczeniem. Do najczęściej występujących należały wymioty, zmniejszenie apetytu, infekcja górnych dróg oddechowych, nudności, dolegliwości bólowe oraz drażliwość. Większość z nich miała charakter łagodny bądź umiarkowany i obserwowano je w okresie od pierwszych 2 tygodni do pierwszych 2 miesięcy trwania badania. U 8,2% wystąpiły również poważne działania niepożądane związane z leczeniem, do których należały zwiększona aktywność aminotransferaz u dwóch pacjentów, rabdomioliza u kolejnych dwóch pacjentów, uszkodzenie wątroby u jednego pacjenta oraz zapalenie mięśni o podłożu immunologicznym u jednego pacjenta. Nie zgłaszano działań niepożądanych, które byłyby związane z koniecznością przerwania badań bądź prowadzących do zgonu [39, 40, 42, 43, 44].

Oprócz badań omówionych wyżej trwają również badania, które dalej badają ocenę skuteczności i bezpieczeństwa stosowania terapii genowej delandistrogen

moxeparovec. Należą do nich badanie fazy II ENVOL (EudraCT 2022-000691-19), faza III EMBARK (NCT05096221) i ENVISION (NCT05881408). Badania te bardziej skupiają się na zbadaniu bezpieczeństwa u chorych z DMD w wieku od 4 do <8 lat (EMBARK) lub < 4 lata (ENVOL) [34].

PODSUMOWANIE

Dystrofia mięśniowa Duchenne'a to choroba nadal nieuleczalna. Postęp medycyny i rozwój farmakologii pozwolił na poprawę komfortu i złagodzenie przebiegu choroby, a tym samym zmniejszył ilość występujących u chorych niepożądanych objawów, takich jak szybka utrata zdolności poruszania czy zaburzenia oddychania. Niestety stworzona dla cierpiących na DMD farmakoterapia nie jest całkowicie idealna, ponieważ może wywoływać działania niepożądane, takie jak niskorosłość czy przyrost masy ciała, co może utrudniać leczenie. Nadzieją dla chorych stały się więc terapie genowe. Aktualnie istnieje wiele badań nad terapiami celowanymi w różne etapy patogenezы choroby. Na dzień dzisiejszy udało się dopuścić do leczenia tylko jedną terapię genową, jaką jest terapia ELEVIDYS, wskazana w USA u ambulatoryjnych pacjentów pediatrycznych w wieku od 4 do 5 lat z DMD z potwierdzoną mutacją w genie DMD. Terapia została zatwierdzona w trybie przyspieszonym, w związku z tym nadal trwa wiele badań na ocenę jej efektów działania i profilu bezpieczeństwa. Niewątpliwie jest to terapia, która skutecznie dostarcza brakujący gen dystrofiny, skutkując poprawą stanu chorych i polepszeniem ich komfortu życia, również w zakresie długofalowym. Jednak tak jak i we wcześniejszych formach leczenia, stosowanie terapii genowej również może wiązać się z występowaniem działań niepożądanych, zwłaszcza tych związanych z leczeniem. Nadal nie jest to jednakże terapia dająca całkowite szanse na wyleczenie, dlatego chorzy dalej mają nadzieję, że dalsze badania prowadzone w tym kierunku zaowocują w niedalekiej przyszłości lekiem, dającym możliwość całkowitego wyzdrowienia.

REFERENCJE

- [1] Allen DG, Whitehead NP, Froehner SC. Brak dystrofiny zakłóca sygnalizację mięśni szkieletowych: rola Ca²⁺, reaktywnych form tlenu i tlenu azotu w rozwoju dystrofii mięśniowej. *Physiol Rev.* 2016 styczeń; 96 (1):253-305.
- [2] Mendell JR et al. Evidence-based path to newborn screening for Duchenne muscular dystrophy. *Ann. Neurol* 71, 304–313 (2012).
- [3] Ryder S et al. The burden, epidemiology, costs and treatment for Duchenne muscular dystrophy: an evidence review. *Orphanet J. Rare Dis* 12, 79 (2017)
- [4] Hausmanowi-Petrusewicz I. Choroby nerwowo-mięśniowe. Czelej, Lublin 2005; 167–178.
- [5] Eagle M, Baudouin SV, Chandler C, Giddings DR, Bullock R, Bushby K (2002) Przetrawanie w dystrofii mięśniowej Duchenne'a: poprawa średniej długości życia od 1967 r. i wpływ nocnej wentylacji domu. *Zaburzenia nerwowo-mięśniowe* 12(10):926–929 KrzyżRef Google Scholar
- [6] Emery AE (2002) Dystrofie mięśniowe. *Lancet* 359(9307):687–695. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07815-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07815-7)
- [7] Ishizaki M, Kobayashi M, Adachi K, Matsumura T, Kimura E. Female dystrophinopathy: Review of current literature. *Neuromuscul Disord.* 2018 Jul;28(7):572-581. doi: 10.1016/j.nmd.2018.04.005. Epub 2018 May 2. PMID: 29801751.
- [8] Molekularne mechanizmy dystrofii mięśniowej Duchenne'a i nowe możliwości terapeutyczne dr Paulina Podkalicka, mgr Małgorzata Myszka, prof. dr hab. Józef Dulak, dr hab. Agnieszka Łoboda, prof. UJ Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie https://doi.org/10.18388/pb.2021_428
- [9] Duan D, Goemans N, Takeda S, Mercuri E, Aartsma-Rus A. Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Dis Primers.* 2021 Feb 18;7(1):13. doi: 10.1038/s41572-021-00248-3. PMID: 33602943; PMCID: PMC10557455.

- [10] Tyler KL. Origins and early descriptions of "Duchenne muscular dystrophy". *Muscle Nerve*. 2003 Oct;28(4):402-22. doi: 10.1002/mus.10435. PMID: 14506712.
- [11] Crisafulli, S., Sultana, J., Fontana, A. et al. Global epidemiology of Duchenne muscular dystrophy: an updated systematic review and meta-analysis. *Orphanet J Rare Dis* 15, 141 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01430-8>
- [12] Petrof BJ. Molecular pathophysiology of myofiber injury in deficiencies of the dystrophin-glycoprotein complex. *Am J Phys Med Rehabil*. 2002 Nov;81(11 Suppl):S162-74. doi: 10.1097/00002060-200211001-00017. PMID: 12409821.
- [13] Bez Batti Angulski A, Hosny N, Cohen H, Martin AA, Hahn D, Bauer J, Metzger JM. Duchenne muscular dystrophy: disease mechanism and therapeutic strategies. *Front Physiol*. 2023 Jun 26;14:1183101. doi: 10.3389/fphys.2023.1183101. PMID: 37435300; PMCID: PMC10330733.
- [14] Jelinkova S, Sleiman Y, Fojtík P, Aimond F, Finan A, Hugon G, Scheuermann V, Beckerová D, Cazorla O, Vincenti M, Amedro P, Richard S, Jaros J, Dvorak P, Lacampagne A, Carnac G, Rotrekl V, Meli AC. Dystrophin Deficiency Causes Progressive Depletion of Cardiovascular Progenitor Cells in the Heart. *Int J Mol Sci*. 2021 May 10;22(9):5025. doi: 10.3390/ijms22095025. PMID: 34068508; PMCID: PMC8125982.
- [15] Thangarajh M, Hendriksen J, McDermott MP, Martens W, Hart KA, Griggs RC; Muscle Study Group and TREAT-NMD. Relationships between DMD mutations and neurodevelopment in dystrophinopathy. *Neurology*. 2019 Oct 22;93(17):e1597-e1604. doi: 10.1212/WNL.0000000000008363. Epub 2019 Oct 8. PMID: 31594858; PMCID: PMC6946466.
- [16] Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Brumbaugh D, Case LE, Clemens PR, Hadjiyannakis S, Pandya S, Street N, Tomezsko J, Wagner KR, Ward LM, Weber DR; DMD Care Considerations Working Group. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional

- management. *Lancet Neurol.* 2018 Mar;17(3):251-267. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30024-3. Epub 2018 Feb 3. Erratum in: *Lancet Neurol.* 2018 Apr 4; PMID: 29395989; PMCID: PMC5869704.
- [17] Saad FA, Siciliano G, Angelini C. Advances in Dystrophinopathy Diagnosis and Therapy. *Biomolecules.* 2023 Aug 28;13(9):1319. doi: 10.3390/biom13091319. PMID: 37759719; PMCID: PMC10526396
- [18] Moxley RT 3rd, Pandya S, Ciafaloni E, Fox DJ, Campbell K. Change in natural history of Duchenne muscular dystrophy with long-term corticosteroid treatment: implications for management. *J Child Neurol.* 2010 Sep;25(9):1116-29. doi: 10.1177/0883073810371004. Epub 2010 Jun 25. PMID: 20581335.
- [19] Lamb MM, West NA, Ouyang L, Yang M, Weitzenkamp D, James K, Ciafaloni E, Pandya S, DiGuiseppi C; Muscular Dystrophy Surveillance, Research, and Tracking Network (MD STARnet). Corticosteroid Treatment and Growth Patterns in Ambulatory Males with Duchenne Muscular Dystrophy. *J Pediatr.* 2016 Jun;173:207-213.e3. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.02.067. Epub 2016 Mar 30. PMID: 27039228; PMCID: PMC5100357.
- [20] Zhang T, Kong X. Recent advances of glucocorticoids in the treatment of Duchenne muscular dystrophy (Review). *Exp Ther Med.* 2021 May;21(5):447. doi: 10.3892/etm.2021.9875. Epub 2021 Mar 1. PMID: 33777191; PMCID: PMC7967797.
- [21] Yao S, Chen Z, Yu Y, Zhang N, Jiang H, Zhang G, Zhang Z, Zhang B. Current Pharmacological Strategies for Duchenne Muscular Dystrophy. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Aug 19;9:689533. doi: 10.3389/fcell.2021.689533. PMID: 34490244; PMCID: PMC8417245.
- [22] Wong BL, Cook T, Miller H. Prednisone and deflazacort in Duchenne muscular dystrophy: a patient perspective and plain language summary publication of the Cincinnati study. *J Comp Eff Res.* 2022 Aug;11(11):779-786. doi: 10.2217/cer-2022-0055. Epub 2022 Jun 17. PMID: 35713895.
- [23] Biggar WD, Skalsky A, McDonald CM. Comparing Deflazacort and Prednisone in Duchenne Muscular Dystrophy. *J Neuromuscul Dis.* 2022;9(4):463-476. doi: 10.3233/JND-210776. PMID: 35723111; PMCID: PMC9398085.

- [24] Bushby K, Finkel R, Wong B, et al. Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle Nerve*. 2014;50(4):477-487. doi:10.1002/mus.24332
- [25] Lim KR, Maruyama R, Yokota T. Eteplirsen in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Drug Des Devel Ther*. 2017 Feb 28;11:533-545. doi: 10.2147/DDDT.S97635. PMID: 28280301; PMCID: PMC5338848.
- [26] Bladen CL, Salgado D, Monges S, et al. The TREAT-NMD DMD Global Database: analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations. *Hum Mutat*. 2015;36(4):395-402. doi:10.1002/humu.22758
- [27] van Deutekom JC, van Ommen GJ. Advances in Duchenne muscular dystrophy gene therapy. *Nat Rev Genet*. 2003 Oct;4(10):774-83. doi: 10.1038/nrg1180. PMID: 14526374.
- [28] LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Eteplirsen. 2022 Dec 1. PMID: 32223120.
- [29] Keam SJ. Vamorolone: First Approval. *Drugs*. 2024 Jan;84(1):111-117. doi: 10.1007/s40265-023-01986-2. PMID: 38103149.
- [30] Yao S, Chen Z, Yu Y, et al. Current Pharmacological Strategies for Duchenne Muscular Dystrophy. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:689533. Published 2021 Aug 19. doi:10.3389/fcell.2021.689533
- [31] Sarepta Therapeutics Inc. ELEVIDYS (delandistrogene moxeparvec-rokl) suspension, for intravenous infusion: US prescribing information; 2023. <https://www.fda.gov/>. Accessed 23 Jun 2023.
- [32] Sarepta Therapeutics. Sarepta Therapeutics announces FDA approval of ELEVIDYS, the first gene therapy to treat Duchenne muscular dystrophy [media release]; 22 Jun 2023. <https://www.sarepta.com/>.
- [33] US Food and Drug Administration. FDA approves first gene therapy for treatment of certain patients with Duchenne muscular dystrophy [media release]; 22 Jun 2023. <https://www.fda.gov/>.

- [34] Hoy SM. Delandistrogene Moxeparvovec: First Approval. *Drugs*. 2023 Sep;83(14):1323-1329. doi: 10.1007/s40265-023-01929-x. PMID: 37566211.
- [35] Asher DR, Thapa K, Dharia SD, et al. Clinical development on the frontier: gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Expert Opin Biol Ther*. 2020;20(3):263–74.
- [36] Zaidman C, Proud C, McDonald C, et al. One-year data from ENDEAVOR, a phase 1b trial of delandistrogene moxeparvovec in boys with DMD [abstract no. P.129 plus poster]. *Neuromuscul Disord*. 2022;32(Suppl 1):S101.
- [37] Mendell JR, et al. *JAMA Neurol*. 2020; 77(9):1122-31;
- [38] Mendell J, et al. *Neuromuscular Disorders*. 2022;32:S102-S3
- [39] Goedeker NL, Aqul A, Butterfeld RJ, et al. Management of patients following investigational delandistrogene moxeparvovec gene therapy for Duchenne muscular dystrophy: Delphi panel consensus considerations based on clinical trial experience [abstract no. 132 plus poster]. *Mol Ther*. 2023;31(4S1):71
- [40] Mendell JR, Shieh PB, McDonald CM, et al. Expression of SRP-9001 dystrophin and stabilization of motor function up to 2 years post-treatment with delandistrogene moxeparvovec gene therapy in individuals with Duchenne muscular dystrophy. *Front Cell Dev Biol*. 2023;11:1167762. Published 2023 Jul 11. doi:10.3389/fcell.2023.1167762
- [41] Muntoni F, Guglieri M, Mah JK, et al. Novel approaches to analysis of the North Star Ambulatory Assessment (NSAA) in Duchenne muscular dystrophy (DMD): Observations from a phase 2 trial. *PLoS One*. 2022;17(8):e0272858. Published 2022 Aug 23. doi:10.1371/journal.pone.0272858
- [42] Zaidman CM, Proud CM, McDonald CM, Lehman KJ, 3eker NL, Mason S, Murphy AP, Guridi M, Wang S, Reid C, Darton E, Wandel C, Lewis S, Malhotra J, Griffin DA, Potter RA, Rodino-Klapac LR, Mendell JR. Delandistrogene Moxeparvovec Gene Therapy in Ambulatory Patients (Aged ≥ 4 to < 8 Years) with Duchenne Muscular

- Dystrophy: 1-Year Interim Results from Study SRP-9001-103 (ENDEAVOR). *Ann Neurol.* 2023 Nov;94(5):955-968. doi: 10.1002/ana.26755. Epub 2023 Sep 7. PMID: 37539981.
- [43] Mendell JR, Sahenk Z, Lehman K, et al. Assessment of Systemic Delivery of rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin in Children With Duchenne Muscular Dystrophy: A Nonrandomized Controlled Trial. *JAMA Neurol.* 2020;77(9):1122-1131. doi:10.1001/jamaneurol.2020.1484
- [44] Proud C, Zaidman C, McDonald C, et al. One-year data from ENDEAVOR, a phase 1b trial of delandistrogene moxeparvovec in patients with DMD [abstract no. 107 plus oral]. In: Muscular Dystrophy Association (MDA) Clinical and Scientific Conference.2023.

PRZECIWCIAŁA MONOKLONALNE BĘDĄCE INHIBITORAMI CGRP JAKO NOWOCZESNA TERAPIA LECZENIA MIGRENY

Jakub Słota, Jakub Warecki, Magdalena Trólka,
Wiktoria Ignacy, Aleksandra Zdunek

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Migrena to powszechna, przewlekła choroba neurologiczna, która charakteryzuje się uporczywym bólem głowy. Stanowi duże wyzwanie dla współczesnej medycyny, ponieważ patomechanizm choroby nie jest wciąż w pełni poznany, a dotychczasowe terapie często nie przynoszą satysfakcjonujących rezultatów. Nową formą farmakologicznego leczenia i zapobiegania migrenie są przeciwciała monoklonalne będące inhibitorami peptydu zależnego od kalcytoniny (*calcitonine gene-related peptide*, CGRP), który ma znaczącą rolę w procesie powstawania bólu migrenowego. Należą do nich: fremanezumab, galkanezumab, eptinezumab oraz erenumab (jako jedyny mający powinowactwo do receptora CGRP). Badania kliniczne na grupach pacjentów z migreną epizodyczną (*episodic migraine*, EM) oraz migreną przewlekłą (*chronic migraine*, CM) ukazały wysoką skuteczność w zmniejszeniu napadów bólu oraz relatywnie niewielkie skutki uboczne, co czyni wymienione przeciwciała obiecującą opcją terapeutyczną.

Słowa kluczowe: migrena, przeciwciała monoklonalne, inhibitory CGRP, neurologia

Abstract: Migraines are a common, chronic neurological condition characterized by persistent headaches. This condition poses a major challenge for modern medicine, as its pathomechanism is still not fully understood, and existing treatments often fail to provide satisfactory results. A new form of pharmacological treatment and prevention of migraines is the use of monoclonal antibodies, inhibitors of calcitonin gene-related peptide (CGRP), which has a significant role in the process of migraine pain development. These include fremanezumab, galcanezumab, eptinezumab and erenumab (the only one with affinity for the CGRP receptor). Clinical studies in patients with both

episodic migraines (EM) and chronic migraines (CM) have shown good results in reducing pain attacks and relatively low side effects, making aforementioned antibodies a promising therapeutic option.

Keywords: migraine, monoclonal antibodies, CGRP inhibitors, neurology

MIGRENA JAKO POWAŻNY PROBLEM MEDYCZNY I SPOŁECZNY

Współczesna neurologia mierzy się z wieloma jednostkami chorobowymi, które ze względu na niezwykle złożoność układu nerwowego stanowią duży problem terapeutyczny. Jedną z takich chorób jest migrena, która przez swój przewlekły i uporczywy charakter potrafi nie tylko znacząco ograniczyć satysfakcję z życia, ale również jest najczęstszą przyczyną niesprawności wśród kobiet w wieku rozrodczym oraz drugą najczęstszą przyczyną upośledzenia funkcjonowania w populacji ogólnej [1,2]. Dodatkowo, osoby chore mają ponad trzykrotnie większą szansę zachorowania na inne choroby, takie jak bezsenność, depresja, zaburzenia lękowe czy choroba wrzodowa żołądka. [3]

Niniejsza praca ma na celu przybliżenie tematyki samej choroby, dotychczasowych metod jej leczenia i profilaktyki oraz przedstawienie nowej grupy leków, czyli inhibitorów CGRP.

INFORMACJE OGÓLNE O MIGRENIE

Migrena to powszechna i złożona choroba zaliczana, obok napięciowego bólu głowy czy trójdzielno-autonomicznych bóli głowy, do pierwotnych bólów głowy o nie w pełni poznanej etiologii. [4] Duże znaczenie przypisuje się podłożu genetycznemu, dziedziczenie jest wielogenowe (z pewnymi wyjątkami, w których dziedziczenie jest monogenowe np. rodzinna migrena hemiplegiczna) [5]. Kliniczne objawy to głównie jednostronny, pulsujący i nawracający ból głowy, o nasileniu od umiarkowanego do ciężkiego, trwający zazwyczaj 4-72 godzin. Charakterystyczne dla migreny są również objawy współwystępujące, takie jak fotofobia, fonofobia, osmofobia, nudności czy wymioty [6]. U części osób przed wystąpieniem bólu głowy pojawia się tzw. „aura”, która została dokładniej opisana poniżej.

Epidemiologia

Według danych statystycznych, co trzecia kobieta i co piąty mężczyzna doświadczy w swoim życiu bólu migrenowego, a chorych na całym świecie jest

około 1 miliard. Zapadalność u dzieci jest stosunkowo niska (5%) i podobna u obu płci, po czym gwałtownie wzrasta w czasie dojrzewania. Szczyt zachorowań przypada na 30-35 r.ż. z ponad trzykrotną przewagą u kobiet względem mężczyzn. Migrena to druga najczęściej występująca choroba neurologiczna, zaraz po napięciowym bólu głowy. [7,8]

Patofizjologia, mechanizm powstawania aury oraz bólu

Mechanizmy patofizjologiczne nie zostały w pełni poznane. Dużą rolę w procesowaniu bólu odgrywa tak zwany czynnościowy układ trójdzielno-naczyniowy, w którego skład wchodzi: układ naczyniowy, nerw trójdzielny i jego jądra w pniu mózgu oraz ośrodki korowe. Jedną z teorii mówi, że to właśnie nadwrażliwość tego układu leży u podstaw migreny, zarówno w mechanizmie ośrodkowym (okolice międzymózgowia i pnia mózgu) jak i obwodowym (neurony czuciowe). Naukowcy nie są jednak zgodni, który z nich przeważa. [9,10] Sama nadwrażliwość wydaje się być silnie uwarunkowana genetycznie oraz być podatna na wpływ środowiska.

Osobną kwestią jest występowanie aury migrenowej, czyli objawów neurologicznych (parestezje, ubytki w polu widzenia, niedowład, afazja, mroczki) pojawiających się około 60 minut przed samym bólem. Aura dotyczy około 15% chorych na migrenę i standardowo zwiastuje epizod bólu, natomiast może również występować samodzielnie, nazywana również cichą migreną (*silent migraine*). [6,11-12] Za aurę odpowiada neuronalna depresja korowa (*cortical spreading depression*), czyli zmniejszona aktywność bioelektryczna mózgu przez którą zostaje zmniejszony przepływ krwi przez naczynia tętnicze od okolicy potylicznej do okolicy skroniowej. [13]

Konsekwencją wyżej opisanych zjawisk jest zapalenie neurogenne spowodowane nadmiernym uwolnieniem peptydów silnie rozkurczających naczynia, takich jak adenozylna, substancja P czy peptydu zależnego od genu kalcytoniny (*calcitonine gene-related peptide*, CGRP), szczególnie istotnego w niniejszym rozdziale. [14] Rozszerzenie naczyń w konsekwencji powoduje dolegliwości bólowe.

Fazy napadu

W klasycznym podziale wyróżniamy cztery postępujące fazy napadu migrenowego: **(I) Faza prodromalna**; może wystąpić nawet na 2 dni przed napadem migreny, wywodzi się z układu limbicznego i podwzgórza, chorzy manifestują tę

fazę poprzez spięte mięśnie (głównie szyi), rozregulowane wypróżnianie, zmienność nastroju, nadwrażliwość na światło, hałasy i zapachy. **(II) Faza aury;** najczęściej objawia się zaburzeniami wzrokowymi, mogą również występować aury czuciowe i ruchowe. Jeśli objawy trwają ponad 60 minut mówimy o aurze trwałej. **(III) Faza bólu;** ból migrenowy o zmiennym nasileniu. **(IV) Faza postdromalna;** w dużym stopniu podobna do fazy prodromalnej, dodatkowo chory może odczuwać znaczne zmęczenie fizyczne i psychiczne. [15-18]

Podział kliniczny

Wszystkie rodzaje bólów głowy są na bieżąco opisywane przez Międzynarodowe Towarzystwo Bolów Głowy (International Headache Society, IHS). Ostatnia klasyfikacja ICHD-3 beta z 2013 roku uwzględnia sześć głównych typów migren: (I) Migrena bez aury; (II) Migrena z aurą; (III) Migrena przewlekła; (IV) Powikłania migreny; (V) Prawdopodobna migrena; (VI) Sporadyczne objawy mogące być powiązane z migreną. Typy I-III zostały opisane w tabeli 1. [19]

METODY LECZENIA MIGRENY

Głównym celem leczenia pacjentów z migreną jest poprawa ich komfortu życia, którą próbuje się osiągnąć poprzez przerywanie napadów (doraźne zmniejszenie bólu i objawów towarzyszących) jak i zapobieganie nawrotom choroby. W tym celu, stosuje się różne metody leczenia i profilaktyki, farmakologiczne i niefarmakologiczne (gepanty oraz przeciwciała monoklonalne, będące inhibitorami CGRP zostały szerzej opisane w punkcie 4).

Przerywanie napadu

Farmaceutykami stosowanymi doraźnie w leczeniu migreny są: (I) **Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NSLPZ);** głównie kwas acetylosalicylowy, ibuprofen, naproksen czy diklofenak p.o. (II) **Triptany;** selektywni agoniści receptora 5-HT_{1B/D} (np. sumatriptan, zolmitriptan, ryzatriptan) stosowane doustnie, podskórnym czy donosowo. (III) **Ditany;** selektywni agoniści receptora 5-HT_{1F}. Lekiem podawanym p.o. z tej grupy jest lamiditan. (IV) **Gepanty.** Pacjenci instruowani są o bezwzględnie jak najszybszym zażyciu leku, najlepiej już w momencie wystąpienia lekkiego bólu o charakterze migrenowym. W razie wystąpienia objawów towarzyszących, wskazane jest zastosowanie prokinetycznych leków przeciwwymiotnych [20-23].

Tabela 1. Kryteria kliniczne służące do rozpoznania wybranych typów migren. [opracowanie własne] [19]

Migrena bez aury	Migrena z aurą	Migrena przewlekła
Co najmniej 5 napadów spełniających wymienione poniżej kryteria:	Co najmniej 2 napady spełniające wymienione poniżej kryteria:	Bóle głowy przypominające migrenowe lub napięciowe bóle głowy przez ≥ 15 dni w miesiącu, przez > 3 miesiące, spełniające wymienione poniżej kryteria:
Ból głowy trwający 4-72 godzin (nieleczony lub leczony nieskutecznie)	Wystąpienie jednego lub więcej w pełni odwracalnych objawów aury, czyli zaburzenia: widzenia; czucia; mowy i/lub języka; ruchowe, czynności pnia mózgu; czynności siatkówki	Pacjent spełnia kryteria migreny bez aury, migreny z aurą lub obu
Ból głowy spełniający co najmniej 2 z czterech wymienionych cech: <ul style="list-style-type: none"> • jednostronność • pulsujący charakter • umiarkowane lub duże nasilenie • nasilający się podczas wysiłku fizycznego 	Co najmniej 3 z sześciu wymienionych cech: <ul style="list-style-type: none"> • czas narastania aury wynoszący > 5 minut • dwa lub więcej objawy aury następujące po sobie • każda aura trwa 5-60 minut • co najmniej jeden jednostronny objaw aury • co najmniej jeden wytwórczy objaw aury • ból głowy towarzyszący lub występujący do 60 minut po aurze 	Tryptany lub pochodne ergotaminy łagodzą objawy bólu ≥ 8 dni w miesiącu przez > 3 miesiące
Co najmniej jeden z objawów dodatkowych (nudności, wymioty, fotofobia, fonofobia)	Żadna inna diagnoza ICHD-3 nie wyjaśnia lepiej opisanego bólu	Żadna inna diagnoza ICHD-3 nie wyjaśnia lepiej opisanego bólu
Żadna inna diagnoza ICHD-3 nie wyjaśnia lepiej opisanego bólu		

Poza środkami farmaceutycznymi wykorzystywane są również urządzenia stymulujące i neuromodulujące przezskórnie nerwy: błędny (gammaCore®), skórne ramienia (Nerivio®), gałęzie nerwu trójdzielnego (Cefaly™) [24-26].

Profilaktyka farmakologiczna

Schematy leczenia profilaktycznego i zapobieganiu migrenie zawierają leki należące do różnorodnych grup. W pierwszej kolejności wykorzystywane są: beta-adrenolityki (atenolol, bisoprolol, metoprolol i propranolol), kandesartan

i topiramatu. Farmaceutykami drugiej linii są amitryptylina, flunarazyna i walproinian sodu (przez znaczną teratogenność nie jest stosowana u kobiet w wieku rozrodczym). Na końcu schematu prewencji migreny, pacjentom proponuje się terapię toksyną onabotulinową A, przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko CGRP lub remigepantem. [27]

Profilaktyka nefarmakologiczna, bodźce wyzwalające

Tak jak w przypadku wielu innych chorób, w migrenie występują czynniki wpływające na jej przebieg. Charakterystyczna jest obecność tak zwanych bodźców wyzwalających (migraine triggers), które mają rzekomo zwiększać szansę występowania bólu. Należą do nich: alkohol i określone pokarmy (szczególnie sery pleśniowe), nadużywanie leków, zwiększony stres psychiczny, nieregularny rytm snu, zmiany pogody, błyski światła czy określone dźwięki i zapachy. [28] Wyniki badań na ten temat nie są jednoznaczne, [29,30] natomiast zdrowy tryb życia i odpowiednia dieta są wskazane w przypadku profilaktyki migreny [31].

INHIBITORY CGRP

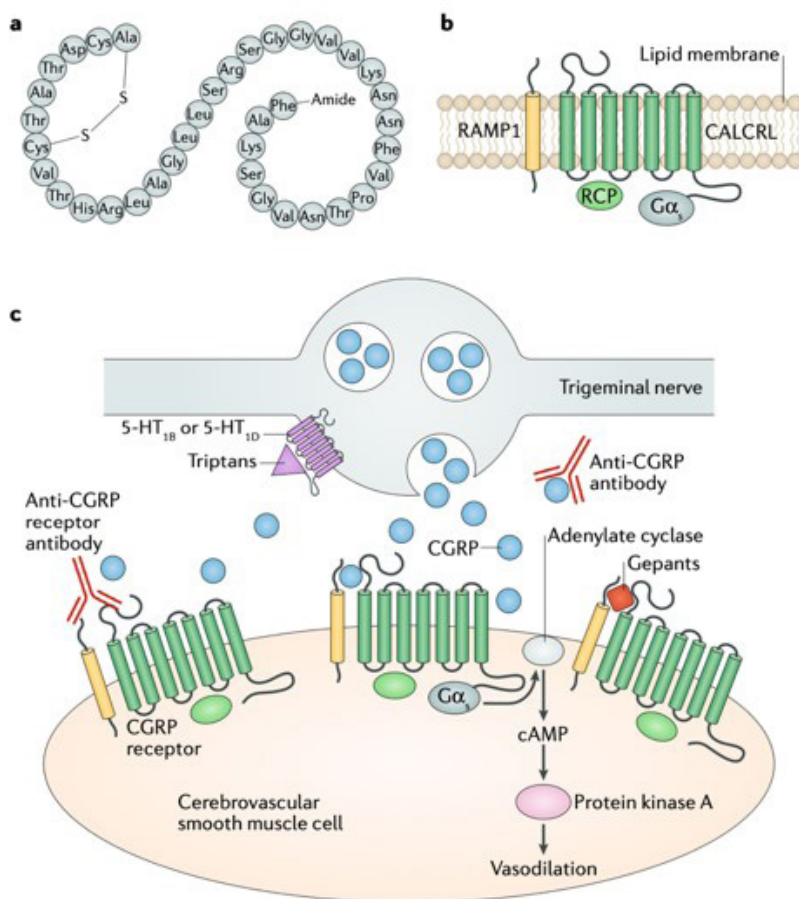
Erenumab, fremanezumab, galkanezumab oraz eptinezumab to przeciwciała monoklonalne od niedawna stosowane w przewlekłym leczeniu migreny. Wskazaniem do stosowania tych leków jest ból migrenowy występujący ≥ 4 dni w miesiącu. [32]

Molekularny mechanizm działania

Wspólną cechą wymienionych przeciwciał monoklonalnych jest mechanizm działania, czyli inhibicja peptydu zależnego od genu kalcytoniny (fremanezumab, galkanezumab, eptinezumab) lub jego receptora (erenumab). Sam peptyd występuje w formie α i β , ale w patogenezie migreny znaczenie wydaje się mieć wyłącznie pierwsza forma. CGRP α zbudowany jest z 37 aminokwasów (ryc. 1A), a gen odpowiadający za jego syntezę znajduje się na chromosomie 11. Peptyd syntezowany jest głównie w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym (neurony czuciowe). Receptor, z którym omawiany neuropeptyd się łączy, to kompleks zbudowany z dwóch białek integralnych: receptora podobnego do receptora kalcytoniny (*calcitonin receptor-like receptor*, CALCRL) i białko modyfikujące aktywność receptora 1 (*receptor activity-modifying protein 1*, RAMP1)

oraz dwóch białek powierzchniowych: białko łączące receptor (receptor coupling protein, RCP) i podjednostka α białka G_s ($G\alpha_s$) (ryc. 1B). [33,34]

Z badań wynika, że opisany peptyd odpowiada za przekazywanie bólu oraz silne rozszerzenie naczyń krwionośnych w mózgu. (ryc. 1C). Dodatkowo stężenia CGRP w krwi i ślinie są wyższe u osób chorujących na migrenę względem populacji zdrowej oraz dodatkowo wzrastają kilkukrotnie podczas samego napadu migreny. Rolę omawianego mechanizmu podkreśla udokumentowane zjawisko jatrogennego napadu migrenowego podczas eksperymentalnego, dożylnego podania CGRP. [35,36]



Rycina 1. a) Budowa CGRP w formie α ; b) Budowa receptora CGRP c) Mechanizm wydzielania i wpływu CGRP na rozszerzanie naczyń krwionośnych. Przedstawione zostały również miejsca działania niektórych grup leków: triptanów (błona nerwu trójdzielnego), gepantów (receptor CGRP) oraz przeciwciał monoklonalnych przeciwko CGRP lub jego receptorowi. [33]

Omówienie poszczególnych przeciwciał monoklonalnych

Erenumab

Pierwszy omawiany lek i jedyny, którego mechanizm polega na blokowaniu receptora CGRP. Erenumab (Aimovig®) to w pełni ludzkie przeciwciało monoklonalne w klasie IgG2. Został wprowadzony do obrotu jako pierwszy, w lipcu 2018 roku. Podawany jest podskórnie raz w miesiącu, w dawce 70 mg lub 140 mg [37].

Przeprowadzone badania kliniczne wykazały skuteczność erenumabu zarówno w migrenie przewlekłej (chronic migraine, CM) (badanie STRIVE) oraz epizodycznej (episodic migraine, EM) (badanie ARISE). [38] W STRIVE uzyskano zmniejszenie ilości napadów migrenowych o 50% dla dawki 140 mg i 43,3% dla dawki 70 mg (placebo = 26,6%). W ARISE użyto jedynie dawki 70 mg i uzyskano redukcję EM o 39,7 % (placebo = 29,5%). Głównymi działaniami niepożądanymi były zaparcia. Pierwsze doniesienia naukowców informują również o relatywnie wysokim bezpieczeństwie podczas długoterminowego stosowania leku [39].

Fremanezumab

Fremanezumab (Ajovy®) to humanizowane przeciwciało monoklonalne klasy IgG2 skierowane przeciwko CGRP. Zostało wprowadzone zaakceptowane przez EMA (European Medicine Agency) i wprowadzone na rynek w 2019 r. Podawane jest podskórnie raz na miesiąc w dawce 225 mg lub raz na kwartał w dawce 675 mg. [40]

Przeprowadzono trzy badania kliniczne dla fremanezumabu, gdzie grupę badanych stanowili wyłącznie chorzy na EM (HALO EM), na CM (HALO CM) lub gdzie pacjenci byli wymieszani (FOCUS). [41] W badaniu HALO CM ilość napadów migrenowych zmalała o 36,2% dla dawki 225 mg co miesiąc i 34,5% w przypadku dawki 675 mg co trzy miesiące (placebo = 19,6%). W przypadku HALO EM dla schematu miesięcznego spadek napadów wyniósł 43,7%, a dla kwartalnego 40,7% (placebo = 17,9%). W badaniu FOCUS dawkowanie miesięczne fremanezumabu obniżyło częstość bólu o 38,6%, kwartalne o 36,5%, a placebo wyniosło zaledwie 3,5%. Warto zaznaczyć również, że fremanezumab wykazał się najniższą immunogennością ze wszystkich omawianych przeciwciał.

Galkanezumab

Kolejnym humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG4 skierowanym przeciwko CGRP jest dopuszczony od 2018 roku Galkanezumab (Emgality®). Leczenie zaczyna się od podania dawki 240 mg s.c., następnie 120 mg s.c. co miesiąc. [42]

Trzy badania kliniczne, dwa dla pacjentów z EM (EVOLVE-1 i EVOLVE-2) oraz jedno dla pacjentów z CM (REGAIN) dowiodły wysoką skuteczność omawianego leku. Zmniejszenie napadów migrenowych wyniosło kolejno: 62,3% przy placebo 38,6% dla EVOLVE-1; 59,3% przy placebo 36,0% dla EVOLVE-2; 27,6% (dawka 120 mg) i 27,5% (dawka 240 mg) przy placebo 15,4% dla REGAIN. W ostatnim badaniu klinicznym, wyższa dawka galkanezumabu powodowała znacznie większe odczyny alergiczne u pacjentów podczas iniekcji. [43]

Eptinezumab

Ostatnim, zaakceptowanym przez EMA w 2022 lekiem z omawianej grupy jest przeciwciało monoklonalne w klasie IgG1 skierowane przeciwko CGRP, czyli eptinezumab (Vypti®). Jako jedyny opisywany tutaj lek podawany jest w iniekcji dożylniej, podawanej co 3 miesiące w dawkach 100 mg lub 300 mg. [44]

PROMISE-1 i PROMISE-2 to badania kliniczne oceniające skuteczność leku, kolejno w migrenie epizodycznej i migrenie chronicznej. W pierwszym badaniu odpowiedź na leczenie u chorych wyniosła 49,8% dla dawki 100 mg i 56,3% dla dawki 300 mg (placebo = 37,4%). W drugim, dla pacjentów z CM zmniejszenie napadów migrenowych wyniosło 57,6% (100 mg) i 61,4% (300 mg) przy wartości placebo równej 39,3%. [45,46] Dostyc częstym działaniem niepożądanym okazało się zapalenie gardła lub nosa.

Zalety, trudności terapeutyczne, możliwości

Korzyści ze stosowania leku opartym na przeciwciele monoklonalnym jest wiele. Nieskomplikowane dawkowanie i schematy terapii, szybki i długofalowy efekt działania (szczególnie w przypadku eptinezumabu, który podawany jest i.v.), duża skuteczność czy brak konieczności stosowania leku codziennie to kilka z nich. Szczególnie istotnym czynnikiem jest wysoki profil bezpieczeństwa, ponieważ wielu pacjentów leczonych metodami pierwszego wyboru mierzy się ze skutkami ubocznymi polipragmazji czy z bólem głowy związanym z nadużywaniem

leków (*medication overuse headache*, MOH). Dla przykładu, aż 41% chorych na migrenę przyjmuje 5 i więcej leków dziennie. [47,48]

Z drugiej strony jak każdy inny lek, również i omawiane przeciwciała mają skutki uboczne. Oprócz typowych odczynów poiniekcyjnych, obserwuje się zwiększone średnie wartości ciśnienia tętniczego u leczonych pacjentów. [49] Dodatkowymi trudnościami może być niechęć pacjentów do iniekcyjnego podawania leku, ograniczona dostępność leczenia jak i jego wysoka cena. [50] Zdarzają się również sytuacje, w których zastosowany inhibitor CGRP nie przynosi pożądanego efektu. Korzystna w takiej sytuacji może być zmiana jednego przeciwciała monoklonalnego na inne. [51] Ciekawym pomysłem wydaje się też terapia łączona z toksyną onabotulinową. [52]

Gepanty

Niniejszy rozdział poświęcony jest przeciwciałom monoklonalnym, natomiast należy wspomnieć o innej ważnej grupie leków, które również działają antagonistycznie na CGRP. Drobnocząsteczkowe gepanty, do których należą rimegepant, ubrogepant, atogepant oraz wazegepant, to również relatywnie nowa opcja leczenia pacjentów z migreną. Wykorzystywane są do przerywania napadów (ubrogepant, rimegepant, wazegepant) oraz w profilaktyce (rimegepant, atogepant). Warto nadmienić, że **rimegepant to obecnie jedyny farmaceutyk zarejestrowany w obu wskazaniach**. [53] Gepanty stosowane są doustnie lub (w przypadku wazegepantu) donosowo. Są bezpieczniejsze w zastosowaniu u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi, natomiast ze względu na metabolizm wątrobowy są przeciwwskazane u pacjentów z niewydolnością tego narządu. [47, 54]

DOSTĘPNOŚĆ TERAPII, PROGRAM LEKOWY B.133

Pomimo wysokiej skuteczności i niewielkich skutków ubocznych względem konwencjonalnych terapii, leki oparte na przeciwciałach monoklonalnych to wciąż technologia droga i trudno dostępna. Leczenie przewlekłe migreny lekami biologicznymi wyceniane jest mniej więcej na 2-3,5 tysiąca złotych miesięcznie, natomiast koszt terapii toksyną botulinową to 2-2,5 tysiąca złotych miesięcznie. [55] Od 1 lipca 2022 obowiązuje w Polsce program lekowy B.133, który przeznaczony jest dla pacjentów z przewlekłymi migrenami i obejmuje leczenie toksyną botulinową (I linia leczenia) oraz dwoma przeciwciałami: erenumabem oraz

frenuzumabem (II linia leczenia). Erenumab stosuje się w dawce 140 mg co 4 tygodnie, natomiast dawka fremanezumabu to 225 mg co miesiąc lub 675 mg raz na trzy miesiące.

Kryteria, które należy spełnić, aby być włączonym do wspomnianego programu lekowego finansowanego przez NFZ to: 1) Ukończone 18 lat; 2) Ból głowy występujący ≥ 15 dni w miesiącu, z czego ≥ 8 spełnia charakter bólu migrenowego; 3) Minimum 2 nieudane i udokumentowane próby konwencjonalnego leczenia profilaktycznego przez ponad 3 miesiące (topiramatu 100-200 mg/dobę; kwas walproinowy 500-1500 mg/dobę; amitryptylina 50-150 mg/dobę) lub przeciwwskazania do stosowania lub brak tolerancji tych leków; 4) Wykluczenie przeciwwskazań do stosowania toksyny botulinowej/erenumabu/fremanezumabu; 5) Brak wcześniejszego leczenia toksyną botulinową/inhibitorami CGRP; 6) Pisemna zgoda na monitorowanie efektów leczenia przez 12 miesięcy po zakończonym leczeniu. Konieczne jest również prowadzenia dzienniczka pacjenta, w którym dokumentuje on bóle głowy (ryc. 2) oraz regularne wypełnianie kwestionariusza jakości życia MIDAS na każdej wizycie (ryc.3). Schemat programu lekowego został przedstawiony i opisany na rycinie 4. [56]

Kryteriami wyłączenia z programu są: 1) Brak poprawnie prowadzonego dzienniczka; 2) Brak odpowiedzi na leczenie oceniane podczas wizyt kontrolnych; 3) Pogorszenie lub brak zmiany jakości życia w skali MIDAS; 4) Wystąpienie poważnych działań niepożądanych/nietolerancja leczenia 5) Niezgłoszenie się na wizytę kontrolną w wyznaczonym terminie.

PODSUMOWANIE

W praktycznie każdej dziedzinie medycyny pojawiają się farmaceutyki wykorzystujące przeciwciała monoklonalne. Ich precyzyjny mechanizm działania, bazujący na wiedzy z dziedzin genetyki, biotechnologii czy immunologii, pozwala na tworzenie nowych i skutecznych form leczenia. Nie inaczej jest w przypadku migreny, gdzie opisane w tym rozdziale przeciwciała dają neurologom nowe spojrzenie na leczenie tej choroby, a pacjentom szanse na życie w mniejszym bólu. Trzeba jednak pamiętać, że jest to wciąż nowa technologia i należy się bacznie przyglądać potencjalnym skutkom ubocznym i zagrożeniom długofalowym powodowanym przez przeciwciała monoklonalne.

- [3] Buse DC, Reed ML, Fanning KM, et al. Comorbid and co-occurring conditions in migraine and associated risk of increasing headache pain intensity and headache frequency: results of the migraine in America symptoms and treatment (MAST) study. *J Headache Pain*. 2020;21(1). doi:10.1186/s10194-020-1084-y
- [4] Mier RW, Dhadwal S. Primary Headaches. *Dental Clinics of North America*. 2018;62(4):611-628. doi:10.1016/j.cden.2018.06.006
- [5] Polderman TJC, Benyamin B, de Leeuw CA, et al. Meta-analysis of the heritability of human traits based on fifty years of twin studies. *Nat Genet*. 2015;47(7):702-709. doi:10.1038/ng.3285
- [6] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia*. 2018;38(1):1-211. doi:10.1177/0333102417738202
- [7] Ferrari MD, Goadsby PJ, Burstein R, et al. Migraine. *Nat Rev Dis Primers*. 2022;8(1). doi:10.1038/s41572-021-00328-4
- [8] Stovner LJ, Nichols E, Steiner TJ, et al. Global, regional, and national burden of migraine and tension-type headache, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*. 2018;17(11):954-976. doi:10.1016/s1474-4422(18)30322-3
- [9] Do TP, Hougaard A, Dussor G, Brennan KC, Amin FM. Migraine attacks are of peripheral origin: the debate goes on. *J Headache Pain*. 2023;24(1). doi:10.1186/s10194-022-01538-1
- [10] Edvinsson L, Haanes KA. Views on migraine pathophysiology: Where does it start? *Neurology & Clinical Neurosc*. 2019;8(3):120-127. doi:10.1111/ncn3.12356
- [11] Shah DR, Dilwali S, Friedman DI. Current Aura Without Headache. *Curr Pain Headache Rep*. 2018;22(11). doi:10.1007/s11916-018-0725-1
- [12] He Y, Li Y, Nie Z. Typical aura without headache: a case report and review of the literature. *J Med Case Reports*. 2015;9(1). doi:10.1186/s13256-014-0510-7

- [13] Fraser CL, Hepschke JL, Jenkins B, Prasad S. Migraine Aura: Pathophysiology, Mimics, and Treatment Options. *Semin Neurol*. 2019;39(06):739-748. doi:10.1055/s-0039-1700525
- [14] Qubty W, Patniyot I. Migraine Pathophysiology. *Pediatric Neurology*. 2020;107:1-6. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2019.12.014
- [15] Dodick DW. A Phase-by-Phase Review of Migraine Pathophysiology. *Headache*. 2018;58(S1):4-16. doi:10.1111/head.13300
- [16] May A, Burstein R. Hypothalamic regulation of headache and migraine. *Cephalalgia*. 2019;39(13):1710-1719. doi:10.1177/0333102419867280
- [17] Viana M, Sances G, Linde M, et al. Prolonged migraine aura: new insights from a prospective diary-aided study. *J Headache Pain*. 2018;19(1). doi:10.1186/s10194-018-0910-y
- [18] Bose P, Goadsby PJ. The migraine postdrome. *Current Opinion in Neurology*. 2016;29(3):299-301. doi:10.1097/wco.0000000000000310
- [19] <https://ichd-3.org/1-migraine/>
- [20] Mayans L, Walling A. Acute Migraine Headache: Treatment Strategies. *Am Fam Physician*. 2018;97(4):243-251.
- [21] Cameron C, Kelly S, Hsieh SC, et al. Triptans in the Acute Treatment of Migraine: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Headache*. 2015;55 Suppl 4:221-235. doi:10.1111/head.12601
- [22] Ailani J. Acute Migraine Treatment. *Continuum (Minneapolis)*. 2021;27(3):597-612. doi:10.1212/CON.0000000000000956
- [23] Viticchi G, Falsetti L, Silvestrini M, Bartolini M. Ditans: a new prospective for the therapy of migraine attack?. *Neurol Sci*. 2022;43(9):5709-5716. doi:10.1007/s10072-022-06260-z
- [24] Schoenen J, Ambrosini A. Update on noninvasive neuromodulation for migraine treatment-Vagus nerve stimulation. *Prog Brain Res*. 2020;255:249-274. doi:10.1016/bs.pbr.2020.06.009
- [25] Nierenburg H, Stark-Inbar A. Nerivio® remote electrical neuromodulation for acute treatment of chronic migraine. *Pain Manag*. 2022;12(3):267-281. doi:10.2217/pmt-2021-0038

- [26] A transcutaneous electrical nerve stimulation device (Cefaly) for migraine prevention. *Med Lett Drugs Ther.* 2014;56(1449):78.
- [27] Burch R. Preventive Migraine Treatment [published correction appears in *Continuum (Minneapolis, Minn.)*. 2021 Oct 1;27(5):1494-1495]. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*. 2021;27(3):613-632. doi:10.1212/CON.0000000000000957
- [28] <https://americanmigrainefoundation.org/resource-library/top-10-migraine-triggers/>
- [29] Gazerani P. Migraine and Diet. *Nutrients*. 2020;12(6):1658. Published 2020 Jun 3. doi:10.3390/nu12061658
- [30] Lipton RB, Pavlovic JM, Haut SR, Grosberg BM, Buse DC. Methodological issues in studying trigger factors and premonitory features of migraine. *Headache*. 2014;54(10):1661-1669. doi:10.1111/head.12464
- [31] Seng EK, Gosnell I, Sutton L, Grinberg AS. Behavioral Management of Episodic Migraine: Maintaining a Healthy Consistent Lifestyle. *Curr Pain Headache Rep.* 2022;26(3):247-252. doi:10.1007/s11916-022-01023-z
- [32] Ashina M. Migraine. Ropper AH, ed. *N Engl J Med*. 2020;383(19):1866-1876. doi:10.1056/nejmra1915327
- [33] Edvinsson L, Haanes KA, Warfvinge K, Krause DN. CGRP as the target of new migraine therapies - successful translation from bench to clinic. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(6):338-350. doi:10.1038/s41582-018-0003-1
- [34] Woron J. CGRP receptor and its role in the pharmacotherapy of migraine. *BÓL*. 2020;21(3):11-14. doi:10.5604/01.3001.0014.5277
- [35] Edvinsson L. Role of CGRP in Migraine. *Handb Exp Pharmacol*. 2019;255:121-130. doi:10.1007/164_2018_201]
- [36] Al-Khazali HM, Ashina H, Wiggers A, et al. Calcitonin gene-related peptide causes migraine aura. *J Headache Pain*. 2023;24(1). doi:10.1186/s10194-023-01656-4
- [37] https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2023/20230220158179/anx_158179_pl.pdf

- [38] Schwedt T, Reuter U, Tepper S, et al. Early onset of efficacy with erenumab in patients with episodic and chronic migraine. *J Headache Pain*. 2018;19(1):92. Published 2018 Oct 1. doi:10.1186/s10194-018-0923-6
- [39] Ashina M, Goadsby PJ, Reuter U, et al. Long-term efficacy and safety of erenumab in migraine prevention: Results from a 5-year, open-label treatment phase of a randomized clinical trial. *Eur J Neurol*. 2021;28(5):1716-1725. doi:10.1111/ene.14715
- [40] https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2021/20210922152930/anx_152930_pl.pdf
- [41] Ashina M, Cohen JM, Gandhi SK, Du E. Reduction in the severity and duration of headache following fremanezumab treatment in patients with episodic and chronic migraine. *Headache*. 2021;61(6):916-926. doi:10.1111/head.
- [42] https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20181114142679/anx_142679_pl.pdf
- [43] Kuruppu DK, North JM, Kovacik AJ, Dong Y, Pearlman EM, Hutchinson SL. Onset, Maintenance, and Cessation of Effect of Galcanezumab for Prevention of Migraine: A Narrative Review of Three Randomized Placebo-Controlled Trials. *Adv Ther*. 2021;38(3):1614-1626. doi:10.1007/s12325-021-01632-x
- [44] https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2022/20220124154105/anx_154105_pl.pdf
- [45] Ashina M, Saper J, Cady R, et al. Eptinezumab in episodic migraine: A randomized, double-blind, placebo-controlled study (PROMISE-1). *Cephalalgia*. 2020;40(3):241-254. doi:10.1177/0333102420905132
- [46] Lipton RB, Goadsby PJ, Smith J, et al. Efficacy and safety of eptinezumab in patients with chronic migraine: PROMISE-2 [published correction appears in *Neurology*. 2023 Aug 8;101(6):283]. *Neurology*. 2020;94(13):e1365-e1377. doi:10.1212/WNL.0000000000009169
- [47] Haghdoost F, Puleda F, Garcia-Azorin D, Huessler EM, Messina R, Pozo-Rosich P. Evaluating the efficacy of CGRP mAbs and gepants for the preventive treatment of migraine: A systematic review and network

- meta-analysis of phase 3 randomised controlled trials. *Cephalalgia*. 2023;43(4):3331024231159366. doi:10.1177/03331024231159366
- [48] Ferrari A, Baraldi C, Licata M, Rustichelli C. Polypharmacy Among Headache Patients: A Cross-Sectional Study. *CNS Drugs*. 2018 Jun;32(6):567-578. doi: 10.1007/s40263-018-0522-8. PMID: 29752625; PMCID: PMC6061427.
- [49] de Vries Lentsch S, van der Arend BWH, Maassen VanDenBrink A, Terwindt GM. Blood Pressure in Patients With Migraine Treated With Monoclonal Anti-CGRP (Receptor) Antibodies: A Prospective Follow-up Study. *Neurology*. 2022;99(17):e1897-e1904. doi:10.1212/WNL.0000000000201008
- [50] Eek D, Krohe M, Mazar I, Horsfield A, Pompilus F, Friebe R, Shields AL. Patient-reported preferences for oral versus intravenous administration for the treatment of cancer: a review of the literature. *Patient Preference Adherence*. 2016 Aug 24;10:1609-21. doi: 10.2147/PPA.S106629. PMID: 27601886; PMCID: PMC5003561.
- [51] 62nd Annual Scientific Meeting American Headache Society®. *Headache*. 2020;60(S1):1-156. doi:10.1111/head.13854
- [52] Cohen F, Armand C, Lipton RB, Vollbracht S. Efficacy and Tolerability of Calcitonin Gene-Related Peptide-Targeted Monoclonal Antibody Medications as Add-on Therapy to OnabotulinumtoxinA in Patients with Chronic Migraine. *Pain Med*. 2021;22(8):1857-1863. doi:10.1093/pm/pnab093
- [53] Blair HA. Rimegepant: A Review in the Acute Treatment and Preventive Treatment of Migraine [published correction appears in *CNS Drugs*. 2023 Jul;37(7):661]. *CNS Drugs*. 2023;37(3):255-265. doi:10.1007/s40263-023-00988-8
- [54] Li D, Abreu J, Tepper SJ. A Brief Review of Gepants. *Curr Pain Headache Rep*. 2023;27(9):479-488. doi:10.1007/s11916-023-01142-1
- [55] <https://www.gov.pl/web/zdrowie/obwieszczenia-ministra-zdrowia-w-sprawie-wykazu-refundowanych-lekow-srodkow-spozywczych-specjalnego-przeznaczenia-zywniowego-oraz-wyrobow-medycznych-ktory-wejdzie-w-zycie-1-lipca-2022-r>

- [56] Boczarska-Jedynak M, Domitrz I, Kozubski W, et al. Komentarz ekspertów Sekcji Bólu Głowy Polskiego Towarzystwa Neurologicznego oraz Polskiego Towarzystwa Bólów Głowy do programu leczenia migreny przewlekłej (B.133) Narodowego Funduszu Zdrowia. Pol Przegl Neurol. Published online November 25, 2022. doi:10.5603/ppn.a2022.0027

PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA LIMFOCYTOWA – ZNAJOMOŚĆ MECHANIZMÓW ROZWOJU JAKO KLUCZ DO SKUTECZNEJ TERAPII

Jakub Kołodziej, Aleksandra Skowronek, Zofia Graca, Kacper Mamla

Studenckie Koło Naukowe im. Prof. Zbigniewa Religi przy Katedrze Biofizyki w Zabrze,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Hematologia onkologiczna jest jedną z najprężniej rozwijających się gałęzi medycyny. Widoczny postęp leczenia nowotworów układu krwiotwórczego ma niezaprzeczalny związek z ciągłym udoskonalaniem metod immunoterapii wraz z terapią celowaną. Przewlekła białaczka limfocytowa jest najczęściej rozpoznawanym typem białaczki u dorosłych. Należy do grupy chorób rozrostowych, w której zastosowanie odpowiednich procedur immunoterapii celowanej wykazuje znacznie lepsze rezultaty leczenia w porównaniu ze schematami zawierającymi wyłącznie chemioterapeutyki. Obecnie najlepsze rokowania osiągają pacjenci z CLL, którym podawane są farmaceutyki z rodziny BTK lub antagoniści BCL2. Mimo coraz szerszej gamy leków oddziałujących bezpośrednio na nieprawidłowe komórki B występujące w przebiegu choroby jej całkowita i trwała remisja jest nieuchwytna. W niniejszej pracy zostanie omówiona istota poznania patogenyzy CLL na etapie molekularnym i komórkowym oraz dokonany dzięki temu rozwój nowych strategii terapeutycznych.

Słowa kluczowe: BCL2, białaczka, BTK, CLL

Abstract: Hematologic oncology is one of the most rapidly developing branches of medicine. The visible progress in the treatment of hematopoietic system cancers is undeniably linked to the continuous improvement of immunotherapy methods along with targeted therapy. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most commonly diagnosed type of leukemia in adults. It belongs to a group of proliferative diseases where the use of appropriate targeted immunotherapy procedures shows significantly better treatment results compared to regimens containing only chemotherapeutics. Currently, the best prognoses are achieved by CLL patients who are administered BTK inhibitors or BCL2 antagonists. Despite an increasingly wide range of drugs directly affecting abnormal B cells present in the disease, complete and lasting remission remains elusive. This paper will discuss the importance of understanding the pathogenesis of CLL at the molecular and cellular levels, and the consequent development of new therapeutic strategies.

Keywords: BCL2, BTK, CLL, leukemia

WSTĘP

Przewlekła białaczka limfocytowa (*ang. chronic lymphocytic leukemia, CLL*) jest dotychczas najczęściej występującym nowotworem limfoproliferacyjnym u osób dorosłych [1,2]. Koncepcja omawianego schorzenia oparta jest na klonalnej proliferacji oraz gromadzeniu nieprawidłowych limfocytów B-najczęściej zawierających antygen powierzchniowy CD5-w szpiku kostnym, krwi oraz we wtórnych tkankach limfatycznych w późniejszym etapie. Poczynione do tej pory badania kliniczne dotyczące CLL udowodniły znaczne zróżnicowanie jej przebiegu pod względem biologicznym, molekularnym, genetycznym oraz klinicznym. Odznacza się więc znaczną heterogenną patofizjologią, co oznacza, iż istnieje wiele wariantów tej choroby, a każdy z nich wymaga zastosowania indywidualnie dobranego leczenia [1,3]. Niebagatelną rolę w zrozumieniu złożoności mechanizmu rozwoju, określeniu agresywności oraz dobrania odpowiedniej terapii są badania genetyczne w obrębie danego klonu CLL. Mutacje mogą dotyczyć zarówno aberracji chromosomowych, lub powstawać niezależnie w genach somatycznych. Oznaczenie wad genetycznych stanowi kluczowy czynnik pozwalający na dobranie możliwie najskuteczniejszej opcji terapeutycznej [4,5,6]. Podstawowe biologiczno-kliniczne podtypy tej choroby określa obecność lub brak hipermutacji somatycznej regionu zmiennego ciężkiego łańcucha immunoglobulin (*ang. immunoglobulin heavy chain variable, IGHV*) [7].

Opcje leczenia pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową (CLL) ewoluowały na przestrzeni lat-począwszy od związków alkilujących, takich jak chlórambucyl lub cyklofosfamid w latach 70., aż do kombinacji z analogami puryn w latach 90. Terapia stopniowo zmieniała się, jednak, podobnie jak w przypadku innych nowotworów, osiągnięto pewien pułap terapeutyczny, w którym dodatkowa tradycyjna chemioterapia nie przynosiła znaczącej poprawy ogólnych odpowiedzi ani przeżycia. Zastosowanie immunoterapii, początkowo jako uzupełnienie schematu o rytuksymab pozwoliło uzyskać zauważalnie lepsze efekty niż podawanie wyłącznie cytostatyków [2]. Na przestrzeni kolejnych lat dynamiczny postęp immunoterapii doprowadził m.in. do odkrycia inhibitorów kinazy tyrozynowej Brutona (*ang. Bruton tyrosine kinase, BTK*), a także antagonistów antyapoptotycznego białka BCL2. Wprowadzenie wymienionych immunosupresantów do terapii anti-CLL już jako pierwsza linia leczenia umożliwiło widocznie lepszą kontrolę przebiegu u hospitalizowanych [8].

PRZEWLEKŁA BIAŁACZKA LIMFOCYTOWA.

Warunkiem bezwzględny do potwierdzenia rozwoju CLL jest uchwycenie ponad 3-miesięcznego okresu zwiększonej liczby niekompetentnych, klonalnych i dojrzałych limfocytów B we krwi obwodowej- co najmniej 5000 na mikro-litr [9]. Charakteryzują się one niskim indeksem proliferacyjnym, w związku z czym często znajdują się w fazie spoczynkowej (G0) podziału mitotycznego. Ich namnażanie związane jest z obecnością niewielkich frakcji czynnie proliferujących komórek, bytujących w ośrodkach proliferacyjnych w węzłach chłonnych oraz w mniejszym stopniu w szpiku. Liczne podziały umożliwiają powiększenie aktywnej frakcji nawet do 2% każdego dnia [7]. Istotnym aspektem predysponującym do ewolucji w CLL jest stan monoklonalnej limfocytozy B-komórkowej (*ang. monoclonal B-cell lymphocytosis, MBL*). W tym okresie dochodzi do nasilonej produkcji komórek przypominających budową te występujące w CLL, jednak brak jest innych objawów chorobowych. W ciągu roku jedynie 1-3% osób ze stwierdzoną MBL jest w stanie rozwinąć białaczkę [10].

Patogeneza-obraz patomorfologiczny i molekularny

Całokształt przemian doprowadzających do rozwoju CLL nadal nie został do końca wyjaśniony, głównie przez wzgląd na złożoność a także różnorodność kombinacji poszczególnych mutacji. Występujące w przebiegu choroby immuno-niekompetentne limfocyty B posiadają w swojej budowie antygeny powierzchniowe CD19, CD20, CD23 (obecne również na błonach zdrowej linii komórkowej) oraz antygen CD5 [11]. Niemalże wszystkie (99%) zmutowane limfocyty krążące we krwi obwodowej wykazują nader wydłużony czas przeżycia, gdyż przebywają w fazie G0/G1 cyklu komórkowego [12]. W tym wypadku zahamowanie apoptozy jest bezsprzecznie związane z zaburzeniem wytwarzania białek uczestniczących w procesie zaprogramowanej śmierci komórki. Analogicznie nieprawidłowości dotyczą zwiększonej ekspresji białek antyapoptotycznych (głównie rodziny BCL2 i IAP) oraz zmniejszonej ekspresji białek proapoptotycznych z rodziny BAX i BAK [13].

Centra proliferacyjne zawarte przede wszystkim w węzłach chłonnych warunkują tempo progresji CLL. Wykazano, że wzrost oraz klonalne podziały limfocytów białaczkowych są zasadniczo kontrolowane przez mikrośrodowisko węzłowe, za sprawą którego odbierane są sygnały indukujące m.in. potencjał rozrostowy czy rozwój oporności na leczenie. Bodźce przekazywane są do wnętrza

limfocyty B za sprawą jego receptora (*ang. B-cell receptor, BCR*), co zapoczątkowuje aktywację danych dróg sygnałowych. Przewlekła aktywacja BCR jest aktualnie jednym z najczęściej analizowanych zjawisk w kontekście patogenezy CLL. Niejasnym jest jednak czy jest ona spowodowana przez autoantygeny, czy antygeny pochodzenia zewnętrznego [14].

Zrozumienie wpływu zdolności komórek białaczkowych do hamowania apoptozy oraz roli mikrośrodowiska w aktywacji szlaków sygnałowych zaowocowało opracowaniem nowych strategii terapeutycznych. Zaliczamy do nich terapie celowane oparte na lekach z grupy antagonistów BCL2 oraz inhibitorów kinazy tyrozynowej, które blokują przewodnictwo sygnałów przez BCR.

Czynniki prognostyczne

Opracowane na przestrzeni ostatnich lat czynniki prognostyczne stały się głównym motywem prac nad nowoczesnymi metodami terapeutycznymi. Obejmują one: określenie poziomu ekspresji ZAP 70 oraz CD38, obecność lub brak mutacji IGVH, aberracje cytogenetyczne, zaburzenia genowe oraz oszacowanie stanu zaawansowania klinicznego według klasyfikacji Rai i/lub Bineta. Badania próbki krwi wyznaczające poziom B-2 mikroglobuliny, LDH (*ang. lactate dehydrogenase*) oraz kinazy tymidyny okazują się pomocne w kontrolowaniu natężenia przebiegu nowotworu [7,12].

Aberracje cytogenetyczne występują u ponad 80% pacjentów z CLL. Najczęstsze z nich to: delecja 13q14 (50–60%), delecja 11q22-23 (12–18%), delecja 17p13 (5–50%), trisomia chromosomu 12 (ok. 15%) [12]. Wśród somatycznych mutacji genowych wyróżniamy m.in. mutacje NOTCH1, SF3B1, TP53 oraz mutacje prowadzące do nadaktywności szlaku NFkB. Z wymienionych zaburzeń funkcji genów najistotniejsze prognostycznie są zmiany ekspresji TP53, które mogą bezpośrednio dotyczyć delecji 17p13 [5,12].

Stan mutacji IGVH a rokowanie

Częstość występowania mutacji somatycznych w obrębie regionu zmiennego łańcucha ciężkiego immunoglobuliny szacuje się na około 60% wszystkich przypadków CLL, co określa się mianem M-CLL (*ang. mutated CLL*). U pozostałych przypadków stwierdza się przynajmniej 98% zgodności sekwencyjnej IGVH z linią zarodkową, stąd około 40% chorych posiada U-CLL (*ang. unmutated CLL*). Brak zmian genetycznych (U-CLL) koreluje z wyższą ekspresją cząsteczek

CD38 (*ang. cluster of differentiation 38*), ZAP 70 (*ang. 70 kDa zeta-associated protein*) oraz podwyższoną aktywnością BCR w stosunku do pacjentów z M-CLL. Dodatkowo wśród osób z niezmutowaną wersją IGVH, komórki białaczkowe odznaczają się większą skłonnością do aberracji cytogenetycznych. Powyższe dowody przekładają się na relatywnie gorsze rokowanie u pacjentów z U-CLL [15].

Jako składowa BCR a ponadto komponenta miejsca wiążącego antygen budowa genomowa IGVH bezpośrednio wpływa na reaktywność receptora B-komórkowego. Udowodniono, że receptory U-CLL wykazują się poli- i autoreaktywnością, jednak o słabym powinowactwie. W związku z tym przypuszcza się, że patogenezą U-CLL może być związana z autoantygenami oraz antygenami pochodzenia zewnętrznego, takimi jak MYHIIA (*ang. non-muscle myosin heavy chain IIA*), wimentyna, łańcuch ciężki IgG, jednoniciowy i dwuniciowy DNA, kofilina 1, antygeny wirusa zapalenia wątroby typu C oraz antygeny bakteryjne (np. lipopolisacharyd) [16,17]. Z kolei immunoglobuliny powierzchniowe ze zmutowanym IGVH rozpoznają niewielki zakres antygenów wiążąc np. łańcuchy ciężkie czynnika reumatoidalnego czy B-(1,6)-glukany [16].

Szlak sygnałowy pochodzący z BCR

Antygenowo specyficzna immunoglobulina powierzchniowa oraz znajdujące się w jej sąsiedztwie heterodimery Igalfa i Igbeta (CD79A i CD79B) tworzą receptor B-komórkowy [16]. Wiązanie antygeny do sIg indukuje aktywację kinaz początkowych, w tym SYK oraz kinazy rodziny Src (LYN), które fosforylują immuno-receptorowe motywy aktywacyjne zależne od tyrozyny (*ang. immunoreceptor tyrosine-based activation motifs, ITAMs*) w ogonach cytoplazmatycznych CD79A i CD79B. To z kolei prowadzi do aktywacji cytoszkieletu, w tym białka HS1 (*ang. hematopoietic cell-specific LYN substrate-1*) i związanej z nim polimeryzacji F-aktyny. Dodatkowo, inicjowane są inne kinazy wstępne, takie jak BTK i PI3K, oraz szlaki sygnałowe w dół, w tym fosfolipazy C gamma 2 (PLC- γ 2), sygnalizacji wapniowej, PKC, sygnalizacji NF- κ B, kinaz aktywowanych przez mitogeny (MAPK) i transkrypcji jądrowej. Aktywacja fosfatyz, takich jak białko fosfatazy tyrozynowej zawierającego domenę SH2 (SHP1) oraz fosfatyz inozytolu 5-fosforanu zawierających domenę SH2 (SHIP1/2), oraz negatywnych koreceptorów (np. CD22, CD5), przyczynia się do negatywnej regulacji odpowiedzi sygnałowej BCR. Coraz większe dowody wskazują, że sygnalizacja BCR odgrywa istotną rolę w patogenezie CLL. Aktywacja receptora B-komórkowego (BCR) przez antygen prowadzi ostatecznie do zmiany profilu ekspresji genów [16,18].

Ponadto, BCR wykazuje pewną aktywność bazalną, nawet bez związania z antygenem. Ta aktywność toniczna BCR, niezależna od ligandu, chroni limfocyty B przed spontaniczną apoptozą. Coraz większe dowody wskazują, że sygnalizacja BCR odgrywa istotną rolę w patogenezie CLL [19].

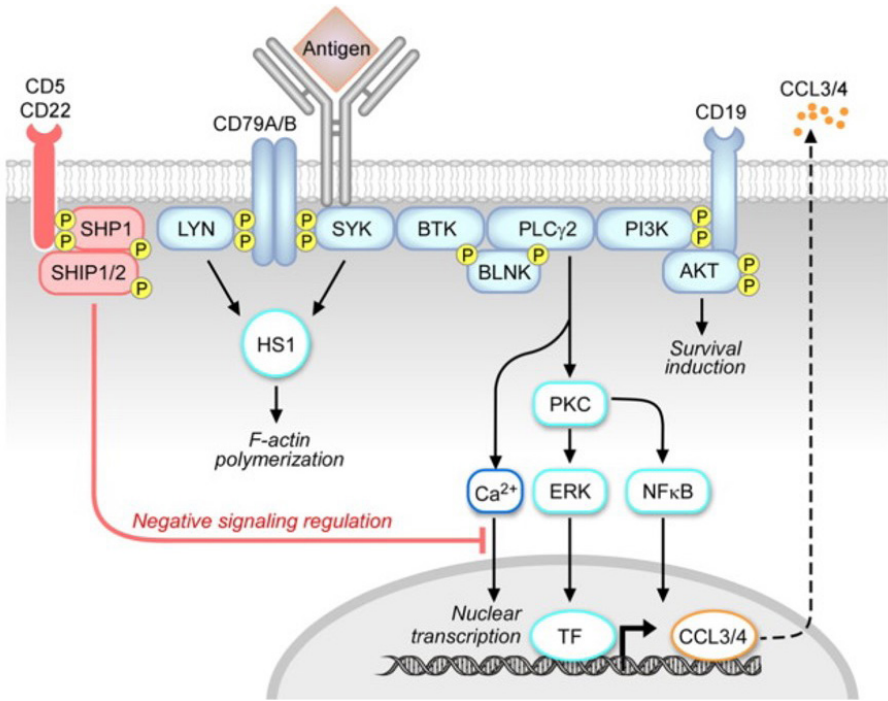
Wpływ ekspresji ZAP-70 i CD38 na przebieg choroby

Ekspymowana w pobliżu błony powierzchniowej limfocytów CLL ZAP-70 odpowiada za intensyfikację sygnału pochodzącego z BCR [20]. Wysokie poziomy ekspresji ZAP-70 korelowały z obecnością niezmutowanego IgVH. Oznacza to, że przypadki ze niezmutowanym IgVH wykazywały wyższe poziomy białka ZAP-70, co sugeruje, że ZAP-70 może być używane jako marker zastępczy dla niezmutowanego IgVH. Poziom ekspresji cytoplazmatycznej kinazy ustalony w momencie diagnozy utrzymuje się na względnie stałym poziomie przez cały okres trwania choroby i wykazuje związek ze zwiększoną aktywnością sygnalizacyjną cząsteczek CD38. Do metod pozwalających oznaczyć stopień aktywności ZAP-70 zaliczamy PCR, natomiast procedurą obecnie ulegającą standaryzacji w tym celu jest cytometria przepływowa [21].

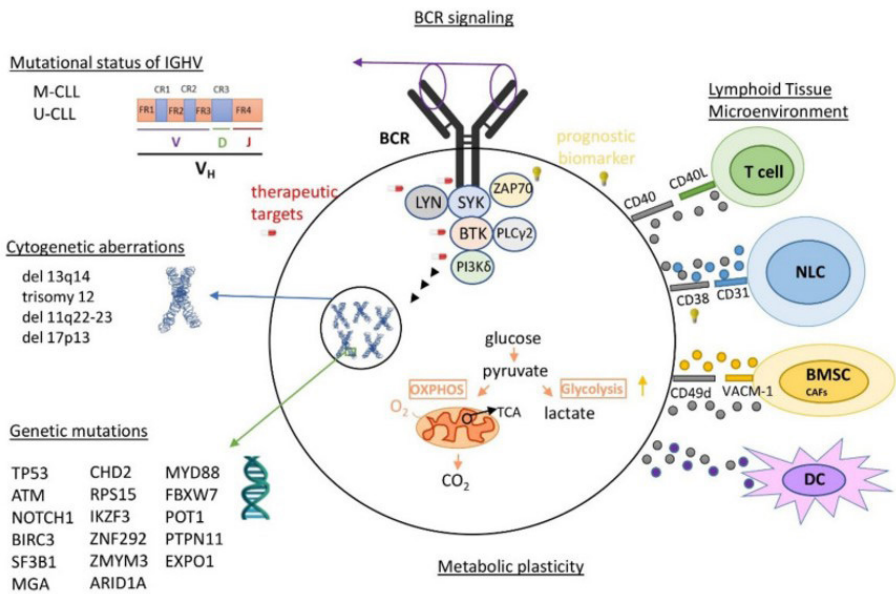
W odróżnieniu od ZAP-70 poziom ekspresji molekuł CD38 może podlegać wahaniom w przebiegu CLL. Na podstawie przeprowadzonych badań klinicznych autorzy uznają, że wyraża on stan aktywności białaczkowych limfocytów B. Zauważono, iż przezbłonowe białko CD38 jest zaangażowane w chemotaksję komórek białaczkowych do nisz limfoidalnych, dlatego wraz ze wzrostem przekazywalności CD38-zależnego wzrosła agresywność choroby [22]. Ponadto u chorych występuje wydatny odsetek komórek z dodatnim antygenem Ki-67, u których często stwierdza się również podwyższoną aktywność telomerazy. Przedstawiony obraz jest charakterystyczny dla chorób nowotworowych o wzmożonym indeksie mitotycznym [23,24].

Delecja 17p/mutacja TP53 a nowotworzenie

Białko p53, czyli tzw. "strażnik genomu" jest produktem genu TP53 zlokalizowanym na chromosomie 17 (17p13.1). Poprzez zdolność do zatrzymania cyklu komórkowego, indukcji apoptozy lub stymulacji mechanizmów naprawczych DNA przewodniczy w procesach regulacji podziałów komórkowych. W wyniku pojawienia się defektów w strukturze materiału genetycznego dochodzi do nadmiernego wyrażenia p53, a w konsekwencji do zatrzymania cyklu komórkowego



Ryc.1 Budowa i szlak sygnałowy BCR [16]



Ryc.2 Szlak sygnałowy BCR- czynniki indukujące i możliwe konsekwencje [1]

w fazie G1 i wszczęcia procesów stabilizujących integralność genomu. Istnieją również przypadki, gdy naprawa powstałych uszkodzeń jest niemożliwa, wówczas aktywacji ulegają geny proapoptotyczne. Mutacje w genie TP53 doprowadzają do sytuacji zgoła odwrotnych. Brak możliwości zatrzymania mitozy wraz z zaburzeniem apoptozy prowadzi do niekontrolowanych podziałów komórek, podczas których powielane są błędy genetyczne. Utrata funkcji p53 jest kluczowym zdarzeniem w procesie nowotworzenia i związana jest z wieloma cechami charakterystycznymi dla nowotworów, takimi jak: zaburzenia cyklu komórkowego, niestabilność genomu i oporność na chemioterapię [25].

Zupełne unieczynnienie białka p53 jest możliwe przy jednoczesnej mutacji somatycznej TP53 i delecji drugiego z alleli na chromosomie 17, mutacją w obrębie obu alleli lub mutacją pojedynczego genu wskutek utraty locus drugiego allelu. Hamowanie funkcji prawidłowego białka zachodzi także w przypadku dominującego efektu wywieranego przez zmutowane p53. Negatywny efekt polega na tworzeniu kompleksów z formą niezmienną, co uniemożliwia wiązanie z DNA oraz aktywację genów inicjujących apoptozę. Poszczególne mutacje w obrębie genu TP53 mogą ponadto generować zmiany termowrażliwości lub tworzenie innych zmian sprzyjających nowotworzeniu i powstawaniu oporności [26].

W odniesieniu do CLL mutacje TP53 dotyczą 10–15% ówczesnie nieleczonych chorych, jednak ich częstość wzrasta do 40–50% u pacjentów opornych na leczenie fludarabiną. W przypadku ponad 80% chorych z delecją 17p zaobserwowano występowanie mutacji TP53 w pozostałym allelu. Ostatnie badania wykazały, że mutacje TP53 bez współistniejącej delecji 17p występują u około 5% pacjentów w pierwszej linii leczenia i są związane ze znacznie gorszym przeżyciem, zwłaszcza gdy mutacje te znajdują się w domenie wiążącej DNA [26]. Pacjenci, u których wykryto mutacje w domenie wiążącej DNA, cechowali się znacznie krótszym czasem wolnym od leczenia oraz czasem całkowitego przeżycia w porównaniu z pacjentami posiadającymi mutacje zmiany sensu w innych miejscach białka oraz mutacje inne niż zmiany sensu [27].

Stopień zaawansowania

Wprowadzona w 1975 roku klasyfikacja Raia [28] oraz opisana w 1981 roku klasyfikacja Bineta [29] stanowią obecnie podstawowy wyznacznik stanu zaawansowania CLL. Uwzględnione w nich parametry sporządzono w oparciu o wyniki morfologii krwi i badania fizykalnego pacjentów. Na przestrzeni ostatnich lat obserwuje się wzrost zastosowania uproszczonej trzystopniowej skali Raia.

Tab.1 częstość występowania mutacji TP53 w poszczególnych grupach chorych na nowotwory hematologiczne [26]

Jednostka chorobowa	Odsetek chorych z mutacją TP53
AML	3-8%
AML z delecją 17p	90%
AML z kariotypem złożonym	60-70%
t-AML	18%
MDS	8-9%
MDS z delecją 5q	19%
MDS ze złożonym kariotypem	72%
t-MDS	28%
ALL	15,7%
ALL z delecją 17p	39%
MM	3%
MM z delecją 17p13	37-56%
CLL	10-15%
CLL z delecją 17p	80%

Składowe obu skal służą do określenia dalszych rokowań pacjenta przy obecnym stanie klinicznym jego choroby, czyli oceny jej przypuszczalnego przebiegu. Nie dostarczają jednak informacji o prawdopodobieństwie wystąpienia oporności na leczenie oraz ryzyku progresji u chorych we wczesnym stadium klinicznym.

Interakcje z mikrośrodowiskiem

Wzajemne zależności limfocytów CLL i mikrośrodowiska odpowiadają za wykształcenie i utrzymanie wielu cech niezbędnych do ich przetrwania i dalszego rozwoju. Mechanizmy, w których dochodzi do przerwania drogi sygnałowej doprowadzają do spontanicznej śmierci komórek białaczkowych. Miejsce bytowania zmienionych nowotworowo limfocytów nie pozostaje bez znaczenia dla ich patomorfologicznej aktywności. Wykazano znamienne wyższą ekspansywność szlaków BCR i NFkB (*ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) limfocytów B wyizolowanych z węzłów chłonnych w porównaniu do tych obecnych we krwi obwodowej i szpiku kostnym. Komórki z kariotypem odpowiadającym CLL krążą między środowiskiem krwi a centrami proliferacyjnymi

narządów limfoidalnych. Regulacja wspomnianej cyrkulacji zachodzi za pośrednictwem chemokin uwalnianych przez komórki mikrośrodowiska oraz wzajemnych oddziaływań między antygenami komórek białaczkowych i komplementarnymi ligandami powierzchniowymi komórek rezydujących w ośrodkach namnażania [7].

Tab.2 Stopień zaawansowania klinicznego przewlekłej białaczki limfocytowej według klasyfikacji Raia i Bineta [28,29]

Parametr	Stopień zaawansowania
Klasyfikacja Raia	
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l	0
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l i limfadenopatia	I
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l i spleno- i/lub hepatomegalia	II
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l i hemoglobina < 11 g/dl*	III
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l i małopłytkowość < 100 G/l*	IV
Klasyfikacja Bineta	
Zajęcie ≤ 2 obszarów narządów chłonnych**	A
Zajęcie > 2 obszarów narządów chłonnych**	B
Hemoglobina < 10 g/dl i/lub małopłytkowość < 100 G/l*	C
Uproszczona klasyfikacja Raia	
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l	Niskie ryzyko
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l i limfadenopatia i/lub hepatosplenomegalia	Pośrednie ryzyko
Limfocytoza bezwzględna $\geq 5,0$ G/l i hemoglobina < 11 g/dl i/lub małopłytkowość (< 100 G/l)*	Wysokie ryzyko

*Z wyjątkiem niedokrwistości i małopłytkowości o podłożu autoimmunizacyjnym i/lub zależnych od innych przyczyn, niezwiązanych z przewlekłą białaczką limfocytową; **jako obszar tkanki chłonnej przyjmuje się jedną grupę węzłów chłonnych (szyjne, pachowe, pachwinowe), śledzionę i wątrobę

Do składowych mikrośrodowiska pełniących istotne funkcje w patogenezie CLL zaliczamy komórki podścieliska (*ang. bone marrow stromal cells, BMSC*), komórki opiekuńcze (*ang. Nurse-like cells, NLC*) różnicujące się z monocytów, grudkowe komórki dendrytyczne (*ang. Follicular dendritic cells, FDC*), komórki śródbłonna oraz limfocyty T [30].

Za sprawą uwalnianego przez komórki CLL białka HMGB1 (*ang. High-mobility protein B1*) na drodze spontanicznego różnicowania monocytów powstają NLC. Ze względu na zdolność syntezy chemokin CXCL12 i CXCL13

oraz ekspresję molekuł BAFF (*ang. proliferation-including ligand*) determinują wędrówkę limfocytów B do węzłów chłonnych [31]. Zależności z komórkami opiekuńczymi nasilają detekcję sygnałów, determinujących przeżycie przekazywanych z BCR i NFkB, przeciwdziałają więc procesowi spontanicznej apoptozy. Innymi sposobami aktywacji BCR jest kontakt z antygenami powierzchniowymi NLC-wimentyną i kelretikulina. Z kolei wzmożenie działalności jądrowego czynnika transkrypcyjnego zachodzi poprzez interakcje z cząsteczkami CD14 wydzielanymi do osocza przez NLC [32].

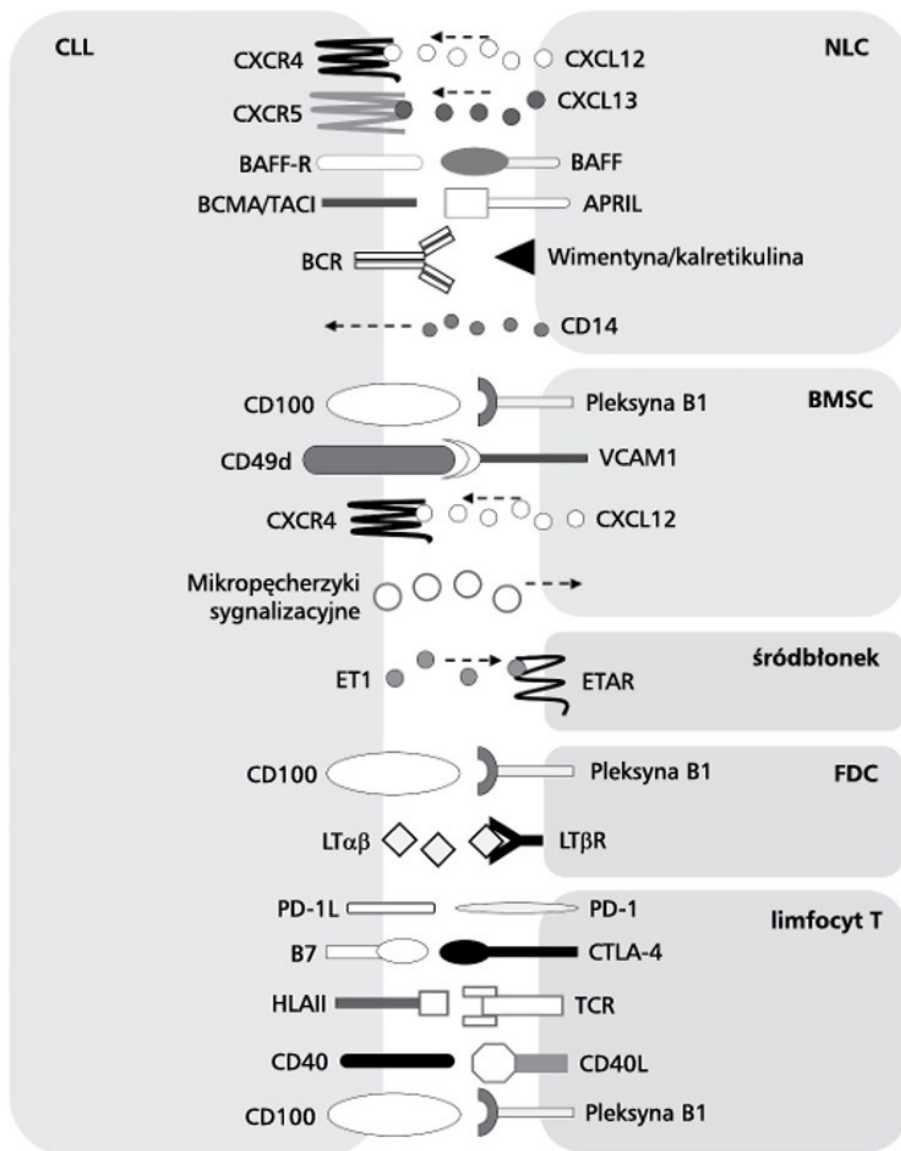
Dzięki sekrecji mikropęcherzyków z zawartością białek sygnałowych możliwa jest aktywacja BMSC. W ramach "odwzajemnienia" komórki podścieliska wydzielają pleksynę B1- wiążącą antygen CD100- oraz cząsteczki adhezji komórkowej naczyń 1 (*ang. Vascular cell adhesion molecule 1, VCAM1*) z powinowactwem do integryny CD49d. Wymienione interakcje przyczyniają się do wygórowanej ekspresji ZAP70 i CD38 [33]. Ponadto komunikacja komórek CLL z kompleksami białkowymi komórek podścieliska sprzyja obniżeniu poziomu CD20, czego konsekwencją jest niewrażliwość na działanie przeciwciał anti-CD20 np. rytuksumabu [34].

W przypadku komórek śródbłonna pronowotworowa komunikacja odbywa się z powodu obecności integryny $\beta 1$ i $\beta 2$ oraz cząsteczek BAFF i APRIL na ich powierzchni. Udział w rozwoju chemiooporności, a tym samym promującym przeżywalność komórek CLL przypisuje się reakcjom zachodzącym po związaniu peptydu endoteliny 1 (ET1)- bytującego na powierzchni limfocytu- przez receptor ETAR (*ang. endothelin subtype A receptor*) komórek śródbłonna [7,35].

Rola komórek FDC również związana jest z promowaniem przeżycia komórek nowotworowych. Sygnały pochodzące od ligandu CD44, kompleksu CD100-pleksyna B1 oraz kompleksu limfotoksyny α/β -receptor $LT\beta$ indukują wzrost ekspresji antyapoptotycznego białka MCL1 (*ang. Myeloid cell leukemia 1*). Tym samym zapobiegają spontanicznej apoptozie komórki [7].

Limfocyty T i komórki NK w przebiegu CLL tracą zdolności efektorowe, co stanowi pośrednie wytłumaczenie braku konkretnego wpływu układu immunologicznego w destrukcji limfocytów CLL. Chociaż w zaawansowanym stadium choroby następuje zwiększenie liczby limfocytów CD4+, natomiast CD8+ występują w postaci krańcowo zróżnicowanej to wyróżniają się one spadkiem ruchliwości oraz niesprawnością w tworzeniu synaps immunologicznych. Co więcej, zwiększona ekspresja i pobudzenie białka programowanej śmierci komórki 1 (*ang. Programmed cell death protein 1, PD-1*) oraz białka CTLA-4 (*ang. Cytotoxic*

T-lymphocyte-associated protein 4) poprzedzają wystąpienie zjawiska wyczerpania limfocytów hamującego odpowiedź immunologiczną [36].



Ryc.3 Przedstawienie wymienionych w powyższym akapicie interakcji komórek CLL z mikrośrodowiskiem

LEKI WPŁYWAJĄCE NA PRZEKAŹNICTWO W OBRĘBIE LIMFOCYTU B

Naturalny przebieg przewlekłej białaczki limfocytowej (CLL) jest bardzo zróżnicowany, a pacjenci z bezobjawową i stabilną postacią choroby nie wymagają terapii. Wskazaniem do leczenia pozostaje zaawansowana i postępująca CLL. W ostatnich latach znacząco poprawiły się wyniki leczenia CLL dzięki wprowadzeniu nowych, skutecznych leków: inhibitorów receptora limfocytu B oraz inhibitorów BCL2 [37]. Leki te stosuje się w monoterapii w sposób ciągły lub w schematach skojarzonych przez określony czas. Wenetoklaks w połączeniu z przeciwciałami anti-CD20 podaje się przez 24 (z rytuksymabem) lub 12 (z obinutuzumabem) miesięcy, natomiast leczenie ibrutynibem i wenetoklaksem trwa 15 miesięcy. Decyzja o metodzie leczenia zależy głównie od oceny obecności delecji 17p/mutacji TP53 oraz stanu mutacji genów dla części zmiennej łańcucha ciężkiego immunoglobulin (IGVH), które są powiązane z odpowiedzią na immunochemioterapię. Rola immunochemioterapii w leczeniu CLL znacznie się zmniejszyła. Nadal jednak pozostaje ona jedną z opcji leczenia pierwszego rzutu u pacjentów bez delecji 17p/mutacji TP53, ze zmutowanym genem dla IGVH i dobrym ogólnym stanem zdrowia. Wyniki badań ostatnich lat wskazują jednak, że także ci pacjenci mogą osiągnąć lepsze rezultaty dzięki zastosowaniu schematów terapeutycznych bez chemioterapii. Pozostali pacjenci, zarówno w pierwszej, jak i kolejnych liniach leczenia, powinni otrzymać nowoczesne terapie celowane, które są obecnie dostępne w Polsce w ramach programów lekowych [38].

Budowa oraz wzajemne zależności białek rodziny BCL2

Białka z rodziny BCL2 mają zdolność zarówno inicjowania (białka proapoptotyczne), jak i hamowania (białka antyapoptotyczne) wewnętrznego szlaku apoptozy poprzez hamowanie lub wzajemne stymulowanie aktywności. W normalnej komórce aktywność dwóch podgrup białek jest zrównoważona. Jednak w wyniku uszkodzenia DNA lub innych czynników stresu komórkowego, prowadzących m.in. Aby aktywować szlak białka p53, równowaga ta zmienia się wraz z początkiem apoptozy [39]. Charakterystyczną cechą struktury białek rodziny BCL2 jest obecność co najmniej jednej domeny homologicznej do BCL2 (*ang. BCL2-homology, BH*). Białka antyapoptotyczne (BCL2, BCL-XL, MCL1, BCL-W i BFL1/A1) składają się z czterech domen BH, tj. BH1, BH2, BH3 i BH4. Z drugiej strony białka proapoptotyczne z rodziny BCL2 zawierają pojedynczą domenę

BH3. Wśród nich wyróżnić można tzw. białka sensytyzujące (BAD, BIK, NOXA, HRK, PUMA, BMF), które wraz z białkami antyapoptotycznymi (m.in. BCL2) powodują uwalnianie aktywatorów proapoptotycznych związanych ze szlakiem BCL2 (BID, BIM) [40]. Białka BID i BIM wiążą się z wielodomenowymi efektorami szlaku BCL2, które należą do rodziny białek BAX. Dwa białka należące do tej grupy, BAX i BAK, składające się z trzech domen (BH1, BH2, BH3), po związaniu z białkami BID i BIM ulegają allosterycznym zmianom strukturalnym, powodując powstawanie hetero- lub homodimerów. Dimery tworzą kanały, które zwiększają przepuszczalność zewnętrznej błony mitochondrialnej. Prowadzi to do zakłócenia potencjału błony mitochondrialnej i związanego z tym uwolnienia cytochromu C i aktywacji układu kaspaz, co ostatecznie prowadzi do apoptozy [40,41].

Typ komórki i jej zróżnicowanie w głównej mierze odpowiadają za nasilenie ekspresji poszczególnych białek rodziny BCL2. Skuteczność terapii wykorzystujących antagonistów BCL2 związana jest z faktem, iż stanowi ono główne białko antyapoptotyczne dla limfocytów B. Zbyt wysokie stężenia BCL2 dotyczą około 95% przypadków CLL w szczególności komórek nowotworowych wyizolowanych z węzłów chłonnych [42].

Wenetoklaks- mechanizm działania, znaczenie w leczeniu CLL

Wzrost stężenia białka BCL2 w komórce CLL zbiega się w czasie ze wzrostem ilości związanego z nim proapoptotycznego białka BIM [40]. Zastosowanie wenetoklaksu doprowadza do skoncentrowania większej liczby wolnych cząsteczek BIM wewnątrz komórki. Taki efekt spowodowany jest silnym powinowactwem leku do domeny BH3 białka BCL2, co uniemożliwia wiązanie białek BIM. W rezultacie równowaga molekuł pro- i antyapoptotycznych ulega przesunięciu indukując apoptozę w sposób niezależny od białka p53 [43].

Wenetoklaks zaliczamy do grupy BH3-mimetyków o dobrej biodostępności po podaniu doustnym. Charakteryzuje się wysoką selektywnością wobec BCL2. Antagonizm w stosunku do białek BCL-W oraz BCL-Xl obserwowany jest po podaniu wysokich dawek leku, natomiast nie wykazuje wpływu na białko MCL1 [44]. Wysokiej skuteczności w zapobieganiu progresji nawrotowej i chemioopornej CLL dowodzi potencjał leku skierowany szczególnie przeciwko komórkom z delecją 17p lub mutacją TP53. Obszar działania wenetoklaksu obejmuje zarówno białaczkowe limfocyty B bytujące w węzłach chłonnych, szpiku kostnym i krwi obwodowej, jak również prawidłowe komórki [45].

Budowa oraz mechanizm działania kinazy tyrozynowej Brutona (BTK)

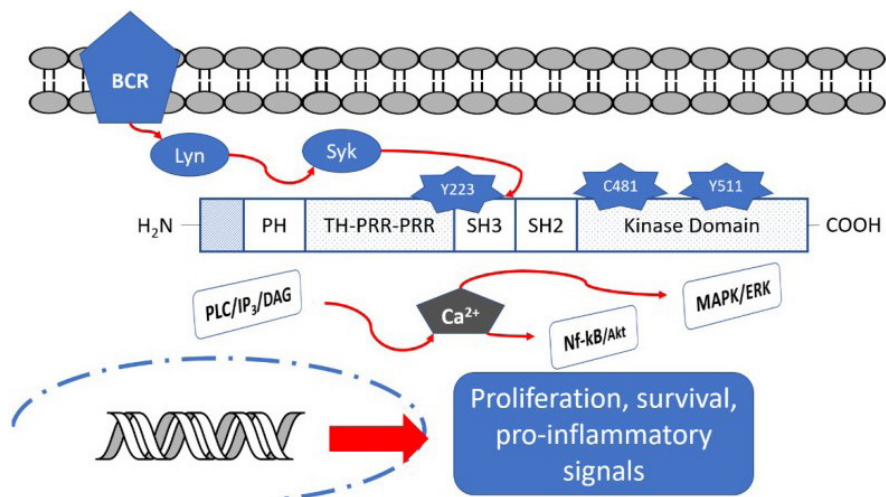
BTK stanowi modulator wewnątrzkomórkowych sygnałów przekazywanych z BCR a wywoływanych przez różnorodne cząsteczki powierzchniowe. Poprzez wpływ na szlaki sygnałowe np. PI3K, MAPK i NF- κ B reguluje aktywację, proliferację i różnicowanie się do komórek plazmatycznych produkujących przeciwciała. W związku z powyższym nadrzędną rolą inhibitorów BTK jest przerwanie nadmiernie stymulowanych szlaków odpowiedzialnych za rozwój choroby [46, 47].

Budowa BTK obejmuje pięć regionów (ryc.4): domenę homologiczną do plekstryny (PH), domenę homologiczną do Tec (TH), domeny homologiczne do Src (SH)- domeny SH3 i SH2 oraz regionu C-końcowego z aktywnością kinazy. Domena PH umożliwia interakcje białko-fosfolipid oraz białko-białko. Domena TH składa się z dwóch obszarów bogatych w prolinę (PRR) i bierze udział w autoregulacji, natomiast domeny SH2 i SH3 wiążą fosforylowane reszty tyrozynowe oraz PRR [48]. W domenie SH3 znajduje się fundamentalne miejsce autofosforylacji (reszta Y223). Wreszcie, część C-końcowa zawiera domenę kinazy, której reszta Y551 jest odpowiedzialna za początkową aktywację BTK. W obszarze katalitycznym reszta C481 stanowi miejsce wiązania kowalencyjnego dla większości badanych inhibitorów BTK [46].

Aktywacja BTK zachodzi za pośrednictwem kinazy śledzionowej (Syk) ówczesnie pobudzonej sygnałem z BCR [46]. Uruchomienie procesów zależnych od kinazy Brutona skutkuje pobudzeniem produkcji IP₃, DAG i PKC β . Następuje wzrost poziomu wapnia sprzyjający stymulacji szlaków MAPK/ERK, wpływając na transkrypcyjne wyrażanie genów zaangażowanych w proliferację, przeżycie i sekrecję cytokin. Równocześnie BTK może aktywować szlaki sygnałizacyjne Akt/Nf- κ B [49,50]. Ponadto aktywowana kinaza jest pośrednikiem sygnałów prozapalnych, takich jak cytokiny zapalne (TNF α , IL-1b), ściśle związane z reakcją zapalną [51].

Ibrutynib-mechanizm działania, znaczenie w CLL

Zasadniczą rolą ibrutynibu jest wiązanie reszty C481 w C-końcowym regionie warunkującym aktywność BTK [46]. Połączenie leku z domeną katalityczną hamuje indukowaną przez nią kaskadę reakcji, czego konsekwencją jest apoptoza komórek białaczkowych. Substancja podawana jest doustnie. Udowodniono także korzystną ingerencję w blokowaniu przekazywania sygnałów pochodzących z mikrośrodowiska [52].



Ryc4. BTK- budowa, droga aktywacji oraz jej możliwe konsekwencje

LECZENIE

Indolentny charakter CLL sprawia, iż należy obecnie do grona chorób nieuleczalnych. W związku z tym, podstawowym założeniem terapii jest kontrola wartości odpowiednich parametrów oraz monitorowanie ujawniania się powiązanych dolegliwości. Przekłada się to na wydłużenie oraz poprawę jakości życia wśród chorych. Pacjenci zdiagnozowani ze stabilną postacią CLL o niskiej masie nowotworowej podlegają wyłącznie regularnej obserwacji [53].

Postępująca niewydolność krwiotwórcza szpiku objawiająca się niedokrwistością (stężenie Hb < 10 g/dl) i/lub małopłytkowością (liczba PLT < 100 G/l)*
 Znaczne (≥ 6 cm poniżej łuku żebrowego), postępujące lub objawowe powiększenie śledziony
 Znaczne (≥ 10 cm w najdłuższym wymiarze), postępujące lub objawowe powiększenie węzłów chłonnych
 Progresa limfocytozy krwi obwodowej (zwiększenie liczby limfocytów o ≥ 50% w ciągu 2 miesięcy lub ich podwojenie się w ciągu < 6 miesięcy)
 Niedokrwistość lub małopłytkowość autoimmunizacyjna niedostatecznie kontrolowane kortykosteroidoterapią
 Wystąpienie ≥ 1 z objawów systemowych:
 — niezamierzone zmniejszenie masy ciała o ≥ 10% w ciągu poprzedzających 6 miesięcy
 — znaczne osłabienie (wskaźnik wydolności ≥ 2 wg ECOG)
 — gorączka > 38°C niespowodowana infekcją i trwająca ≥ 2 tygodnie
 — nocne poty niespowodowane infekcją i trwające co najmniej miesiąc
 Objawowe lub czynnościowe zajęcie narządów pozawęzłowych

*Można odstąpić od leczenia w przypadku, gdy liczba płytek krwi (PLT, *platelets*) wynosząca < 100 G/l utrzymuje się na stabilnym poziomie przez długi okres; Hb — hemoglobina; ECOG — *Eastern Cooperative Oncology Group*

Ryc.5, Wytyczne oceniane przy kwalifikacji do leczenia chorego na CLL

Zmiany wskaźników morfologicznych, a w szczególności różnice poziomu limfocytów mogą być wyrazem toczącej się w organizmie infekcji lub wynikać z innych nienowotworowych przyczyn. W celu odróżnienia jednorazowej limfocytozy od stałego postępu białaczki konieczne jest powtórzenie morfologii w adekwatnym odstępie czasu.

Brak delecji 17p/mutacji TP53

Rekomendacje dla pacjentów bez dodatkowych obciążeń chorobowych

Rozszerzenie schematu FC (fludarabina+cyklofosamid) o rytuksymab pozwoliło otrzymać znaczący odsetek odpowiedzi na leczenie (*ang. overall response rate, ORR*) oscylujący w granicach 90% oraz osiągnąć stan całkowitych remisji (*ang. complete remission, CR*) sięgający powyżej 40%. Co więcej, schemat pozbawiony przeciwciała anti-CD20 obarczony jest krótszym okresem wolnym od wznowy (*ang. progression free survival, PFS*) [54,55]. Schemat FCR stanowi dotychczas “złoty standard” pierwszej linii leczenia CLL ze stwierdzoną mutacją IGVH [56]. W przypadku pacjentów z prawidłową budową immunoglobulin powierzchniowych sugerującą agresywniejszy postęp choroby, zalecane jest rozpatrzenie zastosowania innego protokołu w pierwszej linii. Wykorzystywane zamienniki obejmują schematy zawierające kładrybinę. Wśród nich najczęściej stosowanym jest zestawienie kładrybiny, cyklofosamidu i rytuksymabu (CCR) [54]. Mianem minimalnej choroby resztkowej (*ang. minimal residual disease, MRD*) określamy niewielką ilość komórek nowotworowych przetrwałych po zakończonym protokole leczenia, która jest niewykrywalna technikami mikroskopii optycznej oraz w związku z liczebnością nie wywołuje u chorego objawów klinicznych. Oznaczone wartości MRD odwrotnie proporcjonalnie wpływają na rokowania pacjenta, tzn. im wyższy wskaźnik, tym krótsze PFS i OS (*ang. overall survival, całkowite przeżycie*) [57]. Analiza minimalnej choroby resztkowej odbywa się za pomocą metod o wysokiej czułości np. cytometrii przepływowej. Każdy uwzględniony w leczeniu CLL schemat posiada opracowaną ilość cykli, czego zamiarem jest doprowadzenie do eradykacji MRD. Pierwotnie rozpoczęta terapia może ulec przerwaniu ze względu na złą tolerancję. Najpoważniejsze i zarazem najczęstsze powikłania dotyczą mielotoksyczności oraz immunosupresji polekowej predysponujących do ciężkiego przebiegu infekcji. Wiek pacjenta niewątpliwie jest kryterium, na podstawie którego definiowane jest prawdopodobieństwo wystąpienia działań niepożądanych oraz ich stopień nasilenia. Dlatego

dla pacjentów z postępującą CLL po 65 roku życia i/lub nawracającymi zakażeniami, przewidziany jest schemat BR (bendamustyna+rytuksymab) [54]. Wykazano zbliżoną skuteczność BR do FCR pod względem PFS i CR przy zauważalnie mniejszej toksyczności [58].

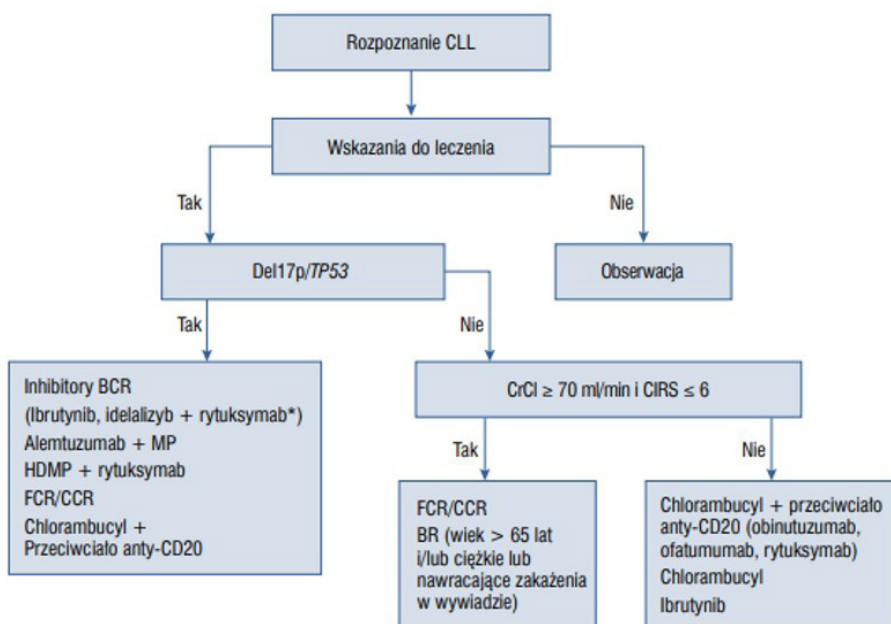
Rekomendacje dla pacjentów z chorobami współistniejącymi

Elementem koniecznym przy kwalifikacji pacjenta z CLL do leczenia przeciwnowotworowego jest ocena wydolności jego organizmu. Współwystępowanie chorób przewlekłych lub infekcyjnych istotnie zmniejsza możliwości tkanek do neutralizacji i wydalania toksycznych metabolitów oraz znacznie zwiększa ryzyko wystąpienia groźnych działań niepożądanych. W związku z tym dodatni wywiad chorobowy dyskwalifikuje chorych z intensywnej immunochemioterapii zawierającej analogi puryn. Alternatywą zalecaną dla pacjentów dodatkowo obciążonych są schematy uwzględniające w swoim składzie chlorambucyl skojarzony z przeciwciałem anti-CD20 (ofatumumab, rytuksymab lub obinutuzumab) [54,55,59]. Badanie CLL11 udowodniło przewagę terapii skojarzonej z rytuksymabem lub obinutuzumabem w stosunku do monoterapii chlorambucylem, co miało odzwierciedlenie w wydłużeniu OS. Inne randomizowane badania unaoczyliły większą skuteczność obinutuzumabu nad rytuksymabem. Pacjenci poddani terapii z obinutuzumabem przejawiali wyższe ORR i CR oraz odsetek eradykacji MRD bezpośrednio wydłużającym PFS [60]. Podobne wnioski wysnuto na podstawie badania COMPLEMENT-1, w którym monoterapię chlorambucylem zestawiono z jego połączeniem z ofatumumabem [61]. Efekty leczenia samym chlorambucylem skonfrontowano również z wynikami terapii ibrutynibem w badaniu RESONATE-2. Wśród pacjentów, którym podawano inhibitor BTK odnotowano zauważalnie wyższe wskaźniki odpowiedzi (ORR,CR,PFS,OS) [62]. Rezultaty badania RESONATE-2 pozwoliły na stosowanie ibrutynibu u chorych niekwalifikujących się do immunochemioterapii analogami puryn [63].

Delecja 17p/mutacja TP53

Potwierdzenie delecji fragmentu chromosomu 17 lub mutacji w genie TP53 wiąże się ze zdecydowanie gorszym rokowaniem w odniesieniu do pacjentów z “niezmutowaną” wersją CLL. Aberracje chromosomowe lub mutacje cytogenetyczne zaburzające funkcje białka p53 w przebiegu przewlekłej białaczki limfocytowej wykazują wzmożoną tendencję do nawrotów i agresywniejszy

przebieg. Do niedawna lekiem przeznaczonym do leczenia tego typu białaczki był alemtuzumab (przeciwciało anti-CD52), jednak nie zwiększał on istotnie PFS [64]. Zadawalające wyniki w obrębie tej grupy chorych uzyskano w momencie wprowadzenia inhibitorów szlaku sygnałowego BCR- ibrutynibu i idelalazybu [54,55]. Pierwszy z nich podobnie jak w przypadku pacjentów z chorobami współistniejącymi podawany jest jako monoterapia. Z kolei idelalazyb kojarzony jest z rytuksymabem a jego użycie w pierwszej linii leczenia ma miejsce w sytuacji, gdy nie można zastosować pozostałych metod terapeutycznych [63]. Ujawnienie obiecujących skutków terapii ibrutynibem nastąpiło wskutek przeprowadzenia badania II fazy RESONATE-17. Spośród 144 pacjentów z oporną/nawrotową CLL ORR wyniósł 64% według oceny niezależnego komitetu przeglądowego. Odnotowano także PFS na poziomie 63% oraz OS wynoszące 75% po upływie 2 lat od zakończenia leczenia [65]. Terapie zastępcze stosowane w okolicznościach wykluczających podanie inhibitorów BCR obejmują m.in. alemtuzumab+ metyloprednizolon, wysokie dawki metyloprednizolonu (HDMP, ang. high-dose methyloprednisolone), FCR, CCR, chlorambucyl+anty-CD20[55,59].



Ryc. 6 Schemat postępowania dotyczący wyboru pierwszej linii leczenia CLL

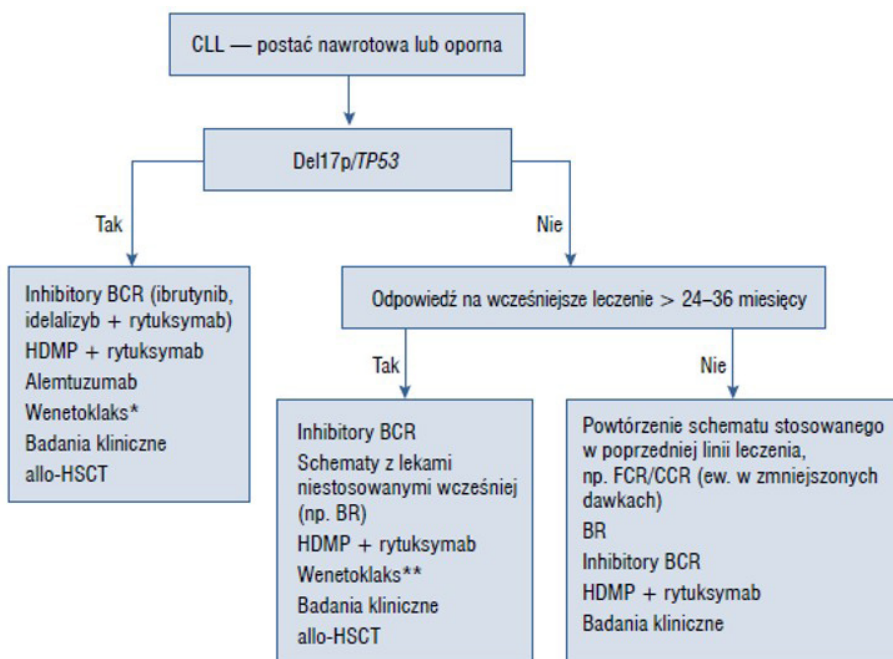
Postać oporna i nawrotowa

Kryteria decydujące o doborze możliwie jak najskuteczniejszego schematu leczenia opornej/nawrotowej CLL wykazują podobieństwo względem wytycznych kwalifikujących do pierwszej linii terapii. Bowiern w tym wypadku również niezbędna jest ocena stanu zdrowia ogólnego pacjenta oraz określenie stanu delecji 17p/mutacji TP53. Dodatkowo uwzględnianym czynnikiem będącym równocześnie wykładnikiem tempa progresji oraz ewentualnego wystąpienia oporności jest czas trwania odpowiedzi na pierwszą linię leczenia. Zastosowany w pierwszej linii schemat można powtórzyć, jeżeli efekt jego działania utrzymywał się dłużej niż 24-36 miesięcy a komórki B chorego prezentują prawidłową budowę białka p53[54]. Mianem oporności definiujemy zupełny brak odpowiedzi na immunochemioterapię lub wznowę w czasie krótszym od 6 miesięcy. Niedostateczna reakcja komórek nowotworowych na pierwotnie podaną kombinację leków jest podstawą do zmiany schematu. Jeśli z innych względów zdrowotnych nie można doprowadzić do nadmiernej mielosupresji, korzystna jest zmiana cytostatyków na schemat HDMP i/lub rytuksymab. Z kolei niedobory podstawowych parametrów morfologicznych wywołanych autoagresją obligują do zastosowania schematu RCD (rytuksymab+cyklofosfamid+deksametazon) [12].

Wysoką skutecznością terapii opornej/nawrotowej CLL cieszą się inhibitory BCR, których zastosowanie znajduje miejsce zarówno u chorych z obecnością, jak i brakiem delecji 17p/mutacji p53. U chorych z nieprawidłową funkcją p53 zaleca się podanie ibrutynibu lub idelalazyibu z rytuksymabem jako II linię leczenia niezależnie od czasu trwania odpowiedzi na leczenie pierwotne [54,55,59].

Zarejestrowany do obrotu w grudniu 2016 roku wenetoklaks został uznany jako kolejna linia leczenia CLL w sytuacji niedostatecznej odpowiedzi na podane wcześniej inhibitory BTK niezależnie od delecji 17p/mutacji TP53 [54]. Głównym powodyrem włączenia inhibitora BCL2 w leczeniu opornej/nawrotowej CLL okazały się wyniki badań I/II fazy obejmujące 116 chorych. ORR na poziomie 80%, CR równe 20% z eradykacją MRD u 5% osób uzyskano wśród ogółu poddanych leczeniu. Hospitalizowani z del17p osiągnęli ORR rzędu 71% i CR wynoszące 16% [66]. Podobne korzyści odnieśli pacjenci, u których wystąpiła oporność na fludarabinę (ORR=79%, CR=16%). W 2018 roku zatwierdzono (stosowany przez okres 24 miesięcy) schemat wenetoklaks+rytuksymab w terapii opornej i nawrotowej CLL w grupie chorych, którzy przeszli przynajmniej jedną linię leczenia [67].

Allogeniczny przeszczep krwiotwórczych komórek macierzystych (*ang. allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT*) jest wykonywany zgodnie z opublikowanymi w 2016 roku zaleceniami ekspertów w dziedzinie leczenia CLL. Chorzy przydzieleni do grupy standardowego ryzyka (brak delecji 17p/mutacji TP53, złożonego kariotypu, delecji 11q) powinni otrzymać allo-HSCT w wypadku niepowodzenia terapii inhibitorami BCR. Przeszczep w grupie wysokiego ryzyka (obecna delecja 17p/mutacja TP53 i/lub złożony kariotyp) winien mieć miejsce po uzyskaniu odpowiedzi na leczenie antagonistą BTK lub substancją objętą badaniem klinicznym, poprzedzoną niepowodzeniem dwóch wcześniejszych linii. Allo-HSCT stosuje się także u pacjentów po przebytych leczeniu wenetoklaksem, u których wystąpiła oporność lub progresja po podaniu inhibitorów BCR [68].



Ryc.7 Schemat postępowania dotyczący wyboru leczenia opornej/nawrotowej CLL

PODSUMOWANIE

Poczynione dotychczas postępy w leczeniu przewlekłej białaczki limfocytowej znacznie poprawiły długość oraz komfort życia pacjentów z niestabilną postacią choroby. Bezsporny wpływ na opracowanie nowych metod terapeutycznych przypisuje się głębszemu poznaniu patogenezy choroby, związanych z nią aberracji

cji chromosomowych i mutacji cytogenetycznych oraz roli mikrośrodowiska jak i cytozolu limfocyту B w determinacji cech komórek CLL. Opracowane na ich podstawie czynniki ryzyka korelujące z gorszym rokowaniem stały się atrakcyjnym celem badań, doprowadzając do zsyntetyzowania leków o zmodernizowanych mechanizmach działania. Włączenie inhibitorów BTK i BCL2 do terapii zauważalnie wydłużyło czas przeżycia pacjentów z delecją 17p/mutacją TP53 poprzez indukcję apoptozy w sposób niezależny od białka p53. Pomimo wyraźnego rozwoju terapii celowanej trwałe wyleczenie w dalszym ciągu nie jest możliwe. Wyzwaniem kolejnych lat będzie więc przełożenie zgromadzonej wiedzy molekularnej na sporządzenie jeszcze skuteczniejszych klinicznie farmaceutyków.

REFERENCJE

- [1] Mavridou D, Psatha K, Aivaliotis M. Proteomics and Drug Repurposing in CLL towards Precision Medicine. *Cancers (Basel)*. 2021;13(14):3391. Published 2021 Jul 6. doi:10.3390/cancers13143391
- [2] Freeman CL, Gribben JG. Immunotherapy in Chronic Lymphocytic Leukaemia (CLL). *Curr Hematol Malig Rep*. 2016;11(1):29-36. doi:10.1007/s11899-015-0295-9
- [3] Mosquera Orgueira A, Antelo Rodríguez B, Díaz Arias JÁ, González Pérez MS, Bello López JL. New Recurrent Structural Aberrations in the Genome of Chronic Lymphocytic Leukemia Based on Exome-Sequencing Data. *Front Genet*. 2019;10:854. Published 2019 Sep 20. doi:10.3389/fgene.2019.00854
- [4] Brieghel C, da Cunha-Bang C, Yde CW, et al. The Number of Signaling Pathways Altered by Driver Mutations in Chronic Lymphocytic Leukemia Impacts Disease Outcome. *Clin Cancer Res*. 2020;26(6):1507-1515. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-4158
- [5] Liu YC, Margolskee E, Allan JN, et al. Chronic lymphocytic leukemia with TP53 gene alterations: a detailed clinicopathologic analysis. *Mod Pathol*. 2020;33(3):344-353. doi:10.1038/s41379-019-0356-z
- [6] Edelmann J, Holzmann K, Tausch E, et al. Genomic alterations in high-risk chronic lymphocytic leukemia frequently affect cell cycle key regulators and NOTCH1-regulated transcription. *Haematologica*. 2020;105(5):1379-1390. doi:10.3324/haematol.2019.217307

- [7] Białopiorowicz E, Juszczynski P. Molekularna patogeneza przewlekłej białaczki limfocytowej. *Hematologia*. 2017;7(4):273-286. doi:10.5603/hem.2016.0026
- [8] Odetola O, Ma S. Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Curr Hematol Malig Rep*. 2023;18(5):130-143. doi:10.1007/s11899-023-00700-z
- [9] Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2015 Update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2015;90(5):446-460. doi:10.1002/ajh.23979
- [10] Strati P, Shanafelt TD. Monoclonal B-cell lymphocytosis and early-stage chronic lymphocytic leukemia: diagnosis, natural history, and risk stratification. *Blood*. 2015;126(4):454-462. doi:10.1182/blood-2015-02-585059
- [11] Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-2760. doi:10.1182/blood-2017-09-806398
- [12] Hus I, Wołowicz D. Przewlekła białaczka limfocytowa. *Onkol W Prakt Klin Eduk*. 2020;6:242-265.
- [13] Guïze R, Liu VM, Rosebrock D, et al. Mitochondrial Reprogramming Underlies Resistance to BCL-2 Inhibition in Lymphoid Malignancies. *Cancer Cell*. 2019;36(4):369-384.e13. doi:10.1016/j.ccell.2019.08.005
- [14] Miguet L, Bogumil R, Decloquement P, et al. Discovery and identification of potential biomarkers in a prospective study of chronic lymphoid malignancies using SELDI-TOF-MS. *J Proteome Res*. 2006;5(9):2258-2269. doi:10.1021/pr0600058y
- [15] Parikh SA, Shanafelt TD. Prognostic factors and risk stratification in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. 2016;43(2):233-240. doi:10.1053/j.seminoncol.2016.02.009
- [16] Ten Hacken E, Burger JA. Microenvironment interactions and B-cell receptor signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia: Implications for disease pathogenesis and treatment. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1863(3):401-413. doi:10.1016/j.bbamcr.2015.07.009

- [17] Gounari M, Ntoufa S, Apollonio B, et al. Excessive antigen reactivity may underlie the clinical aggressiveness of chronic lymphocytic leukemia stereotyped subset #8. *Blood*. 2015;125(23):3580-3587. doi:10.1182/blood-2014-09-603217
- [18] Iacovelli S, Hug E, Bennardo S, et al. Two types of BCR interactions are positively selected during leukemia development in the E μ -TCL1 transgenic mouse model of CLL. *Blood*. 2015;125(10):1578-1588. doi:10.1182/blood-2014-07-587790
- [19] Seda V, Mraz M. B-cell receptor signalling and its crosstalk with other pathways in normal and malignant cells. *Eur J Haematol*. 2015;94(3):193-205. doi:10.1111/ejh.12427
- [20] Koehrer S, Burger JA. Chronic Lymphocytic Leukemia: Disease Biology. *Acta Haematol*. 2024;147(1):8-21. doi:10.1159/000533610
- [21] Chen J, Moore A, Ringshausen I. ZAP-70 Shapes the Immune Microenvironment in B Cell Malignancies. *Front Oncol*. 2020;10:595832. Published 2020 Oct 27. doi:10.3389/fonc.2020.595832
- [22] Mele S, Devereux S, Pepper AG, Infante E, Ridley AJ. Calcium-RasGRP2-Rap1 signaling mediates CD38-induced migration of chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood Adv*. 2018;2(13):1551-1561. doi:10.1182/bloodadvances.2017014506
- [23] Tan MF, Zhang ZH, Yu JJ, Qu JH. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2015;23(2):318-321. doi:10.7534/j.issn.1009-2137.2015.02.005
- [24] Jebaraj BMC, Stilgenbauer S. Telomere Dysfunction in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Front Oncol*. 2021;10:612665. Published 2021 Jan 15. doi:10.3389/fonc.2020.612665
- [25] red. Genetyka medyczna: podręcznik dla studentów. Red. Gerard Drewa, T. Ferenc. Elsevier Urban & Partner; 2011
- [26] Zając M, Giannopoulos K. Mutacje TP53 w nowotworach hematologicznych. *Acta Haematol Pol*. 2015;46(5):327-338. doi:10.1016/j.achaem.2015.11.005
- [27] Malcikova J, Pavlova S, Kozubik KS, Pospisilova S. TP53 mutation analysis in clinical practice: lessons from chronic lymphocytic leukemia. *Hum Mutat*. 2014;35(6):663-671. doi:10.1002/humu.22508

- [28] Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46(2):219-234.
- [29] Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981;48(1):198-206. doi:10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cnrcr2820480131>3.0.co;2-v
- [30] Ten Hacken E, Burger JA. Microenvironment interactions and B-cell receptor signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia: Implications for disease pathogenesis and treatment. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1863(3):401-413. doi:10.1016/j.bbamcr.2015.07.009
- [31] Jia L, Clear A, Liu FT, et al. Extracellular HMGB1 promotes differentiation of nurse-like cells in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;123(11):1709-1719. doi:10.1182/blood-2013-10-529610
- [32] O'Hayre M, Salanga CL, Kipps TJ, Messmer D, Dorrestein PC, Handel TM. Elucidating the CXCL12/CXCR4 signaling network in chronic lymphocytic leukemia through phosphoproteomics analysis. *PLoS One*. 2010;5(7):e11716. Published 2010 Jul 22. doi:10.1371/journal.pone.0011716
- [33] Purroy N, Abrisqueta P, Carabia J, et al. Co-culture of primary CLL cells with bone marrow mesenchymal cells, CD40 ligand and CpG ODN promotes proliferation of chemoresistant CLL cells phenotypically comparable to those proliferating in vivo. *Oncotarget*. 2015;6(10):7632-7643. doi:10.18632/oncotarget.2939
- [34] Marquez ME, Hernández-Uzcátegui O, Cornejo A, Vargas P, Da Costa O. Bone marrow stromal mesenchymal cells induce down regulation of CD20 expression on B-CLL: implications for rituximab resistance in CLL. *Br J Haematol*. 2015;169(2):211-218. doi:10.1111/bjh.13286
- [35] Cols M, Barra CM, He B, et al. Stromal endothelial cells establish a bidirectional crosstalk with chronic lymphocytic leukemia cells through the TNF-related factors BAFF, APRIL, and CD40L. *J Immunol*. 2012;188(12):6071-6083. doi:10.4049/jimmunol.1102066

- [36] Zaleska J, Skorka K, Zajac M, et al. Specific cytotoxic T-cell immune responses against autoantigens recognized by chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br J Haematol.* 2016;174(4):582-590. doi:10.1111/bjh.14098
- [37] Drozd-Sokołowska JE, Basak GW. Bezpieczeństwo i skuteczność protokołu wenetoklaks–rytuksymab u chorej na przewlekłą białaczkę limfocytową leczonej uprzednio inhibitorem BTK. *Hematologia.* 2020;11(3):183-187. doi:10.5603/hem.2020.0022
- [38] Hus I, Giannopoulos K, Jamroziak K, Wołowiec D, Roliński J, Robak T. Rekomendacje diagnostyczne i terapeutyczne dla przewlekłej białaczki limfocytowej w 2023 roku — Raport Grupy Roboczej Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów oraz PALG-CLL. *Hematol Eduk* 2023. 2023;3.
- [39] Roberts AW, Huang D. Targeting BCL2 With BH3 Mimetics: Basic Science and Clinical Application of Venetoclax in Chronic Lymphocytic Leukemia and Related B Cell Malignancies. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;101(1):89-98. doi:10.1002/cpt.553
- [40] Puła B, Jamroziak K. Rola wenetoklaksu w leczeniu chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową. *Hematologia.* 2017;8(1):20-32. doi:10.5603/hem.2017.0003
- [41] Del Gaizo Moore V, Brown JR, Certo M, Love TM, Novina CD, Letai A. Chronic lymphocytic leukemia requires BCL2 to sequester prodeath BIM, explaining sensitivity to BCL2 antagonist ABT-737. *J Clin Invest.* 2007;117(1):112-121. doi:10.1172/JCI28281
- [42] Zhang H, Nimmer PM, Tahir SK, et al. Bcl-2 family proteins are essential for platelet survival. *Cell Death Differ.* 2007;14(5):943-951. doi:10.1038/sj.cdd.4402081
- [43] Lampson BL, Davids MS. The Development and Current Use of BCL-2 Inhibitors for the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Curr Hematol Malig Rep.* 2017;12(1):11-19. doi:10.1007/s11899-017-0359-0

- [44] Anderson MA, Deng J, Seymour JF, et al. The BCL2 selective inhibitor venetoclax induces rapid onset apoptosis of CLL cells in patients via a TP53-independent mechanism. *Blood*. 2016;127(25):3215-3224. doi:10.1182/blood-2016-01-688796
- [45] Sylvan SE, Skribek H, Norin S, Muhari O, Österborg A, Szekely L. Sensitivity of chronic lymphocytic leukemia cells to small targeted therapeutic molecules: An in vitro comparative study. *Exp Hematol*. 2016;44(1):38-49.e1. doi:10.1016/j.exphem.2015.08.009
- [46] Brullo C, Villa C, Tasso B, Russo E, Spallarossa A. Btk Inhibitors: A Medicinal Chemistry and Drug Delivery Perspective. *Int J Mol Sci*. 2021;22(14):7641. Published 2021 Jul 16. doi:10.3390/ijms22147641
- [47] Liang C, Tian D, Ren X, et al. The development of Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitors from 2012 to 2017: A mini-review. *Eur J Med Chem*. 2018;151:315-326. doi:10.1016/j.ejmech.2018.03.062
- [48] Zain R, Vihinen M. Structure-Function Relationships of Covalent and Non-Covalent BTK Inhibitors. *Front Immunol*. 2021;12:694853. Published 2021 Jul 19. doi:10.3389/fimmu.2021.694853
- [49] Pal Singh S, Dammeijer F, Hendriks RW. Role of Bruton's tyrosine kinase in B cells and malignancies [published correction appears in *Mol Cancer*. 2019 Apr 3;18(1):79]. *Mol Cancer*. 2018;17(1):57. Published 2018 Feb 19. doi:10.1186/s12943-018-0779-z
- [50] Zuo Y, Pan Z. Small-molecule inhibitors of Bruton's tyrosine kinase. In: Waring MJ, ed. *Cancer II*. Vol 28. Cham, Switzerland: Springer; 2017. https://doi.org/10.1007/7355_2017_6
- [51] Burger JA, Wiestner A. Targeting B cell receptor signalling in cancer: preclinical and clinical advances. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(3):148-167. doi:10.1038/nrc.2017.121
- [52] Gumieniczek A, Ciseł B, Lipska K, Filip A. Therapy of chronic lymphocytic leukemia (CLL) - from past to present. *Farm Polska*. 2020;76(1):47-56. doi:10.32383/farmpol/118133
- [53] Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-2760. doi:10.1182/blood-2017-09-806398

- [54] Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, et al. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2021;32(1):23-33. doi:10.1016/j.annonc.2020.09.019
- [55] Wierda WG, Zelenetz AD, Gordon LI, et al. NCCN Guidelines Insights: Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma, Version 1.2017. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15(3):293-311. doi:10.6004/jnccn.2017.0030
- [56] Fischer K, Bahlo J, Fink AM, et al. Long-term remissions after FCR chemoimmunotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood.* 2016;127(2):208-215. doi:10.1182/blood-2015-06-651125
- [57] Böttcher S, Ritgen M, Fischer K, et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(9):980-988. doi:10.1200/JCO.2011.36.9348
- [58] Eichhorst B, Fink AM, Bahlo J, et al. First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(7):928-942. doi:10.1016/S1470-2045(16)30051-1
- [59] Robak T, Hus I, Giannopoulos K, i in. Rekomendacje diagnostyczne i terapeutyczne dla przewlekłej białaczki limfocytowej w 2016 r - raport Grupy Roboczej PTHiT i PALG-CLL. *Acta Haematologica Polonica.* 2016;47:169–183. doi:10.1016/j.achaem.2016.08.003
- [60] Goede V, Fischer K, Busch R, et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med.* 2014;370(12):1101-1110. doi:10.1056/NEJMoa1313984
- [61] Hillmen P, Robak T, Janssens A, et al. Chlorambucil plus ofatumumab versus chlorambucil alone in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukaemia (COMPLEMENT 1): a randomised, multicentre, open-label phase 3 trial. *Lancet.* 2015;385(9980):1873-1883. doi:10.1016/S0140-6736(15)60027-7

- [62] Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, et al. Ibrutinib as Initial Therapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2015;373(25):2425-2437. doi:10.1056/NEJMoa1509388
- [63] Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, et al. appendix 6: Chronic lymphocytic leukaemia: eUpdate published online September 2016 (<http://www.esmo.org/Guidelines/Haematological-Malignancies>). *Ann Oncol.* 2016;27(suppl 5):v143-v144. doi:10.1093/annonc/mdw359
- [64] Pettitt AR, Jackson R, Carruthers S, et al. Alemtuzumab in combination with methylprednisolone is a highly effective induction regimen for patients with chronic lymphocytic leukemia and deletion of TP53: final results of the national cancer research institute CLL206 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(14):1647-1655. doi:10.1200/JCO.2011.35.9695
- [65] O'Brien S, Jones JA, Coutre SE, et al. Ibrutinib for patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion (RESONATE-17): a phase 2, open-label, multicentre study. *Lancet Oncol.* 2016;17(10):1409-1418. doi:10.1016/S1470-2045(16)30212-1
- [66] Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, et al. Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2016;374(4):311-322. doi:10.1056/NEJMoa1513257
- [67] Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, et al. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378(12):1107-1120. doi:10.1056/NEJMoa1713976
- [68] Kharfan-Dabaja MA, Kumar A, Hamadani M, et al. Clinical Practice Recommendations for Use of Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Chronic Lymphocytic Leukemia on Behalf of the Guidelines Committee of the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(12):2117-2125. doi:10.1016/j.bbmt.2016.09.013

LECZENIE BIOLOGICZNE ŁUSZCZYCOWEGO ZAPALENIA STAWÓW

**Piotr Granatowski, Aleksandra Kaluża, Nikita Skorgowski,
Daria Rost, Karolina Gancarczyk, Piotr Głodek**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Łuszczycowe zapalenie stawów jest przewlekłą chorobą zapalną narządu ruchu, najczęściej współistniejącą z łuszczycą. Choroba może przebiegać w różny sposób z niejednorodnym nasileniem objawów, a powikłania zwiększają śmiertelność chorych. ŁZS obniża jakość życia chorych i w ciężkich przypadkach może prowadzić nawet do ich niepełnosprawności. Do dzisiaj nie jest znana całkowita patogenezą ŁZS, natomiast jednymi z ważniejszych czynników, jakie ją wywołują, są czynniki immunologiczne. Podstawowymi lekami używanymi w terapii ŁZS są leki immunosupresyjne takie jak kortykosteroidy i metotreksat. Jeśli te okazują się być niewystarczające, lekarze coraz częściej decydują się na sięgnięcie po leki biologiczne, opisane poniżej w tym rozdziale. Dzięki poznaniu czynników immunologicznych mających wpływ na patomechanizm występowania choroby możliwe stało się leczenie ukierunkowane z użyciem terapii przeciwciałami monoklonalnymi. W przyszłości mogą być one pomocne przy leczeniu chorych, u których konwencjonalne metody leczenia zawiodły. Wciąż jednak niezbędne jest prowadzenie nowych badań w zakresie bezpieczeństwa i skuteczności leków biologicznych. Niniejsza praca ma na celu przybliżenie najnowszych doniesień w biologicznym leczeniu łuszczycowego zapalenia stawów.

Słowa kluczowe: CASPAR, leki biologiczne, łuszczycowe zapalenie stawów, ŁZS

Abstract: Psoriatic arthritis is a chronic inflammatory disease of the musculoskeletal system, most often coexisting with psoriasis. The disease may present in various ways with varying severity of symptoms, and complications that increase the death rate of patients. PsA reduces the quality of life of patients and, in severe cases, may even lead to their disability. To this day, pathogenesis of PsA is unknown, but one of the most important factors causing it are immunological factors. The basic drugs used in the treatment of PsA are immunosuppressive drugs such as corticosteroid and methotrexate. If these are insufficient, physicians increasingly use biological drugs, described below in this chapter. Thanks to the knowledge of immunological factors that influence the pathomechanism of the disease, targeted treatment using monoclonal antibody therapy has become possible. In the future, they may be helpful in the treatment of patients for whom conventional

treatment methods have failed. However, new research on the safety and effectiveness of biological drugs is still necessary. This work aims to present the latest reports in the treatment of psoriatic arthritis.

Keywords: CASPAR, biological treatment, PsA, psoriatic arthritis

WSTĘP

Łuszczycowe zapalenie stawów (ŁZS) jest przewlekłą chorobą zapalną zaliczaną do spondyloartropatii zapalnych. Jest ona najczęściej poprzedzona zachorowaniem na łuszczycę paznokci lub skóry (do 30%) [1]. Ocenia się, że ŁZS występuje u od 0,1% do 1% osób w populacji niezależnie od płci chorych [2]. ŁZS występuje najczęściej między 3 a 6 dekadą życia, a podtyp zajmujący kręgosłup występuje 3 razy częściej u mężczyzn niż u kobiet [2,3,4]. ŁZS obniża komfort życia pacjentów, powodując zapalne zmiany stawów, sztywność, bolesne obrzęki, a w skrajnych przypadkach może prowadzić nawet do niepełnosprawności [3]. Choroba ta powoduje zwiększone prawdopodobieństwo na zachorowanie na schorzenia układu sercowo-naczyniowego przez współistniejącą z nią hiperlipidemię, hipertensję i cukrzycę typu 2 [3,5,6]. W ŁZS jako seronegatywnym zapaleniu stawów nie stwierdza się w badaniach laboratoryjnych czynnika reumatoidalnego (RF), ani innych swoistych dla tej choroby markerów zapalenia tkanek. Fakt ten powoduje istotnie późne wykrycie choroby w stosunku do czasu pojawienia się pierwszych objawów ze strony układu mięśniowo szkieletowego czego powodem jest mylne postawienie diagnozy przez lekarza pierwszego kontaktu, dermatologa lub reumatologa [1,6]. Wczesne wykrywanie choroby może w znaczący sposób poprawić postępy leczenia u chorych, a co za tym idzie jakość ich życia [1,2,5].

PATOGENEZA

Etiopatogeneza ŁZS jest nieznaną, lecz ma ona związek z wieloma czynnikami składającymi się na obraz choroby. Należą do nich czynniki genetyczne, immunologiczne i środowiskowe. W ŁZS występują heterogenne zmiany, które w różnym stopniu zajmują zarówno szkielet osiowy, obwodowy i powodują zapalne zmiany w wielu różnych narządach takich jak palce dłoni, skóra, oczy lub serce.

Ryzyko zachorowania na ŁZS jest ponad 40 razy większe przy stwierdzeniu choroby wśród krewnych I stopnia [4]. Sugeruje się, że choroba ta może być wywoływana przez współdziałanie predyspozycji genetycznych jednostki, jak i wpływu czynników środowiskowych, które mogą wywoływać nadmierną odpowiedź immunologiczną organizmu prowadzącą do rozwoju choroby. 25% chorych ma stwierdzony dodatni wynik na antygen HLA-B27 [1]. Niektóre rodzaje alleli tego antygeny są stwierdzane u chorych na różne typy ŁZS. Tak więc HLA-B*27:05 najczęściej występuje u chorych z fenotypem symetrycznego zapalenia wielostawowego, HLA-B*08:01 i HLA-C*07:01 u chorych z fenotypem asymetrycznego zapalenia nielicznostawowego, natomiast HLA-B*27:05 i HLA-C*01:02 u chorych z zapaleniem przyczepów ścięgnistych [7].

Duża część czynników środowiskowych jest łączona z patogenezą ŁZS. Infekcje, rany w obrębie układu mięśniowo-szkieletowego i otyłość są wymieniane jako niektóre z nich. Występowanie ŁZS wśród osób zarażonych paciorkowcami i wirusem HIV występuje częściej niż w populacji ogólnej. Niektóre badania wskazują na szczególną rolę zmian w naturalnej mikroflorze jelitowej człowieka a częstszym występowaniem chorób autoimmunologicznych, w tym łuszczycowego zapalenia stawów [3].

Patogeneza ŁZS jest nierozłącznie związana ze zwiększoną aktywnością komórek układu immunologicznego. Wykazano, iż płyn maziowy u chorych na ŁZS zawiera podwyższoną ilość limfocytów T i cytokin powodujących zapalenie stawów. TNF- α (*tumor necrosis factor α*), IL-12/23, IL-6, IL-17 w dalszej kolejności powodują aktywację komórek kościogubnych i kościotwórczych co przyczynia się do jeszcze bardziej pogłębionej degeneracji zaatakowanych stawów. Leczenie biologiczne ŁZS opiera się na zahamowaniu szlaków sygnałowych wyżej wymienionych cytokin, przez co okazało się to być kluczową metodą leczenia tej choroby [1,2,3].

DIAGNOSTYKA ŁZS

Diagnostyka ŁZS zależy od wielu czynników. W ich skład wchodzi: wywiad z pacjentem, badanie przedmiotowe, wywiad rodzinny, badania laboratoryjne i obrazowe. W wywiadzie z pacjentem należy zwrócić szczególną uwagę na objawy prezentowane przez pacjenta i na występowanie łuszczycy/ ŁZS wśród rodziny. Lekarz powinien zbadać pacjenta i określić liczbę bolesnych i obrzękniętych stawów, występowanie zmian łuszczycowych na paznokciach, zapalenie palców stóp i dłoni, jak i inne objawy mogące naprowadzić go na rozpoznanie ŁZS [1,6].

W ŁZS jako spondyloartropatii seronegatywnej, nie ma swoistych badań mogących potwierdzić występowanie choroby u pacjenta. Markery stanu zapalnego takie jak CRP są najczęściej stosowanym wyznacznikiem występowania stanu zapalnego w organizmie, lecz według badań jedynie od 33 do 89% chorych na ŁZS ma podwyższone wartości białka C-reaktywnego. Fakt ten, uniemożliwia badania przesiewowe osób z możliwym występowaniem zapaleniem stawów [3].

Badania obrazowe umożliwiają rozpoznanie zmian w obrębie stawów, charakterystycznych dla jednego z typów ŁZS. Zdjęcia RTG są ważnym elementem diagnostyki różnicowej. We wczesnych fazach choroby zdjęcia rentgenowskie wydają się nie ukazywać żadnych zmian, ponieważ nie doszło jeszcze do uszkodzenia kości. W późniejszych fazach można zauważyć charakterystyczne dla choroby zmiany takie jak: nadżerki, osteolizę, syndesmofity czy przebudowę strukturalną stawów krzyżowo-biodrowych [8,9].

KLASYFIKACJA ŁZS

Diagnostyka ŁZS opiera się na zaproponowanych w 2006 roku kryteriach klasyfikacji łuszczycy - CASPAR (ang. *Classification criteria for Psoriatic ARthritis*). W klasyfikacji CASPAR, opracowanej przez międzynarodowy zespół ekspertów, chory może zdobyć maksymalnie 6 punktów, a przy liczbie równej lub większej niż 3 punkty rozpoznaje się ŁZS. Czułość kryteriów CASPAR oceniana jest na 91,4%, a swoistość na 98,7%, w porównaniu do wcześniej używanej klasyfikacji Molla i Wrighta, która cechowała się 63% czułością i prawie 100% swoistością [9,10]. W kryteria CASPAR wchodzi kolejno: objawy łuszczycy u chorego lub stwierdzone w wywiadzie rodzinnym, zmiany łuszczycowe w obrębie paznokci, ujemny wynik oznaczenia czynnika reumatoidalnego, zapalenie palców (*dactylitis*) i cechy radiologiczne przystawowej proliferacji kostnej w postaci niewyraźnie odgraniczzonego kostnienia blisko krawędzi stawu [9].

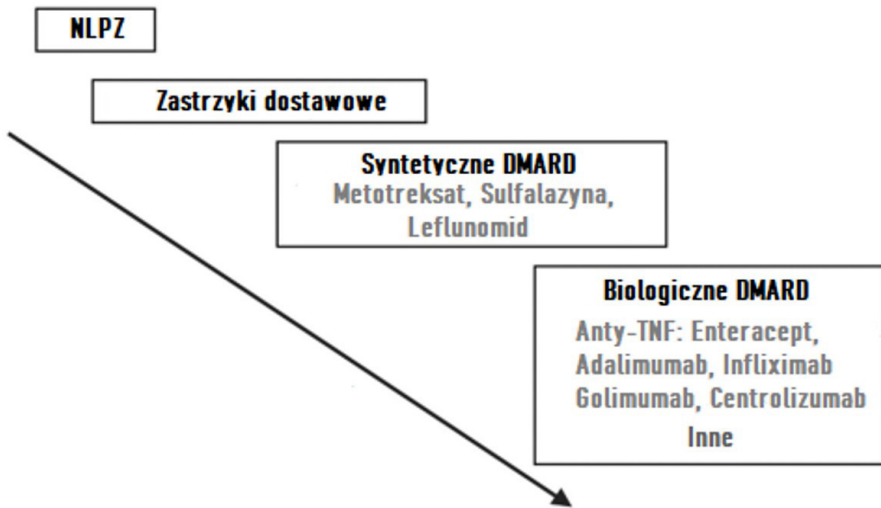
DOTYCHCZASOWE LECZENIE ŁZS

Pacjenci z ŁZS rozpoczynają swoje leczenie najczęściej już na poziomie lekarza pierwszego kontaktu, który ma możliwość skierowania chorego do specjalisty reumatologii lub dermatologii na dalszą diagnostykę na podstawie objawów podmiotowych i przedmiotowych. Leczenie ŁZS powinno odbywać się interdyscyplinarnie i nie powinno zabraknąć w nim edukacji pacjenta na temat

choroby, późniejszej możliwie potrzebnej rehabilitacji czy promowania zdrowego i aktywnego stylu życia.

Leczenie pierwszego rzutu skupia się na stosowaniu NLPZ/GKS w zależności od nasilenia objawów i powinno być stosowane w jak najmniejszej leczniczej dawce nie dłużej niż przez 3 miesiące, aby uniknąć działań niepożądanych [11]. Następnym krokiem leczniczym jest wprowadzenie do terapii csDMARD (*conventional synthetic disease-modifying anti-rheumatic drugs*) takich jak np. metotreksat, sulfasalazyna i cyklosporyna lub bDMARD (*biologic disease-modifying anti-rheumatic drugs*) czy tsDMARD (*targeted synthetic disease modifying anti-rheumatic drugs*)(rycina 1.), których dostępność w ostatnich 10 latach znacząco wzrosła [12,13].

Należy pamiętać, iż głównymi celami w leczeniu ŁZS jest zminimalizowanie objawów, kontrola aktywności choroby i poprawienie jakości życia pacjentów, co powinno przyświecać lekarzom przy doborze odpowiedniego leczenia farmakologicznego. Zestawiając skuteczność, bezpieczeństwo, skomplikowanie w użyciu i koszt terapii należy wybrać najlepsze możliwe leczenie dla pacjenta [13].



Rycina 1. Na rycinie przedstawiono kolejność terapii farmakologicznych w przebiegu ŁZS [12]

LECZENIE BIOLOGICZNE

Leczenie biologiczne zrewolucjonizowało leczenie łuszczycy i łuszczycowego zapalenia stawów u pacjentów z umiarkowanym lub ciężkim przebiegiem choroby. Coraz lepsze zrozumienie patogenezy ŁZS i czynników ją wywołujących

przyczyniło się do wprowadzenia coraz to nowszych, celowanych leków bezpośrednio działających na immunologiczne czynniki wywołujące chorobę [14]. Leki biologiczne takie jak inhibitory TNF- α , inhibitory kinazy janusowej (JAK) lub choćby inhibitory IL-13/23, które zapożyczono pierwotnie z terapii RZS, okazały się obiecującymi możliwościami leczenia chorych, którzy nieodpowiednio odpowiadają na leczenie środkami konwencjonalnymi [1,2]. Wiele z leków jest podczas badań klinicznych, a dotychczasowe obiecujące wyniki badań pozwalają stwierdzić, iż leki biologiczne mogą stanowić przyszłość leczenia ŁZS [11].

Risankizumab

Risankizumab jest ludzkim, monoklonalnym przeciwciałem, którego celem jest podjednostka p19 interleukiny IL-23. Przeciwciało to zostało zatwierdzone do leczenia łuszczycy plackowatej i PSA o przebiegu umiarkowanym do ciężkiego przez wiele krajów na świecie [15,16,17].

Przeprowadzone badania kliniczne 3 fazy KEEPSAKE 1 i KEEPSAKE 2 wykazały poprawę objawów klinicznych manifestowanych przez pacjentów źle tolerujących lub opornych na leczenie jednym lub więcej niż jednym csDMARD. Wyniki działania leku nie były zależne od jednoczesnego przyjmowania innych csDMARD, ponieważ podobne wyniki terapii uzyskiwano w monoterapii risankizumabem, jak i w połączeniu z innymi lekami. W obu badaniach znaczny odsetek pacjentów uzyskał ustąpienie objawów zapalenia palców, przyczepów ścięgniastych i łuszczycy paznokci. Chorzy poprawili swoją sprawność fizyczną, wzrosła jakość ich życia i czuli się mniej zmęczeni [15,18]. Risankizumab wykazywał stały długoterminowy profil bezpieczeństwa porównywalny do placebo, przy czym przez całe badanie nie stwierdzono żadnych zgonów [19]. Wyniki tych badań ukazują, że risankizumab w przyjmowanej dawce 150 mg był dobrze tolerowany, a co najważniejsze - skuteczny, w szczególności u pacjentów wcześniej nieskutecznie leczonych csDMARD [20,21].

Ustekinumab

Ustekinumab jest w całości ludzkim monoklonalnym przeciwciałem, którego celem jest podjednostka p40 interleukiny 12 i 23. Przez ten mechanizm hamuje on dalsze szlaki sygnałowe limfocytów Th-17 i Th-1 biorących udział w patogenezie ŁZS. Wspomniany lek jest zarejestrowany do leczenia ŁZS dorosłych zarówno w Europie jak i Stanach Zjednoczonych [22,23]. W 2013 roku

został on włączony do leczenia aktywnego ŁZS w skojarzeniu z metotreksatem lub osobno, jak i również u pacjentów, u których terapia lekami DMARD była niewystarczająca.

W fazie III randomizowanego badania PSUMMIT 1 i PSUMMIT 2, które były badaniami z próbą podwójnie ślepą, badano wpływ leczenia ustekinumabem na pacjentów z aktywnym ŁZS opornych na leczenie DMARD lub NLPZ, bądź źle je tolerujących. Podczas badania chorzy mogli przyjmować stałe dawki metotreksatu, NLPZ i kortykosterydów. Pacjenci byli losowo przydzielani do jednej z grup: grupy placebo, grupy ustekinumabu 45mg i ustekinumabu 90mg. W każdej z tych grup, lek podawany był podskórnie na samym początku terapii, po 4 tygodniach, a następnie w odstępie co 12 tygodni [23]. W badaniu PSUMMIT 1 w 24 tygodniu terapii główny wskaźnik ACR20 został osiągnięty u 50% pacjentów przyjmujących dawkę 90mg, 42% pacjentów z dawką 45mg i 23% pacjentów przyjmujących placebo. W badaniu PSUMMIT 2, w którym brali udział pacjenci przyjmujący wcześniej leki DMARD lub inhibitory TNF- α , wyniki były nieznacznie niższe: ACR20 został osiągnięty u 44% pacjentów przyjmujących dawkę 90mg, 42% pacjentów z dawką 45mg i 20% pacjentów przyjmujących placebo. W obu badaniach u większego odsetka pacjentów leczonych ustekinumabem uzyskano lepszą odpowiedź ACR20, ACR50 i PASI75 w porównaniu do placebo [24]. Występowanie i nasilenie działań niepożądanych były podobne we wszystkich grupach klinicznych, przy czym do 52 tygodnia terapii nie stwierdzono żadnych zgonów, zakażeń oportunistycznych i nowotworów wywołanych działaniem leku [25]. Sam lek był dobrze tolerowany [26], a za jego zastosowaniem przemawiają dane z badania PSOLAR (*Psoriasis Longitudinal Assessment and Registry*), sugerujące niższe występowanie poważnych zakażeń przy stosowaniu ustekinumabu w porównaniu z inhibitorami TNF- α [22].

Secukinumab

Secukinumab jest w pełni ludzkim, monoklonalnym przeciwciałem, które w bezpośredni sposób hamuje IL-17A. Przeciwciało to wykazało znaczną poprawę w objawach aktywnego ŁZS.

MAXIMIZE było podwójnie ślepy, kontrolowanym przez placebo badaniem fazy 3b, przeprowadzonym w wielu ośrodkach w Europie, Rosji i Izraelu trwającym 52 tygodnie. Dorośli pacjenci, zakwalifikowani do badania na podstawie kryteriów CASPAR otrzymywali podskórnie secukinumab w dawce 300mg, 150mg lub placebo w odstępach tygodniowych, a następnie co 4 tygodnie. W 12

tygodniu pacjentów przyjmujących placebo, ponownie przydzielono do jednej z grup otrzymujących secukinumab w dawce 150 lub 300mg. Podczas badania osiągnięto pierwszorzędne i drugorzędne cele badania - secukinumab w obu dawkach poprawiał odpowiedź ASAS20 w porównaniu z placebo (63% i 66% vs 31% placebo) u pacjentów źle reagujących na NLPZ [27]. W badaniu EXCEED przeprowadzonym na 853 pacjentach porównywano skuteczność działania secukinumabu i adalimumabu jako terapii pierwszego rzutu u pacjentów z aktywnym procesem ŁZS. W badaniu, secukinumab w dawce 300 mg działał lepiej w dłuższym przedziale czasowym niż dawka 150mg. 67% badanych leczonych secukinumabem uzyskało odpowiedź ACR20 w 52 tygodniu w porównaniu do 62% leczonych adalimumabem. Dowiedziono, że profile bezpieczeństwa dwóch badanych leków są podobne i zgodne z wcześniejszymi doniesieniami [28]. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi stosowania secukinumabu były zakażenia dróg oddechowych i nieżyt nosa. Secukinumab był skuteczny i dobrze tolerowany a jego odpowiedź utrzymywała się dłużej. Badanie EXCEED dostarczyło nowych informacji przy porównaniu różnych leków o innym mechanizmie działania, co może okazać się pomocne przy wyborze odpowiedniego leczenia przy nietolerancji lub braku skuteczności leczenia csDMARD [29,30].

Ixekizumab

Ixekizumab jest, humanizowanym IgG4 przeciwciałem monoklonalnym, które selektywnie hamuje cytokinę prozapalną jaką jest IL-17 i jest zatwierdzony do leczenia ŁZS i łuszczycy [31].

SPIRIT-P1 to randomizowane, kontrolowane z użyciem placebo badanie z udziałem pacjentów z aktywnym ŁZS. Pacjenci podzieleni na 3 grupy otrzymywali odpowiednio placebo, adalimumab w dawce 40mg co 2 tygodnie lub ixekizumab 80mg co 2 lub 4 tygodnie. W 24 tygodniu pacjenci przyjmujący adalimumab lub placebo zostali ponownie przydzieleni do jednej z grup przyjmujących ixekizumab, a badanie zostało zakończone po 156 tygodniu leczenia. Spośród 417 pacjentów, którzy przystąpili do badania 243 ukończyło całe badanie. Odpowiedź ACR w 156 tygodniu badania utrzymywała się u chorych leczonych dawkami leku kolejno co 2 i 4 tygodnie w następujący sposób: ACR \geq 20%: 62,5 i 69,8%, ACR \geq 50%: 56,1 i 51,8% ACR \geq 70%: 43,8 i 33,4% [32]. Badanie te ukazało wyższość stosowania dawki 80mg ixekizumabu nad placebo u pacjentów, u których zawiodło wcześniejsze leczenie innymi NLPZ i csDMARD, a profil bezpieczeństwa był zgodny z wcześniejszymi doniesieniami [33]. Pacjenci

przyjmujący leki hamujące IL-17 lub IL-17A są bardziej podatni na zakażenia takie jak np. kandydoza, dlatego też przy leczeniu ixekizumabem niezbędne jest monitorowanie stanu chorobowego i występowanie działań niepożądanych. Podczas trwania badania przez okres 156 tygodni odnotowano różne rodzaje zakażeń oportunistycznych, natomiast były one zgodne z oczekiwaniami. Najczęstszymi występującymi zakażeniami były infekcje dróg oddechowych, zapalenie oskrzeli i rumień w miejscu wstrzyknięcia leku. Zebrane dane potwierdzają wysoki profil bezpieczeństwa u pacjentów z ŁZS we wszystkich domenach choroby stosujących ixekizumab [32,34].

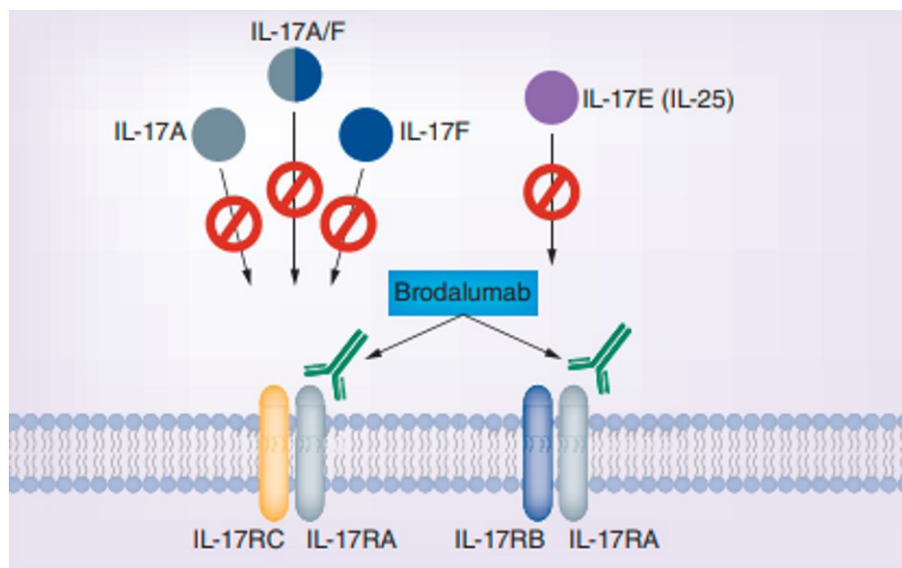
Brodalumab

Brodalumab to w pełni ludzkie przeciwciało anti-IgG2-IL-17RA, wiążące się z wysokim powinowactwem z IL-17RA zmniejszając działanie IL-17. W porównaniu do innych inhibitorów IL-17 takich jak ixekizumab i secukinumab, brodalumab nie tylko hamuje działanie IL-17A, i IL-17A/E ale również neutralizuje IL-17A, IL-17Fi IL-17A/F (rycina 2). Dzięki swojemu unikatowemu mechanizmowi działania, lek ten cieszy się sporym zainteresowaniem, dając lekarzom kolejny wybór w leczeniu ŁZS [35,36].

Badania AMVISION-1 i AMVISION-2 wykazały, że stosowanie brodalumabu w dawce 140mg lub 210 mg co 2 tygodnie wiąże się z większą poprawą objawów skórnych i stawowych u pacjentów chorych na ŁZS w porównaniu do placebo. Brodalumab był dobrze tolerowany i jego profil bezpieczeństwa był zgodny z innymi inhibitorami IL-17. Stwierdzono też znacznie większą skuteczność w osiągnięciu wskaźnika PASI90 przez brodalumab w porównaniu do ustekinumabu, adalimumabu i etanerceptu [37]. Wysoka zmienność choroby i występujących z nią objawów, które wywoływane są przez różne mechanizmy wymaga stosowania leków o szerszym spektrum działania. Brodalumab jako lek o unikalnym mechanizmie działania może zapewniać korzyści dla pacjentów z aktywnym ŁZS [38].

Golimumab

Golimumab jest w pełni ludzkim monoklonalnym przeciwciałem o dużym powinowactwie do rozpuszczalnej i przezbłonowej postaci ludzkiego czynnika martwicy nowotworu (TNF- α), który jest w części odpowiedzialny za proces zapalny będący przyczyną ŁZS [39]. Jest to jedno z dwóch dostępnych inhibitorów TNF- α (obok infliksymabu) do stosowania w leczeniu dożylnym ŁZS [40].



Rycina 2. Mechanizm działania brodalumabu [36]

W 2009 roku podczas badania GO-REVEAL wykazano, że lek jest dobrze tolerowany i wykazał poprawę aktywności ŁZS w kryteriach ACR 20/50/70 jak i również PsA, CRP i PASI w skali DAS28 w porównaniu do placebo [41]. Leczenie golimumabem wydaje się być skuteczną metodą w walce z aktywnym ŁZS u pacjentów pomimo wcześniejszego stosowania DMARD lub NLPZ, a wiele badań, w których to golimumab jest stosowany razem z metotreksatem potwierdza skuteczność w łagodzeniu objawów przedmiotowych i podmiotowych chorych. Stosowanie golimumabu jest nieskomplikowane dla pacjenta a także akceptowalne pod względem finansowym. Stwierdzono, iż lek ten poprawia sprawność fizyczną chorych i ogólne samopoczucie w dłuższym przedziale czasowym [42,43]. Golimumab jest dobrze tolerowany, a działania niepożądane przez niego wywoływane mają podobny charakter jak przy stosowaniu innych inhibitorów TNF- α [44]. Niektóre jednak badania sugerują możliwy wpływ stosowania golimumabu na zachorowanie na choroby zakaźne. Istnieje kilka badań wskazujących na związek między zachorowaniem pacjentów przyjmujących TNF- α a zachorowaniem na gruźlicę. W przypadku stosowania wszystkich leków TNF- α stwierdzono zwiększony odsetek chorych na gruźlicę, w porównaniu do populacji ogólnej, co może jednak mieć związek z równoczesnym stosowaniem przez chorych kortykosteroidów jak i metotreksatu [45].

DYSKUSJA

NLPZ, metotreksat i kortykosteroidy nadal stanowią podstawową metodę leczenia łuszczycowego zapalenia stawów. Z każdym kolejnym rokiem coraz bardziej rozumiemy patogenezę choroby, a szczególnie jej immunologiczne podłoże. To dzięki tak złożonemu patomechanizmowi jak i jej towarzyszy, rozwijają się kolejne nowatorskie metody leczenia biologicznego mające na celu poprawę jakości życia chorych. Duży wachlarz dostępnych leków biologicznych pozwala lekarzom na precyzyjne dobranie idealnej terapii dla pacjenta, uwzględniając jego choroby współistniejące, ryzyko wystąpienia powikłań, czy cenę samego preparatu. Napawające optymizmem wyniki dotychczasowych badań nie mogą jednak pozwolić na zaprzestanie badań nad kolejnymi preparatami. Niezbędne jest przeprowadzenie nowych testów, porównujących leki biologiczne między sobą, jak i udowodnienie ich skuteczność w dłuższym przedziale czasowym, jak miesiące i lata.

REFERENCJE

- [1] Gottlieb, A., & Merola, J. F. (2020). Psoriatic arthritis for dermatologists. *Journal of Dermatological Treatment*, 31(7), 662–679. <https://doi.org/10.1080/09546634.2019.1605142>
- [2] Azuaga, A.B.; Ramírez, J.; Cañete, J.D. Psoriatic Arthritis: Pathogenesis and Targeted Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 4901. <https://doi.org/10.3390/ijms24054901>
- [3] FitzGerald, O., Ogdie, A., Chandran, V. et al. Psoriatic arthritis. *Nat Rev Dis Primers* 7, 59 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00293-y>
- [4] Ocampo D V, Gladman D. Psoriatic arthritis. *F1000Res.* 2019 Sep 20;8:F1000 Faculty Rev-1665. doi: 10.12688/f1000research.19144.1. PMID: 31583079; PMCID: PMC6758836.
- [5] Cigolini C, Fattorini F, Gentileschi S, Terenzi R, Carli L. Psoriatic arthritis: one year in review 2022. *Clin Exp Rheumatol.* 2022 Sep;40(9):1611-1619. doi: 10.55563/clinexprheumatol/x3sfxe. Epub 2022 Sep 19. PMID: 36129799.

- [6] Ogdie A, Weiss P. The Epidemiology of Psoriatic Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2015 Nov;41(4):545-68. doi: 10.1016/j.rdc.2015.07.001. Epub 2015 Sep 11. PMID: 26476218; PMCID: PMC4610151.
- [7] Haroon M, Winchester R, Giles JT, et al Certain class I HLA alleles and haplotypes implicated in susceptibility play a role in determining specific features of the psoriatic arthritis phenotype *Annals of the Rheumatic Diseases* 2016;75:155-162.
- [8] Sudoł-Szopińska I, Matuszewska G, Kwiatkowska B, Pracoń G. Diagnostic imaging of psoriatic arthritis. Part I: etiopathogenesis, classifications and radiographic features. *J Ultrason.* 2016 Mar;16(64):65-77. doi: 10.15557/JoU.2016.0007. Epub 2016 Mar 29. PMID: 27104004; PMCID: PMC4834372.
- [9] Guła Zofia, Korkosz Mariusz. 2018. “Łuszczycowe zapalenie stawów (ŁZS)”. “Przegląd Reumatologiczny” 2018; nr 2. <https://www.edukacja.przegladreumatologiczny.pl/luszczykowe-zapalenie-stawow-lzs>
- [10] Szepietowski, Jacek & Adamski, Z. & Chodorowska, Grazyna & Gliński, W. & Kaszuba, A. & Placek, Waldemar & Rudnicka, Lidia & Reich, Adam. (2010). Guidelines of Polish Dermatological Society on the treatment of psoriasis vulgaris and arthropathic psoriasis (psoriatic arthritis) with biological drugs. *Przegląd Dermatologiczny.* 97. 1-13.
- [11] Julien Schemoul, Cécile Poulain, Pascal Claudepierre, Treatment strategies for psoriatic arthritis, *Joint Bone Spine*, Volume 85, Issue 5, 2018, Pages 537-544, ISSN 1297-319X, <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2017.11.001>.
- [12] Gossec L, Smolen JS. Treatment of psoriatic arthritis: management recommendations. *Clin Exp Rheumatol.* 2015 Sep-Oct;33(5 Suppl 93):S73-7. Epub 2015 Oct 15. PMID: 26471459.
- [13] Arani Vivekanantham, Dylan McGagh, Laura C. Coates, Current treatments and recommendations for Psoriatic Arthritis, *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, Volume 35, Issue 2, 2021, 101680, ISSN 1521-6942, <https://doi.org/10.1016/j.berh.2021.101680>.

- [14] Lee HJ, Kim M. Challenges and Future Trends in the Treatment of Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 28;24(17):13313. doi: 10.3390/ijms241713313. PMID: 37686119; PMCID: PMC10487560.
- [15] Kristensen LE, Keiserman M, Papp K, et al Efficacy and safety of risankizumab for active psoriatic arthritis: 24-week results from the randomised, double-blind, phase 3 KEEPsAKE 1 trial *Annals of the Rheumatic Diseases* 2022;81:225-231.
- [16] Nakamura, A., & Chandran, V. (2023). Risankizumab for the treatment of active psoriatic arthritis in adults. *Expert Review of Clinical Immunology*, 19(12), 1435–1448. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2023.2265567>
- [17] Elgaard, C. D. B., Iversen, L., & Hjuler, K. F. (2023). Guselkumab, tildrakizumab, and risankizumab in a real-world setting: drug survival and effectiveness in the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis. *Journal of Dermatological Treatment*, 34(1). <https://doi.org/10.1080/09546634.2022.2133531>
- [18] Östör A, Van den Bosch F, Papp K, Asnal C, Blanco R, Aelion J, Alperovich G, Lu W, Wang Z, Soliman AM, Eldred A, Barcomb L, Kivitz A. Efficacy and safety of risankizumab for active psoriatic arthritis: 24-week results from the randomised, double-blind, phase 3 KEEPsAKE 2 trial. *Ann Rheum Dis.* 2022 Mar;81(3):351-358. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221048. Epub 2021 Nov 23. PMID: 34815219; PMCID: PMC8862056.
- [19] Östör A, Van den Bosch F, Papp K, Asnal C, Blanco R, Aelion J, Lu W, Wang Z, Soliman AM, Eldred A, Padilla B, Kivitz A. Efficacy and safety of risankizumab for active psoriatic arthritis: 52-week results from the KEEPsAKE 2 study. *Rheumatology (Oxford)*. 2023 Jun 1;62(6):2122-2129. doi: 10.1093/rheumatology/keac605. PMID: 36282537; PMCID: PMC10234194.
- [20] Machlab K, Yeung J, Gooderham M. Risankizumab in Adults with Psoriatic Arthritis. *Skin Therapy Lett.* 2023 Nov;28(6):1-6. PMID: 38015960.

- [21] Fragoulis GE, Siebert S. The role of IL-23 and the use of IL-23 inhibitors in psoriatic arthritis. *Musculoskeletal Care*. 2022 Nov;20 Suppl 1(Suppl 1):S12-S21. doi: 10.1002/msc.1694. Epub 2022 Sep 7. PMID: 36069174; PMCID: PMC9825973.
- [22] Dobbin-Sears I, Roberts J, O'Rielly DD, Rahman P. Ustekinumab in psoriatic arthritis and related phenotypes. *Ther Adv Chronic Dis*. 2018 Jun 13;9(10):191-198. doi: 10.1177/2040622318781760. PMID: 30263103; PMCID: PMC6151900.
- [23] Roberts J, O'Rielly DD, Rahman P. A review of ustekinumab in the treatment of psoriatic arthritis. *Immunotherapy*. 2018 Apr;10(5):361-372. doi: 10.2217/imt-2017-0149. Epub 2018 Feb 14. PMID: 29439608.
- [24] López-Ferrer A, Laiz A, Puig L. The safety of ustekinumab for the treatment of psoriatic arthritis. *Expert Opin Drug Saf*. 2017 Jun;16(6):733-742. doi: 10.1080/14740338.2017.1323864. Epub 2017 May 9. PMID: 28441904.
- [25] McInnes IB, Kavanaugh A, Gottlieb AB, Puig L, Rahman P, Ritchlin C, Brodmerkel C, Li S, Wang Y, Mendelsohn AM, Doyle MK; PSUMMIT 1 Study Group. Efficacy and safety of ustekinumab in patients with active psoriatic arthritis: 1 year results of the phase 3, multicentre, double-blind, placebo-controlled PSUMMIT 1 trial. *Lancet*. 2013 Aug 31;382(9894):780-9. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60594-2. Epub 2013 Jun 13. PMID: 23769296.
- [26] McKeage K. Ustekinumab: a review of its use in psoriatic arthritis. *Drugs*. 2014 Jun;74(9):1029-39. doi: 10.1007/s40265-014-0242-4. PMID: 24919864.
- [27] Baraliakos X, Gossec L, Pournara E, Jeka S, Mera-Varela A, D'Angelo S, Schulz B, Rissler M, Nagar K, Perella C, Coates LC. Secukinumab in patients with psoriatic arthritis and axial manifestations: results from the double-blind, randomised, phase 3 MAXIMISE trial. *Ann Rheum Dis*. 2021 May;80(5):582-590. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218808. Epub 2020 Dec 17. PMID: 33334727; PMCID: PMC8053347.

- [28] McInnes IB, Behrens F, Mease PJ, Kavanaugh A, Ritchlin C, Nash P, Masmitja JG, Goupille P, Korotaeva T, Gottlieb AB, Martin R, Ding K, Pellet P, Mporu S, Pricop L; EXCEED Study Group. Secukinumab versus adalimumab for treatment of active psoriatic arthritis (EXCEED): a double-blind, parallel-group, randomised, active-controlled, phase 3b trial. *Lancet*. 2020 May 9;395(10235):1496-1505. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30564-X. Erratum in: *Lancet*. 2020 May 30;395(10238):1694. PMID: 32386593.
- [29] Gottlieb AB, Deodhar A, McInnes IB, Baraliakos X, Reich K, Schreiber S, Bao W, Marfo K, Richards HB, Pricop L, Shete A, Trivedi V, Keefe D, Papavassilis CC, Jagiello P, Papanastasiou P, Mease PJ, Lebwohl M. Long-term Safety of Secukinumab Over Five Years in Patients with Moderate-to-severe Plaque Psoriasis, Psoriatic Arthritis and Ankylosing Spondylitis: Update on Integrated Pooled Clinical Trial and Post-marketing Surveillance Data. *Acta Derm Venereol*. 2022 Apr 27;102:adv00698. doi: 10.2340/actadv.v102.563. PMID: 35146532; PMCID: PMC9631291.
- [30] Blair HA. Secukinumab: A Review in Psoriatic Arthritis. *Drugs*. 2021 Mar;81(4):483-494. doi: 10.1007/s40265-021-01476-3. Epub 2021 Mar 4. Erratum in: *Drugs*. 2021 Apr;81(6):735. PMID: 33661486; PMCID: PMC8049904.
- [31] Miller J, Puravath AP, Orbai AM. Ixekizumab for Psoriatic Arthritis: Safety, Efficacy, and Patient Selection. *J Inflamm Res*. 2021 Dec 17;14:6975-6991. doi: 10.2147/JIR.S229752. PMID: 34949934; PMCID: PMC8691193.
- [32] Chandran V, van der Heijde D, Fleischmann RM, Lespessailles E, Helliwell PS, Kameda H, Burgos-Vargas R, Erickson JS, Rathmann SS, Sprabery AT, Birt JA, Shuler CL, Gallo G. Ixekizumab treatment of biologic-naïve patients with active psoriatic arthritis: 3-year results from a phase III clinical trial (SPIRIT-P1). *Rheumatology (Oxford)*. 2020 Oct 1;59(10):2774-2784. doi: 10.1093/rheumatology/kez684. PMID: 32031665; PMCID: PMC7516094.
- [33] O’Rielly, D. D., & Rahman, P. (2018). A review of ixekizumab in the treatment of psoriatic arthritis. *Expert Review of Clinical Immunology*, 14(12), 993–1002. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2018.1540931>

- [34] Reich, A., Reed, C., Schuster, C., Robert, C., Treuer, T., & Lubrano, E. (2023). Real-world evidence for ixekizumab in the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis: literature review 2016–2021. *Journal of Dermatological Treatment*, 34(1). <https://doi.org/10.1080/09546634.2022.2160196>
- [35] Bauer E, Lucier J, Furst DE. Brodalumab -an IL-17RA monoclonal antibody for psoriasis and psoriatic arthritis. *Expert Opin Biol Ther*. 2015 Jun;15(6):883-93. doi: 10.1517/14712598.2015.1045410. PMID: 25985813.
- [36] Kivelevitch DN, Menter A. Use of brodalumab for the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis. *Immunotherapy*. 2015;7(4):323-33. doi: 10.2217/imt.14.113. PMID: 25917624.
- [37] Sbidian E, Chaimani A, Garcia-Doval I, Doney L, Dressler C, Hua C, Hughes C, Naldi L, Afach S, Le Cleach L. Systemic pharmacological treatments for chronic plaque psoriasis: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2022 May 23;5(5):CD011535. doi: 10.1002/14651858.CD011535.pub5. Update in: *Cochrane Database Syst Rev*. 2023 Jul 12;7:CD011535. PMID: 35603936; PMCID: PMC9125768.
- [38] Mease PJ, Helliwell PS, Hjuler KF, Raymond K, McInnes I. Brodalumab in psoriatic arthritis: results from the randomised phase III AMVISION-1 and AMVISION-2 trials. *Ann Rheum Dis*. 2021 Feb;80(2):185-193. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216835. Epub 2020 Oct 26. PMID: 33106286; PMCID: PMC7815636.
- [39] McIntosh SM, Kerut C, Hollenshead PP, Askins DH, Mansourian K, Palowsky ZR, Allampalli V, Ahmadzadeh S, Shekoochi S, Kaye AD. Golimumab for Polyarticular Juvenile Idiopathic Arthritis and Psoriatic Arthritis: Pharmacologic and Clinical Considerations. *Life (Basel)*. 2023 Jul 21;13(7):1601. doi: 10.3390/life13071601. PMID: 37511975; PMCID: PMC10381137.
- [40] Love TJ, Kavanaugh A. Golimumab in the treatment of psoriatic arthritis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2018 Nov;14(11):893-898. doi: 10.1080/17446666X.2018.1524755. Epub 2018 Sep 27. PMID: 30221556.

- [41] Urdaneta M, Jethwa H, Sultan R, Abraham S. A review on golimumab in the treatment of psoriatic arthritis. *Immunotherapy*. 2017 Sep;9(11):871-889. doi: 10.2217/imt-2017-0063. Epub 2017 Aug 25. PMID: 28838285.
- [42] Yang H, Epstein D, Bojke L, Craig D, Light K, Bruce I, Sculpher M, Woolacott N. Golimumab for the treatment of psoriatic arthritis. *Health Technol Assess*. 2011 May;15 Suppl 1:87-95. doi: 10.3310/hta15suppl1/10. PMID: 21609657.
- [43] Rossini M, Viapiana O, Orsolini G, Fracassi E, Idolazzi L, Gatti D, Adami S, Govoni M. Why golimumab in the treatment of psoriatic arthritis, ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis? *Reumatismo*. 2015 Mar 31;66(4):285-303. doi: 10.4081/reumatismo.2014.799. PMID: 25829189.
- [44] Oldfield V, Plosker GL. Golimumab: in the treatment of rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. *BioDrugs*. 2009;23(2):125-35. doi: 10.2165/00063030-200923020-00005. PMID: 19489653.
- [45] Minozzi S, Bonovas S, Lytras T, Pecoraro V, González-Lorenzo M, Bastiampillai AJ, Gabrielli EM, Lonati AC, Moja L, Cinquini M, Marino V, Matucci A, Milano GM, Tocci G, Scarpa R, Goletti D, Cantini F. Risk of infections using anti-TNF agents in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis: a systematic review and meta-analysis. *Expert Opin Drug Saf*. 2016 Dec;15(sup1):11-34. doi: 10.1080/14740338.2016.1240783. PMID: 27924643.

ROLA TREM2 W LECZENIU CHOROBY ALZHEIMERA

**Maciej Baron¹, Bartosz Bula², Natalia Ubysz³, Łukasz Zniszczoł¹,
Andrzej Skrzypiec, Anna Budzyńska³, Małgorzata Wachowicz²**

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Histologii i Patologii Komórki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Biofizyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny
3. Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Chirurgii Wad Rozwojowych i Traumatologii Dzieci, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny

Abstrakt: Choroba Alzheimer (AD) jest chorobą neurodegeneracyjną, cechującą się postępującym w czasie pogorszeniem funkcji poznawczych pacjenta. Histopatologicznie AD spowodowane jest nagromadzeniem się złogów białka Tau i amyloidu- β w tkance nerwowej. Obecnie nie ma skutecznego leczenia na AD, dlatego też choroba ta stanowi coraz poważniejszy problem kliniczny. Duże nadzieje w kontekście leczenia AD pokłada się jednak w receptorach TREM2, które ulegają ekspresji między innymi na makrofagach i komórkach mikrogleju. Uważa się, że TREM2 promują przeżywalność komórek oraz zdolności fagocytarne, co więcej donosi się również, że mogą one brać udział w hamowaniu procesów zapalnych. Badania na zwierzętach wykazały, że TREM2 bierze udział w otaczaniu złogów amyloidu- β , tym samym przyczyniając się do redukcji postępu choroby. Ponadto, badania genetyczne wykazały, że istnieją warianty TREM2 sprzężone z AD. Z tego względu receptory TREM2 mogą w przyszłości stanowić wartościowy cel terapeutyczny dla terapii AD.

Słowa kluczowe: Choroba Alzheimer, Demencja, Terapia celowana, TREM2

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative pathology, characterized by progressive deterioration of the patient's cognitive functions over time. Histopathologically, it is triggered by the accumulation of Tau protein and amyloid- β in nervous tissue. Currently, there is no effective treatment for AD, thus it is a significant clinical problem. However, there is a hope for AD treatment in expressed on macrophages and microglia TREM2 receptors. It is believed that TREM2 promotes cell survival and phagocytosis. Moreover, it was also reported that they may exhibit anti-inflammatory effects. Animal studies have shown that TREM2 is involved

in surrounding amyloid- β deposits, thereby helping to reduce disease progression. Furthermore, genetic studies have proven the existence of TREM2 variants associated with AD. Therefore, TREM2 receptors might become valuable therapeutic targets for AD therapy in the future.

Key words: Alzheimer's disease, Dementia, Targeted therapy, TREM2

WSTĘP

Demencja to zespół kliniczny charakteryzujący się postępującym pogorszeniem dwóch lub więcej dziedzin poznawczych, w tym pamięci, języka, funkcji wykonawczych, osobowości i zachowania. Wymienione objawy w zaawansowanych stadiach choroby powodują utratę zdolności chorego do wykonywania instrumentalnych i/lub podstawowych czynności życia codziennego [1]. Obecnie szacuje się, że na całym świecie około 50 milionów ludzi cierpi na demencję, a ponadto uważa się, że do 2050 roku ta liczba się potroi. Przyjmuje się, że przyczyną około 50-70% demencji jest Choroba Alzheimera (ang. *alzheimer's disease*, AD) [2]. W obrazie histopatologicznym AD charakteryzuje się nagromadzeniem w tkankach mózgowych amyloidu- β , tworzącego zewnątrzkomórkowe płytki starcze. Zaobserwować można również obecność hiperfosforylowanego białka Tau odkładającego się wewnątrzkomórkowo w postaci spletków neurofibrylarnych. Tym białkowym aglomeratom przypisuje się udział w utracie połączeń synaptycznych między neuronami, co tym samym prowadzi do zubożenia przewodnictwa potencjałów elektrochemicznych. Mimo intensywnych badań, głębsze przyczyny defektów neurologicznych w AD wciąż pozostają nieznanne i wymagają dalszych prac badawczych [3].

Zidentyfikowano kilka różnych czynników ryzyka AD, m.in. mutacje w białkach prekursorowych amyloidu, prezeniline 1 i prezeniline 2 [4]. Defekty w tych genach mogą doprowadzić do AD o wczesnym początku, którego występowanie jest raczej sporadyczne. Najpowszechniejszą odmianą AD jest odmiana o późnym początku, której najczęstszą przyczyną jest mutacja w genie apolipoproteiny E (APOE) [5]. Szacuje się, że jedna kopia wadliwego allelu APOE zwiększa ryzyko AD o późnym początku 2-4 krotnie, w stosunku do zdrowych osobników [6]. Niedawno wykazano, że na rozwój choroby Alzheimera o późnym początku mogą mieć wpływ niektóre wadliwe warianty genu TREM2 (ang. *triggering receptor expressed on myeloid cells-2*). Odpowiadają one za kodowanie receptora wyzwalającego, obecnego na komórkach linii

mieloidalnej (przykładowo na makrofagach, dendrocytach, komórkach glejowych). Obecność wadliwych alleli TREM2 zwiększa podatność na AD o późnym początku, z prawdopodobieństwem porównywalnym do defektu w genie APOE. Biorąc pod uwagę fakt, że białka TREM2 partycypują w odpowiedzi mikrogleju na nagromadzenie białka Tau i amyloidu- β , występujące w AD - istnieje spora szansa, że głębsze poznanie ich funkcji, będzie stanowiło wartościowy cel terapeutyczny leczenia tej choroby [7].

GEN KODUJĄCY BIAŁKO TREM2

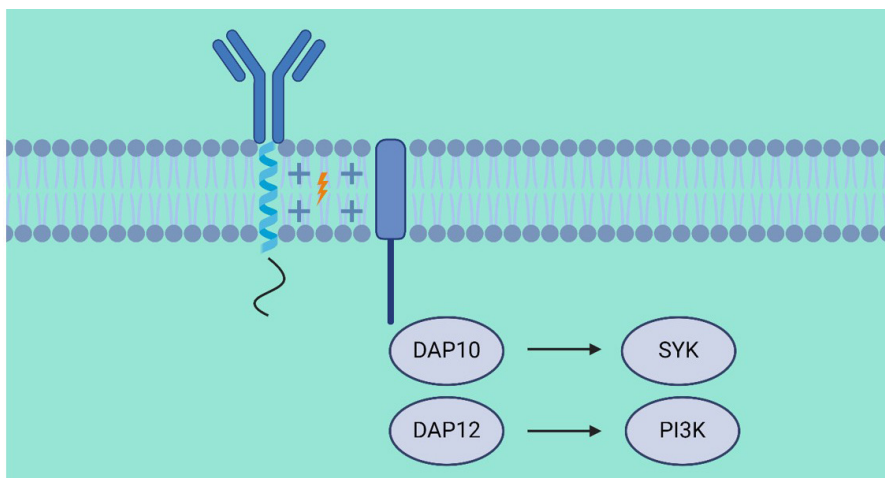
Gen TREM2 u ludzi zajmuje na chromosomie locus 6p.21.1. Zawiera on 693 pary zasad i ulega ekspresji głównie w komórkach linii mieloidalnej. Omawiany gen koduje polipeptyd o długości 230 aminokwasów [8]. W mózgu gen TREM2 ulega wysokiej ekspresji na komórkach mikrogleju. Ponadto zaobserwowano, że w ośrodkowym układzie nerwowym, jego ekspresja różni się, w zależności od regionu. Największą ekspresję genu TREM2 zaobserwowano dotychczas w hipokampie, rdzeniu kręgowym i w istocie białej [9-11]. Warto zaznaczyć, że u pacjentów z AD oraz u myszy z nagromadzeniem białka Tau i amyloidu- β , zaobserwowano podwyższony poziom ekspresji receptora TREM2 [12][13]. Uważa się, że podwyższona ekspresja TREM2 związana jest z rekrutacją mikrogleju indukowaną obecnością płytek amyloidowych [14][15].

BUDOWA BIAŁKA TREM2

TREM2 jest transbłonowym receptorem z nadrodziny immunoglobulin. Składa się z domeny zewnątrzkomórkowej, którą stanowi pojedyncza immunoglobulina typu V, jednej wewnątrzbłonowej helisy oraz krótkiego ogona cytozoluowego. Ogonowi, jednakże brakuje jakichkolwiek domen transdukcji sygnału. Badania przeprowadzone na mysich makrofagach wykazały, że TREM2 ma zdolność do wiązania białek aktywujących z grupy DNAX- DAP-10 i 12, poprzez przeciwnie naładowane reszty w domenach transbłonowych (ryc.1) [16].

Ligandy TREM2 obejmują szeroką gamę cząsteczek anionowych, wolnych i związanych z błoną plazmatyczną, w tym produkty bakteryjne- DNA, lipoproteiny i fosfolipidy. TREM2 po ich związaniu aktywuje DAP12 lub DAP10 na drodze fosforylacji, której skutkiem jest prawdopodobnie utworzenie heterodimerów. DAP12 pośredniczy w aktywacji kinazy tyrozynowej śledziony (ang. *spleen tyrosine kinase*-Syk). Natomiast DAP10 promuje transdukcje sygnału

poprzez rekrutację 3-kinazy fosfatydyloinozytolu (ang. *phosphoinositide 3-kinase-PI3K*). Niemniej jednak obecna wiedza na temat szlaków sygnałowych receptora TREM2 opiera się w dużej mierze na uproszczonych testach biochemicznych i hodowlach komórkowych. Z tego względu do pełnego poznania sygnalizacji omawianego receptora wymagane jest przeprowadzenie dalszych badań [16].



Ryc.1 Budowa receptora TREM2 i jego kompleksu po aktywacji. Rycina została wykonana za pomocą www.biorender.com

FUNKCJE BIAŁKA TREM2

Na poziomie komórkowym sygnalizacja TREM2 indukuje wyraźne zmiany w fenotypach a tym samym w funkcjach komórek. Zaobserwowano, że delecja genu TREM2 u myszy oraz w hodowlach komórkowych skutkuje osłabieniem fagocytozy ciałek apoptotycznych, lipoprotein, bakterii i innych pozostałości komórkowych [17-19]. Ponadto wykazano, że nadekspresja genu TREM2 może promować zdolności fagocytarne u komórek, które fizjologicznie takowych nie wykazują, jak np. komórki jajnika [18][20]. Co więcej sądzi się, że aktywacja receptora TREM2 wykazuje działanie hamujące procesy zapalne. Już sama promocja usuwania ciałek apoptotycznych, zapobiega rozwojowi martwicy i tym samym zapalenia. Ponadto omawiany receptor, pobudza ekspresję cząsteczek o właściwościach przeciwzapalnych- galektyny-1 i galektyny-3, progranuliny, czy też antagonisty receptora dla prozapalnej interleukiny-1 [21][22]. Z drugiej zaś strony, sama zdolność TREM2 do wiązania antygenów bakteryjnych ułatwia

leukocytom ich eliminację, dlatego też jest istotną przesłanką do rozważań, czy ten receptor wykazuje również działanie prozapalne [23]. Ponadto dowiedziono, że TREM2 może promować przeżywalność makrofagów pod wpływem stresu indukowanego uszkodzeniem tkanki, zapaleniem czy nagromadzeniem amyloidu- β [24][25]. Wykazano również, że komórki mikrogleju pozbawione omawianego genu wykazują zmniejszone zużycie glukozy, oraz upośledzoną glikolizę, co skutkuje niskim poziomem ATP w cytoplazmie. Powyższe odkrycia, wskazują na fakt, że obniżona przeżywalność mikrogleju, może wiązać się z defektami metabolicznymi [17][24]. Dodatkowo istnieją przesłanki, że TREM2 jest odpowiedzialny za różnicowanie się makrofagów, na co wskazują badania na myszach. Zwierzęta pozbawione genu TREM2 wykazywały również znaczne zmniejszenie liczby osteoklastów (należących do komórek linii mieloidalnej) w tkance kostnej [26].

WARIANTY TREM2 W AD

Szeroko zakrojone badania genetyczne pozwoliły na odkrycie wielu wariantów genu TREM2 sprzężonych z AD. Ustalono, że homozygotyczne mutacje skutkujące utratą funkcji receptora TREM2, odpowiadają za rozwój AD o wczesnym początku [27][28]. Zidentyfikowano rzadkie heterozygotyczne warianty TREM2, których obecność zwiększa ryzyko na zachorowanie na chorobę Alzheimera 2-4 krotnie w stosunku do osobników nieobciążonych mutacją. Taki wzrost ryzyka, jak już wcześniej wspomniano, może być porównywalny do obecności genu APOE4 [29][30].

Najbardziej zbadanym wariantem TREM2, związanym z AD, jest gen R47H (rs75932628). Pierwszy allel R47H, został zidentyfikowany w 2013 roku w europejskiej kohorcie [31]. Twierdzi się, że omawiany wariant występuje głównie u pacjentów właśnie na tym kontynencie [32-34]. Warto jednak zaznaczyć, że istnieją doniesienia o sporadycznym wykryciu omawianego wariantu genu w populacji Chińskiej czy Afroamerykańskiej. Wykazano, że pacjenci ze zmutowanym allelem R47H, cechują się znacznie wcześniejszym początkiem AD oraz szybszym zaostrzeniem demencji [35-37]. Warto zaznaczyć, że istnieją także inne allele TREM2 sprzężone z AD, jednak R47H został z nich wszystkich przebadany najlepiej. Warianty te mają różny wpływ na funkcje TREM2. Należy jednak dodać, że znaczna większość patologicznych alleli nie wpływa na ekspresję i budowę receptora TREM2.

TREM2 W CHOROBIE ALZHEIMERA

Populacja mikrogleju, jest główną grupą komórek immunokompetentnych, odpowiedzialnych za monitorowanie i likwidowanie patologii w mózgowiu. Komórki mikrogleju odpowiadają, między innymi, za zwalczanie patogenów i fagocytozę ciałek resztkowych. Ponadto zapewniają one wsparcie dla neuronów, wydzielając czynniki troficzne [38]. U osób chorych na AD i zwierzęcych modelach zaobserwowano, że mikroglej otacza płytki amyloidu- β . Przypuszcza się, że tym samym tworzy fizyczną barierę, odgradzącą toksyczny amyloid- β od tkanki nerwowej. Rola TREM2 w kontekście patologii amyloidu, występującej w AD, była intensywnie badana poprzez manipulacje genem TREM2 w mysich modelach. Doniesiono, że mikroglej zwierząt z defektywnym wariantem omawianego genu, istotnie słabiej otaczał płytki amyloidowe, w porównaniu do myszy z prawidłową ekspresją TREM2. Podobna reakcja występuje, również u pacjentów, u których rozwinęła się choroba Alzheimera, tym samym wskazując na rolę TREM2 w przeciwdziałaniu rozwojowi tej patologii. Skutki niedoboru TREM2 na obciążenie amyloidem- β są dość złożone. Zaobserwowano, że abłacja genu TREM2, na wczesnych etapach choroby powodowała mniej poważną postać AD- dopiero w późniejszych fazach odkładanie amyloidu- β ulegało zaostrzeniu [39-42]. Ponadto doniesiono, że wstrzyknięcie myszom, z defektem gromadzenia się amyloidu- β ludzkiego genu TREM2, znacznie łagodziło zmiany patologiczne. Obecne tam płytki starcze uległy przebudowie z typu włóknistego na bardziej zwarty, prawdopodobnie mniej toksyczny. Zaobserwowano również wzrost liczby komórek mikrogleju związanego z wyżej wymienionymi płytkami oraz zwiększenie jego aktywności fagocytarnej, a ponadto wykazano, że zwierzęta te odzyskiwały funkcje poznawcze [43].

Efekty biologiczne i biochemiczne wariantów genu TREM2, związanych z chorobą Alzheimera, były szeroko badane metodami *in vitro*. Jak wcześniej wspomniano, wadliwe allele nie wpływały znacząco na ekspresję, transport ani na składanie receptora. Zaobserwowano natomiast, że obecność tych wariantów genów upośledza wiązanie i wychwytywanie ligandów [44-46]. Chociaż endogenne ligandy TREM2 nie zostały do końca poznane, obecnie prowadzone są szeroko zakrojone eksperymenty w tym kierunku. Badane *in vitro* cząsteczki wykazują znacznie zmniejszone powinowactwo do wariantów TREM2 występujących w AD, w porównaniu do receptorów prawidłowych. Obecnie uwaga naukowców skupiona jest na anionowych lub obojętnych lipidach, które mogą zostać odsłonięte podczas zmian zwyrodnieniowych neuronów i komórek glejowych.

Takie zmiany mogą występować właśnie w chorobie Alzheimera, podczas odkładania się amyloidu- β [47-49].

Nie jest jasne, w jaki dokładnie sposób defekt funkcji TREM2 w AD powoduje upośledzenie zdolności odpowiedzi mikrogleju na nagromadzenie amyloidu- β i zaostrenie choroby. Niemniej jednak istnieją dwie hipotezy tłumaczące wyżej opisane zjawisko.

Pierwsza z nich, mówi o tym, że toniczna sygnalizacja TREM2 jest niezbędna do przeprogramowania komórek ze stanu homeostazy do stanu neuroprotekcijnego, indukowanego obecnością płytek starczych. Na potwierdzenie tej teorii, przemawia fakt, że mikroglej aktywowany amyloidem- β przyjmuje odrębny profil ekspresji genów, niż mikroglej w stanie homeostazy (w zdrowej tkance nerwowej). Opisane geny promują indukcję zdolności fagocytarnych oraz metabolizmu lipidów i prawdopodobnie mogą ułatwić odpowiedź na zmiany patologiczne.

Z kolei druga hipoteza głosi, że utrata funkcji TREM2 znacząco osłabia zdolności mikrogleju do reagowania na stresory. Poparcie tej teorii stanowi fakt, że komórki z defektem tego receptora, odznaczają się wysoką obecnością autofagosomów, które są oznaką stresu metabolicznego. Co więcej twierdzi się, że defektywny mikroglej charakteryzuje się obniżoną ekspresją genów odpowiedzialnych za metabolizm w stanach fizjologicznych. Ponadto podawanie defektywnym komórkom cyklokreatyny, zwiększającej stężenie ATP, łagodziło skutki niedoboru TREM2. To zjawisko potwierdza hipotezę, że deficyty opisywanego receptora leżą u podstaw dysfunkcji metabolicznych [50-53].

Jak można zaobserwować, mechanizmy poprzez które TREM2 wpływa na rozwój AD, są złożone. Aktywność mikrogleju za pośrednictwem TREM2 może być zarówno ochronna, jak i szkodliwa, w zależności od etapu i stopnia zaawansowania choroby. Przykładowo aktywacja tego receptora może promować fagocytosę potencjalnie szkodliwego materiału, działając ochronnie. Może również pobudzać wydzielanie potencjalnie szkodliwych prozapalnych cytokin. Niestety, tak jak wcześniej wspomniano, przeprowadzono wciąż zbyt małą ilość badań, by dojść do ostatecznych konkluzji. Pokładane są niemałe nadzieje w zwiększonej dostępności do nowych modeli zwierzęcych i komórek macierzystych pochodzących od pacjentów z AD, które mogą w przyszłości znacząco przyspieszyć rozwój badań nad leczeniem choroby Alzheimera [54-56].

TREM2 JAKO CEL TERAPEUTYCZNY W LECZENIU AD

Z racji tego, że u części pacjentów z AD występuje defekt TREM2, który skutkuje rozregulowaniem metabolizmu lipidów- najnowsze badania nad tą chorobą koncentrowane są głównie na terapeutycznej roli właśnie tych związków. Uważa się, że regulacja metabolizmu lipidów może stanowić skuteczną terapię AD. Niektóre badania wykazały, że suplementy diety, w tym kwasy tłuszczowe omega-3 (ang. *eicosapentaenoic acid*- EPA, ang. *docosahexaenoic acid*- DHA) prawdopodobnie łagodzą objawy omawianej choroby [57][58]. Ponadto stwierdzono również, że leczenie mysiego modelu AD atorwastatyną moduluje sygnalizację, w której uczestniczy receptor Toll podobny 4 (ang. *toll-like receptors* TLR4) i tym samym redukuje deficyty poznawcze. Biorąc pod uwagę, że ekspresja TLR4 może być zwiększona przez niedobór TREM2, prawdopodobnym jest, że leczenie statynami może łagodzić zwyrodnienie neuronów występujące w AD [59].

Jak już wcześniej wspomniano większość mutacji TREM2 stwarzających ryzyko AD to mutacje powodujące utratę funkcji tych receptorów. Z tego powodu przypuszcza się, że zwiększenie ekspresji TREM2 może być kolejną strategią terapeutyczną w leczeniu AD, nawet u pacjentów bez mutacji tego genu. Można to osiągnąć poprzez zastosowanie przeciwciał, które aktywują TREM2 lub poprzez ektopową ekspresję TREM2 w komórkach mieloidalnych, a następnie wstrzyknięcie ich do ustroju [60-62]. Niedawno odkryto, że ogólnoustrojowe zastosowanie AL002a, agonistycznego przeciwciała łączącego się z TREM2, może zmniejszyć odkładanie się amyloidu- β i poprawić funkcje poznawcze u myszy z AD [63]. Warto zaznaczyć, że wcześniej opisane przeciwciało znajdujące się obecnie w 2 fazie badań klinicznych.

Ważny jest fakt, że ekspresja TREM2 jest dodatnio skorelowana z wychwytem płytek amyloidowych przez mikroglej- niedobór tego receptora będzie hamował ten proces. Ponadto wpływ niedoboru TREM2 jest specyficzny dla wariantu genu indukującego AD. Niedawne badania wykazały, że mikroglej ekspresyjający APOE4 wykazywał zmniejszony wychwyt amyloidu- β , który był dodatkowo zastrzony przez niedobór TREM2, w porównaniu z mikroglejem, u którego zachodzi ekspresja APOE3. Odkrycie to dodatkowo potwierdza potencjał terapeutyczny TREM2 u pacjentów noszących allel APOE4, który jest najsilniejszym genetycznym czynnikiem ryzyka AD o późnym początku [64].

Badania wykazały, że wykorzystanie adenowirusowego lub lentiwirusowego nośnika do indukcji nadekspresji TREM2, może łagodzić deficyty poznawcze u myszy obciążonych patologią amyloidu- β [65][66]. Ponadto stwierdzono, że

użycie beksarotenu- syntetycznego agonisty receptora retinoidu X (ang. *rexinoid receptors* RXR)- działa terapeutycznie na mysie modele AD. Zwierzęta leczone omawianym związkiem charakteryzowały się zwiększoną aktywnością mikrogleju, co tym samym prowadziło do wzmoczonego wychwytywania płytek starczych i zmniejszonego obciążenia amyloidem [67][68]. Takie immunostymulujące działanie beksarotenu, prawdopodobnie spowodowane jest tym, że wykazuje działanie podobne do szlaku sygnałowego receptora TREM2-DAP-12. Ponadto myszy leczone tymże związkiem, cechowały się również, wzmocnieniem ekspresji samego białka TREM2 [69-71]. Warto zaznaczyć jednak, że leki zwiększające ekspresję TREM2 takie jak beksaroten cechują się złożonymi skutkami ubocznymi. Donosi się, że w mysich modelach rozwinęły się trudności w oddychaniu, oraz hepatomegalia, przy jednoczesnej utracie masy ciała. Takie efekty wynikają z tego, że kontrola ekspresji genu TREM2 pozostaje problematyczna, co skutkuje tym, że zwykle jest ona nadmierna. Z tego względu istnieje duża potrzeba na kontynuację badań klinicznych w tym zakresie [72][73].

EKSPRESJA TREM2 W INNYCH CHOROBAK

Inną chorobą, którą można powiązać z wadliwą funkcją TREM2 jest otyłość. Park i wsp. wykazali, że otyłe modele zwierzęce cechują się zwiększoną ekspresją omawianego genu. Aby dokładniej zbadać specyficzną rolę TREM2 w otyłości, przeprowadzono eksperymenty z zastosowaniem myszy transgenicznych (ang. *transgenic*-TG) z nadekspresją TREM2 zarówno w OUN, jak i na obwodzie. Odkryto, że myszy TG były bardziej otyłe i przybierały na wadze szybciej niż myszy typu dzikiego. Ponadto blokowanie sygnalizacji TREM2 powstrzymało rozwój otyłości zarówno u myszy TG jak i dzikich [74][75]. Jednak naukowcy wciąż nie są zgodni co do roli TREM2 w patomechanizmie otyłości. Inne podobne badanie przeprowadzone przez Liu i wsp. doprowadziło do zupełnie odmiennego wniosku. Stwierdzili oni, że to właśnie myszy z obniżoną ekspresją TREM2 wykazywały zwiększoną masę ciała i przerost adipocytów [76].

Co więcej donosi się, że TREM2 może chronić przed rozwojem insulinooporności (ang. *insulin resistance*- IR). Wierzy się, że aktywacja receptorów TLR, może leżeć u podstaw rozwoju IR. Z kolei biorąc pod uwagę hamującą rolę TREM2 w sygnalizacji TLR, prawdopodobnym jest, że ich aktywacja może z kolei hamować rozwój IR. Badania IR na mysich modelach wykazały, że zwierzęta z obniżoną ekspresją TREM2 po stymulacji insuliną, cechowały się wyższym

poziomem glukozy we krwi niż grupy kontrolne poddane takiej samej stymulacji [76].

Kolejną chorobą, w której rolę może odgrywać TREM2 jest niealkoholowe stłuszczenie wątroby (ang. *nonalcoholic fatty liver disease*- NAFLD), które jest jednym z głównych powikłań otyłości. Sądzi się, że NAFLD jest również rodzajem choroby metabolicznej, dlatego też istnieje możliwość jej regulacji za pomocą TREM2. Wykazano, że mysie modele NAFLD z obniżoną ekspresją TREM2 cechują się szybszą progresją choroby i cięższym stłuszczeniem wątroby. Ponadto korzystając z modeli *in vitro* i *in vivo*, Hou i wsp. odkryli, że wątrobowa odpowiedź na przeciążenie lipidami obejmuje częściową, zależną od TREM2 koordynację metaboliczną między hepatocytami i makrofagami. Zauważyli, że makrofagi z niedoborem TREM2 mogą uwalniać egzosomy, które upośledzają strukturę mitochondriów, a tym samym utrudniają dostarczanie energii hepatocytom. Z kolei makrofagi z nadekspresją TREM2 zwiększyły podaż energii w wątrobie ujawniając, że makrofagi wątrobowe z obecnym na błonie TREM2 mogą regulować metabolizm energetyczny hepatocytów podczas NAFLD [77].

PODSUMOWANIE

Choroba Alzheimerera, pomimo dynamicznego rozwoju nauki, dalej pozostaje istotnym problemem klinicznym. Co więcej ze względu na starzejące się społeczeństwo, niedługo problem może stać się znacznie poważniejszy. Z tego względu istnieje potrzeba kontynuacji badań w celu odkrycia właściwej metody leczenia. Odpowiedzią na tę potrzebę, może być rozwój badań nad receptorem TREM2. Niestety mimo rozległych badań pełna sygnalizacja TREM2 jest wciąż niejasna, dlatego próba pełnego zrozumienia fizjologii TREM2, może w przyszłości stanowić prężnie rozwijającą się gałąź badań medycznych. Ważnym krokiem na przód w naszym rozumieniu TREM2 było postawienie hipotezy sugerującej, że TREM2 może działać wieloaspektowo i odgrywa rolę w funkcjach mikrogleju w homeostazie mózgu, czym może wpływać na łagodzenie skutków choroby Alzheimerera.

W tym rozdziale przedstawiono nadzieje związane z terapeutycznym wykorzystaniem receptora TREM2 w rozwoju prac nad metodą leczenia AD. Co więcej ze względu na zróżnicowane funkcje TREM2 istnieje możliwość, że dalsze badania nad omawianym receptorem pozwolą w przyszłości leczyć także inne choroby takie jak otyłość, czy NAFLD. Ponadto zrozumienie szlaku

sygnalizacyjnego TREM2 stwarzałoby szanse na łagodzenie skutków wielu chorób związanych z defektem metabolizmu lipidów.

Obecnie jednak prace prowadzą się jedynie do badań *in vitro* i modeli zwierzęcych. Mimo zadowalających wyników i pokładanych nadziei badania są dalej w bardzo wczesnej fazie. Naukowcy są wciąż dalecy od przeprowadzania jakichkolwiek testów klinicznych

REFERENCJE

- [1] Crous-Bou M, Minguillón C, Gramunt N, et al.: Alzheimer's disease prevention: from risk factors to early intervention. *Alzheimers Res Ther.* 2017;9(1):71. 10.1186/s13195-017-0297-z
- [2] C. P World Alzheimer report 2018. London: Alzheimer's Disease International, 2018.
- [3] Serrano-Pozo A, Frosch MP, Masliah E, Hyman BT. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2011;1(1):a006189. doi:10.1101/cshperspect.a006189
- [4] Bertram L, Lill CM, Tanzi RE. The genetics of Alzheimer disease: back to the future. *Neuron.* 2010;68(2):270-281. doi:10.1016/j.neuron.2010.10.013
- [5] Kanekiyo T, Xu H, Bu G. ApoE and A β in Alzheimer's disease: accidental encounters or partners?. *Neuron.* 2014;81(4):740-754. doi:10.1016/j.neuron.2014.01.045
- [6] Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science.* 1993;261(5123):921-923. doi:10.1126/science.8346443
- [7] Bhattacharjee S, Zhao Y, Dua P, Rogaev EI, Lukiw WJ. microRNA-34a-Mediated Down-Regulation of the Microglial-Enriched Triggering Receptor and Phagocytosis-Sensor TREM2 in Age-Related Macular Degeneration [published correction appears in *PLoS One.* 2016;11(4):e0153292]. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150211. Published 2016 Mar 7. doi:10.1371/journal.pone.0150211

- [8] Bouchon A, Hernández-Munain C, Cella M, Colonna M. A DAP12-mediated pathway regulates expression of CC chemokine receptor 7 and maturation of human dendritic cells. *J Exp Med.* 2001;194(8):1111-1122. doi:10.1084/jem.194.8.1111
- [9] Schmid CD, Sautkulis LN, Danielson PE, et al. Heterogeneous expression of the triggering receptor expressed on myeloid cells-2 on adult murine microglia. *J Neurochem.* 2002;83(6):1309-1320. doi:10.1046/j.1471-4159.2002.01243.x
- [10] Chertoff M, Shrivastava K, Gonzalez B, Acarin L, Giménez-Llort L. Differential modulation of TREM2 protein during postnatal brain development in mice. *PLoS One.* 2013;8(8):e72083. Published 2013 Aug 19. doi:10.1371/journal.pone.0072083
- [11] Forabosco P, Ramasamy A, Trabzuni D, et al. Insights into TREM2 biology by network analysis of human brain gene expression data. *Neurobiol Aging.* 2013;34(12):2699-2714. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.001
- [12] Lue LF, Schmitz CT, Serrano G, Sue LI, Beach TG, Walker DG. TREM2 Protein Expression Changes Correlate with Alzheimer's Disease Neurodegenerative Pathologies in Post-Mortem Temporal Cortices. *Brain Pathol.* 2015;25(4):469-480. doi:10.1111/bpa.12190
- [13] Perez SE, Nadeem M, He B, et al. Neocortical and hippocampal TREM2 protein levels during the progression of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2017;54:133-143. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2017.02.012
- [14] Celarain N, Sánchez-Ruiz de Gordo J, Zelaya MV, et al. TREM2 upregulation correlates with 5-hydroxymethylcytosine enrichment in Alzheimer's disease hippocampus. *Clin Epigenetics.* 2016;8:37. Published 2016 Apr 5. doi:10.1186/s13148-016-0202-9
- [15] Jiang T, Tan L, Zhu XC, et al. Upregulation of TREM2 ameliorates neuropathology and rescues spatial cognitive impairment in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology.* 2014;39(13):2949-2962. doi:10.1038/npp.2014.164

- [16] Peng Q, Malhotra S, Torchia JA, Kerr WG, Coggeshall KM, Humphrey MB. TREM2- and DAP12-dependent activation of PI3K requires DAP10 and is inhibited by SHIP1. *Sci Signal*. 2010;3(122):ra38. Published 2010 May 18. doi:10.1126/scisignal.2000500
- [17] Kleinberger G, Brendel M, Mrcsko E, et al. The FTD-like syndrome causing TREM2 T66M mutation impairs microglia function, brain perfusion, and glucose metabolism. *EMBO J*. 2017;36(13):1837-1853. doi:10.15252/embj.201796516
- [18] Takahashi K, Rochford CD, Neumann H. Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *J Exp Med*. 2005;201(4):647-657. doi:10.1084/jem.20041611
- [19] Yeh FL, Wang Y, Tom I, Gonzalez LC, Sheng M. TREM2 Binds to Apolipoproteins, Including APOE and CLU/APOJ, and Thereby Facilitates Uptake of Amyloid-Beta by Microglia. *Neuron*. 2016;91(2):328-340. doi:10.1016/j.neuron.2016.06.015
- [20] N'Diaye EN, Branda CS, Branda SS, et al. TREM-2 (triggering receptor expressed on myeloid cells 2] is a phagocytic receptor for bacteria. *J Cell Biol*. 2009;184(2):215-223. doi:10.1083/jcb.200808080
- [21] Jaitin DA, Adlung L, Thaiss CA, et al. Lipid-Associated Macrophages Control Metabolic Homeostasis in a Trem2-Dependent Manner. *Cell*. 2019;178(3):686-698.e14. doi:10.1016/j.cell.2019.05.054
- [22] Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, et al. A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell*. 2017;169(7):1276-1290.e17. doi:10.1016/j.cell.2017.05.018
- [23] Kober DL, Brett TJ. TREM2-Ligand Interactions in Health and Disease. *J Mol Biol*. 2017;429(11):1607-1629. doi:10.1016/j.jmb.2017.04.004
- [24] Ulland TK, Song WM, Huang SC, et al. TREM2 Maintains Microglial Metabolic Fitness in Alzheimer's Disease. *Cell*. 2017;170(4):649-663. e13. doi:10.1016/j.cell.2017.07.023
- [25] Wang Y, Cella M, Mallinson K, et al. TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model. *Cell*. 2015;160(6):1061-1071. doi:10.1016/j.cell.2015.01.049

- [26] Otero K, Shinohara M, Zhao H, et al. TREM2 and β -catenin regulate bone homeostasis by controlling the rate of osteoclastogenesis [published correction appears in *J Immunol.* 2012 Jun 1;188(11):5802]. *J Immunol.* 2012;188(6):2612-2621. doi:10.4049/jimmunol.1102836
- [27] Paloneva J, Manninen T, Christman G, et al. Mutations in two genes encoding different subunits of a receptor signaling complex result in an identical disease phenotype [published correction appears in *Am J Hum Genet.* 2003 Jan;72(1):225.]. *Am J Hum Genet.* 2002;71(3):656-662. doi:10.1086/342259
- [28] Guerreiro RJ, Lohmann E, Brás JM, et al. Using exome sequencing to reveal mutations in TREM2 presenting as a frontotemporal dementia-like syndrome without bone involvement. *JAMA Neurol.* 2013;70(1):78-84. doi:10.1001/jamaneurol.2013.579
- [29] Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, et al. TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2013;368(2):117-127. doi:10.1056/NEJMoa1211851
- [30] Slattery CF, Beck JA, Harper L, et al. R47H TREM2 variant increases risk of typical early-onset Alzheimer's disease but not of prion or frontotemporal dementia. *Alzheimers Dement.* 2014;10(6):602-608. e4. doi:10.1016/j.jalz.2014.05.1751
- [31] Cuyvers E, Sleegers K. Genetic variations underlying Alzheimer's disease: evidence from genome-wide association studies and beyond. *Lancet Neurol.* 2016;15(8):857-868. doi:10.1016/S1474-4422(16)00127-7
- [32] Benitez BA, Cooper B, Pastor P, et al. TREM2 is associated with the risk of Alzheimer's disease in Spanish population. *Neurobiol Aging.* 2013;34(6):1711.e15-1711.e17. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2012.12.018
- [33] Finelli D, Rollinson S, Harris J, et al. TREM2 analysis and increased risk of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2015;36(1):546.e9-546.e5.46E13. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.08.001
- [34] Ghani M, Sato C, Kakhki EG, et al. Mutation analysis of the MS4A and TREM gene clusters in a case-control Alzheimer's disease data set. *Neurobiol Aging.* 2016;42:217.e7-217.e13. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2016.03.009

- [35] Yu JT, Jiang T, Wang YL, et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 variant is rare in late-onset Alzheimer's disease in Han Chinese individuals. *Neurobiol Aging*. 2014;35(4):937.e1-937.e9373. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2013.10.075
- [36] Ma J, Zhou Y, Xu J, et al. Association study of TREM2 polymorphism rs75932628 with late-onset Alzheimer's disease in Chinese Han population. *Neurol Res*. 2014;36(10):894-896. doi:10.1179/1743132814Y.0000000376
- [37] Jin SC, Benitez BA, Karch CM, et al. Coding variants in TREM2 increase risk for Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*. 2014;23(21):5838-5846. doi:10.1093/hmg/ddu277
- [38] Colonna M, Wang Y. TREM2 variants: new keys to decipher Alzheimer disease pathogenesis. *Nat Rev Neurosci*. 2016;17(4):201-207. doi:10.1038/nrn.2016.7
- [39] Yuan P, Condello C, Keene CD, et al. TREM2 Haplodeficiency in Mice and Humans Impairs the Microglia Barrier Function Leading to Decreased Amyloid Compaction and Severe Axonal Dystrophy. *Neuron*. 2016;90(4):724-739. doi:10.1016/j.neuron.2016.05.003
- [40] Wang Y, Ulland TK, Ulrich JD, et al. TREM2-mediated early microglial response limits diffusion and toxicity of amyloid plaques. *J Exp Med*. 2016;213(5):667-675. doi:10.1084/jem.20151948
- [41] Jay TR, Hirsch AM, Broihier ML, et al. Disease Progression-Dependent Effects of TREM2 Deficiency in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci*. 2017;37(3):637-647. doi:10.1523/JNEUROSCI.2110-16.2016
- [42] Jay TR, Miller CM, Cheng PJ, et al. TREM2 deficiency eliminates TREM2+ inflammatory macrophages and ameliorates pathology in Alzheimer's disease mouse models. *J Exp Med*. 2015;212(3):287-295. doi:10.1084/jem.20142322
- [43] Lee CYD, Daggett A, Gu X, et al. Elevated TREM2 Gene Dosage Reprograms Microglia Responsivity and Ameliorates Pathological Phenotypes in Alzheimer's Disease Models. *Neuron*. 2018;97(5):1032-1048.e5. doi:10.1016/j.neuron.2018.02.002

- [44] Kleinberger G, Yamanishi Y, Suárez-Calvet M, et al. TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis. *Sci Transl Med.* 2014;6(243):243ra86. doi:10.1126/scitranslmed.3009093
- [45] Ma L, Allen M, Sakae N, et al. Expression and processing analyses of wild type and p.R47H TREM2 variant in Alzheimer's disease brains. *Mol Neurodegener.* 2016;11(1):72. Published 2016 Nov 25. doi:10.1186/s13024-016-0137-9
- [46] Yin J, Liu X, He Q, Zhou L, Yuan Z, Zhao S. Vps35-dependent recycling of Trem2 regulates microglial function. *Traffic.* 2016;17(12):1286-1296. doi:10.1111/tra.12451
- [47] Bailey CC, DeVaux LB, Farzan M. The Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 Binds Apolipoprotein E. *J Biol Chem.* 2015;290(43):26033-26042. doi:10.1074/jbc.M115.677286
- [48] Atagi Y, Liu CC, Painter MM, et al. Apolipoprotein E Is a Ligand for Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2 (TREM2). *J Biol Chem.* 2015;290(43):26043-26050. doi:10.1074/jbc.M115.679043
- [49] Zajkowicz A, Gdowicz-Kłosok A, Krześniak M, Janus P, Łasut B, Rusin M. The Alzheimer's disease-associated TREM2 gene is regulated by p53 tumor suppressor protein. *Neurosci Lett.* 2018;681:62-67. doi:10.1016/j.neulet.2018.05.037
- [50] Ulland TK, Song WM, Huang SC, et al. TREM2 Maintains Microglial Metabolic Fitness in Alzheimer's Disease. *Cell.* 2017;170(4):649-663. e13. doi:10.1016/j.cell.2017.07.023
- [51] Mazaheri F, Snaidero N, Kleinberger G, et al. TREM2 deficiency impairs chemotaxis and microglial responses to neuronal injury. *EMBO Rep.* 2017;18(7):1186-1198. doi:10.15252/embr.201743922
- [52] Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, et al. A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell.* 2017;169(7):1276-1290.e17. doi:10.1016/j.cell.2017.05.018
- [53] Krasemann S, Madore C, Cialic R, et al. The TREM2-APOE Pathway Drives the Transcriptional Phenotype of Dysfunctional Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Immunity.* 2017;47(3):566-581.e9. doi:10.1016/j.immuni.2017.08.008

- [54] Leyns CEG, Ulrich JD, Finn MB, et al. TREM2 deficiency attenuates neuroinflammation and protects against neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(43):11524-11529. doi:10.1073/pnas.1710311114
- [55] Jiang T, Tan L, Zhu XC, et al. Silencing of TREM2 exacerbates tau pathology, neurodegenerative changes, and spatial learning deficits in P301S tau transgenic mice. *Neurobiol Aging*. 2015;36(12):3176-3186. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2015.08.019
- [56] Bemiller SM, McCray TJ, Allan K, et al. TREM2 deficiency exacerbates tau pathology through dysregulated kinase signaling in a mouse model of tauopathy. *Mol Neurodegener*. 2017;12(1):74. Published 2017 Oct 16. doi:10.1186/s13024-017-0216-6
- [57] Strike SC, Carlisle A, Gibson EL, Dyall SC. A High Omega-3 Fatty Acid Multinutrient Supplement Benefits Cognition and Mobility in Older Women: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Pilot Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2016;71(2):236-242. doi:10.1093/gerona/glv109
- [58] Lee LK, Shahar S, Chin AV, Yusoff NA. Docosahexaenoic acid-concentrated fish oil supplementation in subjects with mild cognitive impairment (MCI): a 12-month randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Psychopharmacology (Berl)*. 2013;225(3):605-612. doi:10.1007/s00213-012-2848-0
- [59] Qin Z, Gu M, Zhou J, et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 activation downregulates toll-like receptor 4 expression and ameliorates cognitive impairment in the A β 1-42 -induced Alzheimer's disease mouse model. *Synapse*. 2020;74(10):e22161. doi:10.1002/syn.22161
- [60] Wang Y, Cella M, Mallinson K, et al. TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model. *Cell*. 2015;160(6):1061-1071. doi:10.1016/j.cell.2015.01.049
- [61] Bouchon A, Hernández-Munain C, Cella M, Colonna M. A DAP12-mediated pathway regulates expression of CC chemokine receptor 7 and maturation of human dendritic cells. *J Exp Med*. 2001;194(8):1111-1122. doi:10.1084/jem.194.8.1111

- [62] Takahashi K, Prinz M, Stagi M, Chechneva O, Neumann H. TREM2-transduced myeloid precursors mediate nervous tissue debris clearance and facilitate recovery in an animal model of multiple sclerosis. *PLoS Med.* 2007;4(4):e124. doi:10.1371/journal.pmed.0040124
- [63] Price BR, Sudduth TL, Weekman EM, et al. Therapeutic Trem2 activation ameliorates amyloid-beta deposition and improves cognition in the 5XFAD model of amyloid deposition. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):238. Published 2020 Aug 14. doi:10.1186/s12974-020-01915-0
- [64] FitzNF, NamKN, WolfeCM, et al. Phospholipids of APOE lipoproteins activate microglia in an isoform-specific manner in preclinical models of Alzheimer's disease. *Nat Commun.* 2021;12(1):3416. Published 2021 Jun 7. doi:10.1038/s41467-021-23762-0
- [65] Ruganzu JB, Zheng Q, Wu X, et al. TREM2 overexpression rescues cognitive deficits in APP/PS1 transgenic mice by reducing neuroinflammation via the JAK/STAT/SOCS signaling pathway. *Exp Neurol.* 2021;336:113506. doi:10.1016/j.expneurol.2020.113506
- [66] Sheng L, Chen M, Cai K, et al. Microglial Trem2 induces synaptic impairment at early stage and prevents amyloidosis at late stage in APP/PS1 mice. *FASEB J.* 2019;33(9):10425-10442. doi:10.1096/fj.201900527R
- [67] Cramer PE, Cirrito JR, Wesson DW, et al. ApoE-directed therapeutics rapidly clear β -amyloid and reverse deficits in AD mouse models. *Science.* 2012;335(6075):1503-1506. doi:10.1126/science.1217697
- [68] Savage JC, Jay T, Goduni E, et al. Nuclear receptors license phagocytosis by trem2+ myeloid cells in mouse models of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2015;35(16):6532-6543. doi:10.1523/JNEUROSCI.4586-14.2015
- [69] Griciuc A, Patel S, Federico AN, et al. TREM2 Acts Downstream of CD33 in Modulating Microglial Pathology in Alzheimer's Disease. *Neuron.* 2019;103(5):820-835.e7. doi:10.1016/j.neuron.2019.06.010

- [70] Lefterov I, Schug J, Mounier A, Nam KN, Fitz NF, Koldamova R. RNA-sequencing reveals transcriptional up-regulation of Trem2 in response to bexarotene treatment. *Neurobiol Dis.* 2015;82:132-140. doi:10.1016/j.nbd.2015.05.019
- [71] Konishi H, Kiyama H. Microglial TREM2/DAP12 Signaling: A Double-Edged Sword in Neural Diseases. *Front Cell Neurosci.* 2018;12:206. Published 2018 Aug 6. doi:10.3389/fncel.2018.00206
- [72] Tesseur I, Lo AC, Roberfroid A, et al. Comment on "ApoE-directed therapeutics rapidly clear β -amyloid and reverse deficits in AD mouse models". *Science.* 2013;340(6135):. doi:10.1126/science.1233937
- [73] Tachibana M, Shinohara M, Yamazaki Y, et al. Rescuing effects of RXR agonist bexarotene on aging-related synapse loss depend on neuronal LRP1. *Exp Neurol.* 2016;277:1-9. doi:10.1016/j.expneurol.2015.12.003
- [74] Park M, Yi JW, Kim EM, et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM2) promotes adipogenesis and diet-induced obesity. *Diabetes.* 2015;64(1):117-127. doi:10.2337/db13-1869
- [75] Fujimoto S, Goda T, Mochizuki K. In vivo evidence of enhanced di-methylation of histone H3 K4 on upregulated genes in adipose tissue of diabetic db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;404(1):223-227. doi:10.1016/j.bbrc.2010.11.097
- [76] Liu C, Li P, Li H, et al. TREM2 regulates obesity-induced insulin resistance via adipose tissue remodeling in mice of high-fat feeding. *J Transl Med.* 2019;17(1):300. Published 2019 Sep 2. doi:10.1186/s12967-019-2050-9
- [77] Hou J, Zhang J, Cui P, et al. TREM2 sustains macrophage-hepatocyte metabolic coordination in nonalcoholic fatty liver disease and sepsis. *J Clin Invest.* 2021;131(4):e135197. doi:10.1172/JCI135197

BIAŁKO TAU - POSTĘP STRATEGII W LECZENIU CHOROBY ALZHEIMERA

**Robert Kasza, Lidia Ziętek, Monika Mielcarek,
Sara Salam, Julia Hagno**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Demencja, zaburzenia otępienne to jednostki chorobowe, które utrudniają znacznie chorym codzienne funkcjonowanie, a także mogą w szczególnych przypadkach narażać ich oraz ich bliskich na niebezpieczeństwo. Ze względu na starzejące się społeczeństwo, szacuje się, iż liczba pacjentów z chorobą Alzheimera wzrośnie dwukrotnie do 2050 r. Ta przewlekle postępująca choroba, w której chorzy tracą osobowość i orientację oraz zapominają o podstawowych rzeczach, zainteresowała wielu lekarzy, którzy zaczęli obserwować jej przebieg i objawy. Rozwój nowych metod badawczych tj. mikroskop elektronowy czy badania histologiczne, umożliwiły dokładniejsze badanie anatomii mózgu i poznawanie patomechanizmu tego schorzenia. Dziś badania wskazują na istnienie dwóch kluczowych struktur biorących udział w patofizjologii choroby Alzheimera – β -amyloidu oraz białka tau. Nagromadzenie amyloidu w płytkach nerwowych oraz splątki fibrylarne powstałe wskutek odkładania się białka tau w cytoplazmie neuronów, prowadzą do neurodegeneracji. Do tychczas nie istnieje lek, dający szansę na całkowicie wyleczenie. Obecna farmakoterapia chorych skupia się na leczeniu objawowym, która w pewnym stopniu i do pewnego czasu pozwala na lepszy komfort życia. Naukowcy dążą do stworzenia terapii, która będzie ograniczała powstawanie zmian neurodegeneracyjnych oraz cofała te, które zdążyły się utworzyć. Celem tej pracy jest przybliżenie tematu patofizjologii choroby Alzheimera, a zwłaszcza zaprezentowanie białka tau i jego roli w toczących się patomechanizmach oraz przedstawienie aktualnych badań i postępów w leczeniu chorych na chorobę Alzheimera.

Słowa kluczowe: AD, białko tau, Choroba Alzheimera, demencja

Abstract: Dementia is a dementing disorder that makes it difficult for the patient to function and may, in special cases, expose them and his family causing them to danger. Due to the aging society, it is estimated that the number of patients with Alzheimer's disease will double by 2050. This chronically progressive disease, in which patients lose their personality and orientation and forget about basic things, interested many doctors who began to observe its course and symptoms. The development of new research methods, such as electron microscopy and histological examinations, have enabled a more detailed examination of brain structures and the pathomechanism of this

disease. Today, research indicates the existence of two key structures involved in the pathophysiology of Alzheimer's disease - β -amyloid and tau protein. The accumulation of amyloid in neural plates and fibrillary tangles resulting from the deposition of tau protein in the cytoplasm of neurons lead to neurodegeneration. So far, there is no medicine that can provide a complete cure. Current pharmacotherapy of patients focuses on symptomatic treatment, which, to some extent and for some time, allows for a better quality of life. Scientists are striving to create a therapy that will limit the occurrence of neurodegenerative changes and reverse those that have already formed. The aim of this work is to present the topic of the pathophysiology of Alzheimer's disease, in particular to present the tau protein and its role in ongoing pathomechanisms, as well as to present current research and progress in the treatment of patients with Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's disease, AD, dementia, tau protein

ZABURZENIA DEMENCYJNE W CHOROBIE ALZHEIMERA

Zaburzenia poznawcze, utrata pamięci, otępienie, zmiany osobowości i nastroju towarzyszyły ludzkości od wieków. Obecnie wszystkie te objawy składają się na obraz konkretnej jednostki chorobowej, jaką jest choroba Alzheimera (z ang. *Alzheimer Disease, AD*). Przyczyną rozwoju AD jest przewlekła choroba zwyrodnieniowa mózgu, która na ten moment jest nieuleczalna, a wprowadzone leczenie, zarówno farmakologiczne jak i prewencyjne, spowalnia jedynie postęp choroby.

AD jest najczęstszym zespołem wśród zespołów otępiennych u osób po 65 r.ż. i stanowi od 50% do nawet 60-75% przypadków w skali światowej [1]. W 2019 r. WHO odnotowało 55 mln przypadków AD na całym świecie [2], w Ameryce szacuje się 6,7 mln chorych powyżej 65 r.ż. [3], w Europie liczba ta wynosi niecałe 8,7mln [2]. W Polsce ponad 500 tys. osób żyje z otępieniem, zaś 300 tys. choruje na AD. Ze względu na starzejące się społeczeństwo, prognozuje się, iż liczba chorych na świecie na AD wzrośnie dwukrotnie do 2050 r., a w Polsce czterokrotnie [2-4]. Ryzyko zachorowania u osób powyżej 65 r.ż. wynosi ok 3%, a liczba ta podwaja się co kolejne 5 lat. Kobiety mają dwukrotnie wyższą częstość zachorowania na AD niż mężczyźni, na co wpływa wiele czynników, zarówno niemodyfikowalnych tj. hormony, wiek czy dziedziczenie genetyczne jak i modyfikowalnych tj. styl życia, dieta czy stosowanie używek [5]. Obecnie wiadomo, iż kluczową rolę w patogenezie odgrywają kompleksy β -amyloidu i białka tau. W tym przeglądzie skupimy się dokładniej na roli białka tau w patomechanizmie choroby i możliwym leczeniu.

Historia demencji

Początkowo objawy zespołu Alzheimerera nie miały swojego medycznego uzasadnienia i łączono je głównie z procesem starzenia. Grecy uczeni Hipokrates oraz Klaudiusz Galen uważali, że przyczyną demencji są uszkodzenia mózgu z pierwotnego bądź wtórnego patologicznego procesu innego narządu [6]. Słowo „demencja” (z łac. *Demens*, oznacza z zewnątrz) pierwotnie oznaczało szaleństwo i wyobcowanie. Słowo to po raz pierwszy zostało użyte w Traktacie Medycznym z roku 30 p.n.e. napisanym między innymi przez Aulusa Celsusa, Galena i Areteusza z Kapadocji [7]. Pod koniec II w. n.e. ostatni z nich opisał różnice między zaburzeniami ostrymi i przewlekłymi. Dostrzegł, iż ostre zaburzenia są procesem krótkotrwałym i przemijającym, zaś przewlekłe trwają dłuższy okres, postępują i są nieodwracalne [8].

Fizjologia demencji przez wiele wieków nie została odkryta, a wielcy uczeni określali ją jedynie innymi stwierdzeniami, którym przypisywali dodatkowe obserwacje [6]. Pod koniec XIII w. lekarz Philippe Pinel, twórca współczesnej psychiatrii, dokonał klasyfikacji zaburzeń neurologicznych na pięć grup, w których osobną kategorię ustanowił zaburzeniami pod postacią demencji. Określił je jako: „całkowite zapomnienie o jakimkolwiek wcześniejszym stanie, uprzedzenia w ocenie, powtarzające się akty ekstrawagancji, a wszystko to w krótkim odstępie czasu lub w postaci nieprzerwanej zmiany izolowanych idei” [9].

1. połowa XIX w. była okresem upadku pojęcia demencji jako osobnej jednostki chorobowej. Europejscy lekarze, a wśród nich Alois Alzheimer, przyporządkowali wszelkie objawy neurodegeneracyjne jednej jednostce psychiatrycznej – szaleństwu (końcowe stadium demencji) [9]. Dopiero w 2. połowie lekarze zaczęli zgłębiać temat otępienia i łączyć wcześniejsze pojęcia, tj.: pseudootępienie melancholijne, osłupienie, zaburzenia poznawcze, psychoza, w jedno ogólne pojęcie - „grupa otępień starczych i miażdżycowych”. W tym okresie za sprawą Jeana-Martina Charcota rozwinęły się techniki badań histologicznych, co umożliwiło dokładniejsze badanie procesu starzenia się. W wieku XIX kluczowe dla poznania etiologii chorób psychicznych były odkrycia Paula Broca, Franz Josepha Gall, Richarda S. Boyle’a, Jean’a-Etienne Dominique Esquirola czy Emila Kraepelina [6,9–12]. Ostatni z nich przeprowadził badanie kliniczne z trzema odrębnymi grupami badawczymi – pacjentów w katatonii, heberfencji oraz paranoi. Kraepelin wykazał, że grupy te są postacią kliniczną jednej i tej samej choroby, co przyczyniło się do rozgraniczenia wczesnej demencji (obecnie schizofrenii) od innych form (paralitycznej i organicznej) [11,13]. Prosper Lucas i Benedict

Morel przedstawili koncepcje dziedziczności, zaś Morel powiązał patofizjologię demencji ze swoją „teorią zwyrodnienia”. Obaj autorzy w swych pracach twierdzili, że demencja może być przekazana potomstwu [6,14,15]. Odkrycia przed XX w. pozwoliły na opisanie klinicznej postaci otępienia starczego i wstępną jej klasyfikację jako jednostkę przewlekłą.

Znaczenie demencji w XX i XXI wieku

Wraz z początkiem XX w. nastąpił rozwój w zakresie chorób naczyniowych, co dało nowy pogląd na patofizjologię demencji. Wcześniej wspomniany niemiecki neurolog Alois Alzheimer w 1901 r. zidentyfikował objawy choroby u 51-letniej kobiety Auguste Deter. Mąż Deter zaniepokojony o stan swojej małżonki, zgłosił doktorowi zmiany zachowania, utraty pamięci, majaczenia. Stwierdził również, że żona nie jest w stanie sama funkcjonować. Po śmierci kobiety w 1906 r., Alzheimer przeprowadził badanie histopatologiczne jej mózgu, w którym zaobserwował zwyrodnienia neurofibrilarnych oraz blaszki starcze [6,16]. Od tamtej pory Alzheimer zaczął prowadzić dokładniejsze badania nad chorobą, którą nazwał swoim nazwiskiem.

Lata 60 XX w. były kolejnym kamieniem milowym do zgłębiania AD. Pojawienie się nowych narzędzi badawczych tj. mikroskop elektronowy oraz rozwój metod histochemicznych, histologicznych i biochemicznych, zachęciły lekarzy w Europie do prowadzenia badań i obserwacji nad chorymi. Martin Roth, Garry Blessed i Bernard Evans Tomlinson w Newcastle próbowali wykazać związek między liczbą płytek starczych, a rozwojem AD [6,17]. Wyniki badań były zdumiewające. Dowiedli, iż pogorszenie stanu pacjenta było proporcjonalne do ilości zmian zwyrodnieniowych w mózgu i tylko w 15% przypadków podłożem były zmiany miażdżycowe [6]. Niestety dalsze obserwacje pacjentów przyczyniły się do powstawania nowych jednostek chorobowych, które nie były w pełni powiązane z chorobą Alzheimera, ale obraz kliniczny był podobny. Ponadto nowe i bardziej szczegółowe opisy wcześniej poznanych chorób neurodegeneracyjnych tj.: choroby Parkinsona [18], choroby Huntingtona [19] czy otępienie z ciałami Lewy'ego [20], sprawiły, iż koncepcja AD stała się niekompletna i mało specyficzna.

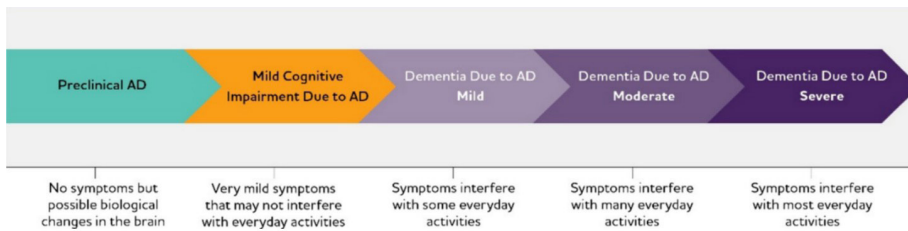
W 1952 r. opublikowano pierwsze wydanie DSM-I, czyli Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, w którym pominięto opis demencji. Dopiero kolejne odsłony uwzględniły to schorzenie, dzieląc je na przedstarcze i starcze [6]. DSM-V jest najnowszym wydaniem i zostały w nim wprowadzone istotne zmiany w tej tematyce. Termin „demencja” został zastąpiony terminem

„poważne zaburzenia neurokognitywne”, natomiast termin „łagodne zaburzenia poznawcze” (*ang. mild cognitive impairment, MCI*) zamieniono na „łagodne zaburzenia neurokognitywne” (*ang. mild neurocognitive disorder, MNCD*) i stanowią etap przejściowy między starzeniem się, a demencją. Według DSM-V, demencje należy rozpoznać po stwierdzeniu pogorszenia się funkcji poznawczych w stosunku do poprzedniego poziomu sprawności [6,21].

Obecnie kontrolę nad diagnostyką i funkcjonowaniem AD pełni Krajowy Instytut ds. Starzenia się i Alzheimerera (NIA-AA) oraz Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne (APA). Narodowy Instytut Zaburzeń Neurologicznych i Komunikacyjnych oraz Udaru mózgu (NINCDS) wraz z Stowarzyszeniem Chorób Alzheimerera i Pokrewnych Zaburzeń (ADRDA) w 1984 r. ustalili pierwotny zestaw kryteriów klinicznych w celu diagnostyki AD, który zmieniał się na przestrzeni lat. Dotychczas tworzą oni kryteria, które służą do rozpoznawania i leczenia choroby Alzheimerera [6].

PRZEBIEG I ROZWÓJ CHOROBY ALZHEIMERA

Rozwój (kontinuum) choroby Alzheimerera możemy podzielić na 3 fazy: przedkliniczna choroba Alzheimerera, łagodne zaburzenia poznawcze (MCI) spowodowane chorobą Alzheimerera oraz otępienie spowodowane chorobą Alzheimerera, nazywane również otępieniem alzheimerowskim. Schematyczny przebieg choroby przedstawia rycina nr 1 [3].



Rycina 1. Kontinuum choroby Alzheimerera [3]

Faza przedkliniczna jest okresem, w którym dochodzi do rozwoju zwyrodnienia i zmian neuronalnych. Objawy mogą nie występować, lecz badania laboratoryjne oraz obrazowe mogą uwidocznic zmiany np. nieprawidłowy poziom β -amyloidu, zmiany stężenie białka Tau, zmniejszony metabolizm glukozy w badaniu PET. Etap ten jest trudny do wczesnej diagnostyki ze względu na brak lub nieswoistość objawów podmiotowych [3].

Faza MCI jest możliwa do wykrycia przez członków rodziny. Zmiany w mózgowiu rozwijają się i w dalszym stopniu są możliwe do obrazowania. Kluczowym w rozpoznaniu jest wystąpienie objawów tj. problemy z pamięcią, mową czy myśleniem. Wśród chorych z MCI w 15% rozwija się demencja po dwóch latach. Ze względu na rozwój zmian neurodegeneracyjnych i pogorszenie funkcji poznawczych, pacjenci w większości nie wracają do normalnego funkcjonowania [3].

Faza otępienia dzieli się na 3 stadia zależne od nasilenia objawów: łagodna, umiarkowana oraz ciężka. W tej fazie objawy są zauważalne (pogłębienie zaburzeń pamięci, mowy i zachowania) i związane z poważnymi zmianami z mózgu. Oznaczanie biomarkerów, diagnostyka obrazowa i stan kliniczny pacjenta pozwala na klasyfikację chorego do 3 stadiów otępienia, począwszy od samodzielnego funkcjonowania, poprzez wieloletnie pogłębianie zaburzeń funkcji poznawczych, kończąc na utracie zdolności do komunikacji z otoczeniem. Pacjent w ostatnim ciężkim stadium otępienia może wymagać całodobowej opieki, ze względu na niebezpieczeństwo jakie stwarza sobie oraz bliskim w otoczeniu [3].

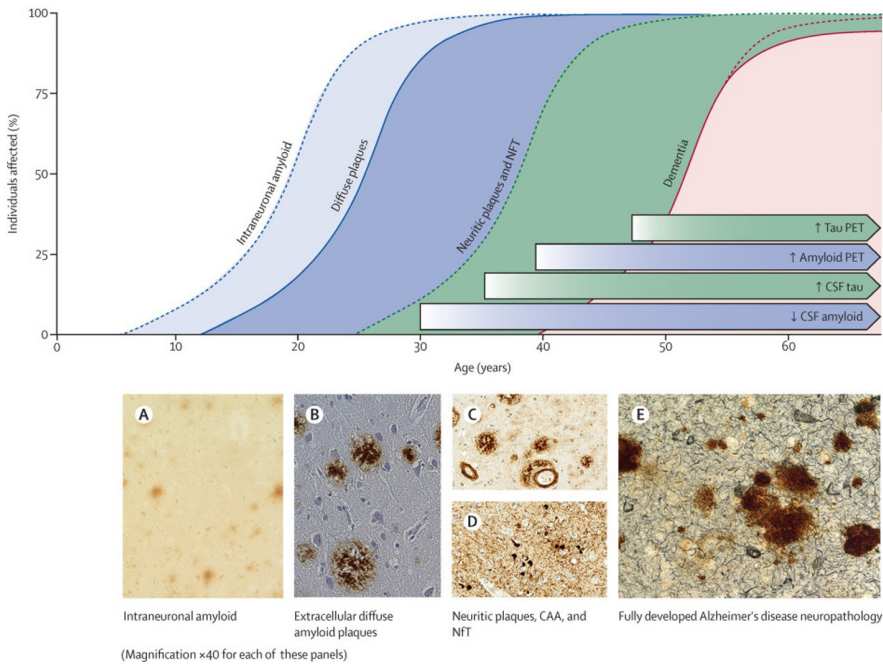
Patofizjologia

Główną rolę w patogenezie choroby Alzheimera odgrywiają nieprawidłowe płytki nerwowe z powodu nagromadzenia się β -amyloidu oraz splątki neurofibrilarne (sploty neurofibrilarne, *ang. neurofibrillary tangles*, NFTs), wskutek odkładania się białka Tau w cytoplazmie neuronów.

β -amyloid to peptyd oddzielany od białka prekursorowego amyloidu (z *ang. amyloid precursor protein, APP*) przez sekretazy alfa, beta i gamma. Cięcia APP przez jednostkę alfa i beta nie dają toksycznych form peptydu, jednakże zmiana sekwencji cięcia, prowadzi do powstania amyloidu złożonego z 42 aminokwasów. Patologie w procesie cięcia APP prowadzą do agregacji β -amyloidu 42 i powstania włóknistego białka amyloidowego w okolicach naczyń oponowych i mózgowych oraz istoty szarej. Geny warunkujące prawidłowe funkcjonowanie APP znajdują się na chromosomie 21, co jest związane z rodzinną AD [22]. Wszelkie choroby związane z aberracjami chromosomowymi zwiększają ryzyko rozwoju AD. Przykładowo u pacjentów z zespołem Downa ryzyko rozwoju choroby Alzheimera wynosi ponad 88% po 65 r.ż. [23].

Białka tau (*ang. microtubule associated protein tau, MAPT*) odpowiadają za stabilizację włókien mikrotubul aksonalnych odpowiedzialnych za transport wewnątrzkomórkowy. W wyniku nagromadzenia się β -amyloidu, dochodzi do hiperfosforylacji białek tau, które zaczynają tworzyć agregaty i skręcać się w postać

spiralnych włókien, nazywanych splątkami neurofibrylarnymi. Początkowo splątki te występują w hipokampie. Wraz z rozwojem choroby obejmują całą korę mózgu. Przemiany białka tau są silniej powiązane z AD niż płytki β -amyloidowe. Na podstawie dotychczasowych badań sugeruje się, że akumulacja β -amyloidu stanowi poprzedzające zdarzenie patofizjologiczne i może działać jako czynnik wyzwalający kolejne szlaki molekularne, w tym nieprawidłowe fałdowanie białka tau, toksyczność wynikająca z jego działania, procesy agregacji oraz rozprzestrzenianie się MAPT, prowadzące do neurodegeneracji kory mózgowej [24–27]. W jednym z badań odkryto, iż zmniejszenie poziomów endogennego białka tau zapobiegło wystąpieniu zmian behawioralnych u myszy transgenicznych, wykazujących ekspresję ludzkiego białka prekursorowego amyloidu, bez wpływu na intensywność gromadzenia się β -amyloidu. Sugeruje to, że procesy tworzenia się agregatów białka tau mogą stanowić podstawę procesy neurodegeneracyjnych w przebiegu choroby Alzheimera [28].



Rycina 2. Nagromadzenie amyloidu u chorych na AD z zespołem Downa w ciągu życia. A-amyloid międzyneuronalny, B-Zewnątrzkomórkowe rozproszone płytki amyloidowe, C-Płytki neurotyczne, D-W pełni rozwinięta neuropatologia choroby Alzheimera [23]

Istnieje sześćoetapowy podział topograficzny występowania i lokalizacji splotów utworzony przez Braaka, który służy jako jeden z kryteriów rozpoznania AD [22]. W pierwszym etapie obecność splotów neufibrylarnych stwierdza się w korze transrinalnej, w etapie drugim sięgają one do kory entorinalnej, natomiast w trzecim występują one w hipokampie. Czwarty etap, określane już jako łagodne nasilenie objawów patologii związanej z chorobą Alzheimera, charakteryzuje się obecnością splotów w korze nowej płata skroniowego, natomiast stadium piąte i szóste wykazuje cechy nasilenia procesów patofizjologicznych i obecności NFT także w pierwotnej korze wzrokowej. Warto dodać, że skala utworzona przez Heiko Braaka opiera się na potwierdzeniu występowania splotów neurofibrylarnych w określonym regionie tkanki mózgowej, więc nie jest to podział oparty na ilościowej ocenie białka tau w tkankach [29].

Rola białka Tau

Białko tau, należące do grupy białek regulacyjnych związanych z mikrotubulami (ang. *MT-associated protein*, MAP) jest zbudowane z 352-441 aminokwasów. Pierwszy raz zostało zidentyfikowane w 1975 roku przez Weingartena i wsp., jako termostabilne białko niezbędne dla odpowiedniego rusztowania mikrotubul [30]. Gen białka tau, zlokalizowany na chromosomie 17, składa się z 16 eksonów. U człowieka udało się zidentyfikować sześć izoform białka tau, zbudowanych z od 352 do 441 reszt aminokwasowych, które pochodzą z pojedynczego genu MAPT powstające drogą alternatywnego składowania RNA. Występują one głównie w neuronach i zlokalizowanych głównie w aksonie. Warianty te różnią się między sobą obecnością trzech lub czterech powtórzeń w C-końcowej części cząsteczki oraz brakiem lub obecnością jednej lub dwóch wstawek, składających się z 29 lub 58 aminokwasów w części N-końcowej cząsteczki [31–34].

Białko tau to hydrofilowe, o zwiniętej strukturze białko, związane z mikrotubulami, którego funkcją jest ich stabilizacja, a także tworzenie szlaków między MT a innymi elementami lub białkami cytoszkieletu. Jak powszechnie wiadomo, mikrotubule odgrywają ważną rolę w tworzeniu sieci włóknistych struktur białkowych komórek i transporcie między nimi. Białko tau w tym procesie początkowo wiąże się z MT, następnie ulega fosforylacji przez kinazy, przez co dochodzi do krótkotrwałego rozłączenia powstałego kompleksu, aż do czasu defosforylacji przez fosfatazy. Te zachodzące cykle rozłączania i łączenia kompleksu MT z MAPT odgrywają istotną rolę w transporcie aksonalnym [35]. Istnieją badania, które wykazały, że białko tau może oddziaływać, w sposób pośredni lub

bezpośredni, z aktyną, a także wpływać na procesy polimeryzacji na aktynę oraz na oddziaływanie włókien aktynowych z mikrotubulami [36–38].

Niedawno odkryto również, że różne formy białka tau biorą udział w regulacji funkcji mitochondriów oraz procesach apoptycznych. W wyniku tych działań dochodzi do zaburzenia równowagi, nadprodukcji reaktywnych form tlenu, a nawet modyfikacji potranslacyjnych białek w całej komórce, co może skutkować procesami neurodegeneracyjnymi. Białko tau ma także zdolność do samoistnej agregacji w procesach patologicznych, co można zauważyć w tkance mózgu chorych na chorobę Alzheimera. Tworzy tam sploty neurofibrylarne, przypominające dwie wstążki o skrętej strukturze w odstępach między skrzyżowaniami wynoszącym około 80 nm i szerokości zawartej pomiędzy 10 a 20 nm. Ich rozprzestrzenianie w mózgu według badań *in vitro* jest wzmagane przez aktywność neuronów [39,40]. W związku z tym białko tau zalicza się do grupy białek zdolnych do zmienności konformacyjnej i tworzenia form kumulacyjnych. Do grupy tej zaliczają się także takie białka jak amyloid β , α -synukleina i białko prionowe. Nieprawidłowe odkładanie zmodyfikowanych białek tau w komórkach neuronów jest charakterystycznym objawem dla wielu chorób neurodegeneracyjnych nazywanych „tauopatią” [41–44]. Na rycinie 3 przedstawiono tabelę, charakteryzującą najczęściej występujące tauopatie.

Nazwa	Typ	Typowe zaburzenia poznawcze	Zaburzenia poruszania
Dominująca patologia związana z białkiem tau			
Choroba Picka	Zanki czołowe, ciała Picka	Zaburzenia funkcji wykonawczych, PNFA, SD	Rzadko
FTDP-17	Zróznicowane, zanki czołowe z często spotykanymi neuronalnymi i glejowymi inkluzjami tau-pozytywnymi	Zespół czołowy	Parkinsonizm
PSP	Zwyrodnienie neurofibrylarne w zwłocach podstawy, międzymózgowiu i pniu mózgu	Zaburzenia funkcji wykonawczych	Oftalmoplegia nadjądrowa upadki, parkinsonizm
CBD	Zanki ciemieniowo-czołowy lub czołowo-skronowy, zblednięcie istoty czarnej, depozyty białka tau	Korowe zaburzenia czucia, apraksja	Asymetryczny zespół akinetyczno-szywnościowy
Otępienie ze zmianami argentofilnymi	Korowe i podkorowe zmiany ziarniste w neuropilu	Zaburzenia pamięci i osobowości (otępienie limbiczne)	Brak
Związane z odkładaniem amyloidu			
Choroba Alzheimera	Zanki hipokampalne i środkowych części płata skroniowego, blaszki amyloidowe, zwyrodnienie neurofibrylarne	Zaburzenia amnestyczne, korowe	Rzadko
Zespół Downa	Zanki hipokampalne i środkowych części płata skroniowego, blaszki amyloidowe, zwyrodnienie neurofibrylarne	Zaburzenia amnestyczne, korowe	Rzadko
Otępienie bokserskie	Depozyty amyloidu i zwyrodnienia neurofibrylarne w korze i obszarach podkorowych	Zaburzenia amnestyczne, korowe (w następstwie urazów mózgu u bokserów)	Parkinsonizm

PNFA – postępująca atazja bez płynności mowy, SD – otępienie semantyczne, FTDP-17 – otępienie czołowo-skronowe z parkinsonizmem sprzężone z chromosomem 17, PSP – postępujące porażenie nadjądrowe, NFT – zwyrodnienie neurofibrylarne, CBD – zwyrodnienie korowo-podstawne, A β – β -amyloid

Desai AK, Chand P. Primary Psychiatry. Vol 16, No 7, 2009.

Rycina 3. Tabela przedstawiająca najbardziej rozpowszechnione tauopatie [44]

W warunkach fizjologicznych MAPT jest fosfoproteiną, której aktywność biologiczna jest regulowana stopniem fosforylacji. Zachodzące procesy

fosforylacji mogą kontrolować i wpływać na prawidłowe funkcje biologiczne tau, takie jak jego rola w stabilizacji mikrotubul, a także na jej funkcje patologiczne, takie jak zdolność do samoorganizacji we włókna neuronowe, która występuje w chorobach neurodegeneracyjnych. Białko tau, ulegające zmianie w strukturę nieprawidłową, podlega różnym modyfikacjom potranslacyjnym, takim jak glikozylacja, rozszczepienie, nitrowanie, ubikwitynacja czy hiperfosforylacja. W stanach patologicznych białko tau może również ulegać nieprawidłowej fosforylacji, co potwierdzono, przez odkrycie w białku obecnym w NFT specyficznych miejsc fosforylacji, nieobecnych w prawidłowych komórkach nerwowych. Obszary te, znane jako epitopy niefizjologiczne można uwidocznić za pomocą specyficznych przeciwciał, takich jak AT100, AP422, 988, PHF-27 lub przeciwciała TG/MC (tj. TG3), które rozpoznają pThr212/pSer214 [31].

Przez pewien czas uważano, że tylko nieprawidłowa fosforylacja odpowiada za patologiczną agregację włókien, jednak jest to nieprawdziwa teza, ponieważ wiadomo już, że prawidłowo funkcjonujące białko tau również ulega procesom fosforylacji, zarówno w komórkach dojrzałych organizmów, jak i płodów, gdzie jest to zjawisko fizjologiczne. Jednak w badaniach tkanek mózgu osób cierpiących na chorobę Alzheimera odkryto, że poziom fosforylacji tau jest od 3 do 4 razy wyższe niż u normalnego człowieka. Może to sugerować, iż hiperfosforylacja wydaje się być wiodącym przyczyną śmierci neuronów u chorych z AD [45].

Jak wcześniej wspomniano ostatnie badania nad chorobą Alzheimera (AD) sugerują, że białka tau mogą się rozprzestrzeniać w mózgu poprzez połączenia neuronowe. W proces ten zaangażowane są różne mechanizmy, m.in. połączenie funkcjonalne, które umożliwiają rozprzestrzenianie się między obszarami mózgu, które silnie na siebie oddziałują, a także poprzez połączenia strukturalne (anatomiczne) czy prostą dyfuzję. W opublikowanym w 2023 badaniu sprawdzano przy zastosowaniu z magnetoencefalografii (MEG) wpływ różnych typów połączeń sieciowych na rozprzestrzenianie się patologii tau w różnych stadiach choroby Alzheimera, tj. przedklinicznej choroby Alzheimera, łagodnych zaburzeń poznawczych spowodowanych przez AD i otępienie spowodowane AD. Autorzy potwierdzili swoją tezę, iż białko tau rozprzestrzenia się poprzez połączenia neuronowe, głównie poprzez połączenia funkcjonalne, a wyniki badania sugerują także, że kluczową rolę w promowaniu rozprzestrzeniania się tau odgrywa dynamika neuronów. Dało to możliwość postawienia hipotezy, że nieprawidłowa aktywność neuronów, szczególnie w wysoce funkcjonalnie połączonych regionach, może napędzać ten proces [46].

Na początkowy etap tworzenia się NFT składają się transport białka tau z kompartmentu aksonalnego do somatodendrytycznego, jego odłączenie od mikrotubul oraz hiperfosforylacja, prowadząca do utraty komórek nerwowych. Do czynników przyczyniających się do rozpoczęcia patologicznego nowotworzenia zalicza się także czynniki genetyczne, procesy zapalne tkanki nerwowej, procesy oksydacji, miażdżycę tętnic, czynniki żywieniowe, a nawet depresję oraz stres. Uważa się, że za proces gromadzenia się białka tau w przebiegu choroby Alzheimerera odpowiadają uszkodzenia komórek neuronów, wywołanych przez β -amyloid. Dodatkowo białko tau o nieprawidłowej strukturze staje się niefunkcjonalne i traci zdolność do stabilizowania mikrotubul. Oprócz tego ma zwiększoną zdolność do tworzenia większych agregatów NFT [47].

Uważa się, że znaczna koncentracja β -amyloidu może wpływać na produkcję białka tau i przyspieszenie tworzenia splotów neurofibrylarnych w chorobie Alzheimerera. Za tak samo ważny czynnik uznaje się także stan zapalny tkanki nerwowej. Ustalono, że istnieje bezpośrednia korelacja pomiędzy procesami neurodegeneracyjnymi indukowanymi gromadzeniem β -amyloidu a wytwarzaniem i uwalnianiem cytokin prozapalnych. Cytokiny aktywują szlaki sygnałowe, które pobudzają hiperfosforylację białka tau w obszarach mózgu, które nie ulegają modyfikacji w normalnych warunkach fizjologicznych [48]. Wszystkie te odkrycia stanowią potwierdzenie założenia, iż patologie struktury i funkcjonalności białka tau są źródłem neurotoksyczności i neurodegeneracji w przebiegu choroby Alzheimerera.

LECZENIE

Choroba Alzheimerera to patologia, na którą nadal nie ma konkretnego leczenia, dającego możliwość odzyskania pełnej sprawności. Obecne formy terapii stanowią połączenie terapii farmakologicznych i nefarmakologicznych, którego zadaniem jest pobudzenie zasobów poznawczych oraz zmniejszenie odsetka procesów neurodegeneracyjnych. Głównym celem aktualnych strategii jest łagodzenie objawów choroby, co można osiągnąć przy zastosowaniu m.in. inhibitorów acetylocholinoesterazy (AChEI) oraz antagonistów N-metylo-D-asparagianu (NMDA). Leczenie objawów choroby Alzheimerera pozwala chorym na lepszy komfort życia i niezależność na dłuższy okres.

Inhibitory cholinoesterazy takie jak galantamina, rywastygmina i donepezil są przepisywanymi w leczeniu łagodnych do umiarkowanych objawów choroby Alzheimerera. Ich działanie polega na zapobieganiu rozkładowi i niszczeniu

acetylocholinę, która odgrywa ważną rolę w procesach myślowych oraz pamięciowych. Leki te mogą pomóc w zmniejszeniu lub kontrolowaniu niektórych objawów zaburzeń poznawczych i behawioralnych [49,50].

W leczeniu umiarkowanej oraz ciężkiej postaci choroby Alzheimera stosuje się memantynę. Jest to antagonistą receptora kwasu N-metylo-D-asparaginowego (NMDA), który ma działanie neuroprotekcyjne, przez co zmniejsza ekscytotoksyczność w wyniku blokowania patologicznej stymulacji receptorów NMDA. Uważa się, że działanie memantyny jest oparte na regulowaniu poziomu glutaminianu, który w nadmiernych ilościach może prowadzić do śmierci komórek mózgowych. Ponieważ antagoniści NMDA działają inaczej niż inhibitory cholinesterazy, te dwa rodzaje leków można przepisywać łącznie. Agencja ds. Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration, FDA) zatwierdziła także lek złożony składający się z memantyny i donepezylu stosowany w leczeniu umiarkowanej i ciężkiej choroby Alzheimera [50].

Patrząc wstecz w historii metod stosowanych w leczeniu choroby Alzheimera, aktywna immunoterapia lub bierna immunoterapia przeciwko A β już od początku wykazywała potencjał zmiany odkładania się β -amyloidu i była szeroko badana na zwierzęcych modelach. W 1999 r. Schenk wraz ze swoimi współpracownikami udowodnili skuteczność w stosowaniu szczepień przeciwko β -amyloidowi u myszy. W swojej pracy dowiedli, iż immunizacja myszy transgenicznych PDAPP, wykazujących nadekspresję zmutowanego ludzkiego białka prekursorowego β -amyloidu, zasadniczo zapobiegła rozwojowi tworzenia się płytek β -amyloidowych, dystrofii nerwowej i astrogliozie, czyli nieprawidłowym wzroście liczby astrocytów w OUN. Dodatkowo immunizacja nie wpływa na poziom samego β -amyloidu ani nie wywierała toksycznego działania na badanych myszach [51].

W 2021 r. FDA warunkowo zatwierdziła pierwszą terapię adukanumabem, modyfikującą przebieg AD. Stosowana jest do leczenia łagodnych zaburzeń poznawczych i łagodnego otępienia spowodowanego chorobą Alzheimera. Z kolei w 2023 r. FDA przyznała przyspieszoną zgodę na drugie przeciwciało monoklonalne, lekanemab, które działa poprzez redukcję blaszek amyloidowych w mózgu.

Przeciwciała monoklonalne

Aktualnie w trakcie badań III fazy znajdują się przeciwciała monoklonalne: adukanumab, donanemab, gantenerumab, lekanemab, remternet, solanezumab, E2814, semaglutyd i tertomotid.

Adukanumab

Adukanumab to przeciwciało monoklonalne przeciw płytkom i oligomerom β -amyloidu. W badaniach prowadzonym nad tym lekiem na transgenicznym mysich modelach wykazano, że przeciwciało to przenika do mózgu, wiąże się z obecnym tam β -amyloidem i prowadzi do zmniejszenia jego ilości, w sposób zależny od dawki. U pacjentów ze zwiastunową lub łagodną chorobą Alzheimera, comiesięczne wlewy dożylnie adukanumabu zmniejszają poziom β -amyloidu w mózgu, co zmierzono za pomocą obrazowania PET z florbetapirem, w sposób zależny od dawki i czasu. Efektem tego było spowolnienie pogorszenia stanu klinicznego chorych [52–54]. Jak wcześniej wspomniano, dnia 7 czerwca 2021 r. FDA zatwierdziło w trybie przyspieszonym adukanumab do stosowania w leczeniu.

Lekanemab

Lekanemab to humanizowane przeciwciało monoklonalne, które wykazuje swoiste działanie celowane w rozpuszczalne agregaty β -amyloidu. Badania III fazy prowadzone na grupach chorych w wieku od 50 do 90 lat z wczesną chorobą Alzheimera (łagodne zaburzenia funkcji poznawczych lub łagodne otępienie spowodowane chorobą Alzheimera) leczonych tym przeciwciałem wykazały, że lekanemab zmniejsza poziom markerów amyloidu w początkowym stadium AD. Dodatkowo jego stosowanie powodowało stosunkowo mniejszą utratę funkcji poznawczych i funkcjonowania po 18 miesiącach stosowania leku, niż w grupie placebo. Jednak działanie to wiązało się z występowaniem działań niepożądanych [55–57].

Donanemab

Donanemab (N3pG) jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym, które zostało opracowane na bazie mysiego mE8-IgG2a. Jest to przeciwciało celowane na specyficzne dla N-końcowo zmodyfikowanych piroglutaminianem białek β -amyloidu, występujących w nagromadzonych płytkach amyloidowych i jego działanie polega na redukowaniu ilości tych płytek w procesach fagocytarnych, za pośrednictwem komórek mikrogleju. Donanemab ma na celu także przeciwdziałać odkładaniu się kolejnych płytek oraz chronić przed ich działaniem neurotoksycznym. RAILBLAZER-ALZ2 (NCT04437511) to badanie III fazy,

prowadzone metodą podwójnie ślepej próby, kontrolowane placebo, mające na celu ocenę bezpieczeństwa i skuteczności donanemabu w grupie 1736 chorych w wieku 60–85 lat z wczesnym objawowym stadium choroby Alzheimera, u których potwierdzono obecność odkładającego się β -amyloidu i białka tau za pomocą biomarkerów. W maju 2023 r. ukazały się wyniki tego badania, wskazujące na pozytywne działanie donanemabu, który spowalniał występowanie objawów klinicznych u badanych chorych [58,59].

Remternet

Remternet (mAb N3pG-A β) jest przeciwciałem monoklonalnym, będącym nadal w fazie badań klinicznych. Jego działanie jest podobne do działania donanemabu. W sierpniu 2022 r. rozpoczęto badanie III fazy (TRAILRUNNER-ALZ1, NCT05463731), randomizowane badanie z podwójnie ślepą próbą i grupą kontrolną placebo, mające na celu ocenę bezpieczeństwa i skuteczności działania remternetu u pacjentów z wczesnym objawowym stadium choroby Alzheimera. Koniec badania planowany jest na jesień 2026 roku [60].

Gantenerumab

Gantenerumab to ludzkie przeciwciało, które charakteryzuje się wysokim powinowactwem do włókienek β -amyloidu. Lek ten może niszczyć agregaty amyloidowe poprzez aktywację komórek mikrogleju oraz procesów fagocytozy. Ze względu na brak oczekiwanych efektów i skuteczności działania, wszystkie badania z gantenerumabem zostały zawieszono w styczniu 2023 r. [61–63].

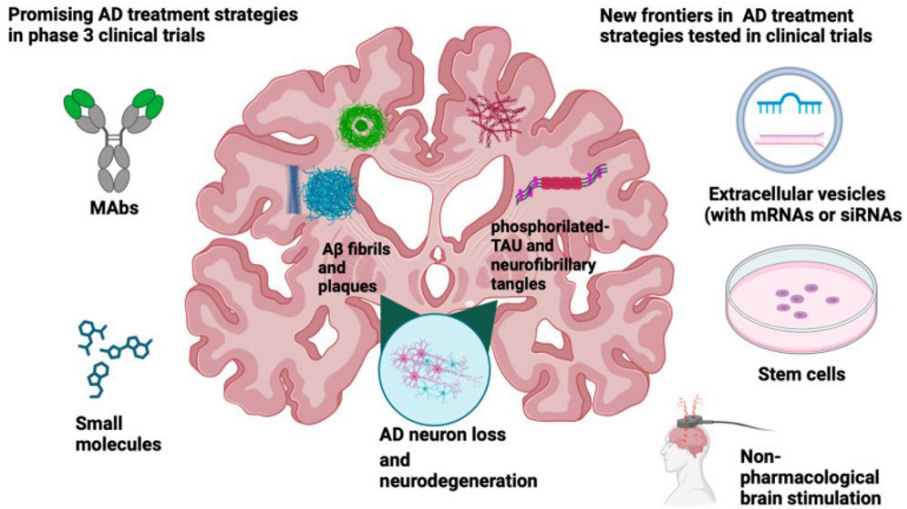
Solanezumab

Solanezumab to przeciwciało ukierunkowane na rozpuszczalny β -amyloid. W dotychczas ukończonych badaniach III fazy lek ten nie wpływał znacząco na hamowanie pogorszenia funkcji poznawczych w grupie chorych ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera oraz nie obniżał także ryzyka dalszej progresji i wystąpienia objawów choroby Alzheimera [64,65].

Podsumowanie leczenia

Podsumowując, leki zatwierdzone do tej pory przez FDA można podzielić

na dwie grupy. Pierwszą stanowią leki stosowane do leczenia choroby Alzheimera, jak lekanemab i adukanumab, natomiast druga to preparaty do łagodzenia objawów, takie jak brekspirazol, donepezyl, galantamina, memantyna i rywastygmina. Strategie modyfikujące chorobę, takie jak adukanumab i lekanemab, są ukierunkowane na nieprawidłowe agregaty β -amyloidu i ich celem jest usuwanie ich oraz opóźnianie bądź zapobieganie tworzeniu się kolejnych. Terapie ukierunkowane na białko tau stanowią obecnie potencjalną alternatywę dla terapii ukierunkowanych na β -amyloid [44,66,67].



Rycina 4. Rycina podsumowująca zbiorczo obecne strategie leczenia choroby Alzheimera w badaniach klinicznych [67]

Innowacyjna terapia

Jak wynika z wcześniejszych informacji, białko tau wydaje się być bardziej wiodącym czynnikiem, nasilającym pogorszenie funkcji poznawczych, w porównaniu z działaniem β -amyloidu. Fakt ten sugeruje, iż ukierunkowanie leczenia na właśnie to białko może przynieść pozytywne rezultaty. W ostatnich dziesięcioleciach główne strategie terapeutyczne leczenia choroby Alzheimera skupiały się na działaniu na β -amyloid, jednak terapie te nie były tak efektywne, jak oczekiwano. Badania wykazały, że tau pośredniczy w toksyczności indukowanej przez A β i ma większy wpływ na kliniczne zaburzeniami poznawczymi niż APP. Wraz z kolejnymi odkryciami efektów neurotoksyczności zależnej od tau, a także obiecującymi rezultatami immunoterapii tau w kilku badaniach przedklinicznych, strategie

terapeutyczne oparte na działaniu przeciw białku tau mogą dać pogląd na rozwój farmakoterapii AD. Obecnie istnieją trzy główne strategie celowane w białko tau: hamowanie procesu nieprawidłowej fosforylacji białka tau, ograniczenie powstawania agregatów MAPT oraz usuwanie powstałych splotów neurofibrylarnych. Lekiem hamującym nieprawidłowe modyfikacje, w tym fosforylacje, białka tau jest tideglusib. Jest to nieodwracalny inhibitor kinazy syntazy glikogenu β , który zmniejsza stopień nieprawidłowej fosforylacji białka tau, wpływając na ograniczenie niszczenia komórek nerwowych. Tideglusib jest bezpiecznym lekiem, jednak ze względu na brak znaczących korzyści klinicznych stracił się ważność w leczeniu chorych na Alzheimer'a [68double-blind, placebo controlled, four parallel arm trial of tideglusib in Alzheimer's disease (AD)]. W zakresie hamowania fosforylacji białka tau stosuje się także nowatorskie metody, jak hamowanie O-GlcNAcase, czyli białka enzymatycznego wpływającego na proces glikozylacji. MK-8719 jest małocząsteczkowym selektywnym inhibitorem O-GlcNAkazy u ludzi, który w modelach zwierzęcych znacząco zmniejsza patologiczne formy tau związane z atrofią mózgu [69–71].

Jeśli chodzi o aktywne środki immunoterapii obecnie istnieją dwie szczepionki: AADvac1 oraz ACI-35. Natomiast to grupy substancji tworzących bierną immunoterapię należą m.in. semorinemab, BIIB076 i gosuranemab, tilawonemab, bepranemab oraz zagotenemab. Obecnie większość tych terapii znajduje się na wczesnym etapie badań klinicznych. Cztery przeciwciała monoklonalne przeciwko tau (gosuranemab, tilawonemab, semorinemab i zagotenemab) oraz jedna szczepionka przeciwko tau (AADvac1) osiągnęły jak dotąd fazę II.

Działanie farmakologiczne szczepionki polega na stymulacji układu odpornościowego chorego poprzez podanie fosforylowanego lub niefosforylowanego białka tau. Ma to na celu wywołanie odpowiedzi immunologicznej i wytworzenie przez organizm przeciwciał skierowanych przeciwko białku tau. Wykazano, że podanie immunogennego białka tau z łagodnymi adiuwantami skutecznie zmniejsza odsetek zgromadzonego białka tau, bez wywoływania poważnych niepożądanych reakcji immunologicznych [72].

Przeciwciała stosowane w immunoterapii biernej mają za zadanie rozpoznawać różne miejsca białka tau. Jest to zdecydowanie bezpieczniejsza opcja niż aktywne szczepionki, ze względu na fakt, iż ryzyko immunologicznych działań niepożądanych jest znacząco mniejsze. Dodatkowo immunizacja bierna pozwala osiągnąć również większą specyficzność wobec docelowych epitopów oraz hamować postęp choroby przez zapobieganie rozprzestrzeniania się patogennego białka. Niestety badane przeciwciała monoklonalne są wciąż na wstępnych etapach

badan klinicznych. Problemy związane z badaniami nad przeciwcialami zwiazane sa trudnoscia utrzymania rownowagi dzialania, poniewaz leki powinny nie tylko celowac w bialko tau w komorkach neuronowych, ale takze hamowac dyfuzje tau na zewnatrz komorki.

Ludzkie przeciwcialo AADvac1

AADvac1 to pierwsze ludzkie aktywne przeciwcialo tau, ktore w 2016 r. trafilo do badan klinicznych I fazy. Jest to szczepionka, ktorej dzialanie oparte jest na celowaniu w 12-aminokwasowa sekwencje KDNIKHVPGGGS w regionie wiazacym mikrotubule w bialku tau. W badaniu I fazy (NCT02031198) wykazano, ze leczenie AADvac1 prowadzilo do zmniejszenia stopnia atrofii mozgu, a takze w pewnym stopniu zapobiegalo pogorszeniu funkcji poznawczych u pacjentow z lagodnym oraz umiarkowanym stadiem choroby Alzheimera. Dodatkowo szczepionka okazala sie bezpieczna i dobrze tolerowana, co potwierdzono w badaniach II fazy [73–75].

Semorinemab

Semorinemab to humanizowane przeciwcialo monoklonalne celowane przeciwko zewnatrzkomorkowemu bialku tau ze szkieletem izotypu immunoglobuliny G4. Ma on zdolnosc wiazania wszystkich szesciu ludzkich izoform tau, a takze wykazuje dzialanie neuroprotekcyjne. U pacjentow z AD semorinemab przekroczyl barierę krew-mozg i wykazal dzialanie docelowe in vivo, zmniejszajac akumulacje bialka tau bez widocznych skutkow ubocznych. Wyniki te sa kolejnym argumentem, iz immunoterapie celowane w bialko tau moga byc skuteczne w ograniczaniu patomechanizmu dzialania tego bialka u chorych [76]. Niestety na poczatku roku 2021 w artykule opublikowanym w Nature Reviews Drug Discovery podano, ze semorinemab nie hamuje wystepujacych objawow choroby Alzheimera, przez co uznano, ze badanie II fazy nie powiodlo sie [77].

Gosuranemab

Gosuranemab jest humanizowanym przeciwcialem monoklonalnym, ktorego dzialanie skierowane jest przeciwko zewnatrzkomorkowemu N-końcowemu bialku tau w plynie sredniakzowym i plynie mozgowo-rdzeniowym. Jego dzialanie nie przynioslo oczekiwanych rezultatow, wiec ze wzgledu na brak

skuteczności w spowalnianiu zaburzeń funkcji poznawczych i funkcjonalnych badania II fazy zostały przerwane [78,79].

Tilawonemab

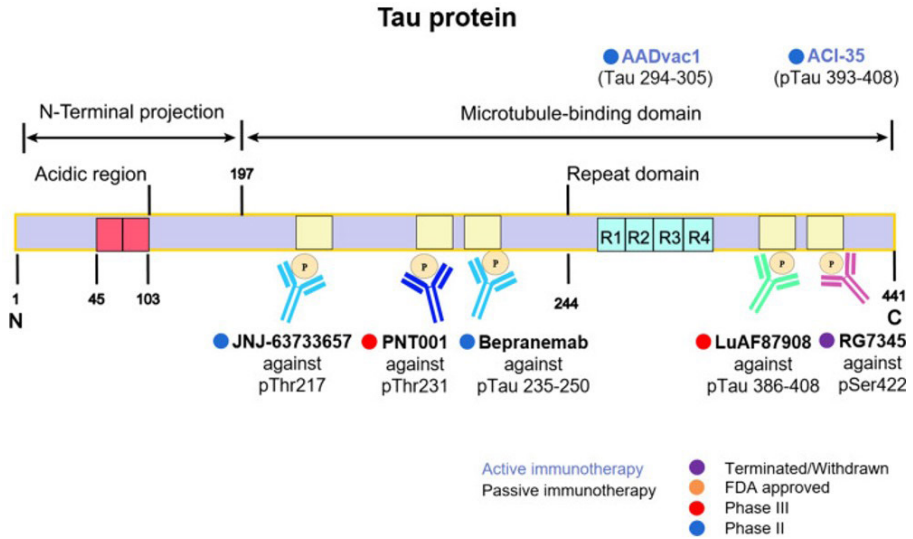
Tilawonemab (ABBV-8E12) to przeciwciało, rozpoznające zewnątrzkomórkowe postacie agregatów białka tau, które wiąże się z jego N-końcem. Niestety badanie II fazy oceniające skuteczność i bezpieczeństwo tilawonemabu u 453 pacjentów z wczesną postacią choroby Alzheimera nie przyniosło oczekiwanych rezultatów, przez co zostało przerwane [80,81].

Zagotenemab

Zagotenemab (LY3303560) jest humanizowanym przeciwciałem pochodzącym z MCI-1, mysiego przeciwciała monoklonalnego, działającym przeciwko wczesnej patologicznej konformacji tau. Niestety jest to kolejne przeciwciało, które nie przyniosło oczekiwanych rezultatów w badaniach, dlatego prace nad nim zostały wstrzymane [82].

E2814

E2814 jest to humanizowane przeciwciało monoklonalne, które rozpoznaje epitop peptydu HVPGG w domenie wiążącej mikrotubule w pobliżu środkowej domeny tau. Epitop ten odgrywa znacząco rolę w patogenezie choroby Alzheimera, ponieważ wspiera procesy rozprzestrzeniania się patologicznych splotów neurofibrylarnych. Przeciwciało to wiąże zewnątrzkomórkowe białko tau, zapobiegając jego dalszemu przemieszczaniu się w przestrzeniach międzykomórkowych, a także bierze udział w usuwaniu NFT przez aktywację komórek mikrogleju. Lek ten jest obecnie testowany w wielośrodkowym, randomizowanym, podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo badaniu platformowym II/III fazy dotyczącym potencjalnych terapii modyfikujących przebieg choroby z wykorzystaniem biomarkerów, funkcji poznawczych i klinicznych punktów końcowych w chorobie dominująco dziedzicznej (NCT05269394). Zakończenie badania planowane jest na rok 2027 [55,83].



Rycina 5. Rycina przedstawiająca strategię immunoterapii ukierunkowane na białko tau [84]

PODSUMOWANIE

Współczesne społeczeństwo starzeje się co raz później, przez co ciągle wzrasta ilość chorych z demencją i schorzeniami układu nerwowego. Choroba Alzheimerera jest najczęstszą chorobą neurodegeneracyjną dotykającą osoby starsze. Do głównych patomechanizmów choroby Alzheimerera zalicza się zewnątrzkomórkową agregację płytek amyloidu- β oraz gromadzenie się w komórkach splotów neurofibrylarnych utworzonych przez białko tau. Obecnie istnieją terapie ukierunkowane na amyloid- β w leczeniu choroby Alzheimerera, niektóre z nich zostały nawet zatwierdzone przez FDA do otwartego leczenia. Niestety terapie te są kosztowne i wykazują potencjalne negatywne skutki uboczne. Wraz z większą ilością badań, rośnie także liczba dowodów, wskazujących na znaczny udział białka tau w neurodegeneracji związanej z AD. Badania kliniczne wykazały, że nieprawidłowa fosforylacja białka tau zachodzi przed nagromadzeniem amyloidu- β w mózgu. To spowodowało postęp medycyny i rozwój farmakoterapii w kierunku tworzenia terapii celowanych w nieprawidłowe białko tau. Aktualnie istnieje wiele badań klinicznych nad tą formą leczenia. Wiele z nich wykazało swoją skuteczność *in vivo*, niestety równie wiele nie przyniosło oczekiwanych efektów. Może to wynikać z faktu, iż mechanizmy immunoterapii tau, jak i patomechanizmy działania tego białka dalej pozostają w pełni niewyjaśnione. Mimo to terapia celowana w białko tau jest szybko rozwijającym się kierunkiem badań, dającym nadzieje na skuteczne leczenie pacjentów z AD.

REFERENCJE

- [1] Tahami Monfared AA, Byrnes MJ, White LA, Zhang Q. Alzheimer's Disease: Epidemiology and Clinical Progression. *Neurol Ther.* 2022;11(2):553-569. doi:10.1007/s40120-022-00338-8
- [2] Simon Long, Chloé Benoist, Wendy Weidner. *World Alzheimer Report 2023. Reducing Dementia Risk: Never Too Early, Never Too Late.*
- [3] 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2023;19(4):1598-1695. doi:10.1002/alz.13016
- [4] Polskie Stowarzyszenie Pomocy Osobom z Chorobą Alzheimerą. Dlaczego Polska zamiata pod dywan problem Choroby Alzheimerą i innych demencji? Published online March 18, 2024.
- [5] Podcasy JL, Epperson CN. Considering sex and gender in Alzheimer disease and other dementias. *Dialogues Clin Neurosci.* 2016;18(4):437-446. doi:10.31887/DCNS.2016.18.4/cepperson
- [6] Vatanabe IP, Manzine PR, Cominetti MR. Historic concepts of dementia and Alzheimer's disease: From ancient times to the present. *Rev Neurol (Paris).* 2020;176(3):140-147. doi:10.1016/j.neurol.2019.03.004
- [7] Boller F, Forbes MM. History of dementia and dementia in history: an overview. *J Neurol Sci.* 1998;158(2):125-133. doi:10.1016/s0022-510x(98)00128-2
- [8] Donnet, A., Focin, J., Habib, M. De'mence et Vieillessement Cerebral: E'volution Des Concepts de La'ntiquite' A` Nos Jours. Paris: Masson (E'diteur), 1991. In: Caixeta, L. De^mencia– Abordagem Multidisciplinar. Sa'õ Paulo: Editora Atheneu, 2006.
- [9] Berrios GE. *The History of Mental Symptoms: Descriptive Psychopathology since the Nineteenth Century.* Cambridge: Cambridge University Press; 1996: 242–59.
- [10] Lipowski ZJ. Organic Mental Disorders—An American Perspective. *Br J Psychiatry.* 1984;144(5):542-546. doi:10.1192/bjp.144.5.542
- [11] Shorter E. History of psychiatry. *Curr Opin Psychiatry.* 2008;21(6):593-597. doi:10.1097/YCO.0b013e32830aba12

- [12] Schwartz MF, Stark JA. The distinction between Alzheimer's disease and senile dementia: Historical considerations 1. *J Hist Neurosci*. 1992;1(3):169-187. doi:10.1080/09647049209525531
- [13] Pereira MEC. Kraepelin e a criação do conceito de "Demência precoce." *Rev Latinoam Psicopatol Fundam*. 2001;4(4):126-129. doi:10.1590/1415-47142001004011
- [14] Pitt L, Smith CH. Probability and plurality for aggregations of learning machines. In: Ottmann T, ed. *Automata, Languages and Programming*. Vol 267. Springer Berlin Heidelberg; 1987:1-10. Accessed May 1, 2024. http://link.springer.com/10.1007/3-540-18088-5_1
- [15] Jennekens FGI. A short history of the notion of neurodegenerative disease. *J Hist Neurosci*. 2014;23(1):85-94. doi:10.1080/0964704X.2013.809297
- [16] Ramirez-Bermudez J. Alzheimer's Disease: Critical Notes on the History of a Medical Concept. *Arch Med Res*. 2012;43(8):595-599. doi:10.1016/j.arcmed.2012.11.008
- [17] Jellinger KA. Alzheimer 100 – highlights in the history of Alzheimer research. *J Neural Transm*. 2006;113(11):1603-1623. doi:10.1007/s00702-006-0578-3
- [18] Parkinson J. An Essay on the Shaking Palsy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2002;14(2):223-236. doi:10.1176/jnp.14.2.223
- [19] Huntington G. On Chorea. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2003;15(1):109-112. doi:10.1176/jnp.15.1.109
- [20] Cipriani G, Danti S, Carlesi C. Three men in a (same) boat: Alzheimer, Pick, Lewy. Historical notes. *Eur Geriatr Med*. 2016;7(6):526-530. doi:10.1016/j.eurger.2016.08.001
- [21] American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Fifth Edition. American Psychiatric Association; 2013. Accessed May 6, 2024. <https://psychiatryonline.org/doi/book/10.1176/appi.books.9780890425596>
- [22] Anil Kumar; Jaskirat Sidhu; Amandeep Goyal; Jack W. Tsao. *Alzheimer Disease*.

- [23] Fortea J, Zaman SH, Hartley S, Rafii MS, Head E, Carmona-Iragui M. Alzheimer's disease associated with Down syndrome: a genetic form of dementia. *Lancet Neurol.* 2021;20(11):930-942. doi:10.1016/S1474-4422(21)00245-3
- [24] He Z, Guo JL, McBride JD, et al. Amyloid- β plaques enhance Alzheimer's brain tau-seeded pathologies by facilitating neuritic plaque tau aggregation. *Nat Med.* 2018;24(1):29-38. doi:10.1038/nm.4443
- [25] Lewis J, Dickson DW, Lin WL, et al. Enhanced Neurofibrillary Degeneration in Transgenic Mice Expressing Mutant Tau and APP. *Science.* 2001;293(5534):1487-1491. doi:10.1126/science.1058189
- [26] Busche MA, Hyman BT. Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci.* 2020;23(10):1183-1193. doi:10.1038/s41593-020-0687-6
- [27] Wang L, Benzinger TL, Su Y, et al. Evaluation of Tau Imaging in Staging Alzheimer Disease and Revealing Interactions Between β -Amyloid and Tauopathy. *JAMA Neurol.* 2016;73(9):1070. doi:10.1001/jamaneurol.2016.2078
- [28] Roberson ED, Scarce-Levie K, Palop JJ, et al. Reducing Endogenous Tau Ameliorates Amyloid β -Induced Deficits in an Alzheimer's Disease Mouse Model. *Science.* 2007;316(5825):750-754. doi:10.1126/science.1141736
- [29] Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl).* 1991;82(4):239-259. doi:10.1007/BF00308809
- [30] Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci.* 1975;72(5):1858-1862. doi:10.1073/pnas.72.5.1858
- [31] Buée L, Bussièrè T, Buée-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders¹¹ These authors contributed equally to this work. *Brain Res Rev.* 2000;33(1):95-130. doi:10.1016/S0165-0173(00)00019-9
- [32] Kolarova M, García-Sierra F, Bartos A, Rícný J, Ripova D. Structure and Pathology of Tau Protein in Alzheimer Disease. *Int J Alzheimers Dis.* 2012;2012:1-13. doi:10.1155/2012/731526

- [33] Avila J, Lucas JJ, Pérez M, Hernández F. Role of Tau Protein in Both Physiological and Pathological Conditions. *Physiol Rev.* 2004;84(2):361-384. doi:10.1152/physrev.00024.2003
- [34] Pîrșcoveanu DFV, Pirici I, Tudorică V, et al. Tau protein in neurodegenerative diseases - a review. *Romanian J Morphol Embryol Rev Roum Morphol Embryol.* 2017;58(4):1141-1150.
- [35] Dixit R, Ross JL, Goldman YE, Holzbaur ELF. Differential Regulation of Dynein and Kinesin Motor Proteins by Tau. *Science.* 2008;319(5866):1086-1089. doi:10.1126/science.1152993
- [36] Yamauchi PS, Purich DL. Microtubule-Associated Protein Interactions with Actin Filaments: Evidence for Differential Behavior of Neuronal MAP-2 and Tau in the Presence of Phosphatidylinositol. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;190(3):710-715. doi:10.1006/bbrc.1993.1107
- [37] Selden SC, Pollard TD. Phosphorylation of microtubule-associated proteins regulates their interaction with actin filaments. *J Biol Chem.* 1983;258(11):7064-7071.
- [38] Henríquez JP, Cross D, Vial C, Maccioni RB. Subpopulations of tau interact with microtubules and actin filaments in various cell types. *Cell Biochem Funct.* 1995;13(4):239-250. doi:10.1002/cbf.290130404
- [39] Zhou J, Gennatas ED, Kramer JH, Miller BL, Seeley WW. Predicting Regional Neurodegeneration from the Healthy Brain Functional Connectome. *Neuron.* 2012;73(6):1216-1227. doi:10.1016/j.neuron.2012.03.004
- [40] Wu JW, Hussaini SA, Bastille IM, et al. Neuronal activity enhances tau propagation and tau pathology in vivo. *Nat Neurosci.* 2016;19(8):1085-1092. doi:10.1038/nn.4328
- [41] Kosik KS, Joachim CL, Selkoe DJ. Microtubule-associated protein tau (tau) is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci.* 1986;83(11):4044-4048. doi:10.1073/pnas.83.11.4044
- [42] Crowther RA. Tau protein and paired helical filaments of Alzheimer's disease. *Curr Opin Struct Biol.* 1993;3(2):202-206. doi:10.1016/S0959-440X(05)80153-8

- [43] Mandelkow E, von Bergen M, Biernat J, Mandelkow EM. Structural principles of tau and the paired helical filaments of Alzheimer's disease. *Brain Pathol Zurich Switz.* 2007;17(1):83-90. doi:10.1111/j.1750-3639.2007.00053.x
- [44] Abhilash K. Desai, MD, Pratap Chand, MD, DM, FRCP. Leczenie choroby Alzheimera oparte na wpływie na białko tau. Powiew przyszłości? *Psychiatr Po Dyplomie.* 2009;6(6). <https://podyplomie.pl/publish/system/articles/pdfarticles/000/010/341/original/36-43.pdf?1472809075>
- [45] Gong CX, Iqbal K. Hyperphosphorylation of Microtubule-Associated Protein Tau: A Promising Therapeutic Target for Alzheimer Disease. *Curr Med Chem.* 2008;15(23):2321-2328. doi:10.2174/092986708785909111
- [46] Schoonhoven DN, Coomans EM, Millán AP, et al. Tau protein spreads through functionally connected neurons in Alzheimer's disease: a combined MEG/PET study. *Brain.* 2023;146(10):4040-4054. doi:10.1093/brain/awad189
- [47] Ballatore C, Lee VMY, Trojanowski JQ. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8(9):663-672. doi:10.1038/nrn2194
- [48] Rojo LE, Fernández JA, Maccioni AA, Jimenez JM, Maccioni RB. Neuroinflammation: Implications for the Pathogenesis and Molecular Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Arch Med Res.* 2008;39(1):1-16. doi:10.1016/j.arcmed.2007.10.001
- [49] García-Morales V, González-Acedo A, Melguizo-Rodríguez L, et al. Current Understanding of the Physiopathology, Diagnosis and Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease. *Biomedicines.* 2021;9(12):1910. doi:10.3390/biomedicines9121910
- [50] Guzior N, Wi.eckowska A, Panek D, Malawska B. Recent Development of Multifunctional Agents as Potential Drug Candidates for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Med Chem.* 2014;22(3):373-404. doi:10.2174/0929867321666141106122628

- [51] Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*. 1999;400(6740):173-177. doi:10.1038/22124
- [52] Sevigny J, Chiao P, Bussière T, et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature*. 2016;537(7618):50-56. doi:10.1038/nature19323
- [53] Office of the Commissioner. FDA grants accelerated approval for Alzheimer's disease treatment. U.S. Food And Drug Administration. Published January 6, 2023. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-grants-accelerated-approval-alzheimers-disease-treatment>.
- [54] Beshir SA, Aadithsoorya AM, Parveen A, Goh SSL, Hussain N, Menon VB. Aducanumab Therapy to Treat Alzheimer's Disease: A Narrative Review. Abate G, ed. *Int J Alzheimers Dis*. 2022;2022:1-10. doi:10.1155/2022/9343514
- [55] Roberts M, Sevastou I, Imaizumi Y, et al. Pre-clinical characterisation of E2814, a high-affinity antibody targeting the microtubule-binding repeat domain of tau for passive immunotherapy in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2020;8(1):13. doi:10.1186/s40478-020-0884-2
- [56] Swanson CJ, Zhang Y, Dhadda S, et al. A randomized, double-blind, phase 2b proof-of-concept clinical trial in early Alzheimer's disease with lecanemab, an anti-A β protofibril antibody. *Alzheimers Res Ther*. 2021;13(1):80. doi:10.1186/s13195-021-00813-8
- [57] Van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, et al. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2023;388(1):9-21. doi:10.1056/NEJMoa2212948
- [58] Sims JR, Zimmer JA, Evans CD, et al. Donanemab in Early Symptomatic Alzheimer Disease: The TRAILBLAZER-ALZ 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2023;330(6):512. doi:10.1001/jama.2023.13239

- [59] Wessels AM, Siemers ER, Yu P, et al. A COMBINED MEASURE OF COGNITION AND FUNCTION FOR CLINICAL TRIALS: THE INTEGRATED ALZHEIMER'S DISEASE RATING SCALE (IADRS). *J Prev Alzheimers Dis*. Published online 2015:1-15. doi:10.14283/jpad.2015.82
- [60] ClinicalTrials.gov.A Study of Remternetug (LY3372993) in Participants With Alzheimer's Disease (TRAILRUNNER-ALZ 1) <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05463731>.
- [61] Nisticò R, Novakovic D, Feligioni M, et al. Profile of gantenerumab and its potential in the treatment of Alzheimer's disease. *Drug Des Devel Ther*. Published online November 2013:1359. doi:10.2147/DDDT.S53401
- [62] Bateman RJ, Cummings J, Schobel S, et al. Gantenerumab: an anti-amyloid monoclonal antibody with potential disease-modifying effects in early Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2022;14(1):178. doi:10.1186/s13195-022-01110-8
- [63] Ostrowitzki S. Mechanism of Amyloid Removal in Patients With Alzheimer Disease Treated With Gantenerumab. *Arch Neurol*. 2012;69(2):198. doi:10.1001/archneurol.2011.1538
- [64] Sperling RA, Donohue MC, Raman R, et al. Trial of Solanezumab in Preclinical Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2023;389(12):1096-1107. doi:10.1056/NEJMoa2305032
- [65] Honig LS, Vellas B, Woodward M, et al. Trial of Solanezumab for Mild Dementia Due to Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2018;378(4):321-330. doi:10.1056/NEJMoa1705971
- [66] How is Alzheimer's disease treated? National Institute on Aging. Published September 12, 2023. <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-treatment/how-alzheimers-disease-treated>.
- [67] Buccellato FR, D'Anca M, Tartaglia GM, Del Fabbro M, Scarpini E, Galimberti D. Treatment of Alzheimer's Disease: Beyond Symptomatic Therapies. *Int J Mol Sci*. 2023;24(18):13900. doi:10.3390/ijms241813900

- [68] Lovestone S, Boada M, Dubois B, et al. A phase II trial of tideglusib in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis JAD*. 2015;45(1):75-88. doi:10.3233/JAD-141959
- [69] Selnick HG, Hess JF, Tang C, et al. Discovery of MK-8719, a Potent O-GlcNAcase Inhibitor as a Potential Treatment for Tauopathies. *J Med Chem*. 2019;62(22):10062-10097. doi:10.1021/acs.jmedchem.9b01090
- [70] Wang X, Li W, Marcus J, et al. MK-8719, a Novel and Selective O -GlcNAcase Inhibitor That Reduces the Formation of Pathological Tau and Ameliorates Neurodegeneration in a Mouse Model of Tauopathy. *J Pharmacol Exp Ther*. 2020;374(2):252-263. doi:10.1124/jpet.120.266122
- [71] Ye J, Wan H, Chen S, Liu GP. Targeting tau in Alzheimer's disease: from mechanisms to clinical therapy. *Neural Regen Res*. 2024;19(7):1489-1498. doi:10.4103/1673-5374.385847
- [72] Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *Eur J Pharmacol*. 2020;887:173554. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173554
- [73] Bittar A, Bhatt N, Kaye R. Advances and considerations in AD tau-targeted immunotherapy. *Neurobiol Dis*. 2020;134:104707. doi:10.1016/j.nbd.2019.104707
- [74] Novak P, Schmidt R, Kontseikova E, et al. Safety and immunogenicity of the tau vaccine AADvac1 in patients with Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet Neurol*. 2017;16(2):123-134. doi:10.1016/S1474-4422(16)30331-3
- [75] Novak P, Kontseikova E, Zilka N, Novak M. Ten Years of Tau-Targeted Immunotherapy: The Path Walked and the Roads Ahead. *Front Neurosci*. 2018;12:798. doi:10.3389/fnins.2018.00798
- [76] Ayalon G, Lee SH, Adolfsson O, et al. Antibody semorinemab reduces tau pathology in a transgenic mouse model and engages tau in patients with Alzheimer's disease. *Sci Transl Med*. 2021;13(593):eabb2639. doi:10.1126/scitranslmed.abb2639

- [77] Mullard A. Failure of first anti-tau antibody in Alzheimer disease highlights risks of history repeating. *Nat Rev Drug Discov.* 2021;20(1):3-5. doi:10.1038/d41573-020-00217-7
- [78] Dam T, Boxer AL, Golbe LI, et al. Safety and efficacy of anti-tau monoclonal antibody gosuranemab in progressive supranuclear palsy: a phase 2, randomized, placebo-controlled trial. *Nat Med.* 2021; 27(8):1451-1457. doi:10.1038/s41591-021-01455-x
- [79] ClinicalTrials.gov. Badanie fazy 2 BIIB092 u uczestników z wczesną chorobą Alzheimera. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03352557>.
- [80] ClinicalTrials.gov. Badanie mające na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa ABBV-8E12 u osób z wczesną chorobą Alzheimera. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02880956>.
- [81] West T, Hu Y, Verghese PB, et al. Preclinical and Clinical Development of ABBV-8E12, a Humanized Anti-Tau Antibody, for Treatment of Alzheimer's Disease and Other Tauopathies. *J Prev Alzheimers Dis.* 2017;4(4):236-241. doi:10.14283/jpad.2017.36
- [82] ClinicalTrials.gov. Badanie LY3303560 u uczestników z wczesnymi objawami choroby Alzheimera. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03518073>. Dostęp: 19 października 2021 r.
- [83] Younes K, Sha SJ. The most valuable player or the tombstone: is tau the correct target to treat Alzheimer's disease? *Brain.* 2023;146(6):2211-2213. doi:10.1093/brain/awad151
- [84] Song C, Shi J, Zhang P, et al. Immunotherapy for Alzheimer's disease: targeting β -amyloid and beyond. *Transl Neurodegener.* 2022;11(1):18. doi:10.1186/s40035-022-00292-3

ZURANOLON – PIERWSZY DOUSTNY PREPARAT DO LECZENIA DEPRESJI POPORODOWEJ

**Julia Gawron, Witold Kimla, Tomasz Furgoń, Łukasz Grajcarek,
Marcin Jezierzański, Tola Kotkiewicz**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrzcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Depresja poporodowa stanowi zagrożenie dla zdrowia psychicznego zarówno matki jak i dziecka, prowadząc do poważnych konsekwencji w jego wzroście i rozwoju poznawczym. Do tej pory schorzenie to leczono preparatami z grupy antydepresantów. Jednak badania pokazują, że nie są one tak skuteczne jak dotychczas myślano, dlatego zaistniała konieczność poszukiwania innych leków. Przełom nastąpił w 2023 roku wraz z dopuszczeniem do obrotu przez Agencję Żywności i Leków zuranolonu, selektywnego allosterycznego modulatora receptora kwasu gamma-aminomasłowego. Jest to pierwszy doustny preparat do leczenia depresji poporodowej. Celem tego rozdziału jest przybliżenie skuteczności tego leku w łagodzeniu objawów PPD.

Słowa kluczowe: breksanolon, depresja poporodowa, zuranolon

Abstract: Postpartum depression poses a threat to both mother's and child's mental health leading to serious consequences in the child's growth and cognitive development. Up to this day it was treated with antidepressants. However, research suggests that they are not as effective as they are believed to be therefore it was necessary to look for other drugs. A breakthrough emerged in 2023 with the FDA approval of zuranolone, a gamma-aminobutyric acid receptor selective positive allosteric modulator. It is the first oral medication available for PPD. The aim of the chapter is to discuss the efficacy of this treatment in mitigating the symptoms of PPD.

Keywords: brexanolone, postpartum depression, zuranolone

WSTĘP

Ciąża i macierzyństwo to okresy przejściowe w życiu kobiety wiążące się z ogromnymi zmianami psychologicznymi, fizycznymi i społecznymi, podczas których napotyka wiele trudności, takich jak nauka rodzicielstwa, tworzenie nowych więzi rodzinnych oraz zmiany we własnym ciele[1–3]. Depresja poporodowa (ang. *postpartum depression* PPD) stanowi jedno z głównych powikłań porodu z częstością wynoszącą 17% na świecie[4–7]. Jej początek rozwija się w krytycznym momencie życia kobiety i może trwać przez bardzo długi okres, choć główne objawy pojawiają się od 4 do 8 tygodni po porodzie[8,9]. PPD klasycznie objawia się jako epizod depresyjny charakteryzujący się wahaniami nastroju, nagłymi epizodami płaczu, apatią wobec dziecka i myślami samobójczymi[10]. Wiele kobiet wierzy, że owe objawy to przemijające zjawisko, niewymagające interwencji lekarskiej, co jest prawdą, jeśli mamy do czynienia wyłącznie z tzw. przygnębieniem poporodowym (ang. *postpartum blues*), które różni się tym, że pojawia się w ciągu pierwszych 10 dni po porodzie i charakteryzuje się łagodnymi zaburzeniami nastroju, co należy różnicować z depresją poporodową. PPD jest zaburzeniem klinicznym znacznie upośledzającym funkcjonowanie, często wymagającym profesjonalnej opieki, kodowanym w ICD-10 pod numerem F53.0[11–13]. Prawdopodobieństwo wystąpienia epizodów depresyjnych jest dwukrotnie większe niż w innych okresach życia kobiety, a często pozostają one niewykryte i nieleczone, powodując negatywne skutki u osób bliskich oraz pogorszenie rozwoju emocjonalnego i poznawczego u niemowląt [14–18]. Noworodki urodzone przez matki doświadczające depresji często wykazują obniżowane umiejętności ekspresji językowej i później uzyskują gorsze wyniki w ocenach funkcjonowania poznawczo-językowego[19,20]. Badania wykazują, że matki cierpiące na PPD nie są w stanie określić potrzeb swojego dziecka w porównaniu ze zdrowymi matkami i mogą mieć trudności z nawiązaniem z nim więzi [21–24].

Nie należy podważać ciężkości PPD, biorąc pod uwagę, że jest ona przyczyną znacznie wyższego wskaźnika samobójstw wśród matek po porodzie[25]. Kobiety, które wcześniej przechodziły depresję, z niską samooceną i wychowujące się w gorszych warunkach socjoekonomicznych są bardziej predysponowane do rozwoju PPD [26–30]. Kluczowe znaczenie mają badania przesiewowe i wczesna interwencja. Wszystkim kobietom po diagnozie powinno zostać zaproponowane wsparcie psychiczne i społeczne, jeśli jednak nie jest skuteczne, konieczne może być zastosowanie farmakoterapii [31–34].

DOTYCHCZASOWE METODY LECZENIA DEPRESJI POPORODOWEJ

Decyzję o zastosowaniu wsparcia bądź farmakoterapii ustala się na podstawie ciężkości objawów. Badania ukazują, że zarówno terapia interpersonalna (ang. *interpersonal therapy* IPT), terapia poznawczo-behawioralna (ang. *cognitive behavioral therapy* CBT) jak i terapia psychodynamiczna są skutecznymi metodami leczenia nefarmakologicznego PPD [35–39]. W przypadkach opornych zaleca się stosowanie antydepresantów. Najczęściej wybierane są selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny (ang. *selective serotonin reuptake inhibitors* SSRI). W przypadku braku tolerancji lub nieskuteczności SSRI można zastosować inny lek przeciwdepresyjny, jednak ich działanie ocenione w randomizowanych badaniach klinicznych wykazało, że powodują wyższy odsetek remisji w porównaniu z placebo [25,40]. Ponadto, SSRI rzadko osiągają wskaźnik odpowiedzi (ang. *response rate* RR) powyżej 50%, a wywołanie odpowiedzi organizmu trwa kilka tygodni [41]. Należy także wziąć pod uwagę przenikanie leków do mleka matki, sertralina jest pod tym względem najbezpieczniejsza. Jednakże może nastąpić konieczność stosowania gotowych mieszanek mlecznych, co również ma swoje negatywne skutki dla rozwoju dziecka [42–44]. W leczeniu PPD można zastosować dodatkowe leki psychotropowe w celu leczenia współistniejącego lęku i bezsenności (leki nasenne, benzodiazepiny) lub w celu zwiększenia skuteczności leków przeciwdepresyjnych. W Tabeli 1. przedstawiono zestawienie dotychczasowo stosowanych metod leczenia PPD.

Obecnie przeprowadzana jest niedostateczna liczba badań nad nowymi terapiami PPD, dlatego wachlarz opcji leczniczych nie jest tak szeroki, jak można by oczekiwać.

RECEPTORY GABA_A

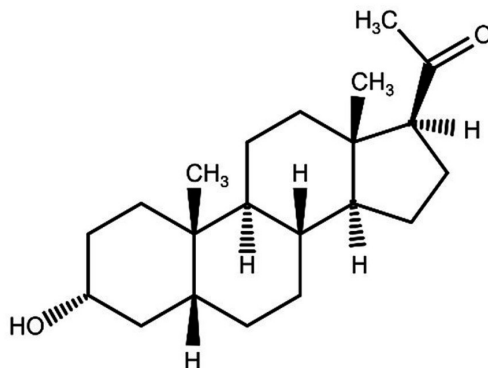
Kwas γ -aminomasłowy działa jako przekaźnik hamujący w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) i odgrywa główną rolę w regulacji aktywności mózgu. Wszelkie zaburzenia szlaku pobudzania receptora kwasu gamma-aminomasłowego (ang. *gamma-aminobutyric acid* GABA_A) mogą skutkować chorobami neurologicznymi [46–52]. U pacjentów z depresją obserwuje się obniżone poziomy GABA w osoczu i płynie mózgowo-rdzeniowym [53].

Allopregnanolon (3 α , 5 α -tetrahydroprogesteron ALLO) jako neurosteroid jest endogennym pozytywnym modulatorem allosterycznym receptora GABA_A

oraz pochodną pregnanolonu (rycina 1). Wydłuża czas zaniku kanałów jonowych bramkowanych GABA, co wzmacnia wytwarzany sygnał. Pozytywnie modulując receptor GABA_A, allopregnanolon zapoźnia potencjalną ścieżkę terapeutyczną w leczeniu PPD [54–56]. Wykazuje znakomite działanie przeciwłkowe i przeciwdepresyjne [57–59]. Dodatkowo, odgrywa również kluczową rolę w ochronie mózgu matki i płodu przed szkodliwym poziomem glikokortykosteroidów matki wynikającym z narażenia na stres w czasie ciąży oraz zapobiega przedwczesnemu wydzielaniu oksytocyny związanemu z przedwczesnym porodem. Allopregnanolon ma również działanie neuroprotekcjne i wspomaga rozwój mózgu płodu [60].

Tabela 1. Dotychczasowo stosowane metody leczenia depresji poporodowej[45]

Metoda leczenia	Działanie	Zalety	Wady
IPT	Współpraca pacjenta z terapeutą, skupienie na rozwiązywaniu problemu przez okres 12-20 tygodni		<ul style="list-style-type: none"> - Piętno społeczne - Konieczność sprawowania opieki nad dzieckiem podczas spotkania - Koszt
CBT	Zmniejszenie stresu, promocja pozytywnych wzorców zachowań i mechanizmów radzenia sobie z problemem	<ul style="list-style-type: none"> - Zmniejszenie objawów depresji - Lepsza więź między matką a dzieckiem 	<ul style="list-style-type: none"> - Brak dostępności przeszkolonych profesjonalistów - Czas trwania
Terapia poznawczo-behawioralna	Skupienie na problemach interpersonalnych poprzez wsparcie behawioralne i emocjonalne	<ul style="list-style-type: none"> - Lepsze umiejętności radzenia sobie z problemami - Zwiększone wsparcie społeczne - Poprawa relacji międzyludzkich 	<ul style="list-style-type: none"> - Dyskomfort psychiczny - Zwiększony lęk - Nadmierna zależność od terapii - Czas trwania - Piętno społeczne
SSRI	Hamowanie wychwytu zwrotnego serotoniny, zwiększając jej biodostępność w mózgu	<ul style="list-style-type: none"> - Poprawa samooceny i pewności siebie 	<ul style="list-style-type: none"> - Problemy żołądkowo-jelitowe - Problemy seksualne - Bezsennność lub nadmierna senność - Wahania wagi - Niepokój lub pobudzenie - Suchość w ustach - Bóle głowy



Rycina 1. Struktura chemiczna pregnanolonu [61]

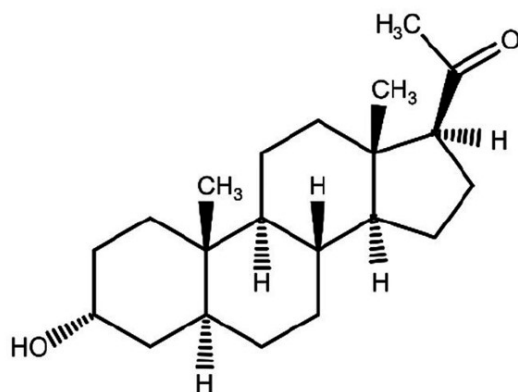
BREKSANOLON – PIERWSZY LEK W LECZENIU PPD

Breksanolon, niedawno opracowany analog ALLO, został zatwierdzony przez Agencję Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration* FDA) w 2019 r. do leczenia ciężkiej depresji poporodowej (rycina 2). Choć rewolucyjny, ma ograniczenia ze względu na dożylny sposób podania, który wymaga dawkowania łącznie przez 60 godzin. Dlatego też wymagane jest przyjęcie pacjenta do szpitala i uważne monitorowanie jego stanu. Stosowanie breksanolonu wiąże się również z efektami ubocznymi jakimi są sedacja, zaburzenia stanu psychicznego i utrata przytomności. Lek ten jest przeciwwskazany u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek i może powodować ich dalsze uszkodzenie. Profil bezpieczeństwa breksanolonu, niewygodny sposób podania i ciągle monitorowanie skłoniły do poszukiwania alteratywnych leków. Co więcej, koszt leczenia breksanolonem waha się od 15000 do 34000 dolarów w Stanach Zjednoczonych, co stanowi barierę w dostępie do leczenia [62,63].

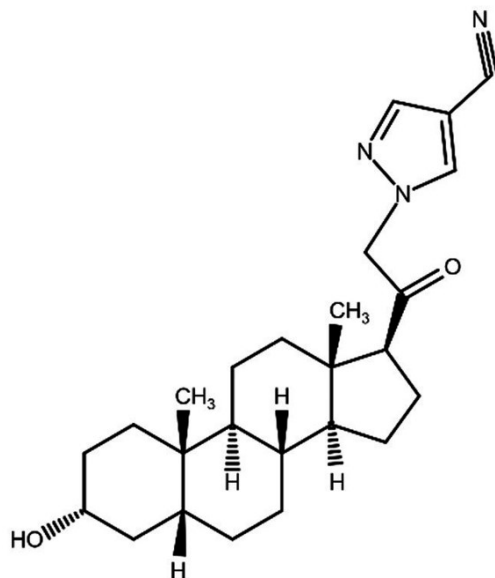
ZURANOLON

Wady breksanolonu nie stanowiły już problemu wraz z dniem 4 sierpnia 2023 r., gdy FDA zatwierdziło zuranolon (*Zurzuvae*), doustny neurosteroid, do leczenia PPD (rycina 3). Jest on selektywnym syntetycznym pozytywnym modulatorem allosterycznym receptora GABA_A. Ma potencjał łagodzenia objawów depresji w większym stopniu niż tradycyjne leki. Do niedawna wyzwaniem było zapewnienie korzyści ze stosowania modulatorów GABA szerokiego gronu pacjentów ze względu na trudność w osiągnięciu optymalnej aktywności receptorów

GABA_A synaptycznych jak i pozasynaptycznych przy jednoczesnym zachowaniu odpowiedniej farmakokinetyki leku. Było to szczególnie problematyczne ze względu na ograniczone wchłanianie, jak również wynikającą z tego szybką biotransformację i eliminację. W odpowiedzi na te problemy, zuranolon został zaprojektowany tak, aby zoptymalizować właściwości farmakologiczne, farmakokinetyczne i farmakodynamiczne tej klasy leków. Badania z użyciem zuranolonu wykazały znaczną poprawę względem placebo. Doustna droga podania przyniosła również pozytywne skutki względem bezsenności i była dobrze tolerowana przez pacjentów.



Rycina 2. Struktura chemiczna allopregnanolonu (breksanolonu) [61]



Rycina 3. Struktura chemiczna zuranolonu [61]

Porównanie z breksanolonem

Chociaż breksanolon został dokładniej zbadany i udokumentowany, zuranolon może stać się szerzej stosowanym lekiem ze względu na jego biodostępność po podaniu doustnym, podczas gdy breksanolon wymaga podawania dożylnego i stałego nadzoru ze strony personelu medycznego.

Różnicę między breksanolonem a zuranolonem można sprawdzić na podstawie liczb. W badaniu przeprowadzonym w 2020, roku po podaniu 10 mg/kg zuranolonu zarówno dootrzewnowo (łac. *intrapertonealis* i.p.), jak i doustnie (łac. *per os* p.o.), maksymalne stężenie w osoczu (C_{\max}) osiągnięto 30 minut po podaniu. Podanie doustne skutkowało niższym C_{\max} w osoczu (odpowiednio 1335 w porównaniu z 3197 ng/ml) w porównaniu z podaniem dootrzewnowym. Doustna biodostępność zuranolonu była umiarkowanie wysoka i wynosiła 62 i 89% po przyjęciu i.p. Więcej informacji na temat farmakokinetyki breksanolonu oceniono podczas standardowej 60-godzinnej infuzji. W jednym z badań wykazano, że maksymalne stężenie breksanolonu w osoczu osiągnięto przy średniej geometrycznej 47,8 h, a C_{\max} wyniosło 89,7 ng/ml [62,64–70]. Tabela 2 porównuje farmakokinetykę breksanolonu i zuranolonu.

Tabela 2. Farmakokinetyka breksanolonu i zuranolonu [61].

¹Maksymalne stężenie w osoczu ²Czas do uzyskania maksymalnego stężenia w osoczu

	Breksanolon i.p.	Zuranolon i.p.	Zuranolon p.o.
Dawka	90 µg/kg/godz w 60godz	10 mg/kg	10 mg/kg
C_{\max}^1	90 ng/ml	3197 ng/ml	1335 ng/ml
t_{\max}^2	48 godz	30 min	30 min

W celu porównania wyników leczenia używa się także skali depresji Hamiltona (ang. *Hamilton Depression Rating Scale* HAMD). Wynik poniżej 7 punktów sugeruje brak zaburzeń. Do 13 - depresję łagodną, a do 23 umiarkowaną. Powyżej 24 - stadium ciężkie. W tabeli 3 porównano działanie breksanolonu i zuranolonu z placebo.

Tabela 3. Porównanie breksanolonu i zuranolonu z placebo [61,66,71]

	Breksanolon	Breksanolon	Breksanolon: placebo	Zuranolon	Zuranolon: placebo
Średnia zmiana wyniku HAMD-17 w stosunku do wartości wyjściowych	-19,5 po 60 godz	-17,7 po 60 godz	-14,0 po 60 godz	-17,8 po 3 dniach	-13,6 po 3 dniach
Dawka i populacja	60 µg/kg/godz w 60 godz i.v. n = 43	90 µg/kg/godz w 60 godz i.v. n = 41	n = 46	30 mg/d i.p. w 14 dni n = 77	n = 79

SYNERGIZM Z DIAZEPAMEM

Zuranolon działa synergistycznie z diazepamem. W celu zbadania tego zjawiska przeprowadzono analizę izobolograficzną. Wybrano pewien określony poziom działania, zwany również linią addytywności. Stężenia diazepamu i zuranolonu potrzebne do osiągnięcia tego efektu po połączeniu porównano następnie ze stężeniami niezbędnymi dla każdego związku, aby osiągnąć ten sam efekt przy stosowaniu osobno. Synergję, addytywność lub subaddytywność określano poprzez położenie wyznaczonego eksperymentalnie punktu na wykresie względem linii addytywności. Punkty leżące na linii odzwierciedlają addytywność, poniżej linii odzwierciedlają synergję, a powyżej linii odzwierciedlają subaddytywność. Z ustaleń wynika, że podobny efekt terapeutyczny można uzyskać stosując mniejsze dawki diazepamu i zuranolonu stosowane łącznie niż osobno. Może to być korzystne w strategii minimalizacji działań niepożądanych obserwowanych w monoterapii [72].

Bezpieczeństwo

Jedno z badań z 2021 roku wykazało, że zuranolon był ogólnie dobrze tolerowany, a większość działań niepożądanych związanych z leczeniem miała charakter łagodny lub umiarkowany. Do badania włączono łącznie 275 kobiet. Spośród nich wybrano 151, 73 przydzielono do grupy placebo, a 78 do grupy zuranolonu. W grupie zuranolonu leczenie ukończyło 76 z 78 pacjentek (97%). Przyczyną przerwania leczenia w tej grupie były zdarzenia niepożądane (1 pacjentka) oraz

nieprzestrzeganie zaleceń lekarskich (1 pacjentka). Najczęstszymi działaniami niepożądanymi w grupie zuranolonu ($\geq 5\%$) były senność, ból głowy, zawroty głowy, infekcja górnych dróg oddechowych, biegunka i sedacja. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi w grupie placebo ($\geq 5\%$) były ból głowy, senność, nudności, zawroty głowy, wymioty, niezwykle sny i nadmierna potliwość. Nie zaobserwowano dowodów na zwiększoną liczbę myśli i zachowań samobójczych. Jedna pacjentka z każdej grupy doświadczyła poważnego działania niepożądanego: stanu splątania w grupie przyjmującej zuranolon i zapalenia trzustki w grupie przyjmującej placebo. Nie zgłoszono żadnych zauważalnych ani klinicznie istotnych zmian w parametrach życiowych, EKG lub klinicznych parametrach laboratoryjnych [71].

Inne badanie podkreśla, że zuranolon był ogólnie dobrze tolerowany, nie odnotowano żadnych poważnych zdarzeń niepożądanych ani żadnych zdarzeń niepożądanych prowadzących do przerwania leczenia. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi były zawroty głowy, senność i sedacja, które wystąpiły u 14,3% uczestników i miały łagodne nasilenie. Dwoje pacjentów zmniejszyło dawkę zuranolonu z powodu dyskomfortu w kończynach, nadmiernego wydzielania śliny i stanu splątania [73].

Według badania z 2022 r. zuranolon był ogólnie dobrze tolerowany, nie zaobserwowano żadnych poważnych ani ciężkich zdarzeń niepożądanych ani nie przerwano jego stosowania z powodu zdarzeń niepożądanych. W tym badaniu, prowadzonym metodą podwójnie ślepej próby i w układzie krzyżowym, zdrowym dorosłym podawano placebo (41 uczestników), 30 mg zuranolonu (44 uczestników) lub 45 mg zuranolonu (42 uczestników). Pojawiające się zdarzenia niepożądane były łagodne i zgodne z farmakologią zuranolonu i wcześniejszymi badaniami nad zuranolonem. Najczęstszymi zdarzeniami niepożądanymi (≥ 2 uczestników w dowolnym okresie) były ból głowy (placebo, $n = 2$) i zmęczenie (zuranolon 30 mg, $n = 2$). Wszystkie inne działania niepożądane zostały zgłoszone przez 1 uczestnika i obejmowały zawroty głowy, nudności i senność. Zuranolon w dawkach 30 i 45 mg nie powodował znaczącego wpływu następnego dnia na senność ani sprawność psychomotoryczną, chociaż więcej uczestników z grupy leczonej zuranolonem w dawce 45 mg zgłaszało oznaki senności w ocenie po polisomnografii.

Badanie CORAL opublikowane w 2024 r. wykazało, że w większości przypadków pacjenci leczeni zuranolonem + terapią przeciwdepresyjną (ang. *antidepressant therapy* ADT), którzy doświadczyli podczas leczenia zdarzeń niepożądanych zgłaszali te zdarzenia jako łagodne lub umiarkowane. Spośród

440 randomizowanych pacjentów 430 otrzymało ≥ 1 dawkę badanego leku (zuranolon + ADT, $n = 212$; placebo + ADT, $n = 218$) w okresie leczenia; spośród nich pięciu pacjentów (odpowiednio $n = 2$ i $n = 3$) przedwcześnie przerwało badanie, bez żadnych danych dotyczących skuteczności po rozpoczęciu leczenia, pozostawiając w sumie 425 pacjentów (odpowiednio $n = 210$ i $n = 215$). Łącznie 186 (87,7%) pacjentów otrzymujących zuranolon + ADT i 193 (88,5%) pacjentów otrzymujących placebo + ADT zakończyło leczenie. Badanie ukończyło odpowiednio 180 (84,9%) i 177 (81,2%) pacjentów (114). Do najczęściej obserwowanych działań niepożądanych, występujących u co najmniej 10% pacjentów w grupie otrzymującej zuranolon + ADT lub placebo + ADT, należały senność, zawroty głowy, ból głowy i nudności. Odkrycia te wskazują, że zuranolon + ADT prowadził do szybszego złagodzenia objawów depresyjnych w porównaniu z placebo + ADT u pacjentów z dużymi zaburzeniami depresyjnymi. Ponadto stwierdzono, że profil bezpieczeństwa zuranolonu + ADT jest zgodny z wcześniejszymi badaniami [64–66,71,72,74–85]

Ciężkie działania niepożądane

W badaniu z 2023 r. podano, że w trakcie leczenia dwóch pacjentów, którym podano 30 mg zuranolonu, napotkało ciężkie działania niepożądane. Do badania włączono 581 pacjentów. Podawanymi lekami były zuranolon 20 mg (188 pacjentom), zuranolon 30 mg (192 pacjentom) i placebo (190 pacjentom). Podczas 14-dniowego okresu leczenia mniej niż 10% pacjentów przerwało leczenie, w tym 4,8% w grupie zuranolonu w dawce 20 mg, 7,8% w grupie zuranolonu w dawce 30 mg i 7,9% w grupie placebo. W sumie 157 pacjentów (27,5%) ukończyło badanie, a głównym powodem było wycofanie zgody (15,4%), brak kooperacji (6,8%) i zdarzenia niepożądane (2,1%). Pierwszy pacjent, który miał długą historię zaburzeń depresyjnych i poprzednią próbę samobójczą, piątego dnia podjął ponowną próbę samobójczą, co mogło mieć związek z lekiem. U drugiego pacjenta, który miał przebytą operację na drogach żółciowych, w drugim dniu wystąpiła kamica dróg żółciowych, która wymagała usunięcia chirurgicznego. Zdarzenie to nie było związane z lekiem. Zdarzenia niepożądane związane z leczeniem, które doprowadziły do przerwania leczenia, były podobne we wszystkich grupach (2,1% w grupie otrzymującej zuranolon w dawce 30 mg, 1,6% w grupie otrzymującej zuranolon w dawce 20 mg i 3,2% w grupie placebo). Najczęstszą przyczyną odstawienia były zaburzenia psychiczne i układu nerwowego. Nie zgłoszono utraty przytomności. Nie zaobserwowano znaczących zmian

ZURANOLON – PIERWSZY DOUSTNY PREPARAT DO LECZENIA DEPRESJI POPORODOWEJ

w parametrach życiowych, klinicznych parametrach laboratoryjnych ani w EKG. Liczba pacjentów, którzy zgłosili myśli lub zachowania samobójcze znacząco spadła w porównaniu z początkową liczbą we wszystkich grupach. Od trzeciego dnia leczenia do oceny końcowej mniej niż 13% pacjentów zgłaszało takie myśli lub zachowania. W 182 dniu nie stwierdzono zmiany w odsetku pacjentów zgłaszających myśli lub zachowania samobójcze [86].

Inne zastosowania

Zuranolon z powodzeniem stosowany jest także w leczeniu innych chorób, co przedstawia Tabela 4.

Tabela 4. Zuranolon w leczeniu wybranych chorób [61,71,73,87,88]

Choroba	Wyniki leczenia zuranolonem
Depresja poporodowa	Zwiększenie wyniku w skali HAMD-17 i złagodzenie objawów depresji w 15 dniu po podaniu w porównaniu z placebo. Poprawa była odczuwalna w dniach 3-45 po przyjęciu leku.
Ciężkie zaburzenia depresyjne	Znaczące złagodzenie objawów w dniu 15 utrzymujące się do dnia 33. Wysokie bezpieczeństwo, dobra tolerancja.
Bezsennność	Duża poprawa jakości snu względem placebo, w korelacji z wyższą dawką (45 mg > 30 mg).
Choroba Parkinsona	Po 12 godzinach minimalizacja drżenia, utrzymywana przez cały okres podawania leku. Polepszenie jakości życia, dobra tolerancja.
Choroba afektywna dwubiegunowa	Poprawa nastroju, funkcjonowania i zmniejszenie lęku.

PRZYSZŁOŚĆ

W przypadku chorób neurodegeneracyjnych (takich jak choroba Alzheimera i otępienie związane z HIV) nie ma danych na temat działania zuranolonu. Neurosteroidy poprawiają tworzenie nowych połączeń synaptycznych, dlatego zuranolon mógłby prawdopodobnie znaleźć zastosowanie w ich leczeniu i/lub zapobieganiu. Wymaga to jednak dalszych badań.

Stwierdzono, że niektóre nowotwory (takie jak glejak wielopostaciowy,

gwiazdździak i skąpodrzewiak) są wrażliwe na hormony steroidowe. Stwarza to możliwość stosowania leków takich jak zuranolon jako środków terapeutycznych, ale wymaga to zebrania większej ilości danych.

PTSD, schizofrenia i przedmiesiączkowe zaburzenie dysforyczne – wspólną cechą tej grupy jest obniżone stężenie allopregnanolonu w płynie mózgowo-rdzeniowym. Pacjenci mogą odnieść korzyść ze stosowania zuranolonu, jednak wymagane są dodatkowe badania.

Dostępne są ograniczone informacje na temat bezpieczeństwa stosowania zuranolonu podczas karmienia piersią. Stężenie allopregnanolonu w mleku matki po 60-godzinnym wlewie stopniowo zmniejszało się do niewykrywalnego poziomu 3 dni po zakończeniu wlewu. Ryzyko negatywnego wpływu leku na dziecko jest prawdopodobnie niskie. Jednakże potencjalny wpływ zuranolonu na niemowlęta karmione piersią wymaga dalszych badań [67]

DYSKUSJA

Leczenie kobiet ciężarnych i w okresie połogu jest niełatwym wyzwaniem. Ich ciało przechodzi znaczne zmiany biochemiczne typowe tylko dla tego okresu, a dodatkowo należy brać pod uwagę ograniczoną ilość substancji, które mogą zostać podane ze względu na bezpieczeństwo płodu i noworodka. Szybko rozwijająca się medycyna daje nadzieję na lepsze możliwości terapeutyczne w przyszłości.

Depresja poporodowa stanowi szeroki problem ze wszystkimi konsekwencjami lęku, stresu oraz leczenia. Dzięki jego właściwościom, zuranolon stanowi obiecującą alternatywę w celu sprostania temu wyzwaniu. Wykazuje szerokie spektrum korzyści w porównaniu z tradycyjnymi opcjami leczenia, jakimi są m.in. psychoterapia czy antydepresanty. Zapewnia także szybszy początek działania, które utrzymuje się przez okres do dwóch tygodni po zaprzestaniu stosowania, przewyższając przejściowe korzyści leczenia konwencjonalnego. Ponadto wykazuje znacznie wyższy wskaźnik remisji. Nie tylko nadaje się do leczenia PPD, ale także do leczenia ciężkich zaburzeń depresyjnych, bezsenności, drżenia w chorobie Parkinsona czy choroby afektywnej dwubiegunowej. Może być podawany z benzodiazepinami takimi jak diazepam w celu zmniejszenia ich dawki i zapobieganiu działaniom ubocznym. Dodatkowo wydaje się być bezpieczny przy karmieniu piersią. Zuranolon wykazuje wyższość nad breksanolonem ze względu na łatwiejszą drogę podania i minimalizację skutków ubocznych. Biorąc pod uwagę ograniczoną świadomość PPD i jej niedostateczne rozpoznawanie, zuranolon stanowi praktyczną opcję dla matek, oszczędzając im konieczności długotrwałej

hospitalizacji, która również może mieć niekorzystny wpływ na rozwój dziecka.

WNIOSKI

Zuranolon wykazuje obiecującą skuteczność i bezpieczeństwo w leczeniu depresji poporodowej. Jego stosowanie powoduje ustąpienie objawów depresyjnych i lękowych, doprowadzając do remisji. Stanowi wyższość nad dotychczasowo stosowanymi terapiami. Mimo to istnieje pilna potrzeba dalszych badań klinicznych na większą skalę, aby rozszerzyć wiedzę na temat jego długotrwałych skutków stosowania.

REFERENCJE

- [1] Ferrari B, Mesiano L, Benacchio L, Ciulli B, Donolato A, Riolo R. Prevalence and risk factors of postpartum depression and adjustment disorder during puerperium – a retrospective research. *J Reprod Infant Psychol.* 2021;39(5):486-498. doi:10.1080/02646838.2020.1786035
- [2] Biaggi A, Conroy S, Pawlby S, Pariante CM. Identifying the women at risk of antenatal anxiety and depression: A systematic review. *J Affect Disord.* 2016;191:62-77. doi:10.1016/j.jad.2015.11.014
- [3] Zhu J, Ye Z, Fang Q, Huang L, Zheng X. Surveillance of Parenting Outcomes, Mental Health and Social Support for Primiparous Women among the Rural-to-Urban Floating Population. *Healthcare.* 2021;9(11):1516. doi:10.3390/healthcare9111516
- [4] Wang Z, Liu J, Shuai H, et al. Mapping global prevalence of depression among postpartum women. *Transl Psychiatry.* 2021;11(1):543. doi:10.1038/s41398-021-01663-6
- [5] Darcy JM, Grzywacz JG, Stephens RL, Leng I, Clinch CR, Arcury TA. Maternal Depressive Symptomatology: 16-Month Follow-up of Infant and Maternal Health-Related Quality of Life. *J Am Board Fam Med.* 2011;24(3):249-257. doi:10.3122/jabfm.2011.03.100201
- [6] Gavin NI, Gaynes BN, Lohr KN, Meltzer-Brody S, Gartlehner G, Swinson T. Perinatal Depression: A Systematic Review of Prevalence and Incidence. *Obstet Gynecol.* 2005;106(5, Part 1):1071-1083. doi:10.1097/01.AOG.0000183597.31630.db

- [7] Vesga-López O, Blanco C, Keyes K, Olfson M, Grant BF, Hasin DS. Psychiatric Disorders in Pregnant and Postpartum Women in the United States. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(7):805. doi:10.1001/archpsyc.65.7.805
- [8] Crotty F, Sheehan J. Prevalence and detection of postnatal depression in an Irish community sample. *Ir J Psychol Med*. 2004;21(4):117-121. doi:10.1017/S0790966700008533
- [9] Cooper PJ, Murray L, Wilson A, Romaniuk H. Controlled trial of the short- and long-term effect of psychological treatment of postpartum depression: I. Impact on maternal mood. *Br J Psychiatry*. 2003;182(5):412-419. doi:10.1192/bjp.182.5.412
- [10] Agrawal I, Mehendale AM, Malhotra R. Risk Factors of Postpartum Depression. *Cureus*. Published online October 31, 2022. doi:10.7759/cureus.30898
- [11] Grigoriadis S, Romans S. Postpartum Psychiatric Disorders: What Do We Know And Where Do We Go? *Curr Psychiatry Rev*. 2006;2(1):151-158. doi:10.2174/157340006775101481
- [12] O'Hara MW, Wisner KL. Perinatal mental illness: Definition, description and aetiology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2014;28(1):3-12. doi:10.1016/j.bpobgyn.2013.09.002
- [13] American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Fifth Edition. American Psychiatric Association; 2013. doi:10.1176/appi.books.9780890425596
- [14] Payne JL, Maguire J. Pathophysiological mechanisms implicated in postpartum depression. *Front Neuroendocrinol*. 2019;52:165-180. doi:10.1016/j.yfrne.2018.12.001
- [15] Cox JL, Murray D, Chapman G. A Controlled Study of the Onset, Duration and Prevalence of Postnatal Depression. *Br J Psychiatry*. 1993;163(1):27-31. doi:10.1192/bjp.163.1.27
- [16] Pearlstein T, Howard M, Salisbury A, Zlotnick C. Postpartum depression. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(4):357-364. doi:10.1016/j.ajog.2008.11.033

- [17] Lovestone S, Kumar R. Postnatal Psychiatric Illness: the Impact on Partners. *Br J Psychiatry*. 1993;163(2):210-216. doi:10.1192/bjp.163.2.210
- [18] Murray L, Fiori-Cowley A, Hooper R, Cooper P. The Impact of Postnatal Depression and Associated Adversity on Early Mother-Infant Interactions and Later Infant Outcome. *Child Dev*. 1996;67(5):2512. doi:10.2307/1131637
- [19] National Inst of Child Health & Human Development. Chronicity of maternal depressive symptoms, maternal sensitivity, and child functioning at 36 months. *Dev Psychol*. 1999;35(5):1297-1310. doi:10.1037/0012-1649.35.5.1297
- [20] National Research Council (U.S.), ed. *Depression in Parents, Parenting, and Children: Opportunities to Improve Identification, Treatment, and Prevention*. National Academies Press; 2009.
- [21] Faisal-Cury A, Tabb KM, Ziebold C, Matijasevich A. The impact of postpartum depression and bonding impairment on child development at 12 to 15 months after delivery. *J Affect Disord Rep*. 2021;4:100125. doi:10.1016/j.jadr.2021.100125
- [22] Valla L, Wentzel-Larsen T, Hofoss D, Slinning K. Prevalence of suspected developmental delays in early infancy: results from a regional population-based longitudinal study. *BMC Pediatr*. 2015;15(1):215. doi:10.1186/s12887-015-0528-z
- [23] Rosenberg SA, Zhang D, Robinson CC. Prevalence of Developmental Delays and Participation in Early Intervention Services for Young Children. *Pediatrics*. 2008;121(6):e1503-e1509. doi:10.1542/peds.2007-1680
- [24] De Moura DR, Costa JC, Santos IS, et al. Risk factors for suspected developmental delay at age 2 years in a Brazilian birth cohort. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2010;24(3):211-221. doi:10.1111/j.1365-3016.2010.01115.x
- [25] Lee YL, Tien Y, Bai YS, et al. Association of Postpartum Depression with Maternal Suicide: A Nationwide Population-Based Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(9):5118. doi:10.3390/ijerph19095118

- [26] Tebeka S, Le Strat Y, De Premorel Higgons A, et al. Prevalence and incidence of postpartum depression and environmental factors: The IGEDEPP cohort. *J Psychiatr Res.* 2021;138:366-374. doi:10.1016/j.jpsychires.2021.04.004
- [27] Dennis CL, Brown HK, Wanigaratne S, et al. Determinants of comorbid depression and anxiety postnatally: A longitudinal cohort study of Chinese-Canadian women. *J Affect Disord.* 2018;227:24-30. doi:10.1016/j.jad.2017.09.033
- [28] Gaillard A, Le Strat Y, Mandelbrot L, Keïta H, Dubertret C. Predictors of postpartum depression: Prospective study of 264 women followed during pregnancy and postpartum. *Psychiatry Res.* 2014;215(2):341-346. doi:10.1016/j.psychres.2013.10.003
- [29] Deng AW, Xiong RB, Jiang TT, Luo YP, Chen WZ. Prevalence and risk factors of postpartum depression in a population-based sample of women in Tangxia Community, Guangzhou. *Asian Pac J Trop Med.* 2014;7(3):244-249. doi:10.1016/S1995-7645(14)60030-4
- [30] De Tychev C, Spitz E, Briançon S, et al. Pre- and postnatal depression and coping: a comparative approach. *J Affect Disord.* 2005;85(3):323-326. doi:10.1016/j.jad.2004.11.004
- [31] Stewart DE, Vigod SN. Postpartum Depression: Pathophysiology, Treatment, and Emerging Therapeutics. *Annu Rev Med.* 2019;70(1):183-196. doi:10.1146/annurev-med-041217-011106
- [32] Leger J, Letourneau N. New mothers and postpartum depression: a narrative review of peer support intervention studies. *Health Soc Care Community.* 2015;23(4):337-348. doi:10.1111/hsc.12125
- [33] A pragmatic randomised controlled trial to compare antidepressants with a community-based psychosocial intervention for the treatment of women with postnatal depression: the RESPOND trial. *Clin Gov Int J.* 2011;16(1). doi:10.1108/cgij.2011.24816aaf.003
- [34] Dennis CL. Psychosocial interventions for the treatment of perinatal depression. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2014;28(1):97-111. doi:10.1016/j.bpobgyn.2013.08.008

- [35] Reay R, Fisher Y, Robertson M, Adams E, Owen C. Group interpersonal psychotherapy for postnatal depression: a pilot study. *Arch Womens Ment Health*. 2006;9(1):31-39. doi:10.1007/s00737-005-0104-x
- [36] Dennis CL, Hodnett ED. Psychosocial and psychological interventions for treating postpartum depression. Cochrane Common Mental Disorders Group, ed. *Cochrane Database Syst Rev*. Published online October 17, 2007. doi:10.1002/14651858.CD006116.pub2
- [37] Cuijpers P, Brännmärk JG, Van Straten A. Psychological treatment of postpartum depression: a meta-analysis. *J Clin Psychol*. 2008;64(1):103-118. doi:10.1002/jclp.20432
- [38] Milgrom J, Negri LM, Gemmill AW, McNeil M, Martin PR. A randomized controlled trial of psychological interventions for postnatal depression. *Br J Clin Psychol*. 2005;44(4):529-542. doi:10.1348/014466505X34200
- [39] Pearlstein TB, Zlotnick C, Battle CL, et al. Patient choice of treatment for postpartum depression: a pilot study. *Arch Womens Ment Health*. 2006;9(6):303-308. doi:10.1007/s00737-006-0145-9
- [40] Molyneaux E, Howard LM, McGeown HR, Karia AM, Trevillion K. Antidepressant treatment for postnatal depression. Cochrane Common Mental Disorders Group, ed. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;2014(9). doi:10.1002/14651858.CD002018.pub2
- [41] Pinna G, Almeida FB, Davis JM. Allopregnanolone in Postpartum Depression. *Front Glob Womens Health*. 2022;3:823616. doi:10.3389/fgwh.2022.823616
- [42] Davanzo R, Copertino M, De Cunto A, Minen F, Amaddeo A. Antidepressant Drugs and Breastfeeding: A Review of the Literature. *Breastfeed Med*. 2011;6(2):89-98. doi:10.1089/bfm.2010.0019
- [43] Sriraman NK, Melvin K, Meltzer-Brody S, the Academy of Breastfeeding Medicine. ABM Clinical Protocol #18: Use of Antidepressants in Breastfeeding Mothers. *Breastfeed Med*. 2015;10(6):290-299. doi:10.1089/bfm.2015.29002

- [44] Walton GD, Ross LE, Stewart DE, Grigoriadis S, Dennis CL, Vigod S. Decisional conflict among women considering antidepressant medication use in pregnancy. *Arch Womens Ment Health*. 2014;17(6):493-501. doi:10.1007/s00737-014-0448-1
- [45] Nashwan AJ, Rehan ST, Imran L, Abbas SG, Khan SF. Exploring the clinical potentials of zuranolone in managing postpartum depression: A new therapeutic horizon. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2024;132:110983. doi:10.1016/j.pnpbp.2024.110983
- [46] Ghit A, Assal D, Al-Shami AS, Hussein DEE. GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *J Genet Eng Biotechnol*. 2021;19(1):123. doi:10.1186/s43141-021-00224-0
- [47] Ramamoorthi K, Lin Y. The contribution of GABAergic dysfunction to neurodevelopmental disorders. *Trends Mol Med*. 2011;17(8):452-462. doi:10.1016/j.molmed.2011.03.003
- [48] Korpi ER, Sinkkonen ST. GABAA receptor subtypes as targets for neuropsychiatric drug development. *Pharmacol Ther*. 2006;109(1-2):12-32. doi:10.1016/j.pharmthera.2005.05.009
- [49] Macdonald RL, Kang JQ, Gallagher MJ. Mutations in GABA_A receptor subunits associated with genetic epilepsies: GABA_A receptor subunits associated with genetic epilepsies. *J Physiol*. 2010;588(11):1861-1869. doi:10.1113/jphysiol.2010.186999
- [50] Bloss CS, Berrettini W, Bergen AW, et al. Genetic Association of Recovery from Eating Disorders: The Role of GABA Receptor SNPs. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(11):2222-2232. doi:10.1038/npp.2011.108
- [51] Collins AL, Ma D, Whitehead PL, et al. Investigation of autism and GABA receptor subunit genes in multiple ethnic groups. *Neurogenetics*. 2006;7(3):167-174. doi:10.1007/s10048-006-0045-1
- [52] Ma DQ, Whitehead PL, Menold MM, et al. Identification of Significant Association and Gene-Gene Interaction of GABA Receptor Subunit Genes in Autism. *Am J Hum Genet*. 2005;77(3):377-388. doi:10.1086/433195

- [53] Luscher B, Shen Q, Sahir N. The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. *Mol Psychiatry*. 2011;16(4):383-406. doi:10.1038/mp.2010.120
- [54] Luscher B, Maguire JL, Rudolph U, Sibille E. GABAA receptors as targets for treating affective and cognitive symptoms of depression. *Trends Pharmacol Sci*. 2023;44(9):586-600. doi:10.1016/j.tips.2023.06.009
- [55] Zou J, Yang L, Yang G, Gao J. The efficacy and safety of some new GABAkinases for treatment of depression: A systematic review and meta-analysis from randomized controlled trials. *Psychiatry Res*. 2023;328:115450. doi:10.1016/j.psychres.2023.115450
- [56] Chen S, Gao L, Li X, Ye Y. Allopregnanolone in mood disorders: Mechanism and therapeutic development. *Pharmacol Res*. 2021;169:105682. doi:10.1016/j.phrs.2021.105682
- [57] Zorumski CF, Paul SM, Izumi Y, Covey DF, Mennerick S. Neurosteroids, stress and depression: Potential therapeutic opportunities. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37(1):109-122. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.10.005
- [58] Schüle C, Nothdurfter C, Rupprecht R. The role of allopregnanolone in depression and anxiety. *Prog Neurobiol*. 2014;113:79-87. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.09.003
- [59] Locci A, Pinna G. Neurosteroid biosynthesis down-regulation and changes in GABA_A receptor subunit composition: a biomarker axis in stress-induced cognitive and emotional impairment. *Br J Pharmacol*. 2017;174(19):3226-3241. doi:10.1111/bph.13843
- [60] Brunton PJ, Russell JA, Hirst JJ. Allopregnanolone in the brain: Protecting pregnancy and birth outcomes. *Prog Neurobiol*. 2014;113:106-136. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.08.005
- [61] Marecki R, Kałuska J, Kolanek A, Hakało D, Waszkiewicz N. Zuranolone – synthetic neurosteroid in treatment of mental disorders: narrative review. *Front Psychiatry*. 2023;14:1298359. doi:10.3389/fpsy.2023.1298359

- [62] Edinoff AN, Odisho AS, Lewis K, et al. Brexanolone, a GABAA Modulator, in the Treatment of Postpartum Depression in Adults: A Comprehensive Review. *Front Psychiatry*. 2021;12:699740. doi:10.3389/fpsyt.2021.699740
- [63] Eldar-Lissai A, Cohen JT, Meltzer-Brody S, et al. Cost-Effectiveness of Brexanolone Versus Selective Serotonin Reuptake Inhibitors for the Treatment of Postpartum Depression in the United States. *J Manag Care Spec Pharm*. 2020;26(5):627-638. doi:10.18553/jmcp.2020.19306
- [64] Althaus AL, Ackley MA, Belfort GM, et al. Preclinical characterization of zuranolone (SAGE-217), a selective neuroactive steroid GABAA receptor positive allosteric modulator. *Neuropharmacology*. 2020;181:108333. doi:10.1016/j.neuropharm.2020.108333
- [65] Powell JG, Garland S, Preston K, Piszczatoski C. Brexanolone (Zulresso): Finally, an FDA-Approved Treatment for Postpartum Depression. *Ann Pharmacother*. 2020;54(2):157-163. doi:10.1177/1060028019873320
- [66] Meltzer-Brody S, Colquhoun H, Riesenberg R, et al. Brexanolone injection in post-partum depression: two multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trials. *The Lancet*. 2018;392(10152):1058-1070. doi:10.1016/S0140-6736(18)31551-4
- [67] Wald J, Henningsson A, Hanze E, et al. Allopregnanolone Concentrations in Breast Milk and Plasma from Healthy Volunteers Receiving Brexanolone Injection, With Population Pharmacokinetic Modeling of Potential Relative Infant Dose. *Clin Pharmacokinet*. 2022;61(9):1307-1319. doi:10.1007/s40262-022-01155-w
- [68] Kanes S, Colquhoun H, Gunduz-Bruce H, et al. Brexanolone (SAGE-547 injection) in post-partum depression: a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2017;390(10093):480-489. doi:10.1016/S0140-6736(17)31264-3
- [69] Zheng W, Cai DB, Zheng W, et al. Brexanolone for postpartum depression: A meta-analysis of randomized controlled studies. *Psychiatry Res*. 2019;279:83-89. doi:10.1016/j.psychres.2019.07.006

- [70] Faden J, Citrome L. Intravenous brexanolone for postpartum depression: what it is, how well does it work, and will it be used? *Ther Adv Psychopharmacol.* 2020;10:204512532096865. doi:10.1177/2045125320968658
- [71] Deligiannidis KM, Meltzer-Brody S, Gunduz-Bruce H, et al. Effect of Zuranolone vs Placebo in Postpartum Depression: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry.* 2021;78(9):951. doi:10.1001/jamapsychiatry.2021.1559
- [72] Tallarida RJ. Quantitative Methods for Assessing Drug Synergism. *Genes Cancer.* 2011;2(11):1003-1008. doi:10.1177/1947601912440575
- [73] Bullock A, Kaul I, Li S, Silber C, Doherty J, Kaner SJ. Zuranolone as an oral adjunct to treatment of Parkinsonian tremor: A phase 2, open-label study. *J Neurol Sci.* 2021;421:117277. doi:10.1016/j.jns.2020.117277
- [74] Nashwan AJ, Rehan ST, Imran L, Abbas SG, Khan S. Redefining Postpartum Depression Treatment: The Clinical Potential of Zuranolone. *Asian J Psychiatry.* 2024;91:103849. doi:10.1016/j.ajp.2023.103849
- [75] Peitl V, Vlahović D. Zuranolone. *Arch Psychiatry Res.* 2023;59(2):339-340. doi:10.20471/may.2023.59.02.19
- [76] Deligiannidis KM, Citrome L, Huang MY, et al. Effect of Zuranolone on Concurrent Anxiety and Insomnia Symptoms in Women With Postpartum Depression. *J Clin Psychiatry.* 2023;84(1). doi:10.4088/JCP.22m14475
- [77] Epperson CN, Rubinow DR, Meltzer-Brody S, et al. Effect of brexanolone on depressive symptoms, anxiety, and insomnia in women with postpartum depression: Pooled analyses from 3 double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trials in the HUMMINGBIRD clinical program. *J Affect Disord.* 2023;320:353-359. doi:10.1016/j.jad.2022.09.143
- [78] Hutcherson TC, Cieri-Hutcherson NE, Gosciak MF. Brexanolone for postpartum depression. *Am J Health Syst Pharm.* 2020;77(5):336-345. doi:10.1093/ajhp/zxz333

- [79] Stahl SM. *Prescriber's Guide: Stahl's Essential Psychopharmacology*. 7th ed. Cambridge University Press; 2020. doi:10.1017/9781108921275
- [80] Susser LC. Clinical Implications of the Neurosteroid Allopregnanolone in Reproductive Depression. *Harv Rev Psychiatry*. 2023;31(1):37-45. doi:10.1097/HRP.0000000000000354
- [81] Ali M, Aamir A, Diwan MN, et al. Treating Postpartum Depression: What Do We Know about Brexanolone? *Diseases*. 2021;9(3):52. doi:10.3390/diseases9030052
- [82] Cooper MC, Kilvert HS, Hodgkins P, Roskell NS, Eldar-Lissai A. Using Matching-Adjusted Indirect Comparisons and Network Meta-analyses to Compare Efficacy of Brexanolone Injection with Selective Serotonin Reuptake Inhibitors for Treating Postpartum Depression. *CNS Drugs*. 2019;33(10):1039-1052. doi:10.1007/s40263-019-00672-w
- [83] Leader LD, O'Connell M, VandenBerg A. Brexanolone for Postpartum Depression: Clinical Evidence and Practical Considerations. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 2019;39(11):1105-1112. doi:10.1002/phar.2331
- [84] Gunduz-Bruce H, Takahashi K, Huang M. Development of neuroactive steroids for the treatment of postpartum depression. *J Neuroendocrinol*. 2022;34(2):e13019. doi:10.1111/jne.13019
- [85] Parikh SV, Aaronson ST, Mathew SJ, et al. Efficacy and safety of zuranolone co-initiated with an antidepressant in adults with major depressive disorder: results from the phase 3 CORAL study. *Neuropsychopharmacology*. 2024;49(2):467-475. doi:10.1038/s41386-023-01751-9
- [86] Clayton AH, Lasser R, Nandy I, Sankoh AJ, Jonas J, Kanes SJ. Zuranolone in Major Depressive Disorder: Results From MOUNTAIN—A Phase 3, Multicenter, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *J Clin Psychiatry*. 2023;84(2). doi:10.4088/JCP.22m14445
- [87] Clayton AH, Lasser R, Parikh SV, et al. Zuranolone for the Treatment of Adults With Major Depressive Disorder: A Randomized, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Am J Psychiatry*. 2023;180(9):676-684. doi:10.1176/appi.ajp.20220459

- [88] Bullock A, Gunduz-Bruce H, Zammit GK, et al. A phase 1 double-blind, placebo-controlled study of zuranolone (SAGE-217) in a phase advance model of insomnia in healthy adults. *Hum Psychopharmacol Clin Exp.* 2022;37(1):e2806. doi:10.1002/hup.2806

WALOKTOKOGEN ROKSAPARWOWEKU – PRZEŁOM W LECZENIU HEMOFILII TYPU A

**Piotr Głodek, Piotr Granatowski, Aleksandra Kaluza,
Nikita Skorgowski, Daria Rost, Karolina Gancarczyk**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Hemofilia typu A jest wrodzoną skazą krwotoczną, związaną z obniżeniem aktywności lub brakiem VIII czynnika krzepnięcia. Częste krwawienia wiążą się z poważnymi powikłaniami, obniżeniem jakości życia dotkniętych ją osób oraz znacznym obciążeniem systemu ochrony zdrowia. Do tej pory w praktyce klinicznej nie było dostępnej żadnej terapii przyczynowej. Leczenie opierało się na cyklicznym podawaniu rekombinowanego czynnika krzepnięcia, a znaczącym postępem było wynalezienie ecimizumabu – monoklonalnego przeciwciała naśladującego działanie brakującego kofaktora drogi krzepnięcia. W lipcu 2023 roku FDA dopuściła do obrotu nowy lek - pierwszego przedstawiciela terapii genowej przeznaczonego do stosowania w tym schorzeniu. Waloktokogen roksaparwoveku może być stosowany u dorosłych osób z ciężką postacią hemofilii typu A, u których nie występowały wcześniej inhibitory czynnika VIII oraz przeciwciała przeciw wirusowi towarzyszącemu adenowirusom serotypu 5 (AAV5). Lek ten umożliwia długotrwałe utrzymanie odpowiedniego poziomu ekspresji czynnika VIII u pacjentów poprzez dostarczenie egzogennej sekwencji kodującej prawidłową wersję wadliwego genu do komórek wątroby, w konsekwencji znacząco zmniejszając nasilenie objawów. Rozdział ten ma na celu omówienie mechanizmu działania oraz danych na temat skuteczności klinicznej tego leku.

Słowa kluczowe: terapia genowa, hemofilia, waloktokogen roksaparwoveku

Abstract: Hemophilia A is a congenital bleeding disorder associated with absence or a deficiency in the activity of the coagulation factor VIII (FVIII). Frequent bleedings are connected with serious complications, decreased quality of life for patients, and a significant burden on the healthcare system. Until now, there hasn't been any therapy available in clinical practice, which would treat the disease entirely. Treatment relied on cyclic administration of recombined coagulation factor, with a significant advancement being the development of ecimizumab – a monoclonal antibody that mimics FVIII activity in the coagulation cascade. In July 2023 FDA approved a new drug – the first representative of gene therapy intended for use in this condition. Valoctogene roxaparvovec can be used for the treatment of adult patients with severe hemophilia A who have not previously developed inhibitors to factor VIII or adeno-associated virus serotype 5 (AAV5)

antibodies. This medication maintains long-term stable expression of FVIII by delivering an exogenous sequence encoding the correct version of a faulty gene to liver cells, which significantly reduces the severity of symptoms. This article aims to discuss the mechanism of action and available data for clinical efficacy of this drug.

Keywords: gene therapy, hemophilia, valoctocogene roxaparvovec

WPROWADZENIE

Hemofilia typu A jest rzadką chorobą sprzężoną z płcią, dziedziczną w sposób recesywny, spowodowaną brakiem, defektem budowy lub zmniejszoną aktywnością FVIII [1, 2]. Występuje z częstością około 1 na 5000 żywych urodzeń oraz dotyka prawie wyłącznie osobników płci męskiej [3]. Kobiety najczęściej prezentują genotyp heterozygotyczny, co oznacza, że są one nosicielkami jednego nieprawidłowego allelu. Przekłada się to często na zmniejszoną ekspresję lub aktywność FVIII, aczkolwiek u większości pacjentek występujące objawy zostaną sklasyfikowane jako łagodne [4].

FVIII jest glikoproteiną produkowaną przez wątrobowe śródnabłonkowe komórki zatokowe (LSEC) oraz komórki endotelialne innych narządów [1, 5]. Pełni funkcję kofaktora w procesie aktywacji czynnika X przez aktywowany czynnik IX, umożliwiając w ten sposób niezakłócony przebieg kaskady krzepnięcia [6]. Gen F8, kodujący to białko, znajduje się przy końcu długiego ramienia chromosomu X, a jego wielkość wynosi w przybliżeniu około 180 tysięcy par zasad. Różnego rodzaju defekty tego genu mogą prowadzić do rozwoju hemofilii typu A, z czego najczęściej występującymi są inwersje w obrębie 22 intronu, oraz małe delecje lub insercje bez istotnej predylekcji miejscowej. Udowodniono zależność między typem oraz rozległością mutacji, a nasileniem objawów prezentowanych przez poszczególnych pacjentów. Większe nieprawidłowości materiału genetycznego statystycznie korelują z cięższym przebiegiem klinicznym [6, 7].

W literaturze wyróżnia się 3 fenotypy hemofilii typu A w zależności od osoczowego stężenia FVIII. Postać ciężka występuje, gdy aktywność FVIII jest mniejsza niż 1% ogólnie przyjętej normy (<1IU/dl). W jej przebiegu występują epizodyczne, samoistne lub pourazowe krwawienia do tkanki mięśniowej, tkanki łącznej oraz stawów. Zmniejszona krzepliwość krwi może prowadzić do zagrażających życiu wylewów do ośrodkowego układu nerwowego. Powtarzające się krwawienia dostawowe prowadzą do zniszczenia i przebudowy struktur stawowych, w konsekwencji powodując upośledzenie lub utratę funkcjonalności stawu

oraz artropatię hemofilową. Postać umiarkowana charakteryzuje się aktywnością FVIII na poziomie od 1% do 5% (1-5 IU/dl) prawidłowych wartości. Samoistne wylewy krwawe w tej postaci występują znacznie rzadziej, dalej możliwe są wylewy pourazowe. W postaci łagodnej z aktywnością FVIII od 5% do 40% (>5-40 IU/dl) krwawienia, jeżeli występują, pojawiają się głównie po urazach [8, 9].

DOSTĘPNE METODY LECZENIA

Standardowe postępowanie terapeutyczne według WFH (*World Federation of Hemophilia*) w leczeniu ciężkiej hemofilii typu A powinno opierać się na profilaktycznym podawaniu brakującego czynnika krzepnięcia poprzez infuzję dożylną lub iniekcję podskórną substancji naśladujących działanie FVIII. W przypadku wystąpienia niespodziewanego krwawienia istnieje możliwość podania wyżej wymienionych środków „na żądanie” w celu szybkiego ustabilizowania stanu pacjenta [10, 11].

Koncentraty czynników krzepnięcia

W praktyce klinicznej używa się dwóch rodzajów koncentratów FVIII. Koncentrat osoczo pochodny FVIII (pdFVIII) otrzymywany jest poprzez wieloetapową obróbkę osocza ludzkiego, pozyskiwanego w wyniku licznych donacji dawców. Do produkcji koncentratu rekombinowanego FVIII (rFVIII) wykorzystuje się zmodyfikowane genetycznie komórki ssaków. Ze względu na czas działania produkty rekombinowane dzieli się na preparaty o standardowym lub przedłużonym działaniu. Okres półtrwania FVIII w osoczu człowieka wynosi około 12 godzin, dlatego profilaktyczne przyjmowanie preparatów o standardowym czasie działania powinno odbywać się co około dwa do trzech dni. Poprzez odpowiednie modyfikacje cząsteczki leku, na przykład połączenie FVIII z fragmentem Fc immunoglobuliny G (rFVIII-Fc), uzyskano wydłużenie okresu półtrwania do około 19 godzin oraz wydłużenie okresu między podaniami od około trzech do pięciu dni [10]. Ograniczenie częstości infuzji zmniejszyło obciążenie pacjenta częstymi wizytami w ośrodkach specjalistycznych, co przełożyło się statystycznie na dokładniejsze przestrzeganie zaleceń terapeutycznych [11].

Emicizumab

Według przeprowadzonych badań około 20-30% osób z ciężką postacią hemofilii, przyjmujących koncentraty czynników krzepnięcia wykształci swoiste przeciwciała (tzw. inhibitory) skierowane przeciwko FVIII. Krążące we krwi immunoglobuliny wiążą egzogenny FVIII, tym samym znosząc jego działanie terapeutyczne oraz znamienne zwiększając ryzyko krwawień [12, 13]. Wystąpienie tego powikłania znacznie ogranicza możliwości terapeutyczne, dlatego istotnym krokiem milowym było wprowadzenie na rynek emicizumabu za zgodą FDA w 2017 roku. Jest to bispecyficzne przeciwciało monoklonalne, które naśladuje naturalną funkcję FVIII w organizmie poprzez swoiste pomostowanie czynników IXa i X. Wskazaniem do stosowania leku jest rutynowa profilaktyka krwawień u pacjentów, którzy wykształcili inhibitory FVIII lub u pacjentów z ciężką lub umiarkowaną postacią hemofilii typu A, u których nie stwierdzono obecności inhibitorów FVIII. Na działanie leku nie ma wpływu obecność inhibitorów, ani osoczowe stężenie FVIII [11, 14]. Preferowaną drogą podania jest podanie podskórne w odstępach jednego, dwóch lub trzech tygodni, w zależności od dawki. W przebiegu terapii u około 3,5% osób może dojść do powstania swoistych przeciwciał przeciwko cząsteczce preparatu, niemniej procent ten jest dużo mniejszy w porównaniu do terapii zastępczej koncentratami czynnika VIII [14].

Preparaty omijające

Preparaty omijające znajdują zastosowanie w profilaktyce bądź leczeniu zagrażających krwawień u osób, które wykształciły inhibitory FVIII. Docelowe miejsce działania tych substancji różni się między sobą, aczkolwiek wspólnym celem ich działania jest ominięcie nieprawidłowych etapów kaskady krzepnięcia. Do tej grupy leków zaliczamy rekombinowany czynnik VIIa (rVIIa) oraz aktywowany koncentrat kompleksu protrombiny (aPCC) [10, 15].

Rekombinowany czynnik VIIa

rVIIa po podaniu dożylnym, w odpowiedniej dawce, bezpośrednio aktywuje czynnik IX i X po przyłączeniu się do odsłoniętego czynnika tkankowego w miejscu uszkodzenia. Ponadto, aktywacja czynnika IX i X może przebiegać jako proces niezależny od czynnika tkankowego, na aktywowanych płytkach krwi.

Oba procesy powodują znaczne zwiększenie ilości wyprodukowanej trombiny, wzmacniając tym samym przebieg procesu hemostatycznego [16-18].

Koncentrat kompleksu protrombiny

W skład aPCC wchodzi czynniki II, VII, IX i X, zwane czynnikami zespołu protrombiny. Pozyskujemy je poprzez odpowiednią obróbkę puli osocza ludzkiego, dlatego skład jakościowy różnych partii produktu może nieznacznie się zmieniać [19]. Ze względu na zbyt małą ilość odpowiednich badań dotyczących bezpieczeństwa stosowania tego produktu, powinien być podawany jedynie w przypadku braku dostępności koncentratu odpowiedniego czynnika krzepnięcia [20].

Desmopresyna

Desmopresyna jest syntetycznym analogiem wazopresyny, hormonu produkowanego przez podwzgórze, podawanym podskórnym, dożylnie lub miejscowo w postaci sprayu do nosa. Działanie hemostatyczne desmopresyny opiera się na zwiększeniu osoczonego stężenia FVIII oraz czynnika von Willebranda, poprzez uwalnianie ich z komórek endotelialnych. Czynniki von Willebranda ochrania FVIII przed rozkładem proteolitycznym oraz pośredniczy w procesie adhezji płytek krwi do śródbłonna [21, 22]. Stosowanie desmopresyny można rozważyć u pacjentów z łagodną lub umiarkowaną postacią hemofilii typu A lub u heterozygot posiadających jeden nieprawidłowy allel [10].

Środki antyfibrynolityczne

Do środków antyfibrynolitycznych, które znalazły się w wytycznych WFH zaliczamy kwas traneksamowy (TXA) oraz kwas ε-aminokapronowy. Oba preparaty występują w postaci roztworu do infuzji dożylnych oraz tabletek, dodatkowo TXA jest dostępny na rynku w formie roztworu do płukania jamy ustnej, a kwas ε-aminokapronowy w formie syropu. Znajdują zastosowanie jako alternatywne środki terapeutyczne używane przy wystąpieniu powierzchownych krwawień, takich jak krwawienie miesięczne, czy jako profilaktyka krwawień po zabiegach stomatologicznych [10]. TXA charakteryzuje się około 8-10 razy większą siłą działania oraz korzystniejszym profilem toksyczności, przez co jest bardziej preferowanym środkiem w większości sytuacji klinicznych [23]. Środki te posiadają

bardzo podobny mechanizm działania, polegający na spowolnieniu procesu rozpadu skrzepu powstałego w miejscu uszkodzenia tkanek, poprzez kompetycyjną inhibicję wiązania plazminogenu do fibryny, tym samym hamując przekształcanie plazminogenu w plazminę. Ich działanie nie ingeruje w przebieg kaskady krzepnięcia [24, 25].

Wprowadzenie do podrozdziału 3

Preparaty wymienione w powyższej części rozdziału zapewniają wystarczającą kontrolę nad objawami hemofilii typu A, aczkolwiek ich stosowanie przyczynia się do obniżenia jakości życia pacjentów oraz gorszego przestrzegania przez nich zaleceń lekarskich. Głównymi mankamentami tych produktów jest nieprzyjemna dla większości osób droga podania, konieczność częstych wizyt w ośrodkach specjalistycznych w celu przyjęcia leku, możliwość wystąpienia powikłania w postaci wykształcenia inhibitorów FVIII oraz dożywotnia perspektywa walki z chorobą [26]. Naprzeciw oczekiwaniom chorych wychodzi lek, któremu został poświęcony ten rozdział.

TERAPIA GENOWA

Terapię genową definiuje się jako metodę leczenia, która ma na celu modyfikację struktury lub ekspresji zmutowanego genu [27]. Do uzyskania takiego efektu niezbędne jest użycie wektora, który jest w stanie dotransportować egzogenną sekwencję kodującą *ex vivo* do komórek pobranych wcześniej od pacjenta lub *in vivo*, do komórek żywego organizmu po bezpośrednim podaniu [28]. Obecny stan wiedzy pozwala na użycie różnych rodzajów dostępnych wektorów, jednakże na potrzeby tej pracy istotny jest jedynie wektor wirusowy, który pozwala na możliwie najbardziej wydajny proces transdukcji. Wynalezienie odpowiedniego nośnika, który byłby jednocześnie wydajny jak i bezpieczny dla pacjenta nastręczyło wielu trudności środowisku naukowemu [29]. Aktualnie najczęściej stosowanymi wektorami w przemyśle farmaceutycznym są wektory wirusów towarzyszących adenowirusom (AAVs), które posiadają najlepszy dostępny profil bezpieczeństwa. AAVs są pozyskiwane z naturalnie występujących, nieszkodliwych dla człowieka parwowirusów. Ich materiał genetyczny zawarty jest w pojedynczej nici DNA, a sam proces replikacji wymaga obecności wirusa pomocniczego [3]. Materiał genetyczny przekazany do komórki somatycznej przebywa w jądrze komórkowym w formie episomalnej, nie integrując się tym

samym w strukturę chromosomów, co pozwala zniwelować szansę na powstanie mutacji w DNA pacjenta. Ponadto AAVs posiadają zdolność infekowania komórek, które rzadko przechodzą proces podziału mitotycznego, a badania kliniczne potwierdziły długotrwałą ekspresję genów zaimplementowanych przy pomocy tych wektorów [29, 30]. Każdy serotyp grupy AAVs wykazuje charakterystyczny dla siebie tropizm narządowy, serotyp 5 (AAV5) wykazuje predylekcję między innymi do komórek wątroby. Hemofilia, jako grupa chorób, wydaje się być obiecującym kandydatem do leczenia terapią genową. Objawy choroby wynikają z mutacji pojedynczego genu, a efekt terapeutyczny jest widoczny przy potencjalnie nieznacznym podwyższeniu ekspresji FVIII [3].

Zalety i wady terapii genowej w leczeniu hemofilii typu A

Wprowadzenie terapii genowej do praktyki klinicznej miało diametralny wpływ na zmianę postrzegania chorób genetycznych jako schorzeń praktycznie nieuleczalnych. Na dzień dzisiejszy FDA zatwierdziło do użytku 37 preparatów opartych na technice terapii genowej i komórkowej, używanych w leczeniu wielorakich schorzeń takich jak rdzeniowy zanik mięśni, niektóre typy nowotworów czy hemofilia [31].

Zalety

Główną zaletą terapii jest to, że pozwala utrzymać zadowalający efekt terapeutyczny w postaci stałej, endogennej produkcji FVIII w dłuższym okresie czasu. Umożliwia tym samym zaprzestanie profilaktycznego przyjmowania egzogennych preparatów FVIII przez pacjentów oraz zapewnia im większą ochronę przed rozwojem powikłań hemofilii [1]. Pomimo swojej wysokiej ceny może zmniejszyć finansowe obciążenie systemu ochrony zdrowia w porównaniu do dożywotniego przyjmowania podstawowej profilaktyki krwawień [32], a opracowanie nowych wektorów może umożliwić całkowite wyleczenie choroby [33].

Wady

Mimo uzyskania obiecujących rezultatów, terapia genowa nie jest pozbawiona wad. Na dzień dzisiejszy nie można stwierdzić przez jaki czas otrzymane efekty będą utrzymywać się na zadowalającym poziomie. Kryteria włączenia pacjenta do leczenia są stosunkowo wąskie, sama obecność inhibitorów FVIII, jako

powikłanie poprzednio prowadzonej profilaktyki wyklucza pacjenta. Wcześniej-
szy kontakt z naturalnie występującymi AAVs powoduje powstanie przeciwciał
skierowanych przeciwko tym wirusom, tym samym uniemożliwiając efektywne
działanie leku. Analogicznie, dany preparat może zostać podany pacjentowi je-
dynie jeden raz w ciągu życia. Brak długofalowych badań wzbudza obawy przed
wystąpieniem odległych działań niepożądanych, szczególnie w postaci możliwej,
aczkolwiek mało prawdopodobnej onkogenezy. [33]

WALOKTOKOGEN ROKSAPARWOWEKU

Waloktokogen roksaparwoweku (Roctavian™) jest pierwszym lekiem opar-
tym na technice terapii genowej, który został dopuszczony do leczenia hemofilii
typu A. Podmiot, który opracował lek to *BioMarin Pharmaceutical Ltd.* [20].
Europejska Agencja Leków (EMA) jako pierwsza wydała pozwolenie na wprowa-
dzenie produktu do obrotu 24 sierpnia 2022 roku, niedługo potem 29 czerwca
2023 roku Agencja do spraw Żywności i Leków (FDA) dopuściła lek obrotu na
terytorium Stanów Zjednoczonych. Według wytycznych lek może zostać poda-
ny dorosłym pacjentom chorym na ciężką postać hemofilii typu A, u których
nie wykryto przeciwciał przeciwko 5 serotypowi AAV, oraz u których nie wy-
stąpiły wcześniej inhibitory FVIII. Produkt jest przeznaczony do jednorazowego
podania w postaci infuzji dożylniej w dawce standardowej wynoszącej 6×10^{13}
genomów wektora na kilogram masy ciała. Przeciwwskazaniami do podania leku
są nadwrażliwość na substancję czynną lub którąkolwiek substancję pomocniczą,
aktywne zakażenie, istotne włóknienie lub marskość wątroby [34]. Do jego pro-
dukcji używa się systemów opartych na komórkach *Spodoptera frugiperda* zakażo-
nych bakulowirusem [35].

Mechanizm działania

Waloktokogen roksaparwoweku zawiera w składzie wektory AAV serotypu
5, które po podaniu dożylnym dostarczają do organizmu postać SQ rekombi-
nowanego ludzkiego czynnika krzepnięcia VIII pozbawionego domeny B, pod
kontrolą promotora specyficznego dla wątroby (AAV5-hFVIII-SQ). W dalszej
kolejności wektory wnikają do wnętrza komórek wątroby, uwalniają swój mate-
riał genetyczny, który jest transportowany do jądra komórkowego hepatocytów.
Po przetworzeniu, DNA wektora tworzy stabilne, okrągłe transgeny episo-
malne. Pozwala to na długoterminową ekspresję hFVIII-SQ, w konsekwencji

zapewniając wystarczające stężenie zmodyfikowanego FVIII do utrzymania prawidłowej hemostazy. Zastosowanie wektora AAV5 wymagało modyfikacji genu FVIII, który został pozbawiony domeny B ze względu na swoją wielkość oraz nieefektywną ekspresję w naturalnej formie [35]. Według dostępnych danych taka modyfikacja nie ma negatywnego wpływu na bezpieczeństwo, ani efektywność produktu, za to pozytywnie wpływa na proces sekrecji białka [36].

Badania kliniczne

GENEr8-1

GENEr8-1 to wieloośrodkowe badanie fazy III, prowadzone metodą otwartej próby, które rozpoczęło się w 2017 roku. Badanie to ma na celu kontrolę bezpieczeństwa i efektywności preparatu w perspektywie długoterminowej, poprzez ocenę rocznej częstości krwawień (ABR), rocznego zużycia FVIII (AFU), aktywności FVIII w osoczu oraz poprawy jakości życia pacjentów przy użyciu kwestionariusza Haemo-QOL-A. Do udziału w badaniu mogli kwalifikować się mężczyźni powyżej 18 roku życia, chorzy na hemofilię typu A z stężeniem FVIII ≤ 1 IU/dL, bez wykrywalnych przeciwciał anty-AAV5, którzy przyjmowali zastępczą terapię FVIII przez okres co najmniej 12 miesięcy. Wystąpienie inhibitorów FVIII w przeszłości, zaawansowana dysfunkcja wątroby, znaczna marskość lub włóknienie wątroby, stężenie kreatyniny ≥ 1.5 mg/dL oraz występowanie innej skazy krwotocznej stanowiły przeciwwskazania do udziału w badaniu. Ostatecznie zakwalifikowano 134 osoby spełniające powyższe kryteria, które umieszczono w grupie ITT (*intent-to-treat*). Każdy z nich otrzymał waloktokogen roksaparwoweku w postaci pojedynczej infuzji dożylniej, w dawce 6×10^{13} vg/kg. Następnie każdy z nich przyjmował profilaktykę krwawień w postaci koncentratów FVIII przez okres 4 tygodni [2, 37]. W dalszym toku badania u 2 osób potwierdzono zakażenie wirusem HIV, z tego powodu zostały one wykluczone z grupy mITT (*modified intent-to-treat*). W kwietniu 2024 roku opublikowano wyniki 3 letniej obserwacji pacjentów z grupy mITT. Z początkowej grupy 134 pacjentów pozostało 131 osób po 156 tygodniach obserwacji. Dwie osoby nie zgłosiły się na badania kontrolne, a jedna zmarła z przyczyn niezwiązanych z podaniem leku. 17 osób wznowiło regularną profilaktykę krwawień. Wartości aktywności FVIII pozostały na prawidłowym poziomie (≥ 40 IU/dL) u 14 (10,6%) uczestników, u 74 osób (56,1%) wartości mieściły się w zakresie >5 do <40 IU/dL, u 12 osób (9,1%) był to przedział od ≥ 3 do ≤ 5 IU/dL, a u pozostałych 32

uczestników (24,2%) spadły poniżej 3 IU/dL. AFU po zaprzestaniu stosowania czterotygodniowej profilaktyki wstępnej obniżyło się o 96,8%. Średnie wartości ABR w okresie bez stosowania wstępnej profilaktyki zmniejszyły się o 82,9% [38].

270-201

Badanie 270-201 to badanie I i II fazy prowadzone metodą otwartej próby, które rozpoczęło się w 2015 roku. Celem badania było określenie optymalnej dawki, bezpieczeństwa oraz efektywności preparatu. Analogicznie do badania GENEr8-1, kryterium włączenia stanowiły płeć męska, wiek powyżej 18 lat oraz brak historii wystąpienia inhibitorów FVIII. Wymagany czas profilaktycznego przyjmowania koncentratów FVIII wynosił 150 dni, a u osób przyjmujących koncentraty „na żądanie” wymagane było przebycie 12 krwawień w przeciągu ostatnich 12 miesięcy. Kryteria wyłączenia były takie same jak w GENEr1-8, z wyjątkiem stężenia kreatyniny, które nie było brane pod uwagę podczas selekcji. Do udziału w badaniu zakwalifikowano 15 osób, które zostały podzielone na 4 grupy względem przyjętej dawki. Jeden pacjent otrzymał walaktokogen rok-saparoweku w dawce 6×10^{12} vg/kg (grupa 1), drugi pacjent otrzymał dawkę 2×10^{13} vg/kg (grupa 2), 7 uczestników przyjęło dawkę 6×10^{13} vg/kg (grupa 3), a pozostałych sześciu dawkę w wysokości 4×10^{13} vg/kg (grupa 4). Ostatnie opublikowane dane pochodzą z 2021 roku, opisują wyniki po 4 i 5 latach obserwacji odpowiednio dla czwartej oraz trzeciej grupy. Średnie wartości aktywności FVIII w osoczu wyniosły 8,2 IU/dl dla grupy trzeciej oraz 4,8 IU/dl dla grupy czwartej. Średnie wartości ABR zmniejszyły się 95% dla grupy trzeciej oraz o 92% w grupie czwartej. AFU obniżyło się o 96% w grupie trzeciej oraz o 95% w grupie czwartej [39].

PODSUMOWANIE

Pomimo upływu lat i wielu przeprowadzonych badań nadal nie został odkryty skuteczny sposób na wyleczenie hemofilii typu A. Konsekwencje tej choroby odczuwane są przez pacjentów na całym świecie. Nowoczesne terapie oraz schematy leczenia opatentowane w ostatnich latach dają dobre rezultaty, aczkolwiek nie są pozbawione wad. Opracowanie terapii genowej rozszerzyło możliwości współczesnej medycyny oraz dało pacjentom nadzieję na życie wolne od hemofilii. Jednakże, w dalszym ciągu wymagane jest wynalezienie nowych modyfikacji, które umożliwiłyby utrzymanie trwałego efektu terapeutycznego bez

ograniczeń czasowych oraz przeprowadzenie badań, które pewnie określiłyby bezpieczeństwo stosowania tych preparatów. Na ten moment waloktokogen roksaparwoweku stanowi cenną alternatywę dla powszechnie przyjętych schematów leczenia hemofilii typu A oraz cieszy się dużą popularnością wśród społeczności osób dotkniętych tą chorobą, mimo tego aby poznać pełne możliwości terapii genowej potrzeba jeszcze wielu lat pracy.

REFERENCJE

- [1] Castaman G, Di Minno G, De Cristofaro R, Peyvandi F. The Arrival of Gene Therapy for Patients with Hemophilia A. *Int J Mol Sci.* 2022;23(18):10228. doi:10.3390/ijms231810228
- [2] Thornburg CD, Simmons DH, von Drygalski A. Evaluating Gene Therapy as a Potential Paradigm Shift in Treating Severe Hemophilia. *BioDrugs.* 2023;37(5):595-606. doi:10.1007/s40259-023-00615-4
- [3] Nathwani AC. Gene therapy for hemophilia. *Hematology.* 2022;2022(1):569-578. doi:10.1182/hematology.2022000388
- [4] Di Michele DM, Gibb C, Lefkowitz JM, Ni Q, Gerber LM, Ganguly A. Severe and moderate haemophilia A and B in US females. *Haemoph Off J World Fed Hemoph.* 2014;20(2):e136-143. doi:10.1111/hae.12364
- [5] Turner NA, Moake JL. Factor VIII Is Synthesized in Human Endothelial Cells, Packaged in Weibel-Palade Bodies and Secreted Bound to ULVWF Strings. *PloS One.* 2015;10(10):e0140740. doi:10.1371/journal.pone.0140740
- [6] Bhopale GM, Nanda RK. Blood coagulation factor VIII: An overview. *J Biosci.* 2003;28(6):783-789. doi:10.1007/BF02708439
- [7] Castaman G, Matino D. Hemophilia A and B: molecular and clinical similarities and differences. *Haematologica.* 2019;104(9):1702-1709. doi:10.3324/haematol.2019.221093
- [8] Nomura S. Current Status and Challenges in Delivering Comprehensive Care for Patients with Hemophilia. *J Blood Med.* 2023;Volume 14:629-637. doi:10.2147/JBM.S446204

- [9] Valentino LA, Kaczmarek R, Pierce GF, et al. Hemophilia gene therapy: first, do no harm. *J Thromb Haemost.* 2023;21(9):2354-2361. doi:10.1016/j.jtha.2023.06.016
- [10] Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. *Haemophilia.* 2020;26(S6):1-158. doi:10.1111/hae.14046
- [11] Blair HA. Emicizumab: A Review in Haemophilia A. *Drugs.* 2019;79(15):1697-1707. doi:10.1007/s40265-019-01200-2
- [12] Lai JD, Lillicrap D. Factor VIII inhibitors: Advances in basic and translational science. *Int J Lab Hematol.* 2017;39(S1):6-13. doi:10.1111/ijlh.12659
- [13] Oomen I, Verhagen M, Miranda M, et al. The spectrum of neutralizing and non-neutralizing anti-FVIII antibodies in a nationwide cohort of 788 persons with hemophilia A. *Front Immunol.* 2024;15:1355813. doi:10.3389/fimmu.2024.1355813
- [14] Parisi K, Kumar A. Emicizumab. In: *StatPearls.* StatPearls Publishing; 2024. Accessed April 25, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559180/>
- [15] Łąguna P, Klukowska A. Postępowanie z dziećmi chorymi na hemofilię powikłaną inhibitorem. *J Transfus Med.* 2017;10(1):12-18.
- [16] Dutta TK, Verma SP. Rational Use of Recombinant Factor VIIa in Clinical Practice. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2014;30(2):85-90. doi:10.1007/s12288-013-0240-9
- [17] O'Connell N, Mc Mahon C, Smith J, et al. Recombinant factor VIIa in the management of surgery and acute bleeding episodes in children with haemophilia and high responding inhibitors. *Br J Haematol.* 2002;116(3):632-635. doi:10.1046/j.0007-1048.2001.03324.x
- [18] Négrier C. Entering new areas in known fields: recombinant fusion protein linking recombinant factor VIIa with recombinant albumin (rVIIa-FP) – advancing the journey. *Thromb Res.* 2016;141:S9-S12. doi:10.1016/S0049-3848(16)30416-9

- [19] Activated Prothrombin Complex - an overview | ScienceDirect Topics. Accessed April 29, 2024. <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/activated-prothrombin-complex>
- [20] Blair HA. Valoctocogene Roxaparvovec: First Approval. *Drugs*. 2022;82(14):1505-1510. doi:10.1007/s40265-022-01788-y
- [21] Mannucci PM, Siboni SM. Factor VIII and von Willebrand factor are wavering proteins: the basis for the therapeutic development of desmopressin. *Res Pract Thromb Haemost*. 2024;8(2):102369. doi:10.1016/j.rpth.2024.102369
- [22] Romano LGR, van Vulpen LFD, den Exter PL, et al. Desmopressin in nonsevere hemophilia A: patient perspectives on use and efficacy. *Res Pract Thromb Haemost*. 2023;7(5):100281. doi:10.1016/j.rpth.2023.100281
- [23] Kim DJ, Cho SY, Jung KT. Tranexamic acid - a promising hemostatic agent with limitations: a narrative review. *Korean J Anesthesiol*. Published online August 21, 2023. doi:10.4097/kja.23530
- [24] Kaseer H, Sanghavi DK. Aminocaproic Acid. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2024. Accessed April 30, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554475/>
- [25] Ockerman A, Vanassche T, Garip M, et al. Tranexamic acid for the prevention and treatment of bleeding in surgery, trauma and bleeding disorders: a narrative review. *Thromb J*. 2021;19:54. doi:10.1186/s12959-021-00303-9
- [26] Mihaila RG. From a bispecific monoclonal antibody to gene therapy: A new era in the treatment of hemophilia A. *Biomed Pap*. 2023;167(1):1-8. doi:10.5507/bp.2022.046
- [27] Long Term Follow-Up After Administration of Human Gene Therapy Products; Guidance for Industry.
- [28] Cieśliewicz A, Terapia genowa: wprowadzenie | Contemporary Pharmacy | ICI Journals Master. Accessed May 18, 2024. <https://journals.indexcopernicus.com/search/article?articleId=107138>
- [29] Stopa M, Dulak J, Józkowicz A. Najważniejsze cechy wektorów adenowirusowych. *Biotechnol Vol78 3 2007-*. 2007;78(3):22-32.

- [30] Lundstrom K. Viral Vectors in Gene Therapy: Where Do We Stand in 2023? *Viruses*. 2023;15(3):698. doi:10.3390/v15030698
- [31] Research C for BE and. Approved Cellular and Gene Therapy Products. FDA. Published online April 26, 2024. Accessed May 1, 2024. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/approved-cellular-and-gene-therapy-products>
- [32] Wong CH, Li D, Wang N, Gruber J, Lo AW, Conti RM. The estimated annual financial impact of gene therapy in the United States. *Gene Ther*. 2023;30(10):761-773. doi:10.1038/s41434-023-00419-9
- [33] W Keith Hoots, Magdalena Lewandowska. Gene therapy and other investigational approaches for hemophilia. In: *UpToDate*, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer. (Accessed May, 2024).
- [34] ROCTAVIAN, INN-valoctocogene roxaparvec, Accessed May 2, 2024. https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2022/20220824156641/anx_156641_pl.pdf
- [35] Rangarajan Savita, Walsh Liron, Lester Will, et al. AAV5–Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2017;377(26):2519-2530. doi:10.1056/NEJMoa1708483
- [36] Hu Z, Li Z, Wu Y, et al. Targeted B-domain deletion restores F8 function in human endothelial cells and mice. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):1-3. doi:10.1038/s41392-022-01016-9
- [37] Ozelo MC, Mahlangu J, Pasi KJ, et al. Valoctocogene Roxaparvec Gene Therapy for Hemophilia A. *N Engl J Med*. 2022;386(11):1013-1025. doi:10.1056/NEJMoa2113708
- [38] Madan B, Ozelo MC, Raheja P, et al. Three-year outcomes of valoctocogene roxaparvec gene therapy for hemophilia A. *J Thromb Haemost*. Published online April 12, 2024. doi:10.1016/j.jtha.2024.04.001
- [39] Pasi KJ, Laffan M, Rangarajan S, et al. Persistence of haemostatic response following gene therapy with valoctocogene roxaparvec in severe haemophilia A. *Haemophilia*. 2021;27(6):947-956. doi:10.1111/hae.14391

HEMOFILIA – DYNAMICZNY ROZWÓJ METOD LECZENIA

Julia Hagno, Aleksandra Leszczyk, Jakub Lisik

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt : Hemofilia to wrodzona choroba krwotoczna, wynikająca z niedoboru lub defektu czynników krzepnięcia krwi, głównie czynnika VIII (hemofilia A) lub czynnika IX (hemofilia B). Hemofilię dzieli się na łagodną umiarkowaną i ciężką, w zależności od poziomu brakującego czynnika krzepnięcia. Leczenie hemofilii przeszło znaczny rozwój, od odkrycia krioprecypitatu w 1964 roku do wprowadzenia liofilizowanych czynników krzepnięcia w latach 70. XX wieku, co umożliwiło samodzielne leczenie i profilaktykę. Współczesne metody leczenia obejmują koncentraty rekombinowanych czynników krzepnięcia o przedłużonym okresie półtrwania, a także nowatorskie terapie takie jak emicizumab – bispecyficzne przeciwciało monoklonalne – i fitusiran – terapia interferencji RNA. Przyszłością leczenia może być terapia genowa, będąca nadzieją na znaczne polepszenie jakości życia chorych, a której pierwsze pozwolenia w Europie i USA zostały już przyznane.

Słowa kluczowe: hemofilia, leczenie, emicizumab, terapia genowa

Abstract : Hemophilia is a congenital bleeding disorder resulting from a deficiency or defect in blood clotting factors, mainly factor VIII (hemophilia A) or factor IX (hemophilia B). Hemophilia is divided into mild moderate and severe, depending on the level of the missing clotting factor. Treatment of hemophilia has undergone significant development, from the discovery of cryoprecipitate in 1964 to the introduction of lyophilized clotting factors in the 1970s, which made self-treatment and prophylaxis possible. Modern treatments include recombinant clotting factor concentrates with extended half-lives, as well as novel therapies such as emicizumab, a bispecific monoclonal antibody, and fitusiran, an RNA interference therapy. The future of treatment may be gene therapy, which is the hope of significantly improving the quality of life of patients, and for which the first licenses have been granted in Europe and the US.

Keywords: hemophilia, treatment, emicizumab, gene therapy

WSTĘP

Hemofilia to choroba krwotoczna spowodowana niedoborem lub defektem czynników krzepnięcia. W zależności czy defekt dotyczy czynnika VIII (FVIII) czy czynnika IX (FIX) wyróżniamy odpowiednio hemofilię A i B. Choroba ta dziedziczona jest recesywnie z chromosomem X dlatego chorują na nią głównie mężczyźni, a kobiety częściej pozostają nosicielkami [1,2]. Szacuje się, że hemofilia występuje z częstością około 1 na 10 000 żywych urodzeń, a na świecie liczba chorych wynosi około 400 000, z czego hemofilia A (HA) występuje znacznie częściej (80-85% wszystkich przypadków hemofilii) niż hemofilia B (HB) [1]. Według raportu Światowej Federacji Hemofilii (z ang. World Federation of Hemophilia, WFH) można szacować, że nawet ponad milion mężczyzn na świecie cierpi na tą chorobę, większość jednak pozostaje niezdiagnozowana [3].

Hemofilia A może też przybrać postać nabytą (AHA z ang. Acquired hemophilia A). Dotyka ona najczęściej osoby starsze, ale może też być związana z ciążą, porodem i obecnością chorób autoimmunologicznych u osób młodszych. Jest rzadkim, ale mogącym zagrażać życiu zespołem klinicznym, w którym następuje spontaniczna produkcja autoprzeciwciał IgG skierowanych przeciwko endogennemu czynnikowi VIII, powodując jego neutralizację i/lub szybsze usuwanie z układu krwiotwórczego. Załamanie tolerancji immunologicznej spowodowane jest połączeniem czynników genetycznych i środowiskowych [4,5].

W zależności od poziomu czynnika u chorego można sklasyfikować hemofilię na postaci: łagodną, ciężką i umiarkowaną (Tab. 1). Pacjenci z ciężką hemofilią są narażeni na największe ryzyko samoistnego krwotoku, które może pojawiać się jako wylewy krwi do stawów, krwiaków mięśni lub krwotoku wewnątrzczaszkowego [3].

Tabela 1. Klasyfikacja hemofilii zgodnie z wytycznymi opracowanymi przez WFH [6]

Postać hemofilii	Poziom czynnika krzepnięcia	Epizody krwawienia
Ciężka	<0,01 j.m./ml lub <1% normy)	Samoistne krwawienia do stawów lub mięśni, przeważnie przy braku oczywistej przyczyny
Umiarkowana	0,01–0,05 j.m./ml lub 1–5% normy)	Okazjonalne samoistne krwawienia, przedłużające się krwawienia po niewielkim urazie lub zabiegu
Łagodna	>0,05–0,40 j.m./ml lub (5–40% normy)	Poważne krwawienia po dużym urazie lub zabiegu, samoistne krwawienia występują rzadko lub wcale

Na przestrzeni ostatnich dziesięcioleci w leczeniu hemofilii dokonano ogromnych postępów (Ryc.1) W 1964 roku Judith Graham Pool odkryła, że krioprecypitat posiada duże ilości FVIII, co zapoczątkowało nową erę leczenia. Jednak można stwierdzić, że współczesne leczenie rozpoczęło się w latach 70. XX wieku wraz z wynalezieniem liofilizowanych czynników krzepnięcia, które można było przechowywać w lodówce, pozwoliło to na wprowadzenie leczenia samodzielnego i profilaktyki [7, 8]. Niestety w latach 80. XX wieku odkryto, że koncentraty czynnika wyprodukowane z osocza zebranego od tysięcy dawców mogą być zanieczyszczone ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV) i wirusem zapalenia wątroby typu C, co doprowadziło do niefortunnego zakażenia większości populacji i niemalże zatrzymania postępu w leczeniu. Kolejna nadzieja pojawiła się wraz z wdrożeniem technik inaktywacji wirusów do produkcji koncentratów oraz wprowadzeniem nowych metod badania przesiewowego w kierunku wirusów we krwi dawcy, a także postępowaniem badań, które pozwoliły na klonowanie genów FVIII i FIX i otrzymywanie koncentratów rekombinowanych czynników [7, 8]. Czynniki te mają jednak stosunkowo krótki okres półtrwania, co powoduje duże obciążenie związane z częstą podażą, a jednym z ważniejszych powikłań było tworzenie się inhibitorów (przeciwciał neutralizujących), szczególnie w przypadku hemofilii A, które uniemożliwiały skuteczną substytucję. Doprowadziło to do opracowania koncentratów czynników krzepnięcia o dłuższym okresie półtrwania (EHL z ang. Extended half-life), otrzymywanych przez fuzję z glikolem polietylenowym (PEG-ylację), IgG1-Fc lub albuminą. Dzięki temu wstrzyknięcia wykonywane są rzadziej, a jakość życia pacjentów uległa poprawie [9, 10, 11]. Niedawno opracowano nową alternatywę dla terapii zastępczych jakim jest podawane podskórnym, bispecyficzne przeciwciało monoklonalne – emicizumab (Hemlibra®), które niejako naśladuje i zastępuje funkcję czynnika VIIIa.

Oprócz wymiany czynników krzepnięcia, kolejną strategią jest tłumienie ścieżki antykoagulacyjnej na poziomie produkcji antytrombiny (AT) oraz oddziaływaniem na inhibitory krzepnięcia. W trakcie badań jest terapia wykorzystująca inhibitory szlaku antytrombiny - terapia interferencji RNA (Fitusiran), która zakłóca proces translacji zapobiegając syntezie antytrombiny w wątrobie. Inną terapią mającą na celu przywrócenie prawidłowej hemostazy jest przeciwciało monoklonalne Koncizumab skierowane przeciwko inhibitorowi szlaku czynnika tkankowego (z ang. Tissue factor pathway inhibitor, TFPI), [10] Jak wyżej opisano, w ciągu ostatnich lat osiągnięto znaczny postęp w leczeniu HA i HB, jednak dalej pozostaje wiele niewyjaśnionych kwestii. Na początku lat 90. XX wieku uznano hemofilię za idealną do opracowania terapii genowej. W 2022

roku Europejska Agencja Leków przyznała warunkowe pozwolenie dla pierwszej terapii genowej do leczenia hemofilii A, a Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) wydała zgodę na stosowanie terapii genowej w leczeniu hemofilii B, na której stosowanie, na początku 2023 roku wydała również Europejska Agencja Leków. [12] Wykazano, że terapia ta ma ogromny potencjał, która może w przyszłości zapewnić skuteczne lekarstwo dla chorych na hemofilię.

W rozdziale tym dokonano przeglądu najważniejszych postępów w opiece nad chorymi.



Rycina 1. Historia leczenia hemofilii [13]

PATOFIZJOLOGIA

Hemofilia to grupa chorób zaliczanych do szkodliwych, charakteryzujących się niewystarczającą ilością, odpowiedniego dla rodzaju, czynnika krzepnięcia. Pod wpływem działania odpowiedniego stresora, następuje kaskada reakcji aktywujących odpowiednie enzymy i prowadząca w ostateczności do utworzenia skrzepu, poprzez polimeryzację fibryny, oraz aktywację płytek krwi.

Wyróżniamy dwa szlaki następujących po sobie reakcji. Szlak wewnątrzpochodny, którego aktywacja następuje w wyniku czynnika XI, prekalikreiny i kininogenu z tzw. czynnikiem kontaktu. Obejmuje on zmianę konformacyjną czynnika XII do czynnika XIIa, aktywującego prekalikreiny do formy kalikreiny. Czynniki XIIa przekształca czynnik XI do XIa, który aktywuje czynnik IX do czynnika IXa. Szlak zewnątrzpochodny aktywowany jest w wyniku ekspozycji wyzwalanego w wyniku przerywania ciągłości śródbłona czynnika tkankowego (TF). TF tworzy z czynnikiem VIIa kompleks przekształcający czynniki IX i X do odpowiednich form aktywnych, odpowiednio: IXa oraz Xa.

Oba szlaki zbiegają się w produkcji czynnika Xa. Czynniki Xa przekształca protrombinę (czynnik II) w trombinę (czynnik IIa). Trombina uwalnia czynnik VIII z czynnika von Willebranda aktywując w ostateczności płytki krwi. Czynniki IXa, czynniki VIIa, jony wapnia oraz fosfolipidy tworzy kompleks tenazy, aktywujący większe ilości czynnika X. Czynniki Xa wraz z kompleksem protrombinazy, jonami wapnia oraz fosfolipidami przekształca protrombinę w trombinę. Trombina rozszczepia fibrynogen do monomerów fibryny.

Niedobór lub dysfunkcja czynników VIII oraz IX powoduje upośledzenie kaskady reakcji wewnątrzprochodnego szlaku krzepnięcia prowadząc do zaburzenia procesu tworzenia skrzepu [1].

KONWENCJONALNE METODY LECZENIA

Terapia zastępcza czynnikami krzepnięcia

Głównym celem leczenia hemofilii jest zapobieganie krwawieniom i osiąga się to poprzez uzupełnienie brakującego czynnika krzepnięcia. Leczenie zastępcze czynnikami FVIII/FIX u dzieci chorych na hemofilię stosuje się zwykle w momencie pierwszego krwawienia do stawu (u większości przed ukończeniem 2. roku życia) [14]. Terapię można zastosować w przypadku wystąpienia krwawienia (na żądanie) lub zapobiegawczo (profilaktyka). Przeprowadzono badania, które ukazują przewagę profilaktyki nad terapią na żądanie pod względem liczby epizodów krwawień, a przede wszystkim leczenie zapobiegawcze może uchronić pacjentów przed uszkodzeniem stawów [11,15]. Profilaktykę uznano za złoty standard w leczeniu hemofilii. Ma na celu utrzymanie czynnika krążącego na poziomie $>1\%$ (1 j.m./dl), a schemat obejmuje częste wstrzyknięcia dożylnie, zwłaszcza produktów o standardowym okresie półtrwania (SHL, z ang. Standard half-life) [16]. Trzy zastrzyki tygodniowo w przypadku HA i dwa w przypadku HB mogą być obciążające dla pacjenta przez co znaczny odsetek pacjentów może mieć problem z kontynuacją terapii z powodu problemów z dostępem żylnym. Sytuację poprawiło opracowanie i zezwolenie na kilka produktów EHL, które pozwalają na mniejszą liczbę infuzji przy zachowaniu takiej samej skuteczności. Istnieje kilka technik umożliwiających osiągnięcie wydłużonego okresu półtrwania, takie jak: PEGylacja (dodanie glikolu polietylenowego), fuzja czynnika z fragmentem krystalizującym (Fc) lub koniugacja z rekombinowaną albuminą [11,15,16]. Fuzja z fragmentem Fc była pierwszą wprowadzoną w tym celu technologią. Przy jej pomocy organizm wykorzystuje własne mechanizmy w celu wydłużenia okresu półtrwania niektórych białek. Takim białkiem jest immunoglobulina G (IgG), której region Fc wiąże się z noworodkowym receptorem Fc umożliwiając ominięcie degradacji lizosomalnej. Naukowcy połączyli domenę Fc immunoglobuliny G z cząsteczką Fc, co spowodowało wydłużenie okresu półtrwania. W ten sposób powstał Efmoroktokog alfa, który został zatwierdzony przez FDA w 2014 roku. Technika PEGylacji jest drugą głównie stosowaną metodą i polega na wiązaniu kowalencyjnym PEG z czynnikiem krzepnięcia, co chroni go przed degradacją

proteolityczną, a tym samym zmniejsza jego usuwanie z krążenia. Jednak stosowanie PEGyłowanych preparatów można stosować wyłącznie u osób powyżej 12 roku życia [15,17]. Obecnie na rynku jest zatwierdzonych kilka produktów EHL takie jak: Eloktat (rFVIII-Fc) efmoroktokog alfa lub Idelvion (rFIX-FP), albutrepenonakog-alfa [15]. Produkty EHL okazały się skuteczną alternatywą dla standardowych produktów ze względu na rzadsze podawanie i tym samym poprawę jakości życia pacjenta, jednak nie są bez ograniczeń: wciąż podawane dożylnie powodują powikłania z tym związane [17].

Przeciwciała neutralizujące

Największym wyzwaniem i powikłaniem terapii zastępczej jest tworzenie się inhibitorów (przeciwciał neutralizujących), które powodują, że wlew koncentratu czynnika jest nieskuteczny, co zagraża zdrowiu i życiu pacjenta. Alloprzeciwciała występują o 20-30% u pacjentów z ciężką HA i znacznie rzadziej (ok. 3%) u pacjentów z ciężką HB. Obecnie jedyną strategią jest leczenie ostrego krwawienia środkami omijającymi konieczność stosowania FVIII i FIX oraz zastosowaniem indukcji tolerancji immunologicznej (ITI), której wskaźnik powodzenia wynosi 70% [18,15].

Desmopresyna (DDAVP)

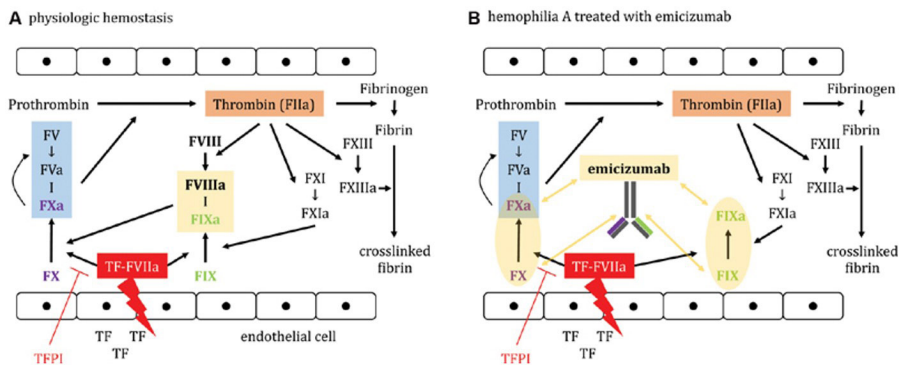
Desmopresyna (1-deamino-8-D-argininowazopresyna, DDAVP) czyli analog hormonu antydiuretycznego. Pierwotnie została wykorzystana do leczenia moczołki prostej, jednak szybko stała się lekiem z wyboru u pacjentów cierpiących na chorobę von Willebranda typu 1 (VWD) i łagodną hemofilię A. Na korzyść tego leku przemawiają niski wskaźnik działań niepożądanych i brak ryzyka przeniesienia infekcji wirusowych. [5,19]. Dokładne mechanizmy działania DDAVP nie są do końca poznane; wiadomo jednak, że desmopresyna powoduje znaczny wzrost poziomu czynnika von Willebranda, FVIII:C oraz tkankowego aktywatora plazminogenu w osoczu, dzięki czemu skraca czas krwawienia [5]. Desmopresyna może zostać podana dożylnie (iv), donosowo lub podskórnie. Najczęstszym i typowym sposobem jest podanie dożylnie. Maksymalne stężenie FVIII:C obserwuje się w momencie zakończenia infuzji lub 30 minut później i jest to dwu- lub nawet sześciokrotny wzrost w porównaniu do wartości początkowej. W przypadku chorych na ciężką postać hemofilii A infuzja DDAVP nie wywołuje żadnej reakcji, dlatego zwykle zaleca się odpowiednią terapię zastępczą [19].

NOWATORSKIE METODY LECZENIA HEMOFILII

Na przestrzeni lat dokonano ogromnych postępów w leczeniu hemofilii. Opracowano nowe metody leczenia, które są mniej uciążliwe dla pacjentów i cechują się większą skutecznością niezależnie od obecności inhibitorów. Najważniejsze cechy tych produktów to podskórna droga podania oraz długi czas działania, dzięki czemu przeważają nad konwencjonalnymi metodami [20].

Emicizumab (Hemlibra®)

Emicizumab jest humanizowanym, bispecyficznym przeciwciałem monoklonalnym wykazującym swoistość zarówno dla FIX jak i FX, oraz naśladującym rolę kofaktora FVIII w kompleksie tenazy, lokalizując FIXa wystarczająco blisko FX, co stabilizuje kompleks FIXa/FX, ułatwia aktywację FX i dalszy udział w kaskadzie krzepnięcia (Ryc.2) [21,22]. Emicizumab nie wykazuje żadnej homologii z FVIII, dzięki czemu nie jest hamowany przez występujące neutralizujące przeciwciała anti-FVIII [20]. Lek ten podawany jest poprzez wstrzyknięcie podskórne co 7, 14 lub 28 dni w celu zapobiegania lub zmniejszania częstości krwawień u osób chorych na hemofilię A. Emicizumabu nie można stosować w leczeniu hemofilii B oraz krwawień międzymiesiączkowych [21]. Skuteczność, bezpieczeństwo, farmakokinetyka, a także zakres stosowania zostały zbadane w badaniach klinicznych HAVEN 1-7, które pozwoliły na zatwierdzenie emicizumabu przez FDA w 2017 roku w profilaktyce u osób z HA z inhibitorami FVIII (HAVEN 1 i 2) lub bez (HAVEN 3 i 4), a także stosowanie jako profilaktyka pierwotna u niemowląt (HAVEN 7). Działania niepożądane obserwowane najczęściej to miejscowe reakcje w miejscu wstrzyknięcia (rumień, ból, świąd) [23,24]. Najbardziej niepokojącym i niebezpiecznym działaniem niepożądanym było występowanie zdarzeń zakrzepowo-zatorowych i mikroangiopatii zakrzepowej podczas wspomnianych wcześniej badań. Jednak powikłania te w większości związane były ze skojarzoną terapią zastępczą aPCC lub istniejącym wcześniej ryzykiem sercowo-naczyniowym lub zakrzepowym [23]. Wprowadzenie tego przeciwciała jako opcja zapobiegania krwawień, znacznie zmniejszyło obciążenie pacjentów związane ze sposobem podania leczenia (podawany podskórnie i rzadziej niż konwencjonalne metody), oraz umożliwiło lepszą kontrolę krwawień. Podczas stosowania występuje znacznie mniej krwawień przebijających (krwawienia, które występują pomimo stosowanej profilaktyki) [25].



Rycina 2. Porównanie hemostazy występującej fizjologicznie (A) i w hemofilii A podczas leczenia emicizumabem (B) [24]

Fitusiran

Fitusiran to syntetyczny, mały interferujący RNA (siRNA), który zakłóca potranskrypcyjną ekspresję białka antytrombiny (AT), zmniejszając w ten sposób syntezę AT w wątrobie i jej stężenie w osoczu. AT może inaktywować FXa i trombinę, a jego wyciszenie powoduje znaczny wzrost krzepliwości [7, 11, 20]. Zmniejszenie stężenia krążącego AT może złagodzić objawy krwawienia. Zakończone zostały wieloośrodkowe, otwarte, randomizowane badania fazy 3 mające na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa profilaktyki fitusiranem u osób chorych na hemofilię A lub B z inhibitorami (ATLAS-INH) [26] oraz bez inhibitorów (ATLAS-A/B) [27]. ATLAS-INH obejmowało 85 uczestników, mężczyzn i chłopców w wieku 12 lat lub więcej, chorujących na ciężką hemofilię A lub B, z chorobą hamującą przeciwciała przeciwko FVIII lub FIX, u których w ciągu 6 miesięcy przed badaniem wystąpiło co najmniej 6 epizodów krwawień wymagających podania na żądanie leków omijających. Uczestnicy zostali wykluczeni, jeśli podczas badania przesiewowego występowała u nich niższa niż 60% aktywność AT, tętnicza lub żylna choroba zakrzepowo-zatorowa oraz inne choroby pochodzenia sercowo-naczyniowego. Kwalifikujący się uczestnicy (57) zostali przydzieleni losowo do grupy otrzymującej profilaktycznie raz w miesiącu 80mg fitusiranu s.c. i na żądanie (tj. według uznania badacza i zgodnie z wytycznymi dotyczącymi dawkowania w razie krwawienia) czynniki omijające (BPA) w leczeniu epizodów krwawień przełomowych (38), oraz do grupy otrzymującej czynniki omijające na żądanie (w razie potrzeby, a nie w ramach regularnego schematu) (19). Średni roczny współczynnik krwawień (ABR) był istotnie niższy w grupie przyjmującej

fitusiran – 1,7 (95% CI: 1,0–2,7) niż w grupie otrzymującej leki omijające na żądanie – 18,1 (95% CI: 10,6–30,8) co odpowiada zmniejszeniu rocznej częstości krwawień o 90,8% (95% CI 80,8–95,6; $p < 0,0001$) na korzyść fitusiranu. U 2/3 uczestników leczonych fitusiranem (25 z 38) nie wystąpił żaden epizod krwawienia wymagający leczenia, natomiast w przypadku stosowania BPA tylko 1 uczestnik nie doznał epizodu krwawienia. Najczęstszym działaniem niepożądanym w grupie profilaktyki fitusiranem było zwiększenie aktywności aminotransferazy alaninowej, a u 2 uczestników tej grupy stwierdzono zdarzenia zakrzepowo-zatorowe. Badanie jest zarejestrowane na stronie ClinicalTrials.gov, NCT03417102 [26].

W badaniu ATLAS-A/B wzięło udział 120 uczestników płci męskiej, w wieku 12 lub więcej chorujących na ciężką hemofilię A lub B niepowikłanych inhibitorami. Kryteria wykluczenia obejmowały współistniejące zaburzenia krzepnięcia inne niż HA lub HB, obecność klinicznie istotnej choroby wątroby, choroby pochodzenia sercowo-naczyniowego. Uczestnicy zostali losowo podzieleni na grupy w stosunku 2:1; 80 uczestników otrzymywało fitusiran w dawce 80 mg, raz w miesiącu s.c. i koncentraty czynników na żądanie oraz 40 uczestników otrzymywało koncentraty czynników na żądanie w celu leczenia epizodów krwawień przełomowych od 1. dnia do łącznie 9 miesięcy (dla obu grup). Mediana rocznego wskaźnika krwawień wynosiła 0,0 (0,0–3,4) w grupie fitusiranu i 21,8 (8,4–41,0) w grupie koncentratów czynników krzepnięcia na żądanie. Szacowany średni roczny wskaźnik krwawień był istotnie niższy w grupie profilaktyki fitusiranem (3,1 [95% CI 2,3–4,3]) niż w grupie koncentratów czynników krzepnięcia na żądanie (31,0 [21,1–45,5]; współczynnik 0,101 [95% CI 0,064–0,159]; $p < 0,0001$). W grupie fitusiranu 40 (51%) z 79 leczonych uczestników nie wykazywało leczonych krwawień, w przeciwieństwie do dwóch (5%) z 40 uczestników w grupie koncentratów czynników krzepnięcia na żądanie. Najczęstszym zdarzeniem niepożądanym w grupie fitusiranu było zwiększenie stężenia aminotransferazy alaninowej (18 [23%] z 79 uczestników w zestawie do analizy bezpieczeństwa), natomiast w grupie otrzymującej koncentraty czynników krzepnięcia nadciśnienie tętnicze (4 [10%] z 40 uczestników). U 5 uczestników grupy fitusiranu zgłoszono poważne zdarzenia niepożądane (kamica żółciowa (2), zapalenie pęcherzyka żółciowego (1), zakażenie dolnych dróg oddechowych (1), astma (1)). Nie odnotowano zakrzepicy ani zgonów związanych z leczeniem. Badanie zostało zarejestrowane na stronie ClinicalTrials.gov, NCT03417245 [27]. Trwa badanie fazy 3 (ATLAS-PEDS), które bada skuteczność i bezpieczeństwo profilaktyki fitusiranem u dzieci i młodzieży płci męskiej w wieku od 1 do poniżej 12 lat cierpiących na hemofilię A lub B [28]. Fitusiran nie został jeszcze wprowadzony

na rynek, nie wyjaśniono też, dlaczego jego głównym działaniem niepożądanym jest wzrost aminotransferazy alaninowej. Jednak jest to niezwykle obiecujący lek, gdyż jest pierwszą formą terapii, skuteczną zarówno w leczeniu HA jak i HB [29].

Konczynumab

Konczynumab to humanizowane, stabilizowane zawiasowo (mutacja S228P) przeciwciało monoklonalne IgG₄, które selektywnie wiąże się z domeną Kunitz-2 inhibitora szlaku czynnika tkankowego (TFPI), dzięki czemu zapobiega wiązaniu się TFPI z aktywowanym czynnikiem X, istotnym składnikiem zewnętrznej kaskady krzepnięcia, co poprawia skuteczność tworzenia skrzepów [30]. Konczynumab podaje się podskórnie, 1 raz/24 godziny za pomocą wielodawkowego wstrzykiwacza. Leczenie należy rozpocząć w stanie niekrwawiącym. Zalecany schemat dawkowania to: 1 mg/kg mc. w 1. dniu, 0,20 mg/kg mc. od 2. dnia aż do ustalenia indywidualnej dawki podtrzymującej, którą ustala się po 4 tygodniach od rozpoczęcia leczenia na podstawie stężenia leku w osoczu [31]. Konczynumab został zarejestrowany w Kanadzie w marcu 2023r. do leczenia młodzieży (wiek > 12 lat) i dorosłych chorych na hemofilię B powikłaną inhibitorami FIX i wymagającą stałej profilaktyki [32]. Następnie, lek ten został zatwierdzony w Australii i Szwajcarii w lipcu i sierpniu 2023r., ale dalej pozostaje obiektem przeglądu regulacyjnego UE, USA, Japonii. Konczynumab jest pierwszym, zatwierdzonym lekiem anty-TFPI i pierwszym zatwierdzonym lekiem podskórnym w profilaktyce hemofilii B z inhibitorami [32,33].

Terapia genowa

Mimo tak dużego postępu w leczeniu dalej wiele potrzeb chorych, zarówno w przypadku HA jak i HB pozostaje niezaspokojonych. Czynniki EHL i przeciwciała monoklonalne zapewniają zapobieganie krwawienia, ale wszystkie formy terapii wymagają przestrzegania schematu leczenia i wielokrotnego podania dożylnego. [B, C] Hemofilia uważana jest za idealnego kandydata do opracowania terapii genowej, ponieważ jest to zaburzenie monogenowe o określonym fenotypie i szerokim zakresie docelowych poziomów FVIII i FIX [11, 20].

W ostatnich latach terapia genowa znalazła się na zaawansowanym poziomie, niektóre z produktów zostały już zatwierdzone, inne są na etapach rozwoju klinicznego (fazy 1-2-3). Wszystkie z nich wykorzystują wektory wirusowe związane z adenowirusem (AVV), które są zaprojektowane tak, aby dostarczały je

bezpośrednio do hepatocytów lub cDNA [11,12]. Wirus ten nie jest patogenny dla człowieka i cechuje się niskim stopniem integracji genomu gospodarza. Ograniczenia jakie można napotkać to istniejące już wcześniej przeciwciała wynikające z historycznego kontaktu populacji ogólnej z wirusem oraz ograniczonej zdolności pakowania transgenów (zwłaszcza o dużych rozmiarach tak jak FVIII) [7]. Waloktokogen roksaparwówek jest pierwszą terapią zatwierdzoną w Europie dla chorych na ciężką HA bez inhibitorów [34].

W badaniach, które doprowadziły do zezwolenia na jej stosowanie, 134 pacjentom podano pojedynczą dawkę wektora (6×10^{13} kopii wektora [vc]/kg), obserwacja trwała co najmniej 2 lata, a głównym rezultatem był osiągnięty poziom FVIII w osoczu i jego trwałość, poprzez wartości ABR i zużycie egzogenego FVIII, w porównaniu z wynikami tych samych pacjentów, w czasie profilaktycznej lub epizodycznej terapii zastępczej. Zaobserwowano średni szczyt aktywności FVIII na poziomie 23,9% w pierwszym roku po infuzji, ale w drugim roku nastąpił spadek do poziomu 11,8% z dalszym spadkiem w grupie 17 pacjentów w okresie do 3 lat. Pomimo tego, skuteczność kliniczna była zadowalająca: ABR zmniejszył się o 83,8% a zapotrzebowanie na uzupełnianie czynnika VIII w razie krwawień było mniejsze o prawie 99% [7]. Najczęstszym działaniem niepożądanym był wzrost aktywności aminotransferaz, które udało się opanować przy pomocy kortykosteroidów. W ramach tych badań odnotowano przypadek raka zrazikowokomórkowego ślinianki przyusznej i ostrej białaczki limfoblastycznej. Oba przypadki zostały uznane za niezwiązane z terapią genową [35].

Wyniki tych badań wskazują na skuteczność terapii jaką jest waloktokogen roksaparwówek. Przeprowadzono również badania nad etranakogenem dezaparwówek, który jest obecnie jedyną terapią genową dla dorosłych chorych na HB, w których stwierdzono 64% redukcję ABR i obniżenie podaży egzogenego FIX o 97% [36]. Terapia genowa wydaje się idealnym rozwiązaniem dla pacjentów cierpiących na schorzenie jakim jest hemofilia. Pozwala na ograniczenie obciążenia związanego z podażą leku, długotrwałą ochronę przed krwawieniem, a także niesie ze sobą nadzieję na całkowite wyleczenie.

PODSUMOWANIE

W ciągu ostatnich dekad dokonano ogromnych postępów w leczeniu hemofilii, wprowadzając nowe technologie i leki, które znacząco poprawiają jakość życia pacjentów i kontrolę nad chorobą. Chociaż wyniki leczenia uległy już znacznej poprawie, a długość życia chorych znacznemu wydłużeniu, wciąż pozostaje wiele

wyzwań, którym trzeba sprostać. Niewątpliwie należy kontynuować badania nad nowoczesnymi formami terapii hemofilii, ponieważ jak można wywnioskować z dotychczasowych odkryć, nowatorskie możliwości leczenia, którym terapia zastępcza nie może dorównać, a przede wszystkim terapia genowa to przyszłość leczenia hemofilii.

REFERENCJE

- [1] 10. Mehta P. Hemophilia. StatPearls [Internet]. June 5, 2023. Accessed May 31, 2024. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551607/?fbclid=IwAR2EAccqFn3zmxfx6PUxayL2svlSF0EqfO5WCcQd_UojkJESkpW7zqoTLTE.
- [2] Int. J Pharm Sci Rev Res, International journal of pharmaceutical sciences review and research., 2010, ISSN: 0976-044X (Electronic). Dostęp: 13.04.2024
- [3] Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. Haemophilia. 2020; 26(Suppl 6): 1-158. <https://doi.org/10.1111/hae.14046>
- [4] Kruse-Jarres R, Kempton CL, Baudo F, et al. Acquired hemophilia a: Updated review of Evidence and treatment guidance. American Journal of Hematology. 2017;92(7):695-705. doi:10.1002/ajh.24777
- [5] Franchini M, Lippi G. The use of desmopressin in acquired haemophilia A: a systematic review. Blood Transfus. 2011;9(4):377-382. doi:10.2450/2011.0113-10
- [6] Wytyczne Leczenia Chorych na Hemofilię (WFH Guidelines for the Management of Hemophilia) - World Federation of Hemophilia. Redakcja: Bogdan Gajewski, Radosław Kaczmarek, Agnieszka Michnowicz, Katarzyna Pinkosz, Adam Stasiak Wydanie pierwsze Warszawa 2014 ISBN 978-83-911231-9-5
- [7] Mannucci PM. Hemophilia treatment innovation: 50 Years of Progress and more to come. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2023;21(3):403-412. doi:10.1016/j.jth.2022.12.029
- [8] Morfini M, Coppola A, Franchini M, Di Minno G. Clinical use of factor VIII and factor IX concentrates. Blood Transfus. 2013;11 Suppl 4(Suppl 4):s55-s63. doi:10.2450/2013.010s

- [9] Balkaransingh P, Young G. Novel therapies and current clinical progress in hemophilia A. *Ther Adv Hematol.* 2018;9(2):49-61. doi:10.1177/2040620717746312
- [10] Rodríguez-Merchán EC, De Pablo-Moreno JA, Liras A. Gene Therapy in Hemophilia: Recent Advances. *Int J Mol Sci.* 2021;22(14):7647. Published 2021 Jul 17. doi:10.3390/ijms22147647
- [11] Marchesini E, Morfini M, Valentino L. Recent Advances in the Treatment of Hemophilia: A Review. *Biologics.* 2021;15:221-235. Published 2021 Jun 15. doi:10.2147/BTT.S252580
- [12] Valentino LA, Kaczmarek R, Pierce GF, et al. Hemophilia gene therapy: first, do no harm. *J Thromb Haemost.* 2023;21(9):2354-2361. doi:10.1016/j.jtha.2023.06.016
- [13] Fassel H, McGuinn C. Haemophilia: factoring in new therapies. *Br J Haematol.* 2021;194(5):835-850. doi:10.1111/bjh.17580
- [14] Morfini M, Coppola A, Franchini M, Di Minno G. Clinical use of factor VIII and factor IX concentrates. *Blood Transfus.* 2013;11 Suppl 4(Suppl 4):s55-s63. doi:10.2450/2013.010s
- [15] Balkaransingh P, Young G. Novel therapies and current clinical progress in hemophilia A. *Ther Adv Hematol.* 2018;9(2):49-61. doi:10.1177/2040620717746312
- [16] Fassel, H., & McGuinn, C. (2021). Haemophilia: factoring in new therapies. *British Journal of Haematology*, 194(5), 835–850. <https://doi.org/10.1111/bjh.17580>
- [17] Okaygoun D, Oliveira DD, Soman S, Williams R. Advances in the management of haemophilia: emerging treatments and their mechanisms. *J Biomed Sci.* 2021;28(1):64. Published 2021 Sep 14. doi:10.1186/s12929-021-00760-4
- [18] Ar MC, Balkan C, Kavaklı K. Extended Half-Life Coagulation Factors: A New Era in the Management of Hemophilia Patients. *Turk J Haematol.* 2019;36(3):141-154. doi:10.4274/tjh.galenos.2019.2018.0393
- [19] CASTAMAN G. Desmopressin for the treatment of haemophilia. *Haemophilia.* 2007;14(s1):15-20. doi:10.1111/j.1365-2516.2007.01606.x

- [20] Trinchero A, Sholzberg M, Matino D. The evolution of hemophilia care: Clinical and laboratory advances, opportunities, and challenges. *Hämostaseologie*. 2020;40(03):311-321. doi:10.1055/a-1175-6530
- [21] Berntorp E, Fischer K, Hart DP, et al. Haemophilia. *Nature Reviews Disease Primers*. 2021;7(1). doi:10.1038/s41572-021-00278-x
- [22] Fager AM, Ellsworth P, Key NS, Monroe DM, Hoffman M. Emicizumab promotes factor xa generation on endothelial cells. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2024;22(6):1605-1615. doi:10.1016/j.jtha.2024.02.017
- [23] Alcedo Andrade PE, Mannucci PM, Kessler CM. Emicizumab: the hemophilia A game-changer. *Haematologica*. 2024;109(5):1334-1347. Published 2024 May 1. doi:10.3324/haematol.2022.282099
- [24] Gelbenegger G, Schoergenhofer C, Knoebl P, Jilma B. Bridging the Missing Link with Emicizumab: A Bispecific Antibody for Treatment of Hemophilia A. *Thromb Haemost*. 2020;120(10):1357-1370. doi:10.1055/s-0040-1714279
- [25] Pierce GF. Uncertainty in an era of transformative therapy for haemophilia: ADDRESSING the unknowns. *Haemophilia*. 2020;27(S3):103-113. doi:10.1111/hae.14023
- [26] Young G, Srivastava A, Kavakli K, et al. Efficacy and safety of fitusiran prophylaxis in people with haemophilia A or haemophilia B with inhibitors (Atlas-inh): A Multicentre, open-label, Randomised Phase 3 trial. *The Lancet*. 2023;401(10386):1427-1437. doi:10.1016/s0140-6736(23)00284-2
- [27] Srivastava A, Rangarajan S, Kavakli K, et al. Fitusiran prophylaxis in people with severe haemophilia A or haemophilia B without inhibitors (atlas-A/B): A Multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *The Lancet Haematology*. 2023;10(5). doi:10.1016/s2352-3026(23)00037-6
- [28] Clinicaltrials.gov. Accessed May 31, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03974113?intr=fitusiran&camp%3Brank=>
- [29] Windyga J.: Zaburzenia hemostazy – postępy 2022/2023. *Med. Prakt.*, 2023; 10: 60–67 https://www.mp.pl/zakrzepica/wytyczneartykuly/artykuly_przepladowe/show.html?id=332752

- [30] Shapiro AD. Concizumab: a novel anti-TFPI therapeutic for hemophilia. *Blood Adv.* 2021;5(1):279. doi:10.1182/bloodadvances.2019001140
- [31] Novo Nordisk Canada Inc. Cocizumab (Alhemo™): Canadian product monograph. 2023. <https://www.novonordisk.ca>. Accessed 01 May 2023.
- [32] Keam SJ. Concizumab: First approval. *Drugs.* 2023;83(11):1053-1059. doi:10.1007/s40265-023-01912-6
- [33] Crescioli S, Kaplon H, Chenoweth A, Wang L, Visweswaraiiah J, Reichert JM. Antibodies to watch in 2024. *MAbs.* 2024;16(1):2297450. doi:10.1080/19420862.2023.2297450
- [34] Thornburg CD. Prepare the Way for Hemophilia A Gene Therapy. *N Engl J Med.* 2022;386(11):1081-1082. doi:10.1056/NEJMe2200878.
- [35] Ozelo MC, Mahlangu J, Pasi KJ, et al. Valoctocogene Roxaparvovec Gene Therapy for Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2022;386(11):1013-1025. doi:10.1056/NEJMoa2113708
- [36] Thornburg CD. Etranacogene dezaparvovec for hemophilia B gene therapy. *Therapeutic Advances in Rare Disease.* 2021;2. doi:10.1177/26330040211058896.

MODAFINIL, CZYLI ALTERNATYWA DLA ZABURZEŃ LECZONYCH Z UŻYCIEM ŚRODKÓW PSYCHOSTYMULUJĄCYCH

Nina Jankowska, Mateusz Gołębiowski,
Tymoteusz Borowski, Joanna Bogacz, Maria Zimoń

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Modafinil, nieamfetaminowy środek pobudzający OUN, czyli lek stosowany głównie w narkolepsji i problemach z nadmiernym zmęczeniem w ciągu dnia w świetle coraz nowszych badań staje się alternatywą dla metylofenidatu, metamfetaminy czy środków przeciwdepresyjnych. Wykazuje potencjalną korzyść polegającą na minimalnej skłonności do indukowania efektów euforycznych, które są charakterystyczne dla tradycyjnych środków psychostymulujących, takich jak amfetamina. To zjawisko jest przypisywane różnicom w interakcji modafinilu z transporterem dopaminy na poziomie molekularnym. Został w ostatnim czasie nazwany „world's first safe smart drug”. Wyniki sugerują, że jest on stosunkowo bezpiecznym lekiem, który zredukuje interwencje uzależnieniowe związane z używaniem wyżej wymienionych substancji. Poza swoim konwencjonalnym zastosowaniem badania dokumentują jego pozytywny efekt w terapii zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi, ostrymi epizodami depresyjnymi jedno- i dwubiegunowymi oraz uzależnieniem od kokainy.

Słowa kluczowe: modafinil, środki psychostymulujące, zapobieganie efektem euforycznym

Abstract: Modafinil, a non-amphetamine central nervous system stimulant, is a medication primarily used in narcolepsy and daytime sleepiness disorders. In light of recent research, it is emerging as an alternative to methylphenidate, methamphetamine, or antidepressants. It shows potential benefits due to its minimal tendency to induce euphoric effects, which are characteristic of traditional psychostimulant drugs such as amphetamine. This phenomenon is attributed to differences in modafinil's interaction with the dopamine transporter at the molecular level. It has recently been dubbed the "world's first safe smart drug." Findings suggest that it is a relatively safe medication that may reduce addictive interventions associated with the use of the aforementioned

substances. Beyond its conventional use, studies document its positive effect in the therapy of attention-deficit/hyperactivity disorder, acute depressive episodes in unipolar and bipolar disorders, and cocaine addiction. .

Keywords: modafinil, psychostimulants, prevention of euphoric effects

WSTĘP

Głównym zastosowaniem środków psychostymulujących jest zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD), jest to także jedno z najczęściej występujących zaburzeń neurorozwojowych, które znacząco wpływa na interakcje społeczne. Na całym świecie dotyka ono około 5% dzieci i młodzieży oraz 2,5% dorosłych. W ciągu ostatnich dziesięciu lat znacznie zwiększyła się liczba zatwierdzonych metod leczenia i badań klinicznych dotyczących ADHD. Zaburzenie to jest związane z czynnikami genetycznymi, neurologicznymi i środowiskowymi oraz ich kombinacjami (jednak dokładna patofizjologia wciąż pozostaje niejasna). Zespół ten najczęściej wiąże się z nieprawidłowościami w regulacji neuroprzekaźników, takich jak dopamina i noradrenalina. Najczęściej stosowane leki to środki stymulujące ośrodkowy układ nerwowy, takie jak chlorowodorek metylofenidatu, dimesylian lisdeksamfetaminy, siarczan amfetaminy, mieszane sole amfetaminy oraz kombinacja chlorowodoru deksmetylofenidatu i chlorku serdekmetylefenidatu [1]. W krótkotrwałym leczeniu preferowane są związki metylofenidatu dla dzieci i młodzieży oraz amfetaminy dla dorosłych. Można także spotkać się z zaleceniami, które rekomendują wprowadzenie psychostymulantów jako leczenia pierwszego rzutu, bez rozróżniania na związki wymienionych powyżej substancji [2]. Najczęstszymi celami tych leków są: transporter noradrenaliny, dopaminy i serotoniny zależne od sodu (geny SLC6A2, SLC6A3, SLC6A4). Ponieważ u pacjentów z ADHD występują nieprawidłowości w poziomach tych katecholamin, leki te działają jako inhibitory wychwytu zwrotnego, regulując neurotransmisję noradrenaliny, dopaminy i serotoniny oraz normalizując ich poziomy w mózgu. Warto zauważyć, że główna klasa leków zatwierdzonych do leczenia ADHD, czyli stymulanty, działa głównie na te cele. Substancje typu amfetaminy, oprócz tych celów, wpływają także na synaptyczny pęcherzykowy transporter amin (gen SLC18A2), białko odpowiedzialne za akumulację monoamin w pęcherzykach synaptycznych [1]. Zarówno amfetamina, jak i metylofenidat są substancjami kontrolowanymi według Wykazu II, co wskazuje,

że mają one wysoki potencjał nadużywania, ale uznaną przydatność medyczną [3]. Chociaż skuteczne leczenie metylofenidatem w dzieciństwie i okresie dojrzewania może zmniejszyć ryzyko wystąpienia negatywnych skutków neuropsychiatrycznych, długotrwałe stosowanie jakiegokolwiek leku psychoaktywnego w okresie rozwoju może teoretycznie zwiększać ryzyko pewnych zaburzeń neuropsychiatrycznych. Amfetamina jest szeroko stosowana ze względu na jej skuteczność i trwałość, ale nadużywana staje się silnie uzależniającym narkotykiem o szybkim wskaźniku tolerancji i rosnącym uzależnieniu [4]. Należy zachować ostrożność w przypadku specyficznych grup, takich jak młodzież podatna na nadużywanie substancji psychoaktywnych [5].

MODAFINIL - CHARAKTERYSTYKA, SPOSÓB DZIAŁANIA, LECZONE ZABURZENIA

Jest to złożony lek o działaniu pobudzającym, który jest stosowany przede wszystkim w leczeniu narkolepsji. Jednakże zauważono jego potencjał w poprawie czujności i zmniejszeniu zmęczenia także u zdrowych osób. W porównaniu do tradycyjnych psychostymulantów takich jak amfetamina czy metylofenidat, modafinil wykazuje mniejsze lub brak znaczących efektów ubocznych. Badania sugerują, że jego mechanizm działania może różnić się od tych tradycyjnych stymulantów, co może przyczynić się do mniejszego ryzyka działań niepożądanych. Wydaje się on wywoływać czujność poprzez aktywację receptorów alfa 1-adrenergicznych, ale jego działanie nie jest jeszcze w pełni zrozumiałe. Niektóre badania wskazują, że może wpływać na transmisję noradrenaliny i glutaminergiczną, co prowadzi do zwiększenia pobudzenia i czujności. Dodatkowo, może także działać na uwalnianie serotoniny w korze mózgowej [4]. W badaniu porównującym jego wpływ i D-amfetaminy na różne pomiary subiektywne i wyniki, stwierdzono, że oba leki wykazywały pewne podobieństwa w działaniu, ale również różnice. D-amfetamina wykazała tendencję do zwiększenia subiektywnych ocen uczucia pobudzenia i przyjemności z narkotyku oraz indukowała podwyższone oceny w skali ARCI (Addiction Research Center Inventory- stosowana w badaniach nad uzależnieniami, substancjami psychoaktywnymi oraz w ocenie skutków ubocznych leków psychoaktywnych) związanej z grupą Morfiny-Benzedryny. Natomiast oba leki skutecznie zmniejszyły uczucie senności według subiektywnych ocen na wizualnej skali analogowej. Warto zauważyć, że w przeciwieństwie do D-amfetaminy, obniżył oceny w skali ARCI związanej z grupą Pentobarbital-Chlorpromazyna-Alkohol, co może sugerować różnice w ich wpływie na pewne

aspekty działania psychoaktywnego. Ponadto, oba leki utrzymały swoją skuteczność w teście rozpoznawania liczb Sternberga- (Pozwala ona zbadać przeszukiwanie pamięci krótkotrwałej. Pacjent zapamiętuje listę liczb, a po krótkiej przerwie odpowiada, czy pokazywana liczba testowa była na liście. Mierzy się czas reakcji i dokładność odpowiedzi.), mimo że w miarę upływu czasu występowało pogorszenie wyników. Jednakże, wykazał on dodatkowe korzyści w innych testach poznawczych, takich jak zadanie podstawienia symboli cyfr i zadanie powtarzanie pozyskiwania sekwencji odpowiedzi, gdzie zwiększył wydajność i wskaźnik odpowiedzi [5]. Te wyniki sugerują, że modafinil może wywoływać efekty pobudzające i poprawiać wydajność u zdrowych osób, które nie cierpią na brak snu, w sposób porównywalny do D-amfetaminy. Jednakże, różnice w ich profilach działania sugerują, że może on mieć pewne unikatowe mechanizmy działania, które mogą być korzystne dla osób szukających pobudzenia bez znacznego ryzyka działań ubocznych [6]. Jest to skuteczny środek w leczeniu narkolepsji, przy czym dawki 200 mg lub 400 mg wykazują skuteczność w zmniejszaniu objawów nadmiernego zasypiania. Jeśli chodzi o nagłe odstawienie, może to powodować senność z odbicia. Jednakże, w przeciwieństwie do amfetaminy, nie powoduje wystąpienia objawów odstawiennych. W związku z tym modafinil wydaje się lekiem stosunkowo dobrze tolerowanym, zarówno pod względem skuteczności w leczeniu, jak i tolerancji po odstawieniu, co sprawia, że jest atrakcyjną opcją terapeutyczną [7].

Używanie modafinilu w leczeniu chorób wymagających klasycznych środków psychostymulujących

Agencja żywności i leków dopuszcza stosowanie modafinilu w leczeniu pierwszego rzutu w narkolepsji, zmęczenia związanego z pracą zmianową oraz obturacyjnego bezdechu sennego. Jego działanie wykazuje jednak zastosowanie w zespole nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi, ostrych epizodach depresyjnych jedno i dwubiegunowych oraz leczeniu uzależnienia od kokainy [8].

Leczenie nadpobudliwości ruchowej z deficytem uwagi (ADHD)

W badaniu obserwacyjnym przeprowadzonym wśród pacjentów z ADHD-RS-IV, którzy byli leczeni modafinilem, zaobserwowano znaczną poprawę już w pierwszym tygodniu leczenia. Ta poprawa utrzymywała się przez cały okres

badania. Również wersja domowa skali ADHD-RS-IV wykazała podobne różnice w złagodzeniu objawów pomiędzy pacjentami przyjmującymi modafinil a tymi, którzy otrzymywali placebo. Ponadto, leczenie substancją czynną znacząco zmniejszyło wyniki dotyczące nieuwagi, nadpobudliwości i impulsywności, zarówno w wersji szkolnej, jak i domowej, w porównaniu z grupą placebo. Podczas ostatniej wizyty stwierdzono, że 48% pacjentów leczonych substancją czynną wykazało „znaczną” lub „bardzo znaczną” poprawę ogólnego stanu klinicznego w porównaniu z 17% pacjentów otrzymujących placebo. Warto zauważyć, że większość działań niepożądanych miała łagodne lub umiarkowane nasilenie, a większość z nich ustępowała w trakcie leczenia [9].

Kolejne badanie wykazało istotnie większą poprawę (U osób otrzymujących substancję w dawce 300 mg raz na dobę) w objawach ADHD we wszystkich ocenianych skalach i podskalach w porównaniu z osobami otrzymującymi placebo. Podział dawki 300 mg zapewnił istotną, chociaż niejednorodną poprawę w objawach ADHD. U dzieci o masie ciała > lub = 30 kg, w dawce 400 mg (200/200 mg) był istotnie skuteczniejszy niż placebo według ocen klinicystów i rodziców. Bezsenność była jedynym niepożądanym zdarzeniem występującym z większą częstością w grupie otrzymującej modafinil (200/100) w porównaniu z grupą placebo [10]. W toku przeprowadzenia 3 niezależnych od siebie badań oceniono trzy populacje pacjentów: (1) wszystkich pacjentów (czyli grupę obejmującą wszystkich pacjentów), (2) pacjentów, którzy wcześniej byli leczeni środkami pobudzającymi (czyli grupę wcześniej stosujących stymulatory), oraz (3) pacjentów, którzy albo byli leczeni, albo wcześniej stosowali leki na ADHD inne niż środki pobudzające, lub nie byli leczeni żadnymi lekami na ADHD (czyli grupę nieprzyjmujących leków ani środków pobudzających). Wszyscy pacjenci biorący udział w trzech badaniach mieścili się w wieku od 6 do 17 lat, a ADHD zostało zdiagnozowane na podstawie kryteriów z Podręcznika diagnostycznego i statystycznego zaburzeń psychicznych. Pacjenci we wszystkich trzech badaniach, którzy ukończyli co najmniej 4 tygodnie przyjmowania badanego leku i nie przerwali badania z powodu zdarzenia niepożądanego, kwalifikowali się do włączenia do rocznego, otwartego badania kontynuacyjnego.

Modafinil łagodził objawy podczas wszystkich wizyt po badaniu wyjściowym i podczas wizyty końcowej. W grupie wszystkich pacjentów w pierwszym tygodniu zaobserwowano znaczną poprawę średniego całkowitego wyniku w wersji szkolnej w porównaniu z wartością wyjściową w przypadku substancji czynnej w porównaniu z placebo, przy czym poprawa narastała w trakcie badania. Lek ten poprawił całkowite wyniki w wersji domowej w porównaniu z placebo

w grupie otrzymującej wcześniej stymulację oraz w grupie nieprzyjmującej wcześniej leków ani środków pobudzających. W przypadku pacjentów w grupie otrzymującej wcześniej lek stymulujący, 39% pacjentów otrzymujących substancję czynną i 17% pacjentów otrzymujących placebo zostało sklasyfikowanych jako reagujących podczas ostatniej wizyty. W przypadku pacjentów z grupy, którzy nie przyjmowali wcześniej leków ani środków pobudzających, odpowiedź na leczenie stwierdzono u 51% pacjentów otrzymujących modafinil w porównaniu z 19% pacjentów, którzy otrzymywali placebo [9, 11, 12, 13].

Leczenie depresji

W leczeniu ciężkiej depresji stosuje się zarówno leki przeciwdepresyjne, jak i psychoterapię. Trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne (TCA) są często stosowane i powodują różne skutki uboczne, takie jak problemy z układem cholinergicznym, niskie ciśnienie krwi przy zmianie pozycji, zaburzenia snu i dysfunkcje seksualne. Selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) są najczęściej stosowanymi lekami przeciwdepresyjnymi. Ich działanie polega na zwiększaniu poziomu serotoniny w mózgu, jednak w przeciwieństwie do innych leków, nie wpływają znacząco na poziom noradrenaliny. Modafinil, który nie jest nadużywany w znaczącym stopniu, może być istotny w leczeniu depresji i nadużywania substancji psychoaktywnych [14]. Wyniki analiz sugerują, że może on być skuteczną terapią wspomagającą dla pacjentów z depresją, zwłaszcza gdy występuje nadmierna senność i zmęczenie, które nie ustępują w pełni po terapii lekami SSRI. Połączenie modafinilu z SSRI szybko poprawia ogólny stan kliniczny, czujność oraz zmniejsza objawy depresji, a także istotnie zmniejsza zmęczenie w porównaniu z placebo. Istotne poprawy były obserwowane już po tygodniu terapii, co jest istotne, biorąc pod uwagę szybkość reakcji. Jednakże, pomimo początkowych korzyści, istnieje pewna niejednoznaczność w interpretacji wyników, szczególnie dotyczących utrzymania poprawy w dłuższym okresie. Niektóre czynniki mogą wpływać na te wyniki, takie jak niemożność optymalnego dostosowania dawek do zarządzania zmęczeniem, zmienność w dawkowaniu leków przeciwdepresyjnych stosowanych wcześniej przez pacjentów, a także czynniki związane z projektem badania, takie jak kryteria selekcji pacjentów. Dodatkowo istnieją różne farmakoterapie stosowane obecnie w celu poprawy odpowiedzi na terapię SSRI, co sugeruje, że może on być jedną z wielu opcji terapeutycznych w kontekście leczenia depresji opornej na SSRI. Ogólnie rzecz biorąc, wyniki te sugerują potencjalną skuteczność modafinilu jako terapii wspomagającej

dla pacjentów z depresją, szczególnie w przypadku nadmiernego zmęczenia i senności [15].

W retrospektywnej analizie siedmiu przypadków pacjentów cierpiących na depresję (w tym czterech z dużą depresją i trzech z depresją w przebiegu choroby afektywnej dwubiegunowej), zastosowano go jako uzupełnienie leczenia przeciwdziałającego częściowej lub brakującej odpowiedzi na leki przeciwdepresyjne. Przed rozpoczęciem terapii oraz podczas kolejnych wizyt klinicznych zastosowano Skalę Oceny Depresji Hamiltona. U wszystkich siedmiu pacjentów uzyskano pełną lub częściową remisję po zastosowaniu dawek modafinilu w zakresie od 100 do 200 mg/dobę, z reguły w ciągu 1-2 tygodni. Wszyscy pacjenci zgłaszali pewny stopień zmęczenia lub znużenia przed terapią, szczególnie wrażliwe na nasilenie. Skutki uboczne były minimalne i nie spowodowały przerwania stosowania leku przez żadnego z pacjentów [16].

Wykazano, że zaburzenia funkcji poznawczych są związane z gorszymi wynikami funkcjonalnymi oraz częstszymi nawrotami choroby u pacjentów z depresją. Zajmowanie się wpływem problemów poznawczych na depresję stanowi jednak poważne wyzwanie. Coraz częściej uznaje się, że zaburzenia funkcji poznawczych są nowym celem leczenia depresji. Aby rozwiązać te problemy, potrzebne są alternatywne interwencje terapeutyczne.

W 2017 roku w podwójnie ślepych, randomizowanym badaniu kontrolowanym placebo badano wpływ pojedynczej dawki na umiejętności kognitywne u pacjentów z depresją w stanie remisji. Dowody wskazują, że deficyty poznawcze w depresji są obecne nawet po ustąpieniu objawów nastroju. Niedawna metaanaliza wykazała, że deficyty poznawcze w remisji są w niektórych obszarach porównywalne z tymi występującymi podczas epizodów depresyjnych. Głównym celem badania było sprawdzenie, czy pojedyncza dawka modafinilu (200 mg) może poprawić wyniki testów poznawczych u pacjentów z depresją w stanie remisji. Oceniano także wpływ zmiennych klinicznych, takich jak objawy zmęczenia, funkcjonowanie psychospołeczne i zawodowe, na funkcje poznawcze. Po sesji testowej zapytano uczestników, czy ich zdaniem przyjmowali substancję czynną, czy placebo. Spośród pacjentów przyjmujących substancję czynną, 40% odgadło, że przyjmowali ten lek, podczas gdy 26,6% pacjentów w grupie placebo poprawnie odgadło swój przydział. Porównanie obu grup nie wykazało istotnej różnicy w zdolności do prawidłowego rozpoznania przydziału.

Badanie sugeruje, że lek może poprawić wyniki w testach pamięci epizodycznej i pamięci roboczej u pacjentów z depresją w stanie remisji. Nie zaobserwowano jednak wpływu na uwagę i planowanie. Może on poprawić

funkcje poznawcze zarówno u zdrowych ochotników, jak i u osób z zaburzeniami poznawczymi wynikającymi z chorób psychicznych. Wyniki wskazują także, że może również poprawiać funkcje poznawcze u osób z depresją w stanie remisji – było to pierwsze badanie badające ten obszar działania. Stwierdzono, że wpływ ten na pamięć epizodyczną mieści się w przedziale od średniego do dużego [17].

Leczenie uzależnienia od kokainy

Obecnie nie ma leku zatwierdzonego przez FDA do leczenia uzależnienia od kokainy. Badania przeprowadzone z różnymi lekami, w tym lekami przeciwpsychotycznymi, przeciwdepresyjnymi, przeciwdrgawkowymi wykazały niespójne wyniki. Narodowy Instytut Zdrowia, Narodowy Instytut Narkotyków i inne grupy badawcze prowadziły przez ponad 20 lat liczne badania kliniczne, przekrojowe i epidemiologiczne w celu oceny skuteczności różnych farmakoterapii w przypadku nadużywania kokainy. Chociaż u pacjentów z zaburzeniami związanymi z używaniem kokainy badano dużą liczbę leków, w tym leki przeciwdepresyjne, przeciwpsychotyczne, agonistów dopaminy, wzmacniacze kwasu gamma-aminomasłowego (GABA), blokery adrenergiczne i leki przeciwdrgawkowe, żaden z nich nie okazał się wyraźnie skuteczny. W szczególności modafinil był szeroko badany pod kątem jego potencjalnej skuteczności w leczeniu uzależnienia od kokainy. Wyniki badań były mieszane. Podczas gdy niektóre badania, szczególnie te przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych, wykazały, że wskaźnik abstynencji od kokainy był znacznie większy u osób leczonych modafinilem, inne badania nie wykazały znaczącej przewagi substancji czynnej nad placebo. W związku z tym, obecnie nie ma wystarczających danych, aby udowodnić skuteczność tej substancji w leczeniu uzależnienia od kokainy na tyle, aby mógł on być zatwierdzony przez FDA w tym wskazaniu [18].

W badaniach laboratoryjnych na ludziach modafinil zmniejszał euforię wywołaną kokainą oraz samopodawanie kokainy. W trzech kolejnych niezależnych badaniach stwierdzono, że blokuje on euforyczne działanie kokainy. Był on dobrze tolerowany, a działania niepożądane były głównie łagodne i równomiernie rozłożone między grupami otrzymującymi substancję czynną i placebo [19]. Lek ten może być stosowany bezpiecznie, jeśli nie jest przeciwwskazany, co może przynieść pewne korzyści u osób uzależnionych od kokainy, zwłaszcza tych, którzy mają inne wskazania do stosowania tego leku, takie jak narkolepsja czy zaburzenia snu związane z bezdechem sennym. Warto również rozważyć wdrożenie

strategii psychoterapeutycznych w celu poprawy wskaźnika kontynuacji leczenia i wspierania procesu zdrowienia u osób uzależnionych od kokainy [18].

Przeprowadzono 8-tygodniowe badanie kliniczne z podwójnie ślepą próbą i kontrolowane placebo, w którym uczestniczyły 94 osoby uzależnione od kokainy. Pacjentom codziennie podawano 300 mg modafinilu lub identyczne placebo, a także uczestniczyli oni w cotygodniowej terapii indywidualnej. Pierwszorzędowną miarą wyniku było zażywanie kokainy, mierzone na podstawie samoopisu i potwierdzone testem na benzoiloeckgoninę w moczu (UBT), wykonywanym dwa razy w tygodniu. Jest to drugie badanie, w którym modafinil wykazał przewagę nad placebo pod względem wcześniej określonego pierwotnego wyniku. Mimo to badanie miało kilka ograniczeń. Było to stosunkowo małe badanie przeprowadzone w jednym ośrodku, z pacjentami głównie afroamerykańskimi, mieszkańcami dużego miasta, którzy przyjmowali kokainę w formie cracku i nie mieli współistniejącego uzależnienia od alkoholu. (W związku z tym wyników tego badania nie można uogólniać na inne populacje pacjentów uzależnionych od kokainy, szczególnie na tych ze współistniejącym uzależnieniem od alkoholu.) Pacjenci leczeni substancją czynną częściej oceniali swoją poprawę jako znaczną w porównaniu z pacjentami leczonymi placebo. Osoby te częściej zgłaszały bardzo niski poziom intensywności i czasu trwania głodu kokainowego w porównaniu z osobami leczonymi placebo. Należy jednak zauważyć, że pacjenci uzależnieni od kokainy stanowią niejednorodną grupę i jest mało prawdopodobne, aby jeden lek był skuteczny u wszystkich osób uzależnionych od kokainy [19].

Próby modafinilu w leczeniu uzależnienia od kokainy dały niespójne wyniki; wszystkie badania obejmowały wyjątkowo małe próby. Nie można zalecić go w tym schorzeniu, dopóki nie staną się dostępne ostateczne dane. Jednak nie jest ono wykluwane i nadal potrzebne są obserwacje, które będą obejmowały większe grupy [7].

UZALEŻNIENIE ORAZ PERSPEKTYWA NA PRZYSZŁOŚĆ

Kliniczne spektrum działania modafinilu różni się od efektów obserwowanych w przypadku innych środków katecholaminergicznych. W porównaniu z innymi powszechnie stosowanymi lekami działającymi poprzez te mechanizmy ma on stosunkowo niski potencjał uzależniający. Lek ten od początku postrzegany jako „nowatorski” środek pobudzający czuwanie i nadal jest tak postrzegany, prawdopodobnie ze względu na swoje unikalne właściwości farmakologiczne i istotne kliniczne różnice w porównaniu z innymi środkami pobudzającymi [20].

Dane uzyskane od osób poddanych badaniu odróżniają modafinil od kokainy pod względem potencjału uzależniającego. Osoby używające kokainy nie zgłaszają większego odurzenia po ekspozycji na modafinil. Podają raczej, że osłabia on subiektywne działanie kokainy, gdy oba narkotyki są podawane jednocześnie [21].

Miary ogólnego zachowania lokomotorycznego są od dawna stosowane do pomiaru psychostymulującego działania kokainy, amfetaminy i innych środków wiążących transporter dopaminy (DAT). Porównano i skontrastowano wpływ modafinilu na aktywność lokomotoryczną z działaniem kokainy i amfetaminy, ale dane z różnych badań nie są spójne. Ostre jego podanie zwiększa aktywność lokomotoryczną u gryzoni, podobnie jak kokaina i amfetamina. Jednakże badania elektroencefalograficzne na szczurach wykazały, że nie zwiększał on intensywności aktywności lokomotorycznej (ilości aktywności lokomotorycznej na godzinę czuwania) w środowisku klatki domowej w porównaniu z grupą kontrolną z nośnikiem, w przeciwieństwie do D-metamfetaminy, która zwiększała ilość aktywności ruchowej na godzinę czuwania.

Niejasności w literaturze na temat nadużywania przyczyniają się do powstania koncepcji, że modafinil jest w jakiś sposób nowy i różni się od amfetaminy i kokainy. Niezależnie od faktu, że tak samo jak kokaina i amfetamina wchodzi w interakcję z DAT, jego farmakologia różni się od wspomnianych środków narkotycznych [20].

PODSUMOWANIE

Modafinil zyskuje na znaczeniu jako alternatywa dla tradycyjnych środków psychostymulujących, takich jak metylofenidat czy amfetamina, w leczeniu różnych zaburzeń, takich jak ADHD, depresja i uzależnienie od kokainy [8].

Badania wykazały, że skutecznie łagodzi objawy ADHD, poprawiając uwagę i niwelując impulsywność oraz nadpobudliwość zarówno u dzieci, jak i dorosłych [9, 11, 12, 13]. W leczeniu depresji może być stosowany jako terapia wspomagająca, szczególnie w przypadkach nadmiernej senności i zmęczenia, które nie ustępują po zastosowaniu standardowych leków przeciwdepresyjnych [15]. Dodatkowo wykazuje on potencjał w poprawie funkcji poznawczych u pacjentów z depresją w stanie remisji [17]. W kontekście uzależnienia od kokainy, badania przyniosły mieszane wyniki, ale niektóre z nich sugerują, że może on zmniejszać euforię wywołaną kokainą oraz częstotliwość jej zazywania [7, 19].

Co ważne, charakteryzuje się minimalną skłonnością do wywoływania efektów euforycznych, co odróżnia go od tradycyjnych psychostymulantów. Jest to związane z różnicami w jego interakcji z transporterem dopaminy na poziomie molekularnym. Dzięki temu modafinil jest uważany za stosunkowo bezpieczny lek o niskim potencjale uzależniającym [20, 21]. Chociaż wykazuje on obiecujące rezultaty w leczeniu różnych zaburzeń, konieczne są dalsze badania, aby w pełni zrozumieć jego mechanizm działania oraz potwierdzić jego skuteczność i bezpieczeństwo w dłuższej perspektywie.

REFERENCJE

- [1] Nazarova VA, Sokolov AV, Chubarev VN, Tarasov VV, Schiöth HB. Treatment of ADHD: Drugs, psychological therapies, devices, complementary and alternative methods as well as the trends in clinical trials. *Front Pharmacol.* 2022;13:1066988. doi:10.3389/fphar.2022.1066988
- [2] Cortese S, Adamo N, Del Giovane C, et al. Comparative efficacy and tolerability of medications for attention-deficit hyperactivity disorder in children, adolescents, and adults: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Psychiatry.* 2018;5(9):727-738. doi:10.1016/S2215-0366(18)30269-4
- [3] Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) Agents. In: *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury.* National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012. Accessed May 30, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK573973/>
- [4] Kim D. Practical Use and Risk of Modafinil, a Novel Waking Drug. *Environ Health Toxicol.* 2012;27. doi:10.5620/eh.2012.27.e2012007
- [5] Krinzing H, Hall CL, Groom MJ, et al. Neurological and psychiatric adverse effects of long-term methylphenidate treatment in ADHD: A map of the current evidence. *Neurosci Biobehav Rev.* 2019;107:945-968. doi:10.1016/j.neubiorev.2019.09.023

- [6] Makris AP, Rush CR, Frederich RC, Taylor AC, Kelly TH. Behavioral and subjective effects of D-amphetamine and modafinil in healthy adults. *Exp Clin Psychopharmacol.* 2007;15(2):123-133. doi:10.1037/1064-1297.15.2.123
- [7] Kumar R. Approved and Investigational Uses of Modafinil. *Drugs.* 2008;68(13):1803-1839. doi:10.2165/00003495-200868130-00003
- [8] Greenblatt K, Adams N. Modafinil. In: *StatPearls.* StatPearls Publishing; 2024. Accessed May 31, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531476/>
- [9] Biederman J, Swanson JM, Wigal SB, et al. Efficacy and Safety of Modafinil Film-Coated Tablets in Children and Adolescents With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Results of a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Flexible-Dose Study. *Pediatrics.* 2005;116(6):e777-e784. doi:10.1542/peds.2005-0617
- [10] Biederman J, Swanson JM, Wigal SB, et al. A Comparison of Once-Daily and Divided Doses of Modafinil in Children With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *J Clin Psychiatry.* 2006;67(5):3493.
- [11] Greenhill LL, Biederman J, Boellner SW, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of modafinil film-coated tablets in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2006;45(5):503-511. doi:10.1097/01.chi.0000205709.63571.c9
- [12] Swanson JM, Greenhill LL, Lopez FA, et al. Modafinil film-coated tablets in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, fixed-dose study followed by abrupt discontinuation. *J Clin Psychiatry.* 2006;67(1):137-147. doi:10.4088/jcp.v67n0120
- [13] MTA Cooperative Group. National Institute of Mental Health Multimodal Treatment Study of ADHD follow-up: 24-month outcomes of treatment strategies for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics.* 2004;113(4):754-761. doi:10.1542/peds.113.4.754

- [14] Ohrnberger J, Fichera E, Sutton M. The relationship between physical and mental health: A mediation analysis. *Soc Sci Med* 1982. 2017;195:42-49. doi:10.1016/j.socscimed.2017.11.008
- [15] Fava M, Thase ME, DeBattista C, Doghramji K, Arora S, Hughes RJ. Modafinil augmentation of selective serotonin reuptake inhibitor therapy in MDD partial responders with persistent fatigue and sleepiness. *Ann Clin Psychiatry Off J Am Acad Clin Psychiatr.* 2007;19(3):153-159. doi:10.1080/10401230701464858
- [16] Menza MA, Kaufman KR, Castellanos A. Modafinil augmentation of antidepressant treatment in depression. *J Clin Psychiatry.* 2000;61(5):378-381. doi:10.4088/jcp.v61n0510
- [17] Kaser M, Deakin JB, Michael A, et al. Modafinil Improves Episodic Memory and Working Memory Cognition in Patients With Remitted Depression: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Biol Psychiatry.* 2017;2(2):115-122. doi:10.1016/j.bpsc.2016.11.009
- [18] Sangroula D, Motiwala F, Wagle B, Shah VC, Hagi K, Lippmann S. Modafinil Treatment of Cocaine Dependence: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Subst Use Misuse.* 2017;52(10):1292-1306. doi:10.1080/10826084.2016.1276597
- [19] Kampman KM, Lynch KG, Pettinati HM, et al. A double blind, placebo controlled trial of modafinil for the treatment of cocaine dependence without co-morbid alcohol dependence. *Drug Alcohol Depend.* 2015;155:105-110. doi:10.1016/j.drugalcdep.2015.08.005
- [20] Wisor J. Modafinil as a Catecholaminergic Agent: Empirical Evidence and Unanswered Questions. *Front Neurol.* 2013;4. doi:10.3389/fneur.2013.00139
- [21] Rush CR, Kelly TH, Hays LR, Baker RW, Wooten AF. Acute behavioral and physiological effects of modafinil in drug abusers. *Behav Pharmacol.* 2002;13(2):105-115. doi:10.1097/00008877-200203000-00002

METODY LECZENIA BRUKSIZMU

Kamila Kuśpiel, Julia Pamulak

Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Dysfunkcji Narządu Żucia,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Abstrakt: Bruksizm to choroba/zaburzenie narządu żucia o nie do końca poznanej etiologii związane z zaciskaniem i zgrzytaniem zębami, którego objawem jest najczęściej ból i przerost mięśni narządu żucia, utrata powierzchni zębów, nadwrażliwość zębów i dziąseł czy zmiany w stawie skroniowo-żuchwowym. Czynnikiem ryzyka tej choroby jest głównie stres oraz zakłócenia w ilości neuroprzekaźników w ośrodkowym układzie nerwowym. Wyróżniamy dwa rodzaje bruksizmu: dzienny oraz nocny. Bruksizm nocny często wiąże się z gorszą jakością snu oraz pogorszeniem samopoczucia chorego. Bruksizm dzienny to nawyk w reakcji na sytuacje stresowe. Istnieje kilka metod leczenia bruksizmu. Najczęstszymi metodami terapii bruksizmu jest stosowanie szyn relaksacyjnych, farmakoterapia i fizjoterapia. Najbardziej skuteczną farmakologiczną metodą leczenia bruksizmu jest stosowanie iniekcji z kolagenu i toksyny botulinowej typu A. Pozytywne wyniki daje również zastosowanie u pacjentów terapii manualnej, lasera oraz stosowanie stymulacji nerwów za pomocą prądu. Łączenie kilku różnych metod leczenia bruksizmu daje lepszy efekt terapii niż stosowanie pojedynczej metody. Należy prowadzić więcej badań w temacie leczenia bruksizmu, gdyż badacze nie są do końca zgodni odnośnie skuteczności przedstawionych metod.

Słowa kluczowe: bruksizm, leczenie bruksizmu, toksyna botulinowa, szyny relaksacyjne, farmakoterapia, fizjoterapia

Abstract: Bruxism is a disease/disorder of the masticatory organ with an incompletely understood etiology associated with clenching and grinding of teeth, the symptom of which is usually pain and hypertrophy of the muscles of the masticatory organ, loss of tooth surface, hypersensitivity of teeth and gums or changes in the temporomandibular joint. Risk factors for this disease are mainly stress and disturbances in the amount of neurotransmitters in the central nervous system. There are two types of bruxism: diurnal and nocturnal. Nocturnal bruxism is often associated with poorer sleep quality and deterioration of the patient's mood. Daytime bruxism is a habit in response to stressful situations. There are several treatments for bruxism. The most common treatments for bruxism are the use of relaxation rails, pharmacotherapy and physiotherapy. The most effective pharmacological treatment for bruxism is the use of collagen and botulinum toxin type A injections. The use of manual therapy, laser therapy and the use of nerve stimulation with electricity in patients also yields positive results. Combining several different methods of treating bruxism gives a better treatment effect than using a single method. More research should be conducted on the topic of

bruxism treatment, as researchers do not fully agree on the effectiveness of the methods presented.

Key words: bruxism, bruxism treatment, botulinum toxin, occlusal splints, pharmacotherapy, physiotherapy

WPROWADZENIE

Bruksizm to choroba/zaburzenie narządu żucia znane w medycynie od wielu lat. Nazwa „bruksizm” pochodzi z języka greckiego od słowa „*brugmos*”, oznaczającego „miażdżenie zębów” [1]. Początki i pierwsze wzmianki na temat bruksizmu można znaleźć już w Biblii, gdzie głównym objawem był ból związany z zgrzytaniem zębami, a ludzie nazywali to zjawisko „pierwszą karą od Boga”. Definicja bruksizmu według Międzynarodowej Klasyfikacji Zaburzeń Snu z 2013 roku odnosi się do bruksizmu, jako „powtarzalnej działalności zuchwowo-mięśniowej charakteryzującej się zaciskaniem lub zgrzytaniem zębów i/lub usztywnieniem czy wysuwaniem żuchwy” [1,2].

Bruksizm jest zaburzeniem charakteryzującym się zaciskaniem lub zgrzytaniem zębów w wyniku skurczu mięśni żwaczowych : m.in mięśnia żwacza, mięśnia skroniowego i w mniejszym stopniu również innych mięśni biorących udział w przeżuwananiu. Konsekwencją tego może być przerost mięśni żucia, utrata powierzchni zębów, pęknięcie uzupełnień lub zębów, nadwrażliwość i ból zębów oraz utrata wsparcia przyzębia [3].

Etiologia bruksizmu nie jest jeszcze do końca poznana i jest wśród badaczy przedmiotem badań i sporów. Na przestrzeni lat poglądy na ten temat ulegały nieustannej zmianie. Najnowsze teorie zakładają ścisły związek bruksizmu nocnego z impulsacją pochodzącą z ośrodkowego układu nerwowego, która w trakcie snu wywołuje u pacjenta okresową, chwilową tachykardię, a następnie skurcz mięśni żwaczy oraz mięśni skroniowych [1]. Analizy wyników badań różnych autorów opisują podobną częstość występowania bruksizmu u obu płci [4].

Istnieje wiele metod klasyfikacji czynnego bruksizmu. Jedna z nich opiera się o współwystępowanie trzech z wymienionych objawów: okresowe bóle głowy, poranny ból głowy lub poranny dyskomfort; odczuwany ból w okolicy mięśni żwaczy i SSŻ w trakcie ruchu żuchwy; trzaski odwrotne w SSŻ lub/i ograniczenie ruchomości żuchwy; starcie zębów przednich i kłów-bruksizm nocny; ból palpacyjny mięśni żwaczowych [5].

W literaturze wymienia się dwie oddzielne odmiany okołodobowe bruksizmu: bruksizm nieświadomy (ekscentryczny, SB) występujący podczas snu pojawia się u $13\% \pm 3\%$ osób zdiagnozowanych, oraz bruksizm świadomy (centryczny, AB) występujący podczas stanu czuwania z częstotliwością 22% - 31% [1,2]. Bruksizm centryczny charakteryzuje się świadomym, bezdźwięcznym zaciskaniem zębów, bez zgrzytania. Często ma podłoże emocjonalne i wywołany jest stresem generującym nadmierne napięcie i aktywność mięśni. Jest to manifestacja organizmu, który poprzez nieprawidłowe czynności ruchowe próbuje uwolnić się od stresora. W bruksizmie ekscentrycznym jest przeciwnie. Cechuje się on głównie zgrzytaniem zębów, bez udziału świadomości i kontroli. Rodzaj ten najprawdopodobniej nie ma podłoża psychogenego, a konsekwencją mimowolnych ruchów żuchwy podczas snu jest patologiczna atrycja twardych tkanek zębów przednich [1].

LECZENIE BRUKSIZMU

Bruksizm jako jednostka chorobowa wymaga leczenia, zwłaszcza jest ono zalecane, gdy powoduje on liczne problemy zdrowotne [3]. Terapia ma na celu zmniejszenie napięcia mięśni żwaczowych przez co uzyskuje się zmniejszenie poziomu zakwaszenia mięśni i pośrednio ochronę twardych tkanek zęba przed złamaniem i starciem. Podstawową metodą leczenia bruksizmu jest stosowanie szyn zgrzyzowych w celu rozluźnienia mięśni i ochrony zębów przed dalszym uszkodzeniem. Fizjoterapia pomaga złagodzić napięcie mięśni narządu żucia, zmniejszyć ból i ograniczenia ruchu u pacjenta. Ćwiczenia relaksacyjne mogą złagodzić konsekwencje bruksizmu oraz poprawić jakość snu pacjenta. Stosowanie kolagenu i toksyny botulinowej zmniejsza subiektywne dolegliwości chorego. Istnieją również inne sposoby leczenia bruksizmu, takie jak metody behawioralne i leczenie farmakologiczne [3,6].

Toksyna botulinowa

Toksynę botulinową otrzymuje się obecnie poprzez wyekstrahowanie jej z bakterii gram-dodatnich beztlenowych *Clostridium botulinum* i wyróżnia się osiem jej typów. Najbardziej istotnym w leczeniu bruksizmu okazuje się być typ A (BTA) [7-10]. Już w połowie XX wieku wykazano, że wstrzyknięcie BTA do tkanki mięśniowej hamuje uwalnianie acetylocholinę w złączy nerwowo-mięśniowym i sprawia, że włókna nerwu ruchowego stają się niepobudliwe,

a w konsekwencji tego zjawiska dochodzi do zahamowania skurczu mięśnia [7-12]. Toksyna botulinowa stosowana jest zarówno w przypadku dysfunkcji narządu żucia, jaką jest bruksizm, jak również m.in. w medycynie estetycznej i kosmetyce w celu niwelowania zmarszczek [7,8,13]. Ponadto znajduje również zastosowanie w leczeniu różnych schorzeń neuropatycznych, tj. bólów neuropatycznych czy idiopatycznej neuralgii nerwu trójdzielnego, u osób z uśmiechami dziąsłowymi, u których podczas uśmiechu dochodzi do nadmiernego odsłonięcia tkanek dziąseł szczęk, a także w przypadku przewlekłych bólów głowy, czy nadmiernej potliwości [7,14-17].

Badacze wykazali, że zaangażowanie większej liczby miejsc podania leku lub większej liczby grup mięśni, i w konsekwencji wyższa dawka toksyny botulinowej przynosi lepsze oraz trwalsze efekty leczenia bruksizmu niż standardowa metoda leczenia, a długotrwałe stosowanie wstrzyknięć z toksyną botulinową znacznie zmniejszało aktywność mięśnia żwacza [7, 18-20]. W badaniach, w których porównywano efekty działania toksyny botulinowej w kontekście zmniejszenia bólu spowodowanego bruksizmem z efektami placebo wykazano wyższość działania toksyny botulinowej w grupie badanej nad grupą kontrolną [21-23]. Na przykładzie badań prowadzonych przez Fernández-Núñez i wsp. stwierdzono, że skuteczność leczenia za pomocą BTA była wyższa, niż jakiegokolwiek konwencjonalnej metody leczenia bruksizmu sennego, w znacznym stopniu minimalizując jego objawy [6,10]. Leczenie BTA pacjentów z bruksizmem obniża znacząco poziom bólu przez pierwsze miesiące po zastosowaniu leku oraz maksymalną generowaną siłę zgryzu, co istotnie wpływa na poprawę jakości życia pacjentów [24-26]. Dowiedziono również, że podawanie toksyny botulinowej w mięśnie żwacze oraz w mięśnie skroniowe pomaga w leczeniu pacjentów, u których występuje przewlekły ból towarzyszący zaburzeniom stawu skroniowo-żuchwowego [26]. Efekty terapeutyczne według niektórych badań pacjenci zaczynają odczuwać po około 3 tygodniach, a utrzymują się one około 12 tygodni, po tym czasie należy powtórzyć iniekcję [11,26,27].

Szyny relaksacyjne

Leczenie bruksizmu w gabinecie dentystycznym jest oparte na stosowaniu aparatów okluzyjnych używanych przez pacjenta w trakcie snu. Jest to metoda leczenia bruksizmu na uzębieniu stałym, w wyjątkowych sytuacjach (np. gdy wystąpi ból), stosowana przy uzębieniu mlecznym bądź mieszanym. Stosowanie szyn relaksacyjnych zmniejsza aktywność mięśni żucia i zapewnia duży komfort

pacjentom, poprzez zniesienie bólu głowy i okolic twarzy [28]. Mechanizm działania aparatów nie jest do końca wyjaśniony, ale dotychczasowe badania z wykorzystaniem nowoczesnych urządzeń pomiarowych wykazały, że szyna zgryzowa wpływa na położenie kłykcia w taki sposób, że zwiększa się pionowe przemieszczenie kłykcia pomiędzy maksymalnym zaguzkowaniem (MI) a relacją centralną (CR), natomiast poziome i poprzeczne przemieszczenia kłykcia wykazują znaczną zmienność. Liczne badania potwierdzają znaczący wpływ szyn relaksacyjnych na jakość życia pacjenta, częstość występowania bruksizmu i zmianę aktywności mięśni żucia [29].

Prawidłowość leczenia bruksizmu z zastosowaniem szyn relaksacyjnych jest tematem sporów wśród niektórych specjalistów. Uważa się, że aparaty okluzyjne są podstawową metodą leczenia zaburzeń skroniowo-żuchwowych (ang. *temporomandibular disorders* - TMD) czyli częstych, przewlekłych bólów mięśniowo-szkieletowych związanych również z dysfunkcją stawu skroniowo-żuchwowego. W leczeniu schorzeń ssz stosuje się szyny stabilizacyjne oraz szyny repozycyjne. Takie leczenie pozwala na zmniejszenie dolegliwości bólowych, zmianę pozycji szczęki i żuchwy, oraz poprawę samopoczucia [30]. Kuracja z zastosowaniem szyn zwarciowych relaksacyjnych zmniejsza objawy i powikłania bruksizmu.

W badaniu przeprowadzonym przez Takahashi i wsp. porównywali wpływ pomiędzy stosowaniem szyny relaksacyjnej i brakiem leczenia bruksizmu poprzez ocenę aktywności mięśnia żwacza (ang. *Masseter muscle activity* - MMA) na podstawie badania EMG, EEG oraz jakości snu, która została w badaniu oceniona poprzez zastosowanie japońskiej wersji formularza oceniającego stan i cechy lęku (ang. *State-trait anxiety inventory* – STAI JYZ). Formularz składał się z dwóch skal, oceniającej stan lęku (STAI Y-1) i cechy lęku (STAI Y-2). W badaniu wyodrębniono trzy grupy: osoby bez leczenia, osoby z więcej niż dwoma epizodami bruksizmu na godzinę (grupa wysoka) i osoby z mniej niż dwoma epizodami bruksizmu na godzinę (grupa niska). W grupie wysokiej liczba MMA zmniejszyła się znacząco w przypadku stosowania szyn okluzyjnych w porównaniu z wartością wyjściową, wykazując istotną statystycznie różnicę pomiędzy leczeniem pacjentów szynami a brakiem leczenia ($p < 0,01$). Nie zaobserwowano różnic w jakości snu pomiędzy osobami stosującymi szyny relaksacyjne a osobami bez leczenia, natomiast istotnie statystycznie zmniejszył się lęk po i przed snem w grupie badanej po analizie wypełnionych formularzy STAI Y-1 ($p < 0,05$) [31].

W badaniu przeprowadzonym przez Singh i wsp. wyniki pokazują, że zarówno stosowanie szyn relaksacyjnych jak i innych podniebiennych urządzeń zmniejsza MMA. W badaniu Dalewskiego i wsp. szyna relaksacyjna wykazała

zmniejszenie skurczów mięśni żwacza w porównaniu do grupy placebo z przezroczystymi nakładkami ortodontycznymi, ale w dłuższej perspektywie leczenia. W badaniach tych również nie wykazano wpływu urządzenia na jakość snu [32-34].

Farmakoterapia

Stosowanie odpowiednich doustnych substancji leczniczych jest szczególnie istotne u pacjentów chorujących na bruksizm. Wiele leków wpływa na aktywność mięśni żucia i dolegliwości związane z bruksizmem, co może zaostrzyć lub zmniejszyć objawy bruksizmu oraz polepszyć lub pogorszyć jakość snu u pacjenta czy jego samopoczucie. W leczeniu bruksizmu stosowane są różne grupy leków m.in.: leki przeciwdrgawkowe, leki blokujące receptory beta-adrenergiczne, leki przeciwłękowe, leki wpływające na przewodnictwo serotoninergiczne i dopaminergiczne, leki zwiotczające mięśnie oraz omówioną wcześniej toksynę botulinową [30].

Buspiron jest lekiem przeciwłękowym, który w licznych opisach przypadków wykazuje znaczącą poprawę w leczeniu bruksizmu wywołanego przez stosowanie leków przeciwdepresyjnych i innych leków wpływających na ośrodkowy układ nerwowy (OUN, m.in. fluoksetyny, atomoksetyny), jak i niespowodowanego lekami. Badania sugerują, że przyjmowanie 5-10 mg buspironu do 3 razy na dobę może być skuteczną opcją łagodzenia bruksizmu szczególnie u pacjentów, którzy mogą nie tolerować zmniejszania dawek leków lub zaprzestania leczenia lekami przeciwdepresyjnymi. Są to jednak badania krótkoterminowe, należy więc przeprowadzić podobne badania wśród pacjentów badając wpływ leku na bruksizm w dłuższym przedziale czasowym. Długotrwałe stosowanie tej substancji leczniczej może wywoływać sedację w ciągu dnia i przebudzenia nocne [35].

Przedstawicielem benzodiazepin, który istotnie wpływa na bruksizm u pacjentów poprzez swoje działanie przeciwdrgawkowe, przeciwłękowe i miorelaksacyjne jest klonazepam. W badaniach przeprowadzonych wśród grupy 21 osób w średnim wieku, cierpiących na bruksizm senny wykazano, że po przyjmowaniu 1 mg leku dziennie w porównaniu z placebo, klonazepam spowodował polisomnograficzne zmniejszenie bruksizmu podczas snu. W przypadku leczenia pacjentów benzodiazepinami należy pamiętać o ich dużym potencjale uzależniającego. Badacze udowodnili, że uzależnienie rozwija się u ponad połowy pacjentów stosujących benzodiazepiny dłużej niż jeden miesiąc. Leki te są stosunkowo bezpieczne w przypadku krótkotrwałej terapii trwającej od dwóch do

czterech tygodni. Inne działania niepożądane klonazepamu zgłaszane przez FDA to m.in: senność, ataksja, zawroty głowy, depresja [28,35].

W leczeniu bruksizmu sennego u dzieci dobrą skuteczność wykazuje hydroksyzyna. Przegląd systematyczny z oceną metaanaliz przeprowadzony przez Ierardo G i wsp. wykazał, że terapia hydroksyzyną jest najlepszą metodą leczenia objawów bruksizmu sennego w porównaniu do innych substancji takich jak stosowanie benzodiazepin, czy substancji zawierających wyciąg roślinny z melisy lekarskiej (łac. *Melissa Officinalis*), a oznaki choroby zmniejszyły się istotnie wśród grupy badanej w okresie czterech tygodni. Jednak pod względem jakości badanie to jest oceniane jako niskiej jakości [36-38].

Gabapentyna jest lekiem przeciwdrgawkowym, agonistą kwasu gamma-aminomasłowego (GABA). Istnieje szereg badań wskazujących na pozytywny wpływ tego leku u osób cierpiących na bruksizm. W opisie przypadku 43 letniej kobiety chorej na depresję i skarżącej się na objawy bruksizmu dochodzi do znaczącej poprawy po włączeniu do farmakoterapii gabapentyny w dawce 150-300mg/dobę. Po pięciu dniach stosowania leku objawy bruksizmu ustępowały i nie pojawiły się przez następny rok [39]. Inny eksperyment opisuje statystycznie istotną redukcję objawów bruksizmu sennego niezwiązanego z przyjmowaniem leków wśród dziecięcioosobowej grupy badanej po zastosowaniu terapii gabapentyną. Terapia tym lekiem jest obciążona ryzykiem wystąpienia u pacjenta ataksji, zawrotów głowy, senności, zmęczenia, nudności, drżenia mięśni czy wymiotów [40].

Neuroleptyki to kolejne leki które mogą przynieść ulgę pacjentom z bruksizmem. Opisano przypadek leczenia bruksizmu sennego u pacjentów z depresją kwetiapiną, substancją stosowaną w leczeniu schizofrenii, depresji czy choroby afektywnej dwubiegunowej. Pacjenci stosowali lek z grupy inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) co mogło nasilić objawy bruksizmu. Badanym podano kwetiapinę w dawce 25-50 mg/dobę co wystarczyło do wycofania objawów bruksizmu w ciągu kilku dni. Substancja ta wykazuje dużo działań niepożądanych ze strony OUN, a także zaparcia, wymioty, przyrost masy ciała i zwiększony apetyt [35].

Istnieją doniesienia o innych lekach wpływających pozytywnie na farmakoterapię bruksizmu m.in. propranololu, trazodonu, klonidyny czy lewodopy. W przypadku lewodopy wyniki nie są do końca jasne i nie można jednoznacznie stwierdzić, że stosowanie tej substancji z grupy leków wpływających na przewodnictwo dopaminergiczne zmniejsza objawy bruksizmu. Należy przeprowadzić więcej badań w tym kierunku.

Propranolol to lek z grupy antagonistów receptorów beta-adrenolitycznych stosowany w leczeniu chorób serca takich jak np. arytmia, nadciśnieniu tętniczym czy w profilaktyce migreny. Badanie przeprowadzone przez Huyhn N i wsp. stwierdziło brak zmian polisomnograficznych wyników u pacjentów zażywających propranolol chorujących na bruksizm. Inne badanie wykazało, zmniejszenie aktywności mięśni żwaczy w zapisie EMG u pacjenta z bruksizmem po zaordynowaniu propranololu [39,41].

Opis przypadku 34 letniego mężczyzny z chorobą afektywną dwubiegunową leczonego karbamazepiną, klonazepanem i escitalopramem wykazał, że pacjent z objawami bruksizmu sennego wskazał znaczną poprawę po zastosowaniu trazodonu w dawce 200 mg/dobę. Trazodon podawany był stopniowo przed snem, a po pewnym czasie mężczyzna zgłosił wyraźne osłabienie bruksizmu sennego [42].

Fizjoterapia

Przyczyna bruksizmu jest ściśle związana z nadmiernymi skurczami mięśni żucia, dlatego może być również skutecznie leczona za pomocą fizjoterapii, której celem jest rozluźnienie, czyli zmniejszenie napięcia mięśni układu ruchu i narządu żucia oraz zmniejszenie dolegliwości bólowych. Do metod leczenia bruksizmu za pomocą fizjoterapii zaliczamy: masaże, terapię manualną, terapię świadomości mięśniowej, elektroterapię, laser, akupunkturę czy terapię światłem [43,44]. Masaż mięśni żucia poprawia ich ukrwienie i zmniejsza ból, dodatkowo obniża napięcie mięśniowe, które stanowi istotny problem kliniczny u osób cierpiących na bruksizm [43,45].

Wyróżniamy dwie metody elektroterapii wykorzystywane w leczeniu bruksizmu: przeskórną elektryczną stymulację nerwów oraz mikroprądową elektryczną stymulację nerwów. W badaniu przeprowadzonym przez Rajpurohit i wsp. po zastosowaniu mikroprądowej elektrycznej stymulacji nerwów uzyskano zmniejszenie bólu mięśni żucia mierzonego w wizualnej skali analogowej oraz zmniejszenie tkliwości mięśni. Metoda ta, wykazała się lepszą skutecznością niż przeskórną elektryczną stymulację nerwów dla której wyniki nie były tak istotne klinicznie. Dodatkowym atutem wynikającym z zastosowania mikroprądowej elektrycznej stymulacji nerwów jest pobudzanie funkcji naprawczej w tkance mięśniowej [46].

Zastosowanie w leczeniu świadomego treningu relaksacji mięśniowej przez wielu badaczy jest uznane za skuteczną metodę radzenia sobie z bruksizmem

natomiast wymaga jeszcze wielu badań, standaryzacji i opracowanie dokładnej instrukcji ćwiczeń, tak, aby można było uzyskać jak najlepszą skuteczność metody i powtarzalność efektów. Terapia ta polega na naprzemiennym napinaniu i rozluźnianiu mięśni oraz na odpowiedniej kontroli oddychania z wykorzystaniem techniki oddychania poprzez przeponę [43,44]. Wykazano, że ćwiczenia rozluźniające stosowane w przypadkach ograniczonej zdolności ruchowej mogą łagodzić ból przez poprawę przepływu krwi i zmniejszenie napięcia mięśniowego [43,47].

Inną metodą leczenia bruksizmu jest wykorzystanie zimnej wiązki światła lasera (laser niskiego poziomu), którą stosuje się na punkty spustowe nerwu trójdzielnego, co w konsekwencji powoduje wydzielanie mediatorów rozszerzających naczynia krwionośne. Efektem działania tej metody jest zmniejszenie bólu u chorego, a sam efekt przeciwbólowy utrzymuje się przez dłuższy czas po zastosowaniu lasera [48,49].

PODSUMOWANIE

Bruksizm jest schorzeniem wymagającym leczenia jedynie w przypadku indukcji poważnych negatywnych skutków zdrowotnych takich jak: silne starcie zębów, ból głowy, problemy z narządem żucia, zmniejszenie jakości snu, przewlekły ból mięśni żucia i/lub stawu skroniowo-żuchwowego o dużym nasileniu utrudniający choremu prawidłowe funkcjonowanie. W leczeniu bruksizmu najczęściej stosuje się szyny relaksacyjne lub/i leczenie farmakologiczne w postaci iniekcji toksyny botulinowej typu A oraz kolagenu.

Niektóre dostępne artykuły dotyczące leczenia bruksizmu za pomocą toksyny botulinowej dowodzą, że otrzymane badania są niejednoznaczne i nie wykazują wystarczających dowodów na to, że bruksizm można skutecznie leczyć zastrzykami BTA. Jednakże istnieje kilka badań przedstawiających obiecujące wyniki uzyskane w poszczególnych eksperymentach u osób cierpiących na bruksizm, dlatego konieczne są dalsze badania w tym obszarze [9,10,24]. Literatura dowodzi, że zastrzyki z toksyny botulinowej typu A są skuteczne w leczeniu objawów bruksizmu pierwotnego u dorosłych i można je z powodzeniem stosować u tych pacjentów [11,19,50]. Faktem jest, iż nadal potrzebne są randomizowane badania kliniczne w celu ustalenia protokołu stosowania toksyny botulinowej i oceny jej skuteczności. Leczenie toksyną botulinową nie wykazało krótkoterminowej skuteczności, dlatego zalecane są prospektywne badania o dłuższym czasie trwania [10].

Należy zwrócić również uwagę na to, iż niektóre z badań skupiają się na porównaniu leczenia toksyną botulinową i szynami relaksacyjnymi. Yurttutan ME i wsp. wykazali, że u pacjentów leczonych toksyną botulinową uzyskano lepszą odpowiedź, niż u pacjentów leczonych za pomocą szyn relaksacyjnych [11,51]. Według analizy Bayesa, BTX spowodowała większą ulgę w bólu niż stosowanie aparatów okluzyjnych [24].

Stosowanie hydroksyzyny istotnie wpływa na poprawę objawów bruksizmu sennego u dzieci co ma wpływ ze zmniejszaniem lęku u tych pacjentów i poprawą jakości snu. Lekami zalecanym dla chorych na depresje u których rozwinął się bruksizm senny związany z przyjmowaniem leków przeciwdepresyjnych mogą być: buspiron, gabapentyna czy kwetiapina. Nie ma wystarczających dowodów, aby jednoznacznie stwierdzić które substancje lecznicze są skuteczne w redukcji objawów bruksizmu, gdyż większość przypadków opisanych w literaturze to głównie przypadki anegdotyczne. Należy przeprowadzić więcej badań w tym kierunku, na większych grupach badawczych, aby jednoznacznie stwierdzić które leki wyciszają bruksizm. Porównanie wszystkich wymienionych substancji leczniczych i siła ich działania na objawy oraz typ bruksizmu zestawiono w tabeli nr 1 [35].

Tab.1. Lista leków o silnym, umiarkowanym i słabym wpływie na leczenie objawów bruksizmu nocnego i/lub dziennego [35]

Substancja lecznicza	Typ bruksizmu	Silny	Umiarkowany	Słaby
Toksyna botulinowa typu A	Nocny i dzienny	+		
Buspiron	Nocny i dzienny	+		
Klonazepam	Nocny		+	
Kwetiapina	Nie określono		+	
Trazodon	Nocny			+
Hydroksyzyna	Nocny	+		
Lewodopa	Nocny			+
Propranolol	Nocny			+
Gabapentyna	Nocny	+		

Fizjoterapia jest bardzo ważnym ogniwem w leczeniu bruksizmu gdyż zmniejsza zarówno przyczynę bruksizmu, którym jest wzmożone napięcie mięśni narządu żucia, jak również jego objawy, czyli ból oraz zaciskanie zębów. Fizjoterapia jest przez badaczy uznana metodą leczenia bruksizmu, a także terapią z wyboru leczenia bruksizmu sennego u dzieci [50]. Badacze wykazali również,

iz zastosowanie elektroterapii w połączeniu z lekami przeciwbólowymi i miorelaksacyjnymi przynosi lepsze efekty w zmniejszaniu bólu, niż zastosowanie tylko metody leczenia farmakologicznego [43].

Pomimo tak wielu dostępnych metod leczenia bruksizmu, naukowcy nie są zgodni co do wyboru najlepszej metody terapii tego schorzenia, a patomechanizm bruksizmu dalej nie jest do końca poznany. Choroba ta dotyka coraz większą liczbę ludzi co negatywnie wpływa na jakość życia chorych, zmniejsza ich samopoczucie i może przyczynić się do rozwoju zagrażających zdrowiu powikłań. Należy przeprowadzić większą ilość badań na temat leczenia bruksizmu, uwzględniając liczniejsze grupy badawcze, gdyż aktualne wyniki są często niejasne lub opierają się na subiektywnych odczuciach pacjentów. Bruksizm powinien być brany pod uwagę podczas diagnostyki bólu głowy.

REFERENCJE

- [1] Rusin B., Wójcik A., Pakaszewski W., Ziomko B., Smulewicz K., Bruxism—contemporary knowledge about the disorder and therapeutic possibilities, *Journal of Education, Health and Sport*, 2022; 12(12):131-135.
- [2] Saczuk K., Wilmont P., Pawlak Ł., Łukomska-Szymańska M, Bruxism: Aetiology and diagnostics. A literature review, *Prosthodontics*, 2018; 68, 456-463.
- [3] Beddis H., Pemberton M., Davies S, Sleep bruxism: an overview for clinicians, *Br Dent J*. 2018; 225(6):497-501.
- [4] Dąbrowska-Gontarczyk A., Syczewska M., Jelonek E., Graff K., Zadzurska M., Kalinowska M., Ewa Szczerbik E., Olczak-Kowalczyk D., Epidemiology and aetiology of bruxism in children and adolescents. A review of literature, *Department of Pediatric Dentistry*, 2015; 68, 5: 539-558
- [5] Baron S.: Bruksizm i jego powikłania, PZWL,2023
- [6] Fernández-Núñez T., Amghar-Maach S., Gay-Escoda C, Efficacy of botulinum toxin in the treatment of bruxism: Systematic review, *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2019; 24(4): e416-e424.

- [7] Malcangi, G.; Patano, A.; Pezzolla, C.; Riccaldo, L.; Mancini, A.; Di Pede, C.; Inchingolo, A.D.; Inchingolo, F.; Bordea, I.R.; Dipalma, G.; et al. Bruxism and Botulinum Injection: Challenges and Insights. *J. Clin. Med.* 2023, 12, 4586. <https://doi.org/10.3390/jcm12144586>
- [8] Delcanho R, Val M, Guarda Nardini L, Manfredini D. Botulinum Toxin for Treating Temporomandibular Disorders: What is the Evidence? *J Oral Facial Pain Headache.* 2022 Winter;36(1):6-20. doi: 10.11607/ofph.3023. PMID: 35298571; PMCID: PMC10586579.
- [9] Ågren M, Sahin C, Pettersson M. The effect of botulinum toxin injections on bruxism: A systematic review. *J Oral Rehabil.* 2020 Mar;47(3):395-402. doi: 10.1111/joor.12914. Epub 2019 Dec 15. PMID: 31769044.
- [10] Cerón L, Pacheco M, Delgado Gaete A, Bravo Torres W, Astudillo Rubio D. Therapies for sleep bruxism in dentistry: A critical evaluation of systematic reviews. *Dent Med Probl.* 2023 Apr-Jun;60(2):335-344. doi: 10.17219/dmp/156400. PMID: 36441158.
- [11] Yurttutan ME, Tütüncüler Sancak K, Tüzüner AM. Which Treatment Is Effective for Bruxism: Occlusal Splints or Botulinum Toxin? *J Oral Maxillofac Surg.* 2019 Dec;77(12):2431-2438. doi: 10.1016/j.joms.2019.06.005. Epub 2019 Jun 19. PMID: 31302066.
- [12] Ali SM, Alqutaibi AY, Aboalrejal A, Elawady DM. Botulinum toxin and occlusal splints for the management of sleep bruxism in individuals with implant overdentures: A randomized controlled trial. *Saudi Dent J.* 2021 Dec;33(8):1004-1011. doi: 10.1016/j.sdentj.2021.07.001. Epub 2021 Jul 10. PMID: 34938043; PMCID: PMC8665162.
- [13] Serrera-Figallo MA, Ruiz-de-León-Hernández G, Torres-Lagares D, Castro-Araya A, Torres-Ferreros O, Hernández-Pacheco E, Gutierrez-Perez JL. Use of Botulinum Toxin in Orofacial Clinical Practice. *Toxins (Basel).* 2020 Feb 11;12(2):112. doi: 10.3390/toxins12020112. PMID: 32053883; PMCID: PMC7076767.
- [14] Park J, Park HJ. Botulinum Toxin for the Treatment of Neuropathic Pain. *Toxins (Basel).* 2017 Aug 24;9(9):260. doi: 10.3390/toxins9090260. PMID: 28837075; PMCID: PMC5618193.

- [15] Spagna A, Attal N. Botulinum toxin A and neuropathic pain: An update. *Toxicon*. 2023 Aug 15; 232: 107208. doi: 10.1016/j.toxicon.2023.107208. Epub 2023 Jun 27. PMID: 37385479.
- [16] Nawrocki, S.; Cha, J. The Etiology, Diagnosis, and Management of Hyperhidrosis: A Comprehensive Review: Therapeutic Options. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2019, 81, 669–680. [Google Scholar] [CrossRef]
- [17] Nawrocki, S.; Cha, J. Toksyna botulinowa: farmakologia i podawanie do wstrzykiwań w leczeniu pierwotnej nadmiernej potliwości. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2020, 82, 969–979. [Google Scholar] [CrossRef]
- [18] Shim, Y.J.; Lee, H.J.; Park, K.J.; Kim, H.T.; Hong, I.H.; Kim, S.T. Botulinum Toxin Therapy for Managing Sleep Bruxism: A Randomized and Placebo-Controlled Trial. *Toxins* 2020, 12, 168. [Google Scholar] [CrossRef] [Green Version]
- [19] Shehri, Z.G.; Alkhouri, I.; Hajeer, M.Y.; Haddad, I.; Abu Hawa, M.H. Evaluation of the Efficacy of Low-Dose Botulinum Toxin Injection into the Masseter Muscle for the Treatment of Nocturnal Bruxism: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Cureus* 2022, 14, e32180. [Google Scholar] [CrossRef]
- [20] Altaweel AA, Elsayed SA, Baiomy AABA, Abdelsadek SE, Hyder AA. Zewnętrzny i wewnętrzny zastrzyk toksyny botulinowej typu A do leczenia przemieszczenia krążka stawu skroniowo-żuchwowego z redukcją. *J Craniofac Surg.* 2019; 30 :2149–2153.
- [21] Patel AA, Lerner MZ, Blitzer A. IncobotulinumtoxinA zastrzyk na schorzenie stawu skroniowo-żuchwowego. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2017; 126 :328–333.
- [22] Kütük SG, Özkan Y, Kütük M, Özdaş T. Porównanie skuteczności metody suchego igłowania i botoksu w leczeniu zespołu bólowego mięśniowo-powięziowego stawu skroniowo-żuchwowego. *J Craniofac Surg.* 2019; 30 :1556–1559.
- [23] De la Torre Canales G, Alvarez-Pinzon N, Muñoz-Lora VRM i in. Skuteczność i bezpieczeństwo toksyny botulinowej typu A w leczeniu uporczywego bólu mięśniowo-powięziowego: randomizowane badanie kliniczne. *Toksyny (Bazylea)* 2020; 12 :395.

- [24] Zhang AB, Zhang JY, Zhou X, Sun LS, Li TJ. Can botulinum toxin injection alleviate the pain of bruxism? A Bayesian network analysis and a single-arm analysis. *J Dent Sci.* 2024 Apr;19(2):885-893. doi: 10.1016/j.jds.2023.08.001. Epub 2023 Aug 22. PMID: 38618107; PMCID: PMC11010618.
- [25] KULIGA K, DOBKO K, FRĄCZ G, GLAC A, MUSZ K, SEJNOWSKA N, SOCHA A, SUROWIEC A, ŚNIEŻEK K, ZAJĄC A. Botulinum toxin type A in treatment of chronic migraine, spasticity and bruxism. *Journal of Education, Health and Sport.* 2023;34(1):61-74. eISSN 2391-8306.
- [26] MILANOWSKA M, DUDZIŃSKA P, GRUDZIŃSKA A, JAROSZ D, TSITKO H. Application of botulinum toxin in the treatment of bruxism. *Journal of Education, Health and Sport.* 2022 ;12(12):291-295. eISSN2391-8306.
- [27] Kwon KH, Shin KS, Yeon SH, Kwon DG. Application of botulinum toxin in maxillofacial field: part I. Bruxism and square jaw. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2019 Oct 1;41(1):38. doi: 10.1186/s40902-019-0218-0. PMID: 31649901; PMCID: PMC6768934.
- [28] Sendra LA, Montez C, Vianna KC, Barboza EP. Clinical outcomes of botulinum toxin type A injections in the management of primary bruxism in adults: A systematic review. *J Prosthet Dent.* 2021 Jul;126(1):33-40. doi: 10.1016/j.prosdent.2020.06.002. Epub 2020 Jul 19. PMID: 32698998.
- [29] Škaričić J, Čimić S, Kraljević-Šimunković S, Vuletić M, Dulčić N. Influence of Occlusal Splint on Mandibular Movements in Patients with Bruxism: A Comparative Pilot Study. *Acta Stomatol Croat.* 2020 Sep;54(3):322-332. doi: 10.15644/asc54/3/10.
- [30] Zhang L, Xu L, Wu D, Yu C, Fan S, Cai B. Effectiveness of exercise therapy versus occlusal splint therapy for the treatment of painful temporomandibular disorders: a systematic review and meta-analysis. *Ann Palliat Med.* 2021 Jun;10(6):6122-6132. doi: 10.21037/apm-21-451. Epub 2021 May 10. PMID: 33977737.

- [31] Takahashi H, Masaki C, Makino M, Yoshida M, Mukaibo T, Kondo Y, Nakamoto T, Hosokawa R. Management of sleep-time masticatory muscle activity using stabilisation splints affects psychological stress. *J Oral Rehabil.* 2013 Dec;40(12):892-9. doi: 10.1111/joor.12110.
- [32] Hardy RS, Bonsor SJ. The efficacy of occlusal splints in the treatment of bruxism: A systematic review. *J Dent.* 2021 May; 108: 103621. doi: 10.1016/j.jdent.2021.103621.
- [33] Singh PK, Alvi HA, Singh BP, Singh RD, Kant S, Jurel S, Singh K, Arya D, Dubey A. Evaluation of various treatment modalities in sleep bruxism. *J Prosthet Dent.* 2015 Sep;114(3):426-31. doi: 10.1016/j.prosdent.2015.02.025. Epub 2015 May 21. PMID: 26004173.
- [34] Dalewski B, Chruściel-Nogalska M, Frączak B. Occlusal splint versus modified nociceptive trigeminal inhibition splint in bruxism therapy: a randomized, controlled trial using surface electromyography. *Aust Dent J.* 2015 Dec;60(4):445-54. doi: 10.1111/adj.12259. PMID: 25439631.
- [35] de Baat C, Verhoeff MC, Ahlberg J, Manfredini D, Winocur E, Zweers P, Rozema F, Vissink A, Lobbezoo F. Medications and addictive substances potentially inducing or attenuating sleep bruxism and/or awake bruxism. *J Oral Rehabil.* 2021 Mar;48(3):343-354. doi: 10.1111/joor.13061.
- [36] Ierardo G, Mazur M, Luzzi V, Calcagnile F, Ottolenghi L, Polimeni A. Treatments of sleep bruxism in children: A systematic review and meta-analysis. *Cranio.* 2021 Jan;39(1):58-64. doi: 10.1080/08869634.2019.1581470.
- [37] Ghanizadeh A. Treatment of bruxism with hydroxyzine. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013 Mar;17(6):839-41. PMID: 23609369.
- [38] Ghanizadeh A, Zare S. A preliminary randomised double-blind placebo-controlled clinical trial of hydroxyzine for treating sleep bruxism in children. *J Oral Rehabil.* 2013; 48: 413-417.
- [39] Huyhn N, Lavigne GJ, Lanfranchi PA, et al. The effect of 2 sympathetic medications – propranolol and clonidine – on sleep bruxism: experimental randomized controlled studies. *Sleep.* 2006; 29: 307-316.

- [40] Madani AS, Abdollahian E, Khiavi HA, et al. The efficacy of gabapentin versus stabilization splint in management of sleep bruxism. *J Prosthodont.* 2013; 22: 126-131
- [41] Sjöholm TT, Lehtinen I, Piha SJ. The effect of propranolol on sleep bruxism: hypothetical considerations based on a case study. *Clin Auton Res.* 1996 ;6: 37-40.
- [42] Grinshpoon A, Weizman A, Amrami-Weizman A. The beneficial effect of trazodone treatment on escitalopram-associated nocturnal bruxism. *J Clin Psychopharmacol.* 2014 Oct;34(5):662. doi: 10.1097/JCP.000000000000178. PMID: 24987798.
- [43] Wilmont P, Saczuk K, Pawlak Ł, Łukomska-Szymańska M. The most commonly used methods of treatment for bruxism – a literature review. *Journal of Stomatology.* 2018;71(4):350-355. doi:10.5114/jos.2018.83409.
- [44] Amorim CSM, Firsoff EFO, Vieira GF, et al. Effectiveness of two physical therapy interventions, relative to dental treatment in individuals with bruxism: study protocol of a randomized clinical trial. *Trials* 2014; 15: 8.
- [45] Gomes CAF de P, El-Hage Y, Amaral AP, et al. Effects of massage therapy and occlusal splint usage on quality of life and pain in individuals with sleep bruxism: a randomized controlled trial. *J Jpn Phys Ther Assoc* 2015; 18: 1-6.
- [46] Rajpurohit B, Khatri SM, Metgud D, Bagewadi A. Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation and microcurrent electrical nerve stimulation in bruxism associated with masticatory muscle pain – a comparative study. *Indian J Dent Res* 2010; 21: 104-106.
- [47] Fjellström M, Jakob M, Söder B. A modified cognitive behavioural model as a method to improve adherence to oral hygiene instructions – a pilot study. *Int J Dent Hyg* 2010; 8: 178-182.
- [48] Ahmed SY, Ghany AMM and Kilani SN. Low Level LASER Therapy, BOTAX, and Hard occlusal splints in Treatment of Muscle Pain of Bruxism using Electromyogram, 2020.

- [49] Savla K, Vardhan V, & Aage D. Physiotherapy in Bruxism: A Scoping Review. *International Journal of Health Sciences and Research*. 2021, 11. 115-125. 10.52403/ijhsr.20210616.
- [50] Bulanda S, Ilczuk-Rypuła D, Nitecka-Buchta A, Nowak Z, Baron S, Postek-Stefańska L. Sleep Bruxism in Children: Etiology, Diagnosis, and Treatment-A Literature Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Sep 10;18(18):9544. doi: 10.3390/ijerph18189544.
- [51] Yurttutan ME, Tütüncüler Sancak K, Tüzüner AM. Which Treatment Is Effective for Bruxism: Occlusal Splints or Botulinum Toxin? *J Oral Maxillofac Surg*. 2019Dec; 77(12): 2431-2438. doi: 10.1016/j.joms.2019.06.005. Epub 2019 Jun 19. PMID: 31302066.

PODWÓJNA SEKWENCYJNA DEFIBRYLACJA (DSED) – INNOWACJA W LECZENIU OPORNEGO NA DEFIBRYLACJĘ MIGOTANIA KOMÓR

Łukasz Czogalik^{1,2}, Martyna Żurek², Zofia Graca²,
Aleksandra Skowronek², Jakub Kołodziej²

1. Studenckie Koło Naukowe Analiz Informatycznych i Sztucznej Inteligencji przy Zakładzie Radiologii i Medycyny Nuklearnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Nagłe zatrzymanie krążenia (NZK) jest ważnym obszarem w dziedzinie medycyny, który wymaga ciągłego rozwoju nowych technologii w celu poprawy skuteczności terapii pacjentów. W tym kontekście, defibrylacja, zwłaszcza podwójna sekwencyjna defibrylacja (DSED), stała się przedmiotem intensywnych badań. Celem tego rozdziału jest przybliżenie mechanizmów i korzyści związanych z zastosowaniem DSED, jak również zarysowanie horyzontów rozwoju tej metody, uwzględniając najnowsze badania oraz analizując ich wyniki. DSED, polegająca na dostarczeniu dwóch synchronizowanych impulsów elektrycznych w celu przywrócenia prawidłowego rytmu serca, ma potencjał poprawy skuteczności defibrylacji w przypadkach trudnych arytmii, takich jak migotanie komór odporne na standardowe metody. Analiza badań klinicznych, w tym DOSE VF, sugeruje, że DSED może zwiększyć przeżycie pacjentów w porównaniu ze standardową defibrylacją. Ponadto omówiono również inne strategie defibrylacji, takie jak defibrylacja wektorowo-zmienna (VC), podkreślając ich rolę jako alternatywnych metod w przypadku niepowodzenia standardowej defibrylacji. Niezależnie od obiecujących wyników, stosowanie DSED pozostaje obecnie przedmiotem badań klinicznych, a jego rutynowe zastosowanie wymaga dalszych badań w celu potwierdzenia skuteczności i bezpieczeństwa. W kontekście praktyki klinicznej stosowanie zaawansowanych technik defibrylacji, takich jak DSED, może przyczynić się do poprawy wyników terapeutycznych w przypadkach NZK. Jednakże ich stosowanie powinno być oparte na aktualnych wytycznych i wynikach badań klinicznych, a dalsze badania są niezbędne dla pełnego zrozumienia ich skuteczności i wpływu na przeżycie pacjentów.

Słowa kluczowe: podwójna sekwencyjna defibrylacja, ALS, migotanie komór, nagłe zatrzymanie krążenia, arytmie

Abstract: Sudden cardiac arrest (SCA) is an important area in the medical field that requires continuous development of new technologies to improve the effectiveness of patient treatment. In this context, defibrillation, especially dual sequential defibrillation (DSED), has become the subject of intense research. The purpose of this chapter is to provide an overview of the mechanisms and benefits of DSED, as well as outline the horizons for the development of this method, taking into account the latest research and analyzing its results. DSED, which involves the delivery of two synchronized electrical impulses to restore normal heart rhythm, has the potential to improve the effectiveness of defibrillation in cases of difficult arrhythmias, such as ventricular fibrillation refractory to standard methods. Analysis of clinical trials, including DOSE VF, suggests that DSED can increase patient survival compared to standard defibrillation. In addition, other defibrillation strategies, such as vector-variant (VC) defibrillation, are also discussed, highlighting their role as alternatives when standard defibrillation fails. Notwithstanding the promising results, the use of DSEDs currently remains under clinical investigation, and their routine use requires further research to confirm efficacy and safety. In the context of clinical practice, the use of advanced defibrillation techniques, such as DSED, may improve therapeutic outcomes in SCA cases. However, their use should be based on current guidelines and clinical trial results, and further research is needed to fully understand their efficacy and impact on patient survival.

Keywords: dual sequential external defibrillation, ALS, ventricular fibrillation, sudden cardiac arrest, arrhythmias

WPROWADZENIE

Nagłe zatrzymanie krążenia to stan, w którym dochodzi do nagłego ustania lub znaczącego upośledzenia mechanicznej czynności serca, co manifestuje się brakiem reakcji na bodźce, brakiem wyczuwalnego tętna na dużych tętnicach oraz bezdechem lub agonalnym oddechem. Jest to stan bezpośredniego zagrożenia życia, który wymaga natychmiastowej interwencji medycznej.

NZK może być klasyfikowane jako pierwotne lub wtórne. NZK pierwotne jest zazwyczaj związane z chorobami serca, takimi jak ostry zespół wieńcowy, różne formy kardiomiopatii, genetycznie uwarunkowane arytmogenne choroby serca, czy strukturalne wady serca. Mechanizmy prowadzące do NZK obejmują migotanie komór, częstoskurcz komorowy bez tętna, asystolię oraz czynność elektryczną bez tętna. NZK wtórne natomiast wynika z przyczyn pozasercowych, takich jak zatrzymanie oddechu, uraz wielonarządowy, czy wykrwawienie.

Rozpoznanie zatrzymania krążenia obejmuje kilka kluczowych kroków: sprawdzenie przytomności pacjenta, udrożnienie dróg oddechowych, ocenę oddechu oraz tętna. W przypadku braku oznak życia, natychmiast rozpoczyna się resuscytację krążeniowo-oddechową [1,2].

Według doniesień europejskich i amerykańskich, częstość wewnątrzszpitalnych NZK, w których podejmowane są czynności resuscytacyjne, wynosi od

0,1% do 0,5% wszystkich hospitalizacji. W Polsce wskaźnik ten jest zbliżony i wynosi 0,29%. Śmiertelność pacjentów po wewnątrzszpitalnym NZK jest bardzo wysoka, wynosząc według źródeł amerykańskich 77,7%, brytyjskich 81,6%, a szwedzkich 70%. Dane z polskich badań wskazują na śmiertelność rzędu 74%, co jest zgodne z wartościami obserwowanymi w innych krajach. U osób powyżej 65. roku życia, w okresie od 1992 do 2005 roku, śmiertelność po wewnątrzszpitalnym NZK utrzymywała się na poziomie około 80%. Ponadto, badania wykazały, że NZK występuje więcej niż jednokrotnie podczas tej samej hospitalizacji u 8% pacjentów, a w niniejszej pracy odnotowano ten wskaźnik na poziomie 10% [3–5].

NZK pozostaje więc wyzwaniem klinicznym o bardzo wysokiej śmiertelności, co wymaga dalszych badań oraz optymalizacji procedur resuscytacyjnych.

Zaawansowane zabiegi resuscytacyjne obejmują bardziej złożone interwencje, takie jak intubacja dotchawicza, podawanie leków oraz defibrylacja. Defibrylacja odgrywa kluczową rolę w leczeniu NZK spowodowanego arytmiami, które mogą być korygowane za pomocą wstrząsu elektrycznego. Defibrylacja polega na przyłożeniu łyżek defibrylatora lub elektrod do klatki piersiowej pacjenta i dostarczeniu kontrolowanego impulsu elektrycznego, który ma na celu przerwanie chaotycznej aktywności elektrycznej serca i przywrócenie prawidłowego rytmu serca.

Proces defibrylacji obejmuje kilka etapów: nałożenie żelu lub specjalnych podkładek w miejscach przyłożenia łyżek, właściwe ustawienie energii wyładowania (zwykle 150-200 J dla defibrylatorów dwufazowych u dorosłych, 4 J/kg dla dzieci), naładowanie defibrylatora, i wyzwolenie wyładowania po upewnieniu się, że nikt nie dotyka pacjenta. W trakcie ładowania defibrylatora oraz pomiędzy wyładowaniami kontynuuje się RKO.

Jeżeli defibrylacja nie jest skuteczna, podejmuje się kolejne próby, zwiększając energię wyładowania i podając odpowiednie leki, takie jak adrenalina czy amiodaron. U pacjentów, u których przyczyna NZK jest pozasercowa, szczególną uwagę zwraca się na identyfikację i leczenie odwracalnych przyczyn zatrzymania krążenia [1,6].

Defibrylacja jest więc integralnym elementem zaawansowanych zabiegów resuscytacyjnych, szczególnie w przypadkach, gdzie NZK jest wynikiem arytmii takich jak VF lub pVT. Skuteczność defibrylacji oraz szybkość jej wykonania znacząco wpływają na rokowanie i szanse na przeżycie pacjenta z NZK.

Wraz z postępowaniem w dziedzinie medycyny nagłe zatrzymanie krążenia stało się obszarem intensywnych badań i rozwoju nowych technologii, w celu

przeprowadzania skuteczniejszej terapii pacjenta. Defibrylacja, czyli dostarczenie kontrolowanego impulsu elektrycznego w celu przywrócenia prawidłowego rytmu serca, jest kluczowym elementem postępowania w przypadku nagłego zatrzymania krążenia w mechanizmach migotania komór lub częstoskurczu komorowego bez obecności tętna. Zaawansowane techniki defibrylacji ewoluują w odpowiedzi na potrzebę skutecznego leczenia trudnych przypadków zaburzeń rytmu serca.

Migotanie komór odporne na defibrylację stanowi znaczną część przypadków VF, które nie reagują na standardowe defibrylacje. Szanse na przeżycie w tej grupie pacjentów są znacznie niższe niż u osób reagujących na defibrylację. Aktualne wytyczne ERC sugerują, że w przypadku rVF należy rozważyć zwiększenie dawki energii defibrylacji oraz zmianę ułożenia elektrod, taką jak przednio-tylne. Pomimo postępów w strategiach defibrylacji, nadal brakuje skutecznego modelu postępowania dla tej specyficznej grupy pacjentów [7].

Podwójna sekwencyjna defibrylacja (ang. double sequential external defibrillation - DSED) to zaawansowana technika defibrylacji, która polega na jednoczesnym użyciu dwóch defibrylatorów zewnętrznych do dostarczenia dwóch synchronizowanych impulsów elektrycznych w określonych interwałach, w celu przywrócenia prawidłowego rytmu serca. Te dwie energie elektryczne są synchronizowane w celu uzyskania silniejszego i bardziej skoncentrowanego oddziaływania na serce, co zwiększa szanse na przerwanie arytmii i przywrócenie prawidłowego rytmu. DSED została eksperymentalnie wprowadzona w celu poprawy skuteczności defibrylacji w przypadkach, w których standardowe metody okazywały się niewystarczające.

Warto jednak zaznaczyć, że stosowanie podwójnej sekwencyjnej defibrylacji nie jest obecnie standardową procedurą i zazwyczaj jest stosowana w warunkach zaawansowanego wsparcia życiowego przez doświadczony personel medyczny. Zgodnie z Wytycznymi Europejskiej Rady Resuscytacji z 2021 roku, w przypadku nawracającego lub opornego na defibrylację migotania komór, zaleca się rozważenie alternatywnego rozmieszczenia elektrod (układ przednio-tylny) oraz zastosowania wyższych energii defibrylacji. Strategia podwójnej sekwencyjnej defibrylacji powinna być stosowana wyłącznie w ramach badań klinicznych z grupą kontrolną⁶. Mimo to, postęp w dziedzinie medycyny ratunkowej oraz technicznych aspektach zaawansowanych zabiegów resuscytacyjnych może wkrótce doprowadzić do umasowienia zastosowania DSED.

Celem niniejszego rozdziału jest przybliżenie mechanizmów oraz szczegółów przeprowadzenia podwójnej sekwencyjnej defibrylacji oraz korzyści płynących

z jej skutecznienia, jak również przegląd najnowszej literatury, zarysowanie horyzontów rozwoju omawianej metody oraz umieszczenie aktualnych osiągnięć w kontekście historycznym.

HISTORIA

Historia defibrylacji, jako jednego z kluczowych zabiegów resuscytacyjnych, obejmuje fascynujący rozwój technologiczny i naukowy, którego efektem było opracowanie skutecznego narzędzia ratującego życie. Początek tego procesu przypada na przełom IXX i XX wieku.

Wykorzystanie przez ludzi energii elektrycznej oraz stworzenie pierwszych jej generatorów przypada jednak na lata 70. XIX wieku. Wtedy też, wśród osób pracujących przy instalacjach elektrycznych dochodziło do śmierci z powodu porażenia prądem elektrycznym, jednak mechanizm zgonu pozostawał nieuchwytny.

Elektrofizjologia serca pozostawała wówczas w sferze niewiedzy, do momentu pierwszej udokumentowanej rejestracji elektrokardiogramu przez Augustusa Desiré Wallera w 1887 roku, a następnie zauważenia możliwości klinicznego wdrożenia EKG przez Willema Einthovena [8,9].

Dopiero dzięki pracy Jeana Louisa Prevosta i Frederica Battelliego (Włochy) oraz, niezależnie, RH Cunninghama (Stany Zjednoczone) dowiedziono, że u zwierząt doświadczalnych wyładowanie elektryczne może spowodować zatrzymanie akcji serca. Jednak u niektórych psów, u których wystąpiło migotanie komór, rytm zatokowy został przywrócony przez przeprowadzenie kolejnego wyładowania za pomocą elektrod umieszczonych w jamie ustnej i jelicie cienkim. W ten sposób, włosi zaprezentowali w 1899 roku pierwszy defibrylator [10,11].

W 1940 roku, dzięki szerszemu zrozumieniu fizjologii serca i analizie okoliczności wywołujących arytmie, wykazano że porażenie prądem elektrycznym przypadające na okres refrakcji zwiększa podatność komór na wystąpienie VF [12].

Pierwsza udana defibrylacja na człowieku odbyła się w 1947 roku. Została przeprowadzona przez amerykańskiego kardiochirurga Claude'a Becka na 14-letnim chłopcu. Podczas operacji przeprowadzonej z powodu wady wrodzonej klatki piersiowej doszło do rozwinięcia VF. Ręczny masaż serca nie rozwiązał problemu, toteż Beck podłączył dwie elektrody do otwartego serca pacjenta i przeprowadził czterokrotne porażenie prądem przemiennym o napięciu 110 woltów. Rytm serca został przywrócony, natomiast pacjent wyzdrowiał całkowicie [13].

W 1957 roku William B. Kouwenhoven zakończył prace nad oryginalnym defibrylatorem zewnętrznym do użytku u ludzi. Urządzenie wykorzystywało prąd przemienny, bezpiecznie dostarczając wstrząsy o napięciu 480 V do serca dorosłego człowieka. Było jednak wysoce niepraktyczne ze względu na swoją wagę, dlatego dopiero po wprowadzeniu odpowiednich innowacji Kouwenhoven opracował w 1961 roku przenośną wersję tego urządzenia mieszczącą się w średniej wielkości walizce [14].

W 1962 roku Bernard Lown, kardiolog i wynalazca, wraz z współpracownikami zebrał wszystkie wcześniejsze badania prowadzone przez Prevosta i Battellego z zastosowaniem prądu stałego, oraz z zastosowaniem defibrylatorów prądu przemiennego przez Kouwenhovena i Zolla, a także prace czeskich i rosyjskich naukowców dotyczące wyładowań kondensatorów o fali prostokątnej (krótka fala impulsu generowana przez te kondensatory umożliwiła synchronizację z dowolną częścią cyklu pracy serca). Praca Lowna umożliwiła zsynchronizowane wyładowania i opracowanie małych przenośnych defibrylatorów. Bernard Lown jako pierwszy połączył defibrylację i kardiowersję oraz zapewnił przy tym bezpieczeństwo i mobilność procedury. W 1959 roku zastosował transtorakalny wstrząs prądem zmiennym za pomocą defibrylatora Zolla u pacjenta z nawracającymi napadami VT. Było to pierwsze udokumentowane, skuteczne przerwanie arytmii komorowej innej niż migotanie komór [9,14–17].

W 1968 roku Pantridge stworzył ulepszony przenośny defibrylator, który ważył ok 3 kg i wykorzystywał do zasilania kompaktowy kondensator zaprojektowany przez NASA. Ów aparat, ze względu na niewielki rozmiar i wagę jest często uznawany za pierwszy prawdziwy przenośny defibrylator AED nie tylko ze względu na rozmiar, ale i skuteczność. Od późnych lat 60. projekty Pantridge'a były wykorzystywane przez placówki medyczne i pojazdy ratunkowe na całym świecie [18]. W latach 60. i 70. defibrylacja stawała się standardowym zabiegiem w przypadku nagłego zatrzymania krążenia w szpitalu

Do połowy lat 90. XX wieku defibrylatory zewnętrzne wykorzystywały falę typu Lown, będącą silnie stłumionym impulsem sinusoidalnym o charakterystyce jednofazowej. Defibrylacja dwufazowa, pierwotnie opracowana dla wszczepialnych kardiowerterów-defibrylatorów (ICD), została później zaadaptowana do defibrylatorów zewnętrznych. Wprowadza ona impulsy, w których energia jest dostarczana zarówno w jednym kierunku, jak i w przeciwnym; jeden cykl trwa około 12 milisekund. Charakteryzuje się mniejszą ilością energii potrzebną do sukcesywnej depolaryzacji komór serca, przez co zmniejsza ryzyko uszkodzenia tkanek.

W przypadku VF, około 60% pacjentów z zatrzymaniem krążenia leczonych pojedynczym wstrząsem z defibrylatora jednofazowego może być przywrócone do normalnego rytmu zatokowego. Z kolei większość defibrylatorów dwufazowych może pochwalić się wskaźnikiem skuteczności pierwszego wyładowania przekraczającym 90% [19].

Technologia defibrylacji uległa dalszemu zaawansowaniu w późniejszych latach; zautomatyzowane defibrylatory (AED) stawały się bardziej powszechne, a ich obecność w miejscach publicznych umożliwia nawet osobom bez specjalistycznej wiedzy podjęcie próby resuscytacji. Irlandczyk, Profesor James Francis jest często nazywany "pionierem" nowoczesnego defibrylatora AED. Wprowadzony przez niego przenośny defibrylator zrewolucjonizował medycynę ratunkową i ratownictwo medyczne.

Wiele z dzisiejszych urządzeń oferuje automatyczne dostarczanie wstrząsu i jest dostępnych do użytku domowego. Mają zaawansowane możliwości, w tym zdolność do oceny rytmu serca, dostarczania użytkownikom wskazówek w czasie rzeczywistym oraz podawania automatycznych lub półautomatycznych wstrząsów [20,21].

Pierwsze próby opracowania strategii defibrylacji odporne na leczenie migotanie komór przy użyciu sekwencyjnych wyładowań rozpoczęły się już w drugiej połowie lat 80.

Przeprowadzono m. in. badania nad wpływem rozmieszczenia elektrod i sposobu dostarczania wstrząsu defibrylatora u psów z i bez zawału mięśnia sercowego. Testowano pojedyncze, podwójne i potrójne wstrząsy w różnych kombinacjach elektrod i wektorów sercowych po indukcji migotania komór. Podwójne wyładowania pomiędzy różnymi kombinacjami elektrod znacząco zmniejszyły całkowitą energię i napięcie szczytowe potrzebne do defibrylacji. Trzy kolejne wyładowania nie przyniosły tak spektakularnego efektu w porównaniu do dwóch wyładowań. Wnioski wskazały, że dwa kolejne wyładowania różnymi drogami zmniejszają zarówno całkowitą energię, jak i napięcie szczytowe potrzebne do zakończenia migotania komór [22].

W latach 90. XX wieku potwierdzono skuteczność zastosowania podwójnego, sekwencyjnego wyładowania zewnętrznego przy użyciu dwóch defibrylatorów na pacjentach. Wyładowania dostarczono w odstępach 0,5 do 4,5 s. u pacjentów u których wystąpiło odporne na leczenie VF, po nieefektywnym przeprowadzeniu standardowej defibrylacji. Choć w pracy Hoch et al. grupę badaną stanowiło pięćciu spośród prawie trzech tysięcy pacjentów z VF, DSED okazała się skuteczna w 100% [23].

ROZWIĄZANIA DOSTĘPNE I STOSOWANE OBECNIE

Ręczne defibrylatory zewnętrzne

Manualne zewnętrzne defibrylatory wymagają wiedzy medycznej, używane są z elektrokardiogramem, który może być oddzielny lub wbudowany. Profesjonalista medyczny diagnozuje rytm serca, a następnie ręcznie ustala napięcie i czas impulsu elektrycznego. Urządzenia te są głównie wykorzystywane w szpitalach i karetkach. W Wielkiej Brytanii każda karetka NHS jest wyposażona w manualny defibrylator do użytku przez ratowników i techników [24,25].

Wewnętrzny defibrylator jest często używany do defibrylacji serca podczas lub po operacji kardiochirurgicznej, np. CABG. Elektrody składają się z metalowych płyt stykających się bezpośrednio z mięśniem sercowym. Manualne wewnętrzne defibrylatory przekazują impuls za pomocą elektrod umieszczonych bezpośrednio na sercu, głównie w sali operacyjnej, a w rzadkich przypadkach na sali ratunkowej podczas otwartej procedury serca [25].

Zewnętrzny defibrylator ręczny LIFEPAK 15 (Stryker ©, Michigan, USA) został przedstawiony na rycinie 1. Procedura DSED znajduje dotychczas zastosowanie niemal wyłącznie przy użyciu ręcznych defibrylatorów zewnętrznych, toteż im poświęcimy więcej uwagi w dalszym ciągu rozdziału.



Rycina 1. Monitor/defibrylator LIFEPAK 15 [opracowanie własne]

Automatyczne defibrylatory zewnętrzne

Automatyczne zewnętrzne defibrylatory (AED) stanowią kluczowe narzędzie w ratowaniu życia w nagłych przypadkach zatrzymania krążenia poza

szpitalem. Ich projekt opiera się na zaawansowanej technologii, umożliwiającej analizę rytmu serca i dostarczanie elektrycznego impulsu w odpowiednim momencie. Co istotne, AED są zaprojektowane tak, aby mogły być używane przez osoby nieprzeszkolone lub posiadające jedynie podstawowe szkolenie w zakresie obsługi tych urządzeń.

Dzięki wbudowanym algorytmom analizującym rytmy serca, AED nie wymagają od operatora medycznego decydowania o konieczności wykonania wstrząsu. Ta automatyczna funkcja sprawia, że urządzenie jest niezwykle skuteczne w sytuacjach, gdzie szybka reakcja jest kluczowa dla przeżycia pacjenta. Ponadto, poprzez udostępnienie AED publicznie w miejscach takich jak biura, centra handlowe, restauracje czy transport publiczny, możliwość skutecznej interwencji w nagłych przypadkach zatrzymania krążenia zostaje znacząco zwiększona.

Chociaż idealnie byłoby, gdyby osoby korzystające z AED przeszły odpowiednie szkolenie, to jednak badania wykazały, że nawet osoby bez wcześniejszego doświadczenia mogą skutecznie korzystać z tych urządzeń. Oczywiście, istnieją pewne czynniki, które należy wziąć pod uwagę, takie jak usunięcie metalowych przedmiotów z ciała pacjenta przed zastosowaniem AED oraz konieczność regularnego sprawdzania stanu urządzenia i jego akcesoriów. Jednakże, ogólna dostępność AED oraz ich łatwość obsługi sprawiają, że stanowią one ważne narzędzie w walce z nagłymi zatrzymaniami krążenia poza szpitalem [26–28].

Kardiowertery-defibrylatory

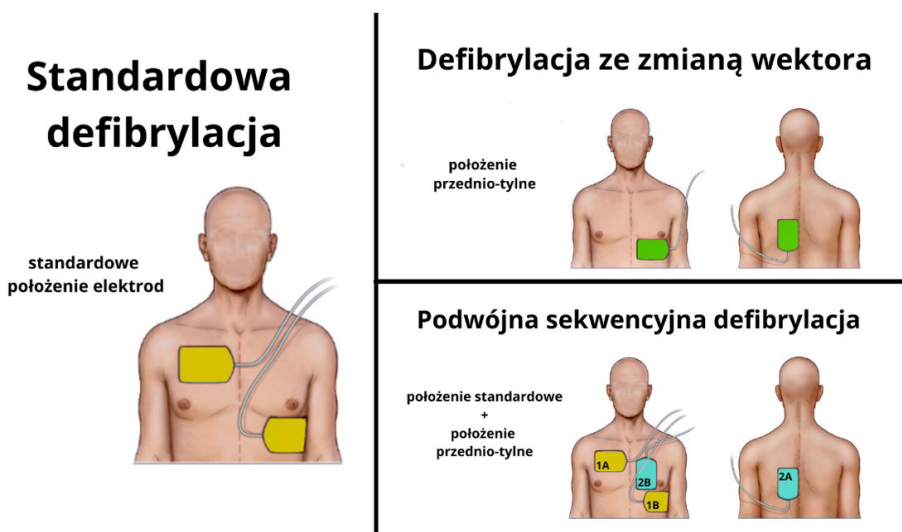
Implantowane kardiowertery-defibrylatory (ICD) są urządzeniami monitorującymi rytm serca i automatycznie stosującymi wstrząsy w przypadku arytmii zagrażającej życiu. Nowoczesne ICD potrafią rozróżnić między migotaniem komór, tachykardią komorową a mniej groźnymi arytmiami. Niektóre urządzenia mogą próbować nadpobudzenia przed synchronizowaną kardiowersją. Czasami ICD mogą wywoływać wstrząsy nieustannie lub niewłaściwie, co jest stanem nagłym wymagającym interwencji medycznej. Ratownicy medyczni często posiadają magnesy do dezaktywacji funkcji wstrząsu ICD. W przypadku częstych wstrząsów konieczne jest podanie sedacji pacjentowi. Kardiowertery-defibrylatory noszone na ciele to przenośne urządzenia monitorujące pacjenta przez 24 godziny na dobę, dostarczające wstrząsy w razie potrzeby. Są one przeznaczone dla pacjentów, którzy nie kwalifikują się do implantacji ICD [29–31].

MECHANIZM DZIAŁANIA DSED

Mechanizm działania DSED opiera się na dostarczaniu dwóch sekwencyjnych wyładowań defibrylacyjnych za pomocą dwóch defibrylatorów, z elektrodami umieszczonymi w dwóch różnych płaszczyznach (zwykle przednio-bocznej i przednio-tylnej). Schemat podłączenia elektrod w konfiguracji standardowej defibrylacji, DSED oraz VC został przedstawiony na rycinie 2. Teoria stojąca za tą techniką sugeruje, że równoczesne lub prawie równoczesne wyładowania z dwóch różnych wektorów mogą zwiększyć prawdopodobieństwo przerwania rVF poprzez bardziej równomierne rozproszenie energii elektrycznej przez mięsień sercowy. Techniczne wykonanie DSED obejmuje przygotowanie dwóch ręcznych defibrylatorów, synchronizację ich wyładowań oraz zastosowanie ich w krótkim odstępie czasu, zazwyczaj poniżej jednej sekundy. Każdy defibrylator powinien być naładowany do odpowiedniej energii zgodnie z protokołem medycznym. Elektrody są umieszczane odpowiednio na klatce piersiowej pacjenta: jedno w standardowej pozycji przednio-bocznej, drugie w przednio-tylnej. Kluczowe jest skoordynowane naciśnięcie przycisków „wstrząs” na obu defibrylatorach, aby zapewnić niemal jednoczesne dostarczenie impulsów elektrycznych, co zwiększa szansę na skuteczną defibrylację. Sprzęt niezbędny do DSED obejmuje dwa defibrylatory, zestawy elektrod defibrylacyjnych oraz zsynchronizowane naładowanie i dostarczenie impulsów. Wskazania do DSED obejmują pacjentów z opornym na leczenie VF po trzech nieudanych próbach defibrylacji standardowej. Polska Rada Resuscytacji sugeruje, że technika DSED może być rozważana w przypadkach opornego migotania komór, jednak jej rutynowe stosowanie nie jest zalecane z uwagi na brak jednoznacznych dowodów na wyższą skuteczność w porównaniu do standardowych metod defibrylacji [6,32–34].

Dodatkowo, drugą innowacyjną techniką defibrylacji, w literaturze często stawianą w skuteczności obok DSED jest defibrylacja wektorowo-zmienna (VC). Jest to technika polegająca na przełączaniu pozycji elektrod defibrylacyjnych z pierwotnej przednio-bocznej na przednio-tylną po trzech nieudanych próbach defibrylacji standardowej. Mechanizm działania VC zakłada, że zmiana wektora przepływu prądu przez serce może umożliwić skuteczniejszą defibrylację obszarów komory, które mogą nie być efektywnie zdefibrylowane przy standardowej pozycji elektrod. Technicznie, VC wymaga zamiany elektrod defibrylacyjnych podczas przerwy w resuscytacji krążeniowo-oddechowej (RKO), minimalizując przerwy w RKO. Sprzęt niezbędny do VC to standardowy defibrylator oraz zestaw elektrod defibrylacyjnych, które po trzech nieudanych defibrylacjach są

zamieniane z przednio-bocznej na przednio-tylną pozycję. Wskazania do VC obejmują pacjentów z opornym na leczenie VF, którzy nie odpowiedzieli na trzy próby defibrylacji w standardowej konfiguracji. Polska Rada Resuscytacji, opierając się na aktualnych dowodach i zaleceniach międzynarodowych, sugeruje stosowanie techniki zmiany wektora jako opcji w przypadkach opornego migotania komór, podkreślając jednak potrzebę dalszych badań w celu potwierdzenia jej skuteczności i bezpieczeństwa. Obie techniki, DSED i VC, są stosowane w przypadku opornego na leczenie VF w ramach zaawansowanych procedur resuscytacyjnych i mogą zwiększać skuteczność defibrylacji oraz poprawiać wskaźniki przeżycia u pacjentów z zatrzymaniem krążenia pozaszpitalnego [32,35].



Rycina 2. Rozmieszczenie elektrod w trzech strategiach defibrylacji [opracowanie własne]

BADANIA KLINICZNE

W bazie badań klinicznych clinicaltrials.gov pod hasłem „double sequential external defibrillation” można znaleźć 3 zarejestrowane badania kliniczne na temat zastosowania DSED (stan na maj 2024). Dwa z nich (NCT03249948, NCT04080986), prowadzone zresztą przez ten sam zespół badaczy, oznaczone są jako zakończone [36, 37]. Zakończenie trzeciego badania (obecnie o nieznanym statusie) planowane było na pierwszy kwartał 2024 (NCT03827915) [38].

DOSE-VF Pilot Study

Badanie o nr ID NCT03249948, zatytułowane „DOuble SEquential External Defibrillation for Refractory VF Pilot Study (DOSE-VF)” prowadzone zostało przez zespół badaczy z Kanady, na czele z Sheldonem Cheskesem MD. W tym pilotażowym, randomizowanym badaniu klastrowym oceniono trzy strategie leczenia opornego na defibrylację VF podczas pozaszpitalnego zatrzymania krążenia: standardową defibrylację, DSED oraz defibrylację ze zmianą wektora. Pacjenci powyżej 18 lat z nieurazowym OHCA pozostający w VF po trzech defibrylacjach zostali losowo przydzieleni do jednej z trzech strategii. Główne wyniki obejmowały powrót spontanicznego krążenia oraz zakończenie VF po interwencyjnych wstrząsach. Badanie miało na celu ocenę wykonalności i określenie wielkości próby dla przyszłych badań [36]. Z badaniem powiązany jest artykuł stanowiący protokół badania [35].

DOSE-VF

Badanie o nr ID NCT04080986, o tytule „DOuble SEquential External Defibrillation for Refractory VF (DOSEVF)” jest niejako kontynuacją badania przedstawionego powyżej, przeprowadzonego przez ten sam zestaw badaczy. Było to randomizowane badanie klastrowe porównuje trzy strategie leczenia opornego na defibrylację VF podczas OHCA: standardową defibrylację, DSED oraz defibrylację ze zmianą wektora. Badanie obejmie dorosłych pacjentów (≥ 18 lat) z VF lub pVT, którzy pozostają w VF/pVT po trzech standardowych defibrylacjach. Celem jest ocena skuteczności tych metod w uzyskaniu ROSC oraz poprawie przeżywalności. Wyniki miały dostarczyć dowodów na wpływ DSED i zmiany wektora na ROSC i przeżycie pacjentów po OHCA, co pozwoli na lepsze zaplanowanie większych badań wieloośrodkowych [37].

W związku z badaniem klinicznym DOSE VF opublikowane zostały liczne artykuły naukowe.

Chronologicznie pierwszą analizą autora badania DOSE VF był opublikowany w 2019 roku, jeszcze przed rozpoczęciem badania klinicznego, artykuł „The impact of double sequential external defibrillation on termination of refractory ventricular fibrillation during out-of-hospital cardiac arrest”. W retrospektywnym przeglądzie przeprowadzonym na 252 pacjentach z opornym na leczenie VF podczas OHCA, Cheskes et al. porównali skuteczność standardowej defibrylacji z DSED. Badanie obejmowało dorosłych pacjentów, którzy przeszli co najmniej

trzy standardowe defibrylacje w okresie trzech lat, począwszy od 1 stycznia 2015 roku. Spośród badanych, 79,8% otrzymało tylko standardową defibrylację, a 20,2% przynajmniej jedną DSED. Wyniki pokazały, że ogólna skuteczność zakończenia VF była podobna dla 78,1% vs. 76,5%). Jednak w analizie wczesnych prób defibrylacji, DSED była bardziej skuteczna w przerywaniu VF (29,4% vs. 17,5%) oraz w uzyskaniu ROSC (15,7% vs. 5,4%). Podobnie, przy późnych próbach defibrylacji, DSED była bardziej skuteczna w przerywaniu VF (31,2% vs. 17,1%), chociaż wskaźniki ROSC były niskie niezależnie od strategii defibrylacji. Wyniki sugerują, że wczesne zastosowanie DSED może być bardziej efektywne w przerywaniu VF i uzyskiwaniu ROSC w porównaniu ze standardową defibrylacją, co wymaga dalszych badań randomizowanych [39].

Pilotaż badania NCT04080986, tj DOSE VF, został wydany w maju 2020 roku w *Trials* [34].

W listopadzie 2022 roku Cheskes et al. na łamach *The New England Journal of Medicine* opublikował badanie będące podsumowaniem DOSE VF. Udział wzięło 405 pacjentów, z których 136 przypisano do standardowej defibrylacji, 144 do defibrylacji VC, a 125 do DSED. Pierwszorzędowym wynikiem było przeżycie do wypisu ze szpitala, a drugorzędowymi wynikami były zakończenie migotania komór, powrót spontanicznego krążenia i dobry wynik neurologiczny przy wypisie. Wyniki wykazały, że przeżycie do wypisu było wyższe w grupie DSED (30,4%) i VC (21,7%) w porównaniu ze standardową defibrylacją (13,3%). Defibrylacja DSED była również bardziej skuteczna w zakończeniu migotania komór i powrocie spontanicznego krążenia. Wyniki sugerują, że zarówno DSED, jak i VC mogą poprawiać przeżycie w porównaniu ze standardową defibrylacją, przy czym DSED wykazuje największą skuteczność, chociaż jej logistyczne wdrożenie może być wyzwaniem [32].

Co ciekawe, w maju 2024 roku światło dzienne ujrzała praca Deb et al., która na kanwie badania DOSE VF analizuje częstość występowania STEMI i NSTEMI po NZK, oraz rolę angiografii i przeszłonnych interwencji wieńcowych u pacjentów z opornym na leczenie migotaniem komór lub częstoskurczem komorowym bez tętna, podczas OHCA. W badaniu uwzględniono dorosłych pacjentów (≥ 18 lat) z rVF/pVT, którzy zostali randomizowani do badania RCT DOSE-VF i przeżyli do przyjęcia do szpitala. Porównano odsetki angiografii między pacjentami ze STEMI i NSTEMI, stosując modelowanie regresji w celu analizy związku między STEMI, strategią defibrylacji a przeżyciem. Spośród 151 pacjentów, 74 miało STEMI (49%), a 77 NSTEMI (51%). Odsetek angiografii był wyższy w grupie ze STEMI (87,8% vs 44,2%, $p < 0,001$), podobnie jak

PCI (75,7% vs 9,1%, $p < 0,001$). Przeżycie do wypisu było podobne w obu grupach (63,5% vs 51,9%, $p = 0,15$). Wykazano, że wiek i angiografia były predykcyjnymi czynnikami przeżycia (wiek OR 0,95, 95% CI 0,92-0,98; $p = 0,001$, angiografia OR 9,33, 95% CI 3,60-26,94; $p < 0,001$), jednak STEMI nie. Strategia defibrylacji była podobna niezależnie od obecności STEMI. Stwierdzono, że angiografia/PCI była częstsza u pacjentów ze STEMI, ale wskaźniki przeżycia były podobne w obu grupach. Angiografia była niezależnym czynnikiem prognostycznym przeżycia, a poprawa przeżycia przy zastosowaniu DSED i VC była niezależna od angiografii/PCI [40].

DSED w kardiowersji

Trzecie zarejestrowane w bazie clinicaltrials.gov badanie o ID NCT03827915 nosi tytuł „Double Sequential External Defibrillation in Patients With Atrial Fibrillation Refractory to DC Cardioversion”. Badanie zostało zarejestrowane w Libanie, a kieruje nim Gilbert Abou Dagher MD. Co ciekawe, badanie to, w przeciwieństwie do dwóch poprzednich nie dotyczy NZK ani VF. Zastosowanie DSED rozciąga się również na inne rytmy wymagające interwencji elektrokardiologicznych. To randomizowane, kontrolowane, jednoośrodkowe badanie III fazy ocenia skuteczność DSED w przywracaniu prawidłowego rytmu serca u pacjentów z opornym na leczenie AF, którzy nie zareagowali na dwie próby kardiowersji DC. Pacjenci z AF przyjęci na oddział intensywnej opieki kardiologicznej (CCU) zostaną losowo przydzieleni do grupy otrzymującej trzecią próbę kardiowersji DC (standard opieki) lub DSED. Celem badania jest porównanie skuteczności obu metod w przywracaniu rytmu zatokowego, ocenianego za pomocą EKG bezpośrednio po interwencji. Kryteria włączenia obejmują pacjentów z AF opornym na co najmniej dwie próby kardiowersji DC, a wykluczenie dotyczy pacjentów, u których migotanie przedsionków nie wymaga kardiowersji DC lub którzy mieli nawrót po dwóch próbach kardiowersji DC [38].

PODSUMOWANIE

Defibrylacja jest kluczowym elementem w leczeniu NZK spowodowanego arytmiami, które mogą być skorygowane za pomocą wstrząsu elektrycznego.

DSED może oferować potencjalne korzyści w przypadku trudnych do kontrolowania arytmii w porównaniu do standardowej defibrylacji. W przypadku niepowodzenia pojedynczej defibrylacji, zastosowanie dwóch synchronizowanych

impulsów może zwiększyć szanse na przywrócenie prawidłowego rytmu serca. Ponadto, DSED może skutkować lepszą penetracją energii elektrycznej w tkankach serca, co jest istotne w przypadku przeszkód anatomicznych utrudniających skuteczną defibrylację. Wreszcie, DSED może być rozważana w przypadkach, w których standardowe metody defibrylacji nie przynoszą oczekiwanych rezultatów, oferując elastyczność w dostosowywaniu strategii leczenia.

Badania nad nowymi metodami stwarzają jeszcze skuteczniejsze sposoby interwencji w trudnych przypadkach arytmii. Sama technika DSED staje się osobliwie skutecznym narzędziem, z potencjałem na zaistnienie jako nowy standard postępowania, najpierw w warunkach szpitalnych. I tak jak dzięki postępowi w dziedzinie defibrylacji zautomatyzowane defibrylatory stały się powszechne w miejscach publicznych, a szkolenia z pierwszej pomocy często obejmują naukę obsługi tych urządzeń, tak niewykluczone że w niedalekiej przyszłości urządzenia typu AED będą zaadaptowane do przeprowadzania DSED, jednocześnie dając perspektywy większej przeżywalności chorym z rVF w warunkach przedszpitalnych, np. w przestrzeni publicznej.

W badaniach nad DSED stwierdzono, że metoda ta może być skuteczniejsza niż standardowa defibrylacja w przypadkach rVF. Przeprowadzone badania wykazały, że równoczesne lub prawie równoczesne wyładowania z dwóch różnych wektorów mogą zwiększyć prawdopodobieństwo przerwania arytmii. Zastosowanie DSED po trzech nieudanych próbach standardowej defibrylacji było skuteczne w przywracaniu prawidłowego rytmu serca w badaniach eksperymentalnych i klinicznych, choć nadal brakuje jednoznacznych dowodów na jej wyższość w rutynowej praktyce klinicznej.

Wytyczne Amerykańskiego Towarzystwa Kardiologicznego (AHA) oraz wytyczne Europejskiej Rady Resuscytacji (ERC) dotyczące zaawansowanego wspomagania krążenia nie zalecają otwarcie rutynowego stosowania DSED u pacjentów z opornym na leczenie VF/VT. W literaturze można napotkać sugestie by w celu zmaksymalizowania skuteczności DSED, wstrząsy wstępne były dostarczane sekwencyjnie przy użyciu urządzeń obsługujących fale dwufazowe przy maksymalnej dostępnej energii od 200 do 360 J przy użyciu prawie ortogonalnych wektorów wstrząsów. Idealne strategie terapeutyczne w przypadku przedszpitalnego DSED oraz w warunkach szpitalnych nie zostały dotychczas określone. Korzyści kliniczne wynikające z szybkiej reakcji, szkolenia personelu i dostępności defibrylatorów muszą być zrównoważone z kosztami związanymi z wykorzystaniem zasobów. Potrzeba pracy w wielu obszarach by zoptymalizować całą procedurę i uczynić ją możliwie przystępną i wykonalną dla personelu systemu ochrony

zdrowia. Poza tym, populacja pacjentów jest tak mała i rzadko spotykana, że ostateczne badanie dotyczące długoterminowego przeżycia bez uszkodzeń neurologicznych będzie trudne, dość złożone i kosztowne. Wszystkie te warunki stanowią wyzwanie, jednak doskonalenie i wdrażanie DSED w środowisku klinicznych, poprzez dalsze badania powinno stać się priorytetem w medycynie ratunkowej.

Rozwój techniki DSED i jej standaryzacja wymaga większych grup pacjentów. Istnieje potrzeba opracowania bardziej precyzyjnych protokołów, które określą optymalne parametry energii oraz najlepsze techniki umieszczenia elektrod. Standaryzacja DSED może prowadzić do jej szerokiego wdrożenia, co z kolei może znacząco poprawić wyniki leczenia pacjentów z rVF. Technika ta powinna być również zintegrowana z zaawansowanymi systemami resuscytacyjnymi i szkoleniami medycznymi, aby zapewnić jej skuteczne i bezpieczne stosowanie przez personel medyczny.

REFERENCJE

- [1] Gajewski P, Jaeschke R, Budaj A, et al. Interna Szczeklika 2023. Medycyna Praktyczna; 2023. Accessed May 27, 2024. <https://publi.cum.umed.lodz.pl/info/book/AMLf62843fe4eb948ad82e95897f8272fb9/Publication%2B%25E2%2580%2593%2BInter-na%2BSzczeklika%2B2023%2B%25E2%2580%2593%2BMedical%2BUniversity%2Bof%2BLodz+title?ps=20&lang=en&pn=1>
- [2] Olasveengen TM, Semeraro F, Ristagno G, et al. Podstawowe zabiegi resuscytacyjne (Basic Life Support – BLS). Polska Rada Resuscytacji. Published online 2021. <https://www.prc.krakow.pl/wytyczne2021/rozd4.pdf>
- [3] Merchant RM, Yang L, Becker LB, et al. Incidence of treated cardiac arrest in hospitalized patients in the United States. *Crit Care Med.* 2011;39(11):2401-2406. doi:10.1097/CCM.0b013e3182257459
- [4] Eltarras A, Jalloul Y, Assaad O, et al. Epidemiology, etiology, and outcomes of in-hospital cardiac arrest in Lebanon. *J Geriatr Cardiol.* 2021;18(6):416-425. doi:10.11909/j.issn.1671-5411.2021.06.005
- [5] Adamski J, Nowakowski P, Goryński P, Onichimowski D, Weigl W. Incidence of in-hospital cardiac arrest in Poland. *Anestezjologia Intensywna Terapia.* 2019;48(5):303-308.

- [6] Soar J, Bottiger BW, Carli P, et al. Zaawansowane zabiegi resuscytacyjne u dorosłych (Advanced Life Support – ALS). Polska Rada Resuscytacji. Published online 2021. <https://www.prc.krakow.pl/wytyczne2021/rozd5.pdf>
- [7] Soar J, Böttiger BW, Carli P, et al. European Resuscitation Council Guidelines 2021: Adult advanced life support. *Resuscitation*. 2021;161:115-151. doi:10.1016/j.resuscitation.2021.02.010
- [8] Einthoven W. THE DIFFERENT FORMS OF THE HUMAN ELECTROCARDIOGRAM AND THEIR SIGNIFICATION. *The Lancet*. 1912;179(4622):853-861. doi:10.1016/S0140-6736(00)50560-1
- [9] Zoll PM, Linenthal AJ, Gibson W, Paul MH, Norman LR. Termination of ventricular fibrillation in man by externally applied electric countershock. *N Engl J Med*. 1956;254(16):727-732. doi:10.1056/NEJM195604192541601
- [10] Prevost JL, Battelli F. La mort par les courants electriques; courant alternatif a bas voltage et a haute tension. *J Physiol*. 1899;(1):399-412.
- [11] Cunningham RH. The cause of death from industrial electric currents. *The New York Medical Journal*. 1899;(70):581-587.
- [12] Lown B, Amarasingham R, Neuman J. New method for terminating cardiac arrhythmias. Use of synchronized capacitor discharge. *JAMA*. 1962;182:548-555.
- [13] Beck CS, Pritchard WH, Feil HS. Ventricular fibrillation of long duration abolished by electric shock. *J Am Med Assoc*. 1947;135(15):985. doi:10.1001/jama.1947.62890150005007a
- [14] Naser N. On Occasion of Seventy-five Years of Cardiac Defibrillation in Humans. *Acta Inform Med*. 2023;31(1):68-72. doi:10.5455/aim.2023.31.68-72
- [15] Gurvich NL. [Restoration of vital functions of the organism following fatal electric shock]. *Klin Med (Mosk)*. 1952;30(6):66-70.
- [16] Cakulev I, Efimov IR, Waldo AL. Cardioversion: Past, Present, and Future. *Circulation*. 2009;120(16):1623-1632. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.865535

- [17] Lown B. Defibrillation and cardioversion. *Cardiovasc Res.* 2002;55(2):220-224. doi:10.1016/s0008-6363(02)00416-9
- [18] Pantridge JF, Geddes JS. A mobile intensive-care unit in the management of myocardial infarction. *Lancet.* 1967;2(7510):271-273. doi:10.1016/s0140-6736(67)90110-9
- [19] Wang CH, Huang CH, Chang WT, et al. Biphasic versus monophasic defibrillation in out-of-hospital cardiac arrest: a systematic review and meta-analysis. *Am J Emerg Med.* 2013;31(10):1472-1478. doi:10.1016/j.ajem.2013.07.033
- [20] Rho RW, Page RL. The automated external defibrillator. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2007;18(8):896-899. doi:10.1111/j.1540-8167.2007.00822.x
- [21] Delhomme C, Njeim M, Varlet E, et al. Automated external defibrillator use in out-of-hospital cardiac arrest: Current limitations and solutions. *Arch Cardiovasc Dis.* 2019;112(3):217-222. doi:10.1016/j.acvd.2018.11.001
- [22] Chang MS, Inoue H, Kallok MJ, Zipes DP. Double and triple sequential shocks reduce ventricular defibrillation threshold in dogs with and without myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology.* 1986;8(6):1393-1405. doi:10.1016/S0735-1097(86)80313-8
- [23] Hoch DH, Batsford WP, Greenberg SM, et al. Double sequential external shocks for refractory ventricular fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology.* 1994;23(5):1141-1145. doi:10.1016/0735-1097(94)90602-5
- [24] Automatic External Defibrillators - Page 5. Medscape. Accessed May 27, 2024. <https://www.medscape.com/viewarticle/407746>
- [25] Ong MEH, Lim SH, Venkataraman A. Defibrillation and Cardioversion. In: Tintinalli JE, Stapczynski JS, Ma OJ, Yealy DM, Meckler GD, Cline DM, eds. *Tintinalli's Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide.* 8th ed. McGraw-Hill Education; 2016. Accessed May 27, 2024. accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1121502347

- [26] Yeung J, Okamoto D, Soar J, Perkins GD. AED training and its impact on skill acquisition, retention and performance--a systematic review of alternative training methods. *Resuscitation*. 2011;82(6):657-664. doi:10.1016/j.resuscitation.2011.02.035
- [27] Berger S. CPR and AEDs save lives: insuring CPR--AED education and CPR--AED access in schools. *Curr Opin Pediatr*. 2020;32(5):641-645. doi:10.1097/MOP.0000000000000941
- [28] HeartSine AED – HTM Medico. Accessed May 27, 2024. <https://www.htmmedico.com.sg/products-and-services/heartsine-aed/>
- [29] Angel BG, Saltzman H, Kusmirek LS. Device Management in Heart Failure. *Curr Cardiol Rep*. 2017;19(11):114. doi:10.1007/s11886-017-0914-2
- [30] Varma N. The wearable cardioverter-defibrillator-Improving comfort and reaching towards noise immunity. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2022;33(5):843-844. doi:10.1111/jce.15416
- [31] Adler A, Halkin A, Viskin S. Wearable Cardioverter-Defibrillators. *Circulation*. 2013;127(7):854-860. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.146530
- [32] Cheskes S, Verbeek PR, Drennan IR, et al. Defibrillation Strategies for Refractory Ventricular Fibrillation. *N Engl J Med*. 2022;387(21):1947-1956. doi:10.1056/NEJMoa2207304
- [33] Miraglia D, Ramzy M. Double external defibrillation for shock-refractory ventricular fibrillation cardiac arrest: A step towards standardization. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2021;41:73-79. doi:10.1016/j.ajem.2020.12.031
- [34] Drennan IR, Dorian P, McLeod S, et al. DOuble SEquential External Defibrillation for Refractory Ventricular Fibrillation (DOSE VF): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2020;21:977. doi:10.1186/s13063-020-04904-z
- [35] Cheskes S, Dorian P, Feldman M, et al. Double sequential external defibrillation for refractory ventricular fibrillation: The DOSE VF pilot randomized controlled trial. *Resuscitation*. 2020;150:178-184. doi:10.1016/j.resuscitation.2020.02.010

- [36] Sunnybrook Health Sciences Centre. DOuble SEquential External Defibrillation for Refractory Ventricular Fibrillation - DOSE VF Pilot Study. clinicaltrials.gov; 2020. Accessed January 1, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03249948>
- [37] Sunnybrook Health Sciences Centre. DOuble SEquential External Defibrillation for Refractory Ventricular Fibrillation (DOSEVF) Randomized Controlled Trial. clinicaltrials.gov; 2022. Accessed January 1, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04080986>
- [38] American University of Beirut Medical Center. Double Sequence External Defibrillation: A Randomized Controlled Trial in Patients With Atrial Fibrillation Refractory to DC Cardioversion. clinicaltrials.gov; 2019. Accessed January 1, 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03827915>
- [39] Cheskes S, Wudwud A, Turner L, et al. The impact of double sequential external defibrillation on termination of refractory ventricular fibrillation during out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation*. 2019;139:275-281. doi:10.1016/j.resuscitation.2019.04.038
- [40] Deb S, Drennan IR, Turner L, Cheskes S. Association of coronary angiography with ST-elevation and no ST-elevation in patients with refractory ventricular fibrillation – A substudy of the DOuble SEquential External Defibrillation for Refractory Ventricular Fibrillation (DOSE-VF randomized control trial). *Resuscitation*. 2024;198:110163. doi:10.1016/j.resuscitation.2024.110163

MOSQUIRIX™ I R21/MATRIX-M™ – SZCZEPIONKI W PROFILAKTYCE MALARII

**Aleksandra Kaluza, Nikita Skorgowski, Daria Rost,
Karolina Gancarczyk, Piotr Głodek, Piotr Granatowski**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Malaria jest chorobą pasożytniczą wywoływaną przez pierwotniaki - zarodźce malarii. Co roku z powodu ciężkiego jej przebiegu i powikłań umierają setki tysięcy ludzi, głównie w regionie Afryki subsaharyjskiej oraz Azji. W grupie największego ryzyka znajdują się dzieci do 5. roku życia. Od wielu lat próbowano opracowywać szczepionki, które skutecznie chroniłyby najbardziej zagrożonych przed ciężkim przebiegiem i zgonem w wyniku malarii. Wielkim sukcesem okazały się przełomowe szczepionki Mosquirix™ i R21/Matrix-M™ opracowane odpowiednio przez Walter Reed Army Institute of Research we współpracy z GlaxoSmithKline oraz Instytut Jennera Uniwersytetu Oksfordzkiego razem z Serum Institute w Indiach. Po pozytywnych wynikach badań klinicznych WHO zdecydowało o dopuszczeniu ich do powszechnego stosowania i podawania w ramach publicznej opieki zdrowotnej, zgodnie z opracowanymi schematami. Jako pierwsza przyjęta została w 2021 roku szczepionka RTS,S/AS01 uzyskująca skuteczność na poziomie około 60%. Niedługo po niej w 2023 zatwierdzono drugą - R21/Matrix-M ze skutecznością około 75-78%. Rozdział ma na celu podsumowanie przeprowadzonych dotychczas badań nad szczepionkami przeciwmalarycznymi.

Słowa kluczowe: malaria, RTS,S/AS01, R21/Matrix-M, szczepionka, WHO

Abstract: Malaria is a parasitic disease caused by protozoan parasites – *plasmodium falciparum*. Hundreds of thousands of people die every year due to its severe course and complications, mainly in the sub-Saharan African region and Asia. Children under the age of 5 are in the highest risk group. For many years there have been attempts to develop vaccines that would effectively protect those most at risk from the severe course and death from malaria. The groundbreaking Mosquirix™ and R21/Matrix-M™ vaccines, developed respectively by the Walter Reed Army Institute of Research in collaboration with GlaxoSmithKline and Oxford University's Jenner Institute together with the Serum Institute in India, have been a great success. After positive results from clinical trials, the WHO decided to approve them for widespread use and administration in public health care according to the developed regimens. The first to be

approved in 2021 was the RTS,S/AS01 vaccine achieving an efficacy of about 60%. Shortly after, in 2023, a second one was approved - R21/Matrix-M with an efficacy of about 75-78%. The chapter aims to summarize the research on anti-malarial vaccines conducted so far.

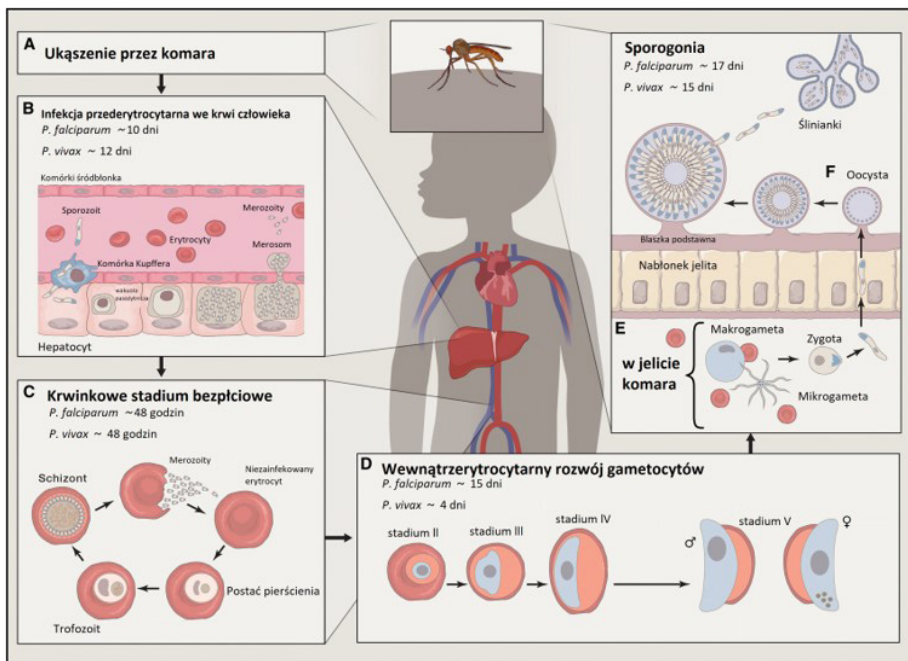
Keywords: malaria, RTS,S/AS01, R21/Matrix-M, vaccine, WHO

WSTĘP

Malaria jest groźną chorobą towarzyszącą ludzkości od wieków. Co roku z powodu ciężkiego jej przebiegu i powikłań umierają setki tysięcy ludzi, głównie w regionie Afryki Subsaharyjskiej, ale także Azji, Ameryki Południowej i Centralnej. W grupie największego ryzyka znajdują się dzieci do 5. roku życia. Malaria jest chorobą pasożytniczą wywoływaną przez pierwotniaki - zarodźce malarii. Wyróżnia się pięć najistotniejszych rodzajów *Plasmodium*, z czego najgroźniejszy dla człowieka jest zarodziec sierpowaty (łac. *Plasmodium falciparum*). Najczęstszym objawem malarii jest gorączka, zazwyczaj towarzyszy jej osłabienie, dreszcze, bóle mięśni, ból głowy i odwodnienie. Nieleczona może doprowadzić do anemii, małopłytkowości oraz śpiączki [1, 2] Związane jest to z następującymi po sobie cyklami rozwoju pasożytów, które powodują fluktuacje poziomu parazytemii. Największe ryzyko śmierci z powodu ciężkiej malarii dotyczy dzieci i najczęściej dochodzi do niej w wyniku ciężkiej anemii, kwasicy spowodowanej niewydolnością oddechową lub malarii mózgowej. Wśród starszych dzieci i dorosłych na terenach endemicznych malarii wykształca się naturalna odporność, dlatego w walce o pozyskanie skutecznych sposobów profilaktyki naukowcy skupiają się głównie na noworodkach i mniejszych dzieciach [3]. Napad malarii można podzielić na 3 fazy: w pierwszych 15-90 minutach pacjent odczuwa dreszcze pomimo prawidłowej temperatury ciała, skóra jest sucha, tętno słabe i szybkie. W kolejnych 2-6 godzinach następuje gwałtowny wzrost temperatury, nawet do 42°C, spowodowany lizą erytrocytów i uwolnieniem merozoitów, pojawiają się dreszcze, tachykardia, ból głowy, ból mięśni oraz mogą pojawić się drgawki. W trzeciej fazie napadu pacjent poci się intensywnie podczas normowania się temperatury ciała. Po 4-8 godzinach od napadu chory odczuwa silne zmęczenie i zapada w sen. Gorączka nawraca z częstotliwością charakterystyczną dla danego gatunku zarodźca, w przypadku *P. falciparum* jest to 48 godzin [1,4].

MECHANIZM ZACHOROWANIA

Zakażenie zarodźcem malarii następuje po ukąszeniu człowieka przez komara. W organizmie człowieka oraz komara zachodzą różne fazy rozwoju pasożyta. W ciele człowieka zachodzi bezpłciowy etap rozwoju, sporozoity wraz z krwią, wprowadzoną przez samicę komara z rodzaju *Anopheles*, dostają się do hepatocytów ludzkiego żywiciela. Schizonty po osiągnięciu dojrzałości (około 1-2 tyg.) uwalniają merozoity zakażające erythrocyty. Powtarzające się cykle, prowadzące do lizy erythrocytów i uwolnienia nowych merozoitów, objawiają się nawracającymi co 48h napadami gorączki i resztą symptomów malarii. Część merozoitów różnicuje się w kierunku gametocytów, pobrane wraz z krwią przez komara wchodzi w etap płciowy rozwoju. Prowadzi to do powstania, w gruczołach ślinowych owada, sporozoitów zdolnych do powtórzenia cyklu w kolejnym żywicielu (rycina 1.) [5, 6].



Rycina 1. Cykl rozwojowy zarodźca malarii [3].

EPIDEMIOLOGIA

W roku 2022 odnotowano 249 milionów przypadków malarii w 85 krajach, głównie regionu Afryki (94%) oraz Azji. Zachorowania w Nigerii, DRK, Ugandzie i Mozambiku stanowiły prawie połowę wszystkich przypadków. Szacunkowa liczba zgonów wyniosła około 608 000. Globalnie od roku 2000 nastąpił spadek współczynnika zgonów (liczba zgonów na 100 000 zagrożonych) z 29 do 15 względem roku 2015. Od tego czasu współczynnik pozostaje na stałym poziomie, z drobnym wzrostem w czasie pandemii COVID-19 i późniejszym ponownym spadkiem do 14,3. W regionie Afryki również zauważono spadek współczynnika zgonów o 60% w latach 2000 - 2022 ze 143 na 56. Podobnie jak liczba zachorowań, śmiertelność z powodu malarii jest tam najwyższa. Szacuje się, że w tych latach udało się zapobiec 2,1 miliardom zachorowań i 11,7 milionom zgonów z powodu malarii [7]. W grupie największego ryzyka znajdują się dzieci do 5. roku życia, ze względu na duże ryzyko anemii i malarii mózgowej [8, 9].

LECZENIE MALARII

Aktualnym standardem leczenia malarii jest stosowanie leków na bazie artemizyny z innymi lekami przeciwmalarycznymi tzw. ACT (ang. *artemisinin-based combination therapies*). Artemizyna jest cząsteczką izolowaną z bylicy rocznej (łac. *Artemisia annua*) a jej działanie polega zarówno na zabijaniu pasożytów, jak i hamowaniu ich wzrostu. Działa na fazy wewnątrzerytrocytarne rozwoju zarodźca, szczególnie na jego postać pierścienia (rycina 1., punkt C) oraz hamuje rozwój pasożyta na etapie gametocytów (rycina 1., punkt D) [10]. Wśród pochodnych artemizyny wyróżniamy: artesunat, artemeter oraz artenimol. Z powodu krótkiego czasu ich półtrwania, łączy się je z preparatami o dłuższym działaniu np. meflochiną, amodiachiną, piperachiną, lumefantryną lub sulfadoksyną z pirymetaminą. Jest to konieczne w celu zapobiegania wykształcaniu się oporności pasożytów na artemizynę. [11] ACT charakteryzuje się dużą skutecznością, w przypadku artesunatu z meflochiną wynosi ona ponad 95% [12, 13].

SZCZEPIONKI W WALCE Z MALARIĄ

Obecnie programy do walki z malarią opierają się na stosowaniu siatek ochronnych nasączonych środkami owadobójczymi, rozpylaniu substancji

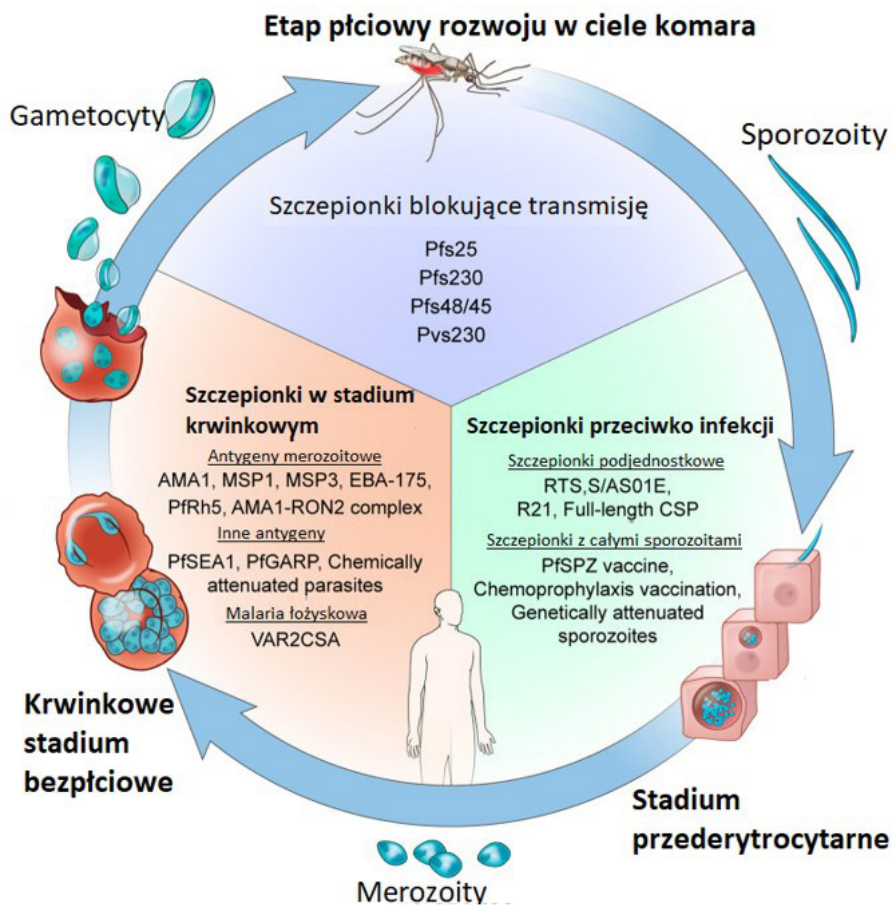
owadobójczych w pomieszczeniach i terapii farmakologicznej. Szczepionki stanowią przełom w profilaktyce malarii [14,15].

Pasożyty są szczególnym rodzajem patogenów chorobotwórczych, ze względu na swoją złożoność biologiczną i umiejętność unikania odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Z tych powodów niezwykle trudne było uzyskanie skutecznej szczepionki. Jak można zauważyć, do niedawna tylko jedna uzyskała zadowalające efekty i rekomendację WHO do powszechnego stosowania. Wyodróżniamy trzy rodzaje szczepionek, z których każda działa na jeden z etapów rozwojowych pasożyta [16,17]:

1. szczepionki preerytrocytarne działające na sporozoitów - formy płciowe zarodźca przenoszone na człowieka przez komara, blokują wejście sporozoitów do hepatocytów. Dodatkowo nawet niewielka ilość zakażonych komórek wątroby wykazuje ekspresję antygenów pasożyta, w odróżnieniu od erytrocytów, które tej zdolności nie mają, dzięki czemu indukują limfocyty T do odpowiedzi immunologicznej. Z tych powodów ten rodzaj szczepionek uznawany jest za najskuteczniejszy,
2. szczepionki erytrocytarne działają na merozoity uwalniane z wątroby w kolejnym stadium. Pożądanym efektem jest brak inwazji na krwinki i niedopuszczenie do bezpłciowego namnażania zarodźca w ich wnętrzu,
3. szczepionki blokujące transmisję - blokując różnicowanie płciowe niektórych merozoitów pod koniec stadium erytrocytarnego, powstrzymują rozprzestrzenianie się choroby z ludzi na komary [18,19].

Na załączonej rycinie (rycina 2.) schematycznie zobrazowane zostały rodzaje szczepionek i etap cyklu rozwojowego, na który działają. Ze względu na największą skuteczność i niedawne dopuszczenie do użytku szczepionek zapobiegających zakażeniu w preerytrocytarnym stadium, zostaną one omówione w dalszej części pracy.

W roku 2021 do użytku dopuszczona przez WHO została pierwsza szczepionka przeciw malarii - RTS,S/AS01, dzięki dalszym pracom dopuszczono również najnowszą szczepionkę R21/Matrix-M w 2023r, co jest znacznym postępowaniem, gdyż prace nad nimi trwały już od wielu lat.



Rycina 2. Rodzaje szczepionek przeciwmalarycznych i etap cyklu rozwojowego zarodźca, na który działają [18]

RTS,S/AS01

Prace nad szczepionką RTS,S/AS01 trwały od roku 1987 w Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) we współpracy z GlaxoSmithKline (GSK). Do powszechnego stosowania została dopuszczona w 2021 roku jako pierwsza szczepionka przeciw malarii. W tworzeniu szczepionki Mosquirix™, podobnie jak w diagnostyce molekularnej, wykorzystano białko CS - antygen na powierzchni sporozycytów zarodźca. Uzyskanie RTS/S polega na połączeniu ze sobą centralnego regionu powtórzeń białka CS (R) z epitopem limfocytów T (T) oraz antygenem HBs wirusa WZW typu B (S). Białka powierzchniowe HBs służą w tej sytuacji jako nośnik antygenów pasożyta. Druga litera S odnosi się do spontanicznie

łączącego się z powstałym kompleksem nadmiaru cząsteczek HBsAg. Takie połączenie uzyskuje się po ekspresji genów poszczególnych składowych w genetycznie zmodyfikowanych komórkach drożdży *S. cerevisiae* [17,19,20]. Tak połączone antygeny dają cząstki analogiczne do wirusa – VLPs (ang. *virus-like particles*), prezentujące układowi odpornościowemu człowieka białka sporozoitów zarodźca. Spośród wielu testowanych adjuwantów najwyższą skuteczność wykazał AS01 składający się z monofosforylolipidu A, ekstraktu z mydłodrzewu właściwego oraz liposomów [17,21].

W latach 2009-2011 przeprowadzono badanie w 11 krajach Afryki Subsaharyjskiej na 8922 dzieciach w wieku 5-17 miesięcy oraz 6537 niemowląt w wieku 6-12 tygodni. Losowo przydzieleni do trzech grup uczestnicy dostali: 1. grupa - 3 dawki RTS,S/AS01 w 0., 1. i 2. miesiącu oraz dawkę przypominającą w 20. miesiącu, 2. grupa - 3 dawki RTS,S/AS01 w 0., 1. i 2. miesiącu oraz szczepionkę porównawczą w 20. miesiącu, 3. grupa - 4 dawki szczepionki porównawczej w 0., 1., 2. i 20. miesiącu badania. Uczestnicy byli pod kontrolą do 2014 roku. W raporcie trwającej jeszcze wtedy 3. fazy badań w grupie dzieci 5-17 miesięcy odnotowano ogólną skuteczność szczepionki na poziomie 46% (0,69 przypadków malarii klinicznej na osoborok w grupie przyjmującej RTS,S/AS01 i 1,17/osoborok w grupie kontrolnej). Z rozbiciem na kolejne okresy kilkumiesięczne skuteczność przedstawiała się w sposób następujący: w miesiącach 1-6 od szczepienia - 68%, 41% w miesiącach 7-12 i 26% w miesiącach 13-18 po przyjęciu 3. dawki szczepionki. W grupie niemowląt szczepionych RTS,S/AS01 przypadków malarii klinicznej było 0,71/osoborok i 0,92/osoborok w grupie kontrolnej co daje skuteczność szczepionki na poziomie 27%. W okresie 1-6 miesięcy skuteczność plasowała się około 47%, 23% w 7-12 mies. i 12% w miesiącach 13-18 [22]. Końcowe wnioski z raportu z roku 2015, po zakończeniu fazy 3. badań klinicznych, sugerują, że szczepionka RTS,S/AS01 jest skuteczna i zmniejsza ilość hospitalizacji, przypadków ciężkiej niedokrwistości i konieczności transfuzji. Dłuższą i jeszcze skuteczniejszą ochronę uzyskać można dzięki podanej dawce przypominającej [23].

W 2022 roku badacze porównali ze sobą dwie grupy 5920 dzieci w Burkina Faso i Mali podzielonych na dwie podgrupy, tę która otrzymała zarówno szczepienie RTS,S/AS01 i chemioprotekcję sezonową (SMC - *seasonal malaria chemoprevention*) oraz drugą, która przyjmowała wyłącznie SMC. Ochrona zapewniona przez szczepionkę w ciągu 6 miesięcy od podania dawki podstawowej i dwóch sezonowych przypominających wynosiła około 60% i co ważne, utrzymywała się na wysokim poziomie przez cały sezon wysokiej zakaźności malarii. Po 6 miesiącach

skuteczność zaczęła spadać. Ochrona zapewniona przez SMC wynosiła około 90% przez 2-3 tygodnie po podaniu i zaczęła spadać po 21 dniach od podania. Wydaje się, że połączenie ze sobą opisanych wyżej metod może zapewnić wysoką skuteczność prewencji zachorowań na malarię w krajach o wysokim ryzyku [24]. Inne badań również wykazały skuteczność szczepionki RTS,S/AS01 w ochronie przed kliniczną malarią i jej poważnymi skutkami [17,25-27].

Raport z programu wdrażania szczepionki przeciwko malarii (MVIP - *Malaria Vaccine Implementation Programme*) podsumowuje informacje zdobyte po 24 miesiącach programu pilotażowego. Został on wprowadzony w trzech krajach Afryki Subsaharyjskiej: Malawi, Kenii i Ghanie. Od 2019 r. ponad 2 miliony dzieci przyjęły szczepionkę RTS,S/AS01. Na obszarach objętych badaniem, szczepienia za pomocą RTS,S/AS01 zostały włączone do działającego już Rozszerzonego Programu Szczepień. W Ghanie i Kenii kolejne dawki podawane były w 6., 7., 9. i 24. miesiącu życia, natomiast w Malawi wybrano schemat szczepienia w 5., 6., 7. i 22. miesiącu życia. Ryzyko związane ze szczepieniem, jakie znalazło się w raporcie WHO, obejmuje wystąpienie drgawek gorączkowych. Przesłanki o przypadkach zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i większej śmiertelności dziewcząt nie zostały potwierdzone a badania nie wykazują związku przyczynowego ze szczepieniem. Przyjęto, że zastosowanie czterodawkowej szczepionki jest bezpieczne i przynosi korzyści związane ze zmniejszeniem ilości przypadków ciężkiej malarii. U dzieci, które otrzymały 3 dawki, nastąpiło początkowe zmniejszenie częstości występowania ciężkiej malarii, które następnie zostało zrównoważone wzrostem częstości jej występowania około 18 miesięcy po pierwszym cyklu szczepienia. W związku z tym, ważnym tematem do poruszenia była realna możliwość dotarcia do wszystkich dzieci, nie pomijając 4. dawki szczepienia w wieku około 2 lat, przez system opieki zdrowotnej i wykorzystanie potencjału tego rodzaju profilaktyki. Wdrożenie szczepionki spowodowało znaczny spadek śmiertelności oraz zmniejszenie liczby hospitalizacji z powodu ciężkiej malarii. Zaleca się podawanie RTS,S/AS01 w co najmniej czterech dawkach w celu ograniczenia choroby u dzieci od 5. miesiąca życia, mieszkających w krajach Afryki Subsaharyjskiej [28].

R21/Matrix-M

Drugą szczepionką niedawno zatwierdzoną przez WHO do powszechnego stosowania jest R21/Matrix-M (R21/MM). Opracowana została przez Instytut Jennera Uniwersytetu Oksfordzkiego oraz Serum Institute w Indiach.

Zarejestrowana jest aktualnie w 3 krajach Afryki: Ghanie, Nigerii, Burkinie Faso. Podobnie jak RTS,S/AS01, nowa szczepionka również działa w fazie preerytrocytarnej zakażenia *P. falciparum*. Także zbudowana jest z cząsteczek HBsAg połączonych z centralnymi regionami powtórzeń białka okołosporozotowego CSP. Nie zawiera jednak nadmiaru wolnych cząsteczek antygenów HBs, dzięki czemu epitopy CSP uzyskują większe zagęszczenie na jednej cząsteczce VLP i wykazują większą skuteczność. Dzięki temu uzyskano większe stężenie antygeny pobudzającego układ immunologiczny do wytwarzania odporności w mniejszej dawce szczepionki podawanej pacjentom [29,30]. Kluczowy w kwestii skuteczności R21/MM jest zastosowany system adjuwantowy. Badania przedkliniczne wskazały bowiem system Matrix-M jako najskuteczniejszy. Zbudowany jest on z dwóch frakcji saponin, połączonych z cholesterolem i fosfolipidami [31,32]. Jego zaletą jest to, że został już przetestowany w kilku szczepionkach, w tym przeciwko wirusowi Ebola, grypy czy COVID-19 i wykazał swoją skuteczność oraz bezpieczeństwo działania [29]. Dzięki swojej budowie oraz zastosowanemu systemowi adjuwantowemu możliwe było zmniejszenie dawki antygeny zawartego w szczepionce R21-MM do 5 µg. Spowodowało to znaczny spadek kosztów jej produkcji, co jest ważnym aspektem w dążeniu do zastosowania szczepionki na masową skalę w krajach afrykańskich [33]. Dawki 10 µg R21/MM indukowały takie same miana przeciwciał jak 50 µg RTS,S/AS01 a odpowiedź humoralna organizmu na R21/MM również była większa pomimo mniejszej dawki [34].

W 2019 roku w Burkinie Faso przeprowadzono badanie fazy 2b na 450 dzieciach w wieku od 5 do 17 miesięcy. Przyporządkowane do trzech grup otrzymały: pierwsza grupa 5 µg R21 z 25 µg MM, druga - 5 µg R21 z 50 µg MM oraz grupa trzecia - kontrolna, otrzymała szczepionkę przeciwko wścieklicznie (Rabivax-S). Trzy dawki podawane były w czterotygodniowych odstępach a dawka przypominająca po roku. Preparat R21-MM wykazał korzystny profil bezpieczeństwa i był dobrze tolerowany. Działania niepożądane były łagodne, najczęściej objawiały się gorączką. Skuteczność szczepionki po 6 miesiącach wyniosła 74% w grupie 1 i 77% w grupie 2. Po jednym roku skuteczność szczepionki pozostawała wysoka i wyniosła 77% w grupie 1. Miana przeciwciał uzyskanych dzięki szczepionce spadły w ciągu roku, ale wzrosły do podobnych poziomów po dawce przypominającej podanej rok później [35]. Bezpieczeństwo, skuteczność i korelację szczepienia z immunogennością oceniano przez kolejny rok po podaniu dawki przypominającej. W 2020 roku 409 dzieci otrzymało 4. dawkę tego samego preparatu, który wykorzystany był do pierwszej serii szczepienia rok wcześniej w zależności od grupy, do której zostały przypisane. Skuteczność szczepionki na

poziomie 80% pozostawała najwyższa w grupie, która otrzymała R21 z wyższą dawką adjuwantu (50µg MM), w grupie otrzymującej mniejszą dawkę adjuwantu (25 µg MM) wynosiła ona 71% [33].

Badanie 3. fazy rozpoczęte w 2021 roku w trzech krajach afrykańskich (Burkina Faso, Mali, Tanzania) objęło 4800 dzieci w wieku 5-36 miesięcy. Zdecydowano się na dwa schematy podawania: w Mali i Burkinie Faso, gdzie transmisja zarodźca jest sezonowo wyższa, 1600 dzieci otrzymało szczepienie zgodnie z sezonowym schematem podawania tj. od kwietnia do czerwca w czterotygodniowych odstępach oraz dawkę przypominającą po roku, natomiast 800 dzieci otrzymało szczepionkę przeciw wścieklicznie (Abhayrab). Druga grupa 1600 dzieci w Burkinie Faso, Kenii i Tanzanii ze stale niską/średnią transmisją malarii otrzymała 3 dawki zgodnie ze standardowym schematem (podawane o każdej porze roku) i dawkę przypominającą po roku, 800 pacjentom podano tę samą szczepionkę kontrolną. Po wykazaniu skuteczności R21/MM z wyższą dawką adjuwantu w poprzednim badaniu klinicznym, zdecydowano się na podawanie 5 µg R21 z 50 µg Matrix-M. Kolejnym celem, realizowanym przez aktualne badanie, jest wykazanie różnic w skuteczności szczepionki w zależności od schematu podawania. Mimo że nie potwierdzono jeszcze znaczących różnic między opisanymi wyżej dwoma grupami, widoczny jest trend wyższej skuteczności R21/MM podawanej w schemacie sezonowym. Pierwotna analiza skuteczności szczepienia przeciwko malarii klinicznej oceniana po roku wynosiła 75% w ośrodkach ze schematem sezonowym i 67% w ośrodkach ze schematem standardowym. Nie była to jednak istotna różnica. Badanych podzielono na dwie grupy pod względem wieku - 5-17 mies. oraz 18-36 mies. Zaobserwowano wyższą skuteczność w grupie młodszych dzieci (78%) niż u dzieci starszych (70%). Jest to korzystne zjawisko ze względu na chęć ochrony najmłodszych dzieci w szczytowym momencie ryzyka zgonu z powodu malarii w wieku jednego roku. Niemniej ocena skuteczności R21 w grupie starszych dzieci również jest potrzebna. Trwające badanie trzeciej fazy, po zakończeniu dostarczy nam dalszych wniosków [30,36,37].

PODSUMOWANIE

Po wielu latach poszukiwań skutecznej profilaktyki malarii, choroby pochłaniającej setki tysięcy istnień każdego roku, powodującej ciężką chorobę u milionów pacjentów, naukowcom udało się stworzyć bezpieczne i skuteczne szczepionki przeciwmalaryczne. Mosquirix™ i R21/Matrix-M™ są przełomem

w profilaktyce malarii. Kolejne badania nad szczepionkami przeciwmalarycznymi powinny być prowadzone w celu uzyskania większej ilości skutecznych i bezpiecznych możliwości profilaktyki malarii. Należy również położyć duży nacisk na konieczność zapewnienia szerokiego dostępu do szczepionki dla wszystkich pacjentów na terenach, gdzie malaria stanowi zagrożenie dla zdrowia.

REFERENCJE

- [1] Stanley J. Malaria. *Emerg Med Clin North Am.* 1997;15(1):113-155. doi:10.1016/s0733-8627(05)70288-1
- [2] Bria YP, Yeh CH, Bedingfield S. Significant symptoms and nonsymptom-related factors for malaria diagnosis in endemic regions of Indonesia. *Int J Infect Dis.* 2021;103:194-200. doi:10.1016/j.ijid.2020.11.177.
- [3] Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K. Malaria: Biology and Disease. *Cell.* 2016;167(3):610-624. doi:10.1016/j.cell.2016.07.055
- [4] Basu S, Sahi PK. Malaria: An Update. *Indian J Pediatr.* 2017;84(7):521-528. doi:10.1007/s12098-017-2332-2
- [5] Malaria. [www.mp.pl](http://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.18.153.1.6). Accessed May 5, 2024. <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.18.153.1.6>.
- [6] Garcia LS. Malaria. *Clin Lab Med.* 2010;30(1):93-129. doi:10.1016/j.cll.2009.10.001
- [7] World Health Organization. World Malaria Report 2023. www.who.int. Published 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240086173>
- [8] Laurens MB. Novel malaria vaccines. *Hum Vaccin Immunother.* 2021;17(11):4549-4552. doi:10.1080/21645515.2021.1947762
- [9] Song X, Wei W, Cheng W, et al. Cerebral malaria induced by plasmodium falciparum: clinical features, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:939532. Published 2022 Jul 25. doi:10.3389/fcimb.2022.939532
- [10] Heller LE, Roepe PD. Artemisinin-Based Antimalarial Drug Therapy: Molecular Pharmacology and Evolving Resistance. *Trop Med Infect Dis.* 2019;4(2):89. Published 2019 Jun 4. doi:10.3390/tropicalmed4020089

- [11] Kano S. Artemisinin-based combination therapies and their introduction in Japan. *J Infect Chemother.* 2010;16(6):375-382. doi:10.1007/s10156-010-0077-1
- [12] Davis TM, Karunajeewa HA, Ilett KF. Artemisinin-based combination therapies for uncomplicated malaria. *Med J Aust.* 2005;182(4):181-185. doi:10.5694/j.1326-5377.2005.tb06650.x
- [13] Maiga FO, Wele M, Toure SM, et al. Artemisinin-based combination therapy for uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Mali: a systematic review and meta-analysis. *Malar J.* 2021;20(1):356. Published 2021 Aug 30. doi:10.1186/s12936-021-03890-0
- [14] Fatunla OAT, Olatunya OS, Ogundare EO, et al. Malaria prevention practices and malaria prevalence among children living in a rural community in Southwest Nigeria. *J Infect Dev Ctries.* 2022;16(2):352-361. Published 2022 Feb 28. doi:10.3855/jidc.14894
- [15] Yakob L, Cameron M, Lines J. Combining indoor and outdoor methods for controlling malaria vectors: an ecological model of endectocide-treated livestock and insecticidal bed nets. *Malar J.* 2017;16(1):114. Published 2017 Mar 13. doi:10.1186/s12936-017-1748-5
- [16] El-Moamly AA, El-Sweify MA. Malaria vaccines: the 60-year journey of hope and final success-lessons learned and future prospects. *Trop Med Health.* 2023;51(1):29. Published 2023 May 17. doi:10.1186/s41182-023-00516-w
- [17] Nadeem AY, Shehzad A, Islam SU, Al-Suhaimi EA, Lee YS. Mosquirix™ RTS, S/AS01 Vaccine Development, Immunogenicity, and Efficacy. *Vaccines (Basel).* 2022;10(5):713. Published 2022 Apr 30. doi:10.3390/vaccines10050713
- [18] Duffy PE, Patrick Gorres J. Malaria vaccines since 2000: progress, priorities, products. *NPJ Vaccines.* 2020;5(1):48. Published 2020 Jun 9. doi:10.1038/s41541-020-0196-3
- [19] Arora N, C Anbalagan L, Pannu AK. Towards Eradication of Malaria: Is the WHO's RTS,S/AS01 Vaccination Effective Enough?. *Risk Manag Healthc Policy.* 2021;14:1033-1039. Published 2021 Mar 12. doi:10.2147/RMHP.S219294

- [20] Cohen J, Nussenzweig V, Nussenzweig R, Vekemans J, Leach A. From the circumsporozoite protein to the RTS, S/AS candidate vaccine. *Hum Vaccin*. 2010;6(1):90-96. doi:10.4161/hv.6.1.9677
- [21] Lell B, Agnandji S, von Glasenapp I, et al. A randomized trial assessing the safety and immunogenicity of AS01 and AS02 adjuvanted RTS,S malaria vaccine candidates in children in Gabon. *PLoS One*. 2009;4(10):e7611. Published 2009 Oct 27. doi:10.1371/journal.pone.0007611
- [22] RTS,S Clinical Trials Partnership. Efficacy and safety of the RTS,S/AS01 malaria vaccine during 18 months after vaccination: a phase 3 randomized, controlled trial in children and young infants at 11 African sites. *PLoS Med*. 2014;11(7):e1001685. Published 2014 Jul 29. doi:10.1371/journal.pmed.1001685
- [23] RTS,S Clinical Trials Partnership. Efficacy and safety of RTS,S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomised, controlled trial [published correction appears in *Lancet*. 2015 Jul 4;386(9988):30]. *Lancet*. 2015;386(9988):31-45. doi:10.1016/S0140-6736(15)60721-8
- [24] Cairns M, Barry A, Zongo I, et al. The duration of protection against clinical malaria provided by the combination of seasonal RTS,S/AS01E vaccination and seasonal malaria chemoprevention versus either intervention given alone. *BMC Med*. 2022;20(1):352. Published 2022 Oct 7. doi:10.1186/s12916-022-02536-5
- [25] Samuels AM, Ansong D, Kariuki SK, et al. Efficacy of RTS,S/AS01E malaria vaccine administered according to different full, fractional, and delayed third or early fourth dose regimens in children aged 5-17 months in Ghana and Kenya: an open-label, phase 2b, randomised controlled trial [published correction appears in *Lancet Infect Dis*. 2022 Sep 9;]. *Lancet Infect Dis*. 2022;22(9):1329-1342. doi:10.1016/S1473-3099(22)00273-0
- [26] Campo JJ, Dobaño C, Sacarlal J, et al. Impact of the RTS,S malaria vaccine candidate on naturally acquired antibody responses to multiple asexual blood stage antigens. *PLoS One*. 2011;6(10):e25779. doi:10.1371/journal.pone.0025779

- [27] Dobaño C, Santano R, Vidal M, et al. Differential Patterns of IgG Subclass Responses to Plasmodium falciparum Antigens in Relation to Malaria Protection and RTS,S Vaccination. *Front Immunol.* 2019;10:439. Published 2019 Mar 15. doi:10.3389/fimmu.2019.00439
- [28] Background Paper Full Evidence Report on the RTS,S/AS01 Malaria Vaccine. [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/mvip/full-evidence-report-on-the-rtss-as01-malaria-vaccine-for-sage-mpag-\(sept2021\).pdf](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/mvip/full-evidence-report-on-the-rtss-as01-malaria-vaccine-for-sage-mpag-(sept2021).pdf)
- [29] Genton B. R21/Matrix-M™ malaria vaccine: a new tool to achieve WHO's goal to eliminate malaria in 30 countries by 2030?. *J Travel Med.* 2023;30(8):taad140. doi:10.1093/jtm/taad140
- [30] Hammershaimb EA, Berry AA. Pre-erythrocytic malaria vaccines: RTS,S, R21, and beyond. *Expert Rev Vaccines.* 2024;23(1):49-52. doi:10.1080/14760584.2023.2292204
- [31] Collins KA, Snaith R, Cottingham MG, Gilbert SC, Hill AVS. Enhancing protective immunity to malaria with a highly immunogenic virus-like particle vaccine. *Sci Rep.* 2017;7:46621. Published 2017 Apr 19. doi:10.1038/srep46621
- [32] Stertman L, Palm AE, Zarnegar B, et al. The Matrix-M™ adjuvant: A critical component of vaccines for the 21st century. *Hum Vaccin Immunother.* 2023;19(1):2189885. doi:10.1080/21645515.2023.2189885
- [33] Dattoo MS, Natama HM, Somé A, et al. Efficacy and immunogenicity of R21/Matrix-M vaccine against clinical malaria after 2 years' follow-up in children in Burkina Faso: a phase 1/2b randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2022;22(12):1728-1736. doi:10.1016/S1473-3099(22)00442-X
- [34] Venkatraman N, Bowyer G, Edwards N, Griffiths O, Powlson J, Silman D, Morter R, Folegatti P, Minassian AM, Poulton I, et al. High level efficacy in humans of a next-generation plasmodium falciparum anti-sporozoite vaccine: r21 in Matrix-M™ adjuvant. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97:594.

-
- [35] Dattoo MS, Natama MH, Somé A, et al. Efficacy of a low-dose candidate malaria vaccine, R21 in adjuvant Matrix-M, with seasonal administration to children in Burkina Faso: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2021;397(10287):1809-1818. doi:10.1016/S0140-6736(21)00943-0
- [36] Dattoo MS, Dicko A, Tinto H, et al. Safety and efficacy of malaria vaccine candidate R21/Matrix-M in African children: a multicentre, double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet*. 2024;403(10426):533-544. doi:10.1016/S0140-6736(23)02511-4
- [37] Aderinto N, Olatunji G, Kokori E, Sikirullahi S, Aboje JE, Ojabo RE. A perspective on Oxford's R21/Matrix-M™ malaria vaccine and the future of global eradication efforts. *Malar J*. 2024;23(1):16. Published 2024 Jan 12. doi:10.1186/s12936-024-04846-w

SZCZEPIONKI PRZECIWIW HPV JAKO INNOWACYJNA SZANSA NA LEPSZĄ PRZYSZŁOŚĆ

**Magdalena Trólka, Wiktoria Ignacy, Aleksandra Zdunek,
Jakub Słota, Jakub Warecki**

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Do dzisiaj, odkryto ponad 200 genotypów wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV). Niektóre z nich charakteryzują się właściwościami onkogennymi. Część genotypów HPV może spowodować pojawienie się łagodnych zmian skórnych – brodawek. Uważa się, że aż 95% przypadków raka szyjki macicy powstaje wskutek infekcji HPV. Podobny związek przyczynowy dotyczy również innych nowotworów, m. in. raka odbytu oraz raka prącia. Sprawia to, że zakażenia HPV stanowią istotne, globalne wyzwanie. Wynalezione niedawno szczepionki przeciw HPV można określić jako innowacyjną szansę współczesnej medycyny. Umożliwiają one uniknięcie choroby nowotworowej. Obecnie, na świecie dostępnych jest sześć takich preparatów, są to: GARDASIL[®], Cervarix[®], GARDASIL 9[®], Cecolin[®], Walrinvax[®], a także Cervavac[®]. Należy jednak pamiętać, że szczepienia nie zastępują rutynowych badań cytologicznych, dlatego warto wdrożyć oba rodzaje profilaktyki – regularne wykonywanie badań oraz szczepienia.

Słowa kluczowe: HPV, rak szyjki macicy, szczepionki

Abstract: To date, more than 200 genotypes of human papilloma virus (HPV) have been discovered. Some of these are characterised by their oncogenic properties. Some HPV genotypes can cause the appearance of benign skin lesions - warts. Up to 95% of cervical cancers are thought to arise from HPV infection. A similar causal relationship also applies to other cancers, including anal cancer and penile cancer. This makes HPV infections a significant global challenge. The recently invented HPV vaccines can be described as an innovative opportunity of modern medicine. They make it possible to avoid cancer. Currently, there are six such preparations available worldwide, they are: GARDASIL[®], Cervarix[®], GARDASIL 9[®], Cecolin[®], Walrinvax[®], and Cervavac[®]. However, it is important to remember that vaccination is not a substitute for routine cytological examinations, so it is worth implementing both types of prevention - regular examinations and vaccination.

Keywords: HPV, cervical cancer, vaccines

WPROWADZENIE

Historia stosowania pierwszych szczepionek sięga bardzo odległych nam czasów. Już w XI wieku w chińskiej literaturze pojawiły się wzmianki o pobieraniu strupów pochodzących od osób chorych na ospę prawdziwą, a następnie wprowadzaniu ich do nosa osób zdrowych w celu uodpornienia się na wymienioną wcześniej chorobę. [1] Kluczowe okazały się badania Edwarda Jennera, który w 1796 roku odkrył pierwszą szczepionkę przeciwko ospie prawdziwej u ludzi. W 1881 roku inny wielki naukowiec, Louis Pasteur zaproponował termin „szczepienie” jako określenie na prewencyjne działanie przeciw chorobom atakującym ludzi i zwierzęta. Na podstawie swoich odkryć Pasteur stworzył hipotezę, w której założył, że patogeny mogą zostać osłabione podczas ekspozycji na niekorzystne czynniki środowiskowe. Udowodnił to w swoich kolejnych pracach dotyczących wąglika, wścieklizny i szczepionkom przeciwko nim. [1, 2] W niniejszej pracy skupimy się na odkrytych stosunkowo niedawno, bo na początku XXI wieku, innowacyjnych szczepionkach przeciwko HPV, które zrewolucjonizowały medycynę, a w szczególności onkologię.

INFORMACJE OGÓLNE O HPV

Niemiecki lekarz, prof. Herald zur Hausen dokonał przełomowego odkrycia wirusa brodawczaka ludzkiego, za co został uhonorowany Nagrodą Nobla w 2008 roku. [3, 4] Opisał zależność pomiędzy występowaniem wymienionego wirusa, a zachorowaniem na raka szyjki macicy. [4]

Wirusy brodawczaka ludzkiego są częścią rodziny papillomawirusów (*Papillomaviridae*). Typowym dla tej rodziny jest wirion o symetrii ikosaedralnej, nieosłonięty otoczką lipidową, mający średnicę 55 nm. Kapsyd tworzą dwa białka strukturalne: 360 kopii białka L1 oraz 12 kopii białka L2 zorganizowanych w 72 kapsomery. [4, 5] Genom jest kolistą cząsteczką dsDNA zbudowaną z od 5748 do 8607 par zasad. Składa się on z trzech regionów. Region wczesny zawiera geny kodujące białka biorące udział m. in. w procesie replikacji i transkrypcji. Region późny obfituje w geny odpowiedzialne za kodowanie wcześniej wymienionych białek L1 i L2. Ostatni z regionów, region górny zawiera miejsce rozpoczęcia replikacji, a także miejsca wiązania wirusowych i komórkowych czynników transkrypcyjnych. [5]

Charakterystyczną cechą HPV jest wykazywanie tropizmu do komórek nabłonka wielowarstwowego błon śluzowych i skóry, który warunkowany jest

poprzez obecność licznych miejsc wiążących czynniki komórkowe. Czynniki te, należą do białek zdolnych do aktywacji lub hamowania transkrypcji genów wirusa w warstwach nabłonka. Często ich aktywność modulowana jest dzięki koaktywatorom, z którymi są związane. [4] Drogą transmisji HPV jest kontakt z zakażoną tkanką, np. w ramach bliskości własnej skóry ze skórą osoby zainfekowanej, czy stosunków płciowych z tą osobą. [6]

TYPY HPV

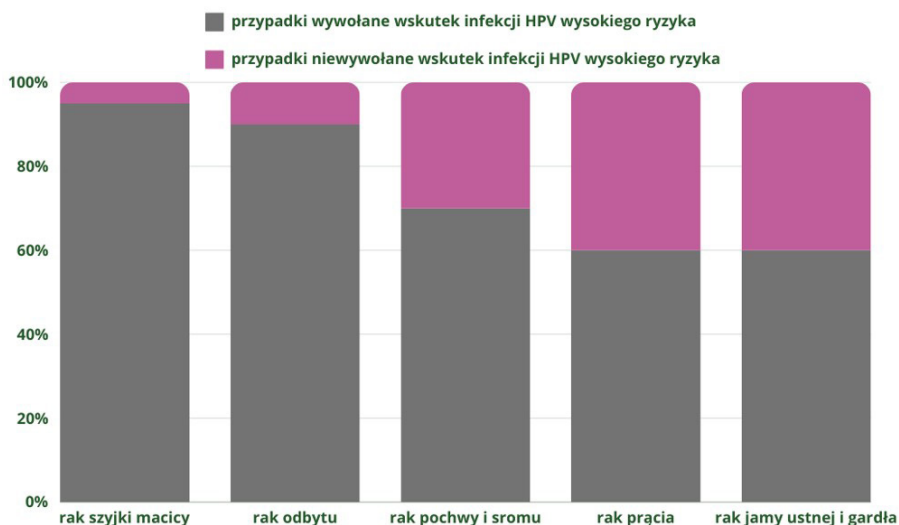
Do dnia dzisiejszego zidentyfikowano ponad 200 genotypów HPV. [6] Stosowany podział typów wirusa HPV opiera się na sile potencjału onkogennego tych wirusów, czyli na wartości prawdopodobieństwa wystąpienia transformacji nowotworowej w wyniku zakażenia. [4] Wyróżnia się wirusy niskiego oraz wysokiego ryzyka. [7]

Wirusy niskiego ryzyka

Wirusy brodawczaka ludzkiego niskiego ryzyka należą do grupy wirusów nieonkogennych. [7] Typy HPV 1, 2, 4, 27, 57 powodują brodawki skórne dłoni i stóp, takie jak *verruca vulgaris* oraz *verruca plantaris*. Kłykciny kończyście, będące brodawkami okolicy płciowo-odbytniczej są objawem infekcji HPV typu 6 i 11. [8] HPV niskiego ryzyka mogą również powodować brodawczaki układu oddechowego oraz niewielkie nieprawidłowości komórek szyjki macicy. [7]

Wirusy wysokiego ryzyka

Zmiany przednowotworowe i nowotworowe szyjki macicy, odbytu, pochwy, sromu, prącia, jamy ustnej i gardła powstają wskutek infekcji HPV wysokiego ryzyka. Dotyczy to ponad 95% wszystkich przypadków raka szyjki macicy. Podobna zależność występuje również w przypadku 90% osób z grupy chorujących na raka odbytu, 70% kobiet cierpiących na raka pochwy i sromu, 60% wszystkich przypadków raka prącia oraz 60% osób zmagających się z rakiem jamy ustnej i gardła (wykres 1.). [7] Typy HPV o najwyższym ryzyku to HPV 16 i 18. Do grupy wirusów wysokiego ryzyka należą także HPV 31, 33, 45, 52 i 58. [7, 8] Warto podkreślić, że zakażenie HPV wysokiego ryzyka uważane jest za najczęstszą infekcję przenoszoną drogą płciową wśród kobiet. [9]



Wykres 1. Na rycinie przedstawiono procentowy rozkład przypadków nowotworów, z których znaczna większość wynika z infekcji HPV wysokiego ryzyka [opracowanie własne], [7]

SZCZEPIONKI PRZECIWIW HPV

Masowe szczepienia populacji przeciwko HPV mogą w znacznym stopniu zmniejszyć zachorowalność na nowotwory powiązane z zakażeniem wspomnianym wcześniej wirusem. Chociaż zauważono już tę zależność w postaci zmniejszenia globalnej zachorowalności na raka szyjki macicy, nie zaobserwowano spadkowej tendencji w zapadalności na raka jamy ustnej i gardła. Jednakże niektóre wyniki prowadzonych obecnie badań naukowych są w tym przypadku obiecujące. [7]

Podstawą wszystkich obecnych na rynku szczepionek przeciw wirusowi brodawczaka ludzkiego jest białko L1 – antygen w postaci niezakaźnych cząstek wirusopodobnych (ang. virus-like particles, VLPs). Po wprowadzeniu szczepionki do organizmu, obecność tego białka doprowadza do indukcji syntezy swoistych przeciwciał. [10] Istotną rozbieżnością pomiędzy różnymi rodzajami szczepionki przeciw HPV jest zastosowanie w nich odmiennych adiuwantów, czyli substancji powodujących nasilenie odpowiedzi immunologicznej na podany antygen. [11]

Podczas badań naukowych nad szczepionkami, które mogłyby posłużyć do zaszczepienia ludzi przeciwko HPV, korzystano z modeli zwierzęcych. Wyizolowano gen odpowiedzialny za ekspresję białka L1 wirusa brodawczaka jamy ustnej psów (ang. canine oral papillomavirus, COPV), który następnie wprowadzono

do organizmów psów rasy beagle. Zaszczepione psy były odporne na eksperymentalne infekcje COPV. Odporność wykazały także psy, którym podano immunoglobuliny – surowicę zawierającą przeciwciała. Następnie powtarzano podobne eksperymenty z udziałem wirusa brodawczaka bydłęcego (BPV-1, BPV-2), wirusem brodawczaka królików (CRPV), oraz zwierząt, które te wirusy infekują. Wspomniane badania udowodniły słuszność koncepcji uzasadniającej opracowanie szczepionek przeciw HPV związanych z obecnością białka L1. [10, 12]

Obecnie dostępnych na świecie jest sześć szczepionek przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego. Są to GARDASIL[®], Cervarix[®], GARDASIL 9[®], Cecolin[®], Walrinvax[®] oraz Cervavac[®]. [10]

GARDASIL[®]

Wśród szczepionek przeciw HPV, pierwszą zatwierdzoną do użytku medycznego była szczepionka GARDASIL[®]. Została zarejestrowana w 2006 roku w Stanach Zjednoczonych przez amerykańską firmę Merck & Co, Inc. [13, 14] W tym samym roku, szczepionka ta, wówczas znana pod nazwą Silgard, pojawiła się w Polsce. [15] Początkowo grupą docelową tej szczepionki były dziewczynki i kobiety w wieku od 9 do 26 lat, ze szczególnym zaleceniem szczepienia dziewcząt w wieku 11 lub 12 lat. W tym okresie, nastolatki są zazwyczaj jeszcze przed rozpoczęciem współżycia seksualnego, co pozwala na podanie szczepionki przed potencjalną ekspozycją na HPV. [13, 16] W 2009 roku wprowadzono nowe wytyczne dotyczące stosowania preparatu GARDASIL[®]. Szczepienie to zalecono osobom obu płci, szczególnie przed rozpoczęciem aktywności seksualnej. [13]

GARDASIL[®] jest szczepionką czterowalentną, skierowaną przeciwko HPV typu 6, 11, 16 i 18. [17, 18] Pojedyncza dawka o objętości 0,5 ml zawiera około: 20 µg białka L1 HPV typu 6, 40 µg białka L1 HPV typu 11, 40 µg białka L1 HPV typu 16 oraz 20 µg białka L1 HPV typu 18. Białka te, występujące w postaci VLPs, pozyskiwane są z komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* CANADE 3C-5 (Szczep 1895) za pomocą technologii rekombinacji DNA. [19] Rolę adiuwanta pełni amorficzny hydroksyfosforanosiarczan glinu, w ilości 225 µg w pojedynczej dawce. [10, 19, 20] W przypadku osób w wieku od 9 do 13 lat zaleca się podanie dwóch dawek GARDASIL[®], w odstępie 6 miesięcy. Jednakże, w sytuacji, gdy podano drugą dawkę przed upływem 6 miesięcy, należy również podać niezbędną, trzecią dawkę. [21] Natomiast, u pacjentów, którzy ukończyli 14 rok życia, stosuje się trzy dawki preparatu, przy czym okres pomiędzy podaniem pierwszej, a drugiej dawki powinien wynosić 2 miesiące oraz pomiędzy

drugą, a trzecią dawką 4 miesiące. Schemat trójdawkowy można wprowadzić również u osób w wieku 9 do 13 lat. [19] Szczepionkę tę, powinno się podawać w formie zastrzyku domięśniowego, z preferencją wprowadzenia preparatu w okolicę mięśnia naramiennego [22, 23] lub w okolicę przednio – boczną uda [24]. Opisujący preparat charakteryzuje się silną immunogennością. Dowodzi temu badanie kliniczne, w którym miesiąc po podaniu trzeciej dawki szczepionki wykryto odpowiedź immunologiczną przeciw HPV u 99,5% spośród grupy badanych kobiet. Przez co najmniej 5 lat od momentu zaszczepienia średnie geometryczne miana przeciwciał osób badanych utrzymywały się na tym samym poziomie lub wyższym w stosunku do średnich geometrycznych mian przeciwciał występujących u osób przyjmujących placebo, lecz naturalnie zakażonych HPV. [25]

Cervarix[®]

Kolejną dostępną szczepionką przeciw HPV, wprowadzoną na rynek w 2007 roku przez firmę GlaxoSmithKline jest Cervarix[®]. Ta dwuwalentna szczepionka, zapobiega powstawaniu zmian nowotworowych wywołanych przez HPV typu 16 i 18. [10, 26] W dawce o objętości 0,5 ml zawarte jest po 20 µg białka L1 HPV typu 16 oraz białka L1 HPV typu 18. Wymienione białka, występujące jako VLPs, pozyskiwane są dzięki technologii rekombinacji DNA z wykorzystaniem bakulowirusowego systemu ekspresji i z zastosowaniem komórek Hi-5 Rix4446 pochodzących z *Trichoplusia ni*, motyla z rodziny sówkwatych. Funkcję adiuwantu stanowi AS04, zawierający w pojedynczej dawce preparatu 50 µg 3-O-deacylo-4'-monofosforylolipidu A (MPL) oraz 0,5 mg wodorotlenku glinu. [27] Szczepionka ta może być wprowadzana w dwóch lub w trzech dawkach w zależności od wieku pacjenta. U osób w wieku od 9 do 14 lat rekomendowane jest podawanie dwóch dawek, z odstępem 6 miesięcy pomiędzy nimi. U pacjentów, którzy ukończyli 15 rok życia stosuje się schemat trzech dawek. Druga dawka powinna nastąpić po miesiącu od podania pierwszej, natomiast trzecia po 5 miesiącach od wstrzyknięcia drugiej. Drogą podania preparatu jest iniekcja do mięśnia naramiennego. Cervarix[®] stosuje się u pacjentów obu płci. [28]

Badania naukowe dowodzą, że wysoki poziom przeciwciał indukowanych przez Cervarix[®] utrzymuje się dłużej niż w przypadku przeciwciał indukowanych przez GARDASIL[®]. Ponadto, pomimo tego, że obie te szczepionki zapobiegają progresji zmian dysplastycznych szyjki macicy, co najmniej 2. stopnia, to

udowodniono, że w tym przypadku Cervarix[®] zapewnia lepszą ochronę przeciw pojawieniu się wymienionych zmian. [29] Cervarix[®], w przeciwieństwie do GARDASIL[®] nie zawiera VLPs nieonkogennych typów HPV – 6 i 11, odpowiedzialnych za powstawanie brodawek okolicy płciowo – odbytniczej. Z tego względu Cervarix[®] nie stanowi swoistej ochrony przeciw występowaniu wspomnianych brodawek. [26].

GARDASIL 9[®]

Po zatwierdzeniu do użytku szczepionki GARDASIL[®] i następnym osiągnięciu przez nią globalnego, farmaceutycznego sukcesu, firma Merck & Co, Inc postanowiła udoskonalić preparat swojego autorstwa. Przedstawicielem drugiej generacji szczepionki GARDASIL[®] jest dziewięciowalentny preparat GARDASIL 9[®]. [30] Zatwierdzony do użytku medycznego w 2014 roku GARDASIL 9[®] szybko przejął funkcję swojego poprzednika, wypierając go z rynku. Dowodzi temu fakt, że obecnie w Polsce jedynymi dostępnymi, bezpłatnymi szczepionkami przeciw HPV w powszechnym programie szczepień są preparaty Cervarix[®] i GARDASIL 9[®]. [31]

Dziewięciowalentny preparat zawiera białka L1 dziewięciu typów HPV, w tym aż siedmiu HPV wysokiego ryzyka. Podobnie, jak w przypadku wcześniejszego preparatu firmy Merck & Co, Inc, wymienione białka występują jako VLPs i pozyskiwane są z komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* CANADE 3C-5 (Szczep 1895) za pomocą technologii rekombinacji DNA. Szczepionki te nie różnią się także rodzajem substancji zastosowanej jako adiuwant, amorficznym hydroksyfosforanosiarczanem glinu, którego ilość w nowszym preparacie zwiększono do 500 µg w pojedynczej dawce. Dawka preparatu, o objętości 0,5 ml zawiera 30 µg białka L1 HPV typu 6, 40 µg białka L1 HPV typu 11, 60 µg białka L1 HPV typu 16, 40 µg białka L1 HPV typu 18 oraz po 20 µg białek L1 HPV typu 31, 33, 45, 52 i 58. [32] Preparat stosowany jest zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. W przypadku młodzieży w wieku od 9 do 14 lat, GARDASIL 9[®] podaje się zgodnie ze schematem dwu- lub trójdawkowym. Pacjenci, którzy ukończyli 15 rok życia, mogą otrzymać preparat w formie trzech dawek. Schemat dwudawkowy opiera się na ponownym wprowadzeniu szczepionki w okresie między piątym, a trzynastym miesiącem od dnia zaszczepienia osoby pierwszą dawką. W przypadku zastosowania trzech dawek, schemat czasowy szczepienia jest identyczny, jak w przypadku GARDASIL[®]. Niezmienne również są rekomendacje odnoszące się do miejsca i sposobu wprowadzenia szczepionki do organizmu. [33]

Cecolin[®]

Eksportowane do Chin szczepionki takie, jak GARDASIL[®], GARDASIL 9[®] i Cervarix[®] występowały na chińskim rynku od 2016 roku. Często ich ilość nie wystarczała, co wiązało się z ich wygórowaną ceną. W celu uzupełnienia popytu, w 2019 roku, chińska firma Xiamen, Inovax Biotechnology, opracowała nową, dwuwalentną szczepionkę przeciw HPV, Cecolin[®]. [34] Niedługo, po otrzymaniu prekwalfikacji WHO, Cecolin[®] został wprowadzony do użytku medycznego także w Bangladeszu, Maroku, Nepalu, Tajlandii, Demokratycznej Republice Konga i Kambodży. [35, 36]

Pojedyncza dawka szczepionki, o objętości 0,5 ml zawiera 40 µg białka L1 HPV typu 16, 20 µg białka L1 HPV typu 18 oraz 208 µg adiuwantu, wodorotlenku glinu. Występujące jako VLPs białka L1 pozyskiwane są za pomocą technologii rekombinacji DNA z wykorzystaniem bakterii, *Escherichia coli*. [37] Cecolin[®] może być stosowany przez dziewczynki i kobiety w wieku od 9 do 45 lat. Dwudawkowy schemat szczepienia, z odstępem 6 miesięcy pomiędzy dawkami zalecany jest u pacjentek w wieku od 9 do 14 lat. Kobiety, które ukończyły 15 rok życia, należy szczepić trzema dawkami preparatu, z zachowaniem miesięcznej przerwy pomiędzy pierwszą, a drugą iniekcją oraz pięciomiesięcznego okresu pomiędzy drugą, a trzecią dawką. [34, 37] W przypadku Cecolin[®], tak jak w sytuacji wcześniej wymienionych preparatów, drogą wprowadzenia szczepionki do organizmu jest iniekcja domięśniowa. [38]

Obecnie, trwają badania, mające na celu wdrożenie nowej, dziewięciowalentnej szczepionki Cecolin 9[®], mającej potencjał na zostanie chińskim zamiennikiem GARDASIL 9[®], gdyż jej zadaniem jest ochrona ludzi przed tymi samymi typami HPV. [36]

Walrinvax[®]

Inną chińską szczepionką, chroniącą kobiety przed skutkami zakażenia HPV jest Walrinvax[®]. Ten stosunkowo nowy preparat, bo powstały w 2022 roku, został opracowany przez naukowców z Shanghai Zerun Biotechnology, spółki zależnej od firmy Walwax Biotechnology. [39]

Dwuwalentny Walrinvax[®] stanowi ochronę przed HPV typu 16 i 18. Dawka preparatu, mająca objętość 0,5 ml, zawiera 40 µg białka L1 HPV typu 16 w formie VLPs, oraz 20 µg białka L1 HPV typu 18 w tej samej postaci. Pozyskane do produkcji szczepionki białka L1 wyizolowane są z drożdży *Pichia pastoris*.

Preparat dopełnia adiuwant – 225 µg fosforanu glinu. [40] Walrinvax[®] adresowany jest do dziewczynek i kobiet w wieku od 9 do 30 lat. W przypadku Walrinvax[®], zasady dotyczące schematu szczepienia i miejsca wprowadzania preparatu nie różnią się od wytycznych przy stosowaniu szczepionki Cecolin[®]. [39] Obecnie firma Walwax Biotechnology oczekuje na poddanie Walrinvax[®] prekwalfikacji przez WHO, aby wkrótce wprowadzić ją na globalny rynek. [41]

Cervavac[®]

Pierwsze szczepienia przeciwko HPV w Indiach wdrożono w 2008 roku. [42] Z powodu wysokich kosztów i ograniczonej dostępności importowanych szczepionek postanowiono rozpocząć badania mające na celu stworzenie nowej, lepiej dostępnej dla Hindusów szczepionki. W 2022 roku naukowcy z Serum Institute of India opracowali preparat Cervavac[®].

Ta czterowalentna szczepionka zawiera białka L1 w postaci VLPs charakterystyczne dla HPV typu 6, 11, 16 i 18. [43] Białka te pozyskiwane są z komórek drożdży *Hansenula polymorpha*. Każda dawka szczepionki, o objętości 0,5 ml, zawiera ≤ 20 µg białka L1 HPV typu 6, ≥ 40 µg białka L1 HPV typu 11, ≥ 40 µg białka L1 HPV typu 16, a także ≥ 20 µg białka L1 HPV typu 18, natomiast wodorotlenek glinu jest substancją pełniącą rolę adiuwantu w Cervavac[®]. [44, 45] Szczepionka ta przeznaczona jest dla osób obu płci w wieku od 9 do 26 lat. Pacjent, który nie ukończył jeszcze 15 roku życia powinien przyjmować szczepionkę w formie dwóch dawek, z sześciomiesięcznym odstępem. Zaleca się, aby młodzież, która ukończyła już 15 rok życia otrzymała szczepionkę w systemie trzech dawek, z odstępem dwóch miesięcy pomiędzy pierwszą i drugą dawką i z kolejną, czteromiesięczną przerwą. Producent preparatu sugeruje wstrzykiwanie szczepionki domięśniowo, w okolicę przednioboczną uda lub w okolicę mięśnia naramiennego. [44]

Wybrane cechy omówionych powyżej szczepionek zebrano i umieszczono w tabeli 1.

Tabela 1. Wybrane cechy omówionych szczepionek, [opracowanie własne]

Nazwa	GARDASIL [*]	Cervarix [*]	GARDASIL 9 [*]	Cecolin [*]	Walrinvax [*]	Cervavac [*]
Producent	Merck & Co, Inc	Glaxo-Smith-Kline	Merck & Co, Inc	Xiamen, Inovax Biotechnology	Walwax Biotechnology	Serum Institute of India
Kraj pochodzenia	USA	USA	USA	Chiny	Chiny	Indie
Rok powstania	2006	2007	2014	2019	2022	2022
Typ szczepionki	4 – walentna	2 – walentna	9 – walentna	2 – walentna	2 – walentna	4 – walentna
Ochrona przed	HPV typu 6, 11, 16, 18	HPV typu 16, 18	HPV typu 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58	HPV typu 16, 18	HPV typu 16, 18	HPV typu 6, 11, 16, 18
Antygen	Białko L1 HPV typu 6, 11, 16, 18	Białko L1 HPV typu 16, 18	Białko L1 HPV typu 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58	Białko L1 HPV typu 16, 18	Białko L1 HPV typu 16, 18	Białko L1 HPV typu 6, 11, 16, 18
Pojedyncza dawka antygeny	Białko L1 HPV 6/11/16/18: 20 µg / 40 µg / 40 µg / 20 µg	Białko L1 HPV 16/18: 20 µg / 20 µg	Białko L1 HPV 6/11/16/18/31/33/45/52/58: 30 µg / 40 µg / 60 µg / 40 µg / 20 µg / 20 µg / 20 µg / 20 µg / 20 µg	Białko L1 HPV 16/18: 40 µg / 20 µg	Białko L1 HPV 16/18: 40 µg / 20 µg	Białko L1 HPV 6/11/16/18: ≤ 20 µg / ≥ 40 µg / ≥ 40 µg / ≥ 20 µg
Adiuwant	amorficzny hydroksy-fosforano-siarczan glinu	AS04	amorficzny hydroksy-fosforano-siarczan glinu	wodrotlenek glinu	fosforan glinu	wodrotlenek glinu
Droga iniekcji	domięśniowa, szczególnie okolica m. naramiennego i przednio-boczna uda	domięśniowa, szczególnie okolica m. naramiennego	domięśniowa, szczególnie okolica m. naramiennego i przednio-boczna uda	domięśniowa	domięśniowa	domięśniowa, szczególnie okolica m. naramiennego i przednio-boczna uda

Płeć pacjenta	K / M	K / M	K / M	K	K	K / M
Dawkowanie	2 dawki (0, 6) / 3 dawki (0, 2, 6)	2 dawki (0, 6) / 3 dawki (0, 1, 6)	2 dawki (0, 5-13) / 3 dawki (0, 2, 6)	2 dawki (0, 6) / 3 dawki (0, 1, 6)	2 dawki (0, 6) / 3 dawki (0, 1, 6)	2 dawki (0, 6) / 3 dawki (0, 2, 6)
System ekspresji białka immunogenu	drożdże <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CANADE 3C-5 (Szczep 1895)	bakulowiru-sowy system ekspresji Hi-5 Rix4446 z motyla <i>Trichoplusia ni</i>	drożdże <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CANADE 3C-5 (Szczep 1895)	bakteria <i>Escherichia coli</i>	drożdże <i>Pischia pastoris</i>	drożdże <i>Hansenula polymorpha</i>

SKUTECZNOŚĆ SZCZEPIONEK PRZECIW HPV

Szczepienie przeciw HPV jest najkorzystniejsze, gdy preparat zostanie podany pacjentowi przed zakażeniem wspomnianym wirusem.

Badania donoszą, że podanie przynajmniej jednej dawki dwuwalentnej szczepionki przeciw HPV, młodym kobietom, które nigdy wcześniej nie były zakażone HPV wykazało skuteczność (ang. vaccine efficacy, VE) 91 – 100 % (95% CI: odpowiednio 64,6% - 86% i 94,2 – 100 %) przeciwko zakażeniom genotypami 16/18 oraz wywołanie odporności krzyżowej przed infekcją genotypami 31/33/35/45/53 i prawdopodobnie 58. Zauważono, że skuteczność preparatu przeciw HPV typu 31 i 45 zmniejszała się wraz z upływem czasu od zaszczepienia, co wskazuje na zmniejszenie odporności krzyżowej. Dodatkowo, w przypadku zakażenia HPV przed otrzymaniem przez osobę preparatu, skuteczność szczepionki przeciwko występowaniu śródnamionkowej neoplazji szyjki macicy 2. stopnia wywoływanej przez zakażenie HPV 16/18 wynosiła 92,9 – 97,4% (95% CI odpowiednio 79,9 – 88,0 % i 98,3 – 99,6%), natomiast skuteczność preparatu przeciwko pojawieniu się śródnamionkowej neoplazji szyjki macicy 3. stopnia wynosiła 87,0 – 94,9% (95% CI odpowiednio 54,9 – 73,7% i 97,7 – 99,4%). [46]

Czterowalentna szczepionka przeciw genotypom HPV 6/11/16/18 to niezwykle skuteczny preparat przeciwko powstawaniu brodawek narządów

płciowych u młodych kobiet, gdzie iloraz szans (odds ratio, OR) wynosił 0,36 (95% CI = 0,26 – 0,51), jak i również u młodych mężczyzn, w których sytuacji OR wynosił 0,69 (95% CI = 0,61 – 0,78). [46, 47] Skuteczność szczepionki przeciwko genotypom 6/11/16/18 3 lata po szczepieniu w badanej populacji podatnej na zakażenie to 100% (95% CI = 94 – 100%). Skuteczność preparatu w przypadku śródnałonkowej neoplazji szyjki macicy 2. oraz 3. stopnia związanych z zakażeniem HPV 6/11/16/18 wynosiła odpowiednio 99% (95% CI = 91 – 100%) oraz 99% (95% CI = 82 – 100%). Omawiany preparat wykazał skuteczność odporności krzyżowej przed HPV typu 31/33/45/52/58, wynoszącą odpowiednio 46%, 29%, 7%, 18% oraz 6%. [46]

Obiektem badań była również skuteczność dziewięciowalentnej szczepionki przeciw HPV typu 6/11/16/18/31/33/45/52/58. Po 6 miesiącach po podaniu wynosiła ona 95,2% (95% CI = 81,4% - 98,4%) w zapobieganiu przetrwałym zakażeniom HPV typu 31/33/45/52/58 w przypadku zakażenia po raz pierwszy oraz 95,8% (95% CI = 87,8% - 98,9%) niezależnie od pierwszego zakażenia HPV. [46] Podczas niedawnych badań wykazano, że indukowane przez tę szczepionkę przeciwciała mają zdolność przechodzenia przez łożysko, co umożliwia potencjalną ochronę dziecka przed zakażeniami HPV 6 i 11. [46, 48]

BEZPIECZEŃSTWO SZCZEPIONEK PRZECIWIW HPV

Podobnie jak w przypadku innych szczepionek, przed dopuszczeniem do obrotu wymienionych wcześniej preparatów, oceniono ich bezpieczeństwo. Jest ono stale nadzorowane na całym świecie. Najczęstszymi zgłaszanymi objawami niepożądanymi po wstrzyknięciu szczepionki były ból i obrzęk w miejscu jej podania. [49, 50] Objawy te zdecydowanie częściej towarzyszyły szczepionce dwuwalentnej i dziewięciowalentnej niż czterowalentnej. [49] Najczęściej zgłaszanymi objawami ogólnoustrojowymi były gorączka, nudności, bóle i zawroty głowy oraz omdlenia. [49, 51] Badania kliniczne nie wykazały różnic w częstości występowania poważnych zdarzeń niepożądanych pomiędzy grupą kontrolną i badawczą. Nie odnotowano zgonów związanych z zaszczepieniem pacjenta wspomnianymi preparatami. [49] Stosowanie szczepionek przeciwko HPV nie jest zalecane w przypadku kobiet ciężarnych. Nie znaleziono jednak dowodów na związek między wadami wrodzonymi płodu lub poronieniem, a otrzymaniem szczepionki przez pacjentkę, chociaż warto zaznaczyć, że dane pochodzące z badań klinicznych są w tym przypadku ograniczone. [50] Nie stwierdzono również powiązania pomiędzy otrzymaniem szczepionki przeciwko HPV, a rozwojem chorób autoimmunologicznych,

żylniej choroby zakrzepowo – zatorowej, czy schorzeń neurologicznych. Bezpieczeństwo opisanych szczepionek, udokumentowane w licznych badaniach, popierane jest przez WHO oraz wiele międzynarodowych i krajowych komitetów do spraw szczepień. Pomimo dostępności wielu danych dotyczących bezpieczeństwa szczepionek przeciw HPV, wciąż istnieją obawy odnoszące się do bezpieczeństwa wymienionych preparatów. Przykładowo, w kwietniu 2013 roku szczepienia przeciwko HPV zostały wprowadzone do rutynowego programu szczepień w Japonii, a zaszczepione osoby zaczęły zgłaszać występujące u nich objawy poszczepienne. W konsekwencji, w czerwcu 2013 roku, program szczepień w Japonii został zawieszony. Pomimo dostępności preparatu, zaprzestano dalszego zalecania szczepionki, co znacznie zmniejszyło ilość pacjentów chętnych do zastosowania tej szczepionki. [49]

SZCZEPIENIA PRZECIW HPV W POLSCE

Współcześnie, programy szczepień przeciw HPV funkcjonują w ponad 100 krajach na świecie. [52] Prowadzony w Polsce powszechny program szczepień przeciw HPV ma na celu ochronę mieszkańców Polski przed potencjalnymi, groźnymi skutkami zakażenia HPV. [53] Narodowa Strategia Onkologiczna na lata 2020-2030 ma za zadanie wprowadzenie programu szczepień przeciw HPV dla nastolatków obu płci i zaszczepienie 60% osób z tej grupy wiekowej do roku 2028. [52] Obecnie, w powszechnym programie szczepień dostępne są 2 preparaty: GARDASIL 9^o i Cervarix^o. [53] Pierwszy z nich dostępny jest bezpłatnie dla pacjentów w wieku 12 – 13 lat w ramach powszechnego programu szczepień oraz odpłatnie dla pozostałych osób. Druga z wymienionych szczepionek jest dostępna bezpłatnie dla młodzieży w wieku 9 – 18 lat, która nie kwalifikuje się do bezpłatnego szczepienia z wykorzystaniem GARDASIL 9^o z racji wieku. Preparat Cervarix^o jest objęty 50% refundacją dla dorosłych. [52, 53] Istotę wprowadzenia powszechnego programu szczepień przeciw HPV podkreśla fakt, że co roku w Polsce rozpoznaje się choroby nowotworowe, którym można było zapobiec wskutek zaszczepienia przeciw HPV około 4,4 tys. kobiet i 1,6 tys. mężczyzn. Dostępne szczepionki mogą potencjalnie zmniejszyć ilość zachorowań na nowotwory powiązane z zakażeniem HPV o 54% (75% w przypadku kobiet i 35% wśród mężczyzn), co mogłoby zmniejszyć ilość nowotworów złośliwych rocznie o 4,6 tysięcy. [54] Działająca w ramach Narodowej Strategii Onkologicznej kampania „Planuję długie życie” ma na celu edukację Polaków na temat zachowań prozdrowotnych oraz nakłonienie Polaków do zmiany swoich postaw

życiowych i zadbania o swoje zdrowie. [55] Jednym z wielu założeń kampanii jest propagowanie szczepień przeciw HPV i zachęcanie do nich Polaków. W ramach kampanii udzielane są odpowiedzi m. in. na temat bezpieczeństwa i skuteczności szczepień, które mogą pomóc podjąć decyzję o szczepieniu siebie i bliskich. [56] Ważnym, profilaktycznym badaniem umożliwiającym szybkie zdiagnozowanie nieprawidłowości wywoływanych przez zakażenie HPV jest cytologia. Ta całkowicie bezbolesna procedura medyczna polega na pobraniu wymazu z szyjki macicy za pomocą szczoteczki. Wymaz podlega następnie badaniu pod mikroskopem. Wczesne wykrycie nieprawidłowości umożliwia wyleczenie raka szyjki macicy u 99% pacjentek. „Profilaktyka raka szyjki macicy” to program umożliwiający kobietom bezpłatne odbycie badania cytologicznego. W programie biorą udział kobiety w wieku 25 – 64 lat, które w ciągu ostatnich 3 lat nie miały wykonywanej cytologii. Następnie w przypadku niepokojącego wyniku badania, lekarz kieruje pacjentkę do dalszej diagnostyki. Natomiast, gdy pacjentka otrzymała wynik prawidłowy, ginekolog zleca kolejne badanie profilaktyczne za 3 lata lub w uzasadnionym przypadku za 12 miesięcy. [57]

PODSUMOWANIE

Nowotwory spowodowane zakażeniem HPV są istotnym, globalnym problemem dzisiejszych czasów. Wprowadzenie na rynek innowacyjnych szczepionek przeciw HPV stało się momentem przełomowym w wielu dziedzinach medycyny, m. in. w onkologii, ginekologii czy urologii. Obecny rozwój profilaktyki umożliwia coraz to większej grupie ludzi odpowiednie zadbanie o własne zdrowie. Dodatkowo, edukacja prozdrowotna wraz z propagowaniem wiedzy medycznej dotyczącej szczepień może wnieść realny wpływ na zdrowie i życie pacjentów.

REFERENCJE

- [1] Plotkin SA. Vaccines: past, present and future. *Nat Med.* 2005;11(S4): S5-S11. doi:10.1038/nm1209
- [2] Pavli A, Maltezos HC. Travel vaccines throughout history. *Travel Medicine and Infectious Disease.* 2022;46:102278. doi:10.1016/j.tmaid.2022.102278
- [3] The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2008. NobelPrize.org. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2008/hausen/facts/>

- [4] Broniarczyk J, Koczorowska M, Durzyńska J, Warowicka A, Goździcka-Józefiak A. Struktura i właściwości wirusa brodawczaka ludzkiego. *Biotechnologia*. 01 2010;3:126-145.
- [5] Van Doorslaer K, Chen Z, Bernard HU, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Papillomaviridae. *Journal of General Virology*. 2018;99(8):989-990. doi:10.1099/jgv.0.001105
- [6] Viveros-Carreño D, Fernandes A, Pareja R. Updates on cervical cancer prevention. *Int J Gynecol Cancer*. 2023;33(3):394-402. doi:10.1136/ijgc-2022-003703
- [7] Roman BR, Aragones A. Epidemiology and incidence of HPV-related cancers of the head and neck. *Journal of Surgical Oncology*. 2021;124(6):920-922. doi:10.1002/jso.26687
- [8] Luria L, Cardoza-Favarato G. Human Papillomavirus. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; January 16, 2023.
- [9] Gizzo S, Noventa M, Nardelli GB. Gardasil administration to hr-HPV-positive women and their partners. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2013;34(9):479-480. doi:10.1016/j.tips.2013.07.001
- [10] Williamson AL. Recent Developments in Human Papillomavirus (HPV) Vaccinology. *Viruses*. 2023;15(7):1440. doi:10.3390/v15071440
- [11] Pinto LA, Dillner J, Beddows S, Unger ER. Immunogenicity of HPV prophylactic vaccines: Serology assays and their use in HPV vaccine evaluation and development. *Vaccine*. 2018;36(32):4792-4799. doi:10.1016/j.vaccine.2017.11.089
- [12] Wiciński M, Leis K, Malinowski B, Węciewicz MM, Grzešk E, Grzešk G. Papillomawirusy : HPV jako czynnik etiologiczny nowotworów głowy i szyi. *Postępy Mikrobiologii*. 2018;57:33–40.
- [13] Markowitz LE, Gee J, Chesson H, Stokley S. Ten Years of Human Papillomavirus Vaccination in the United States. *Academic Pediatrics*. 2018;18(2, Supplement):S3-S10. doi:10.1016/j.acap.2017.09.014
- [14] Markowitz LE, Schiller JT. Human Papillomavirus Vaccines. *The Journal of Infectious Diseases*. 2021;224(Supplement_4):S367-S378. doi:10.1093/infdis/jiaa621

- [15] Bonanni P, Cohet C, Kjaer SK, et al. A summary of the post-licensure surveillance initiatives for GARDASIL/SILGARD®. *Vaccine*. 2010;28(30):4719-4730. doi:10.1016/j.vaccine.2010.04.070
- [16] Markowitz LE, Dunne EF, Saraiya M, et al. Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 2007;56(RR-2):1-24.
- [17] Schiller JT, Castellsagué X, Garland SM. A Review of Clinical Trials of Human Papillomavirus Prophylactic Vaccines. *Vaccine*. 2012;30:F123-F138. doi:10.1016/j.vaccine.2012.04.108
- [18] Tovar JM, Bazaldua OV, Vargas L, Reile E. Human Papillomavirus, Cervical Cancer, and the Vaccines. *Postgraduate Medicine*. 2008;120(2):79-84. doi:10.3810/pgm.2008.07.1794
- [19] https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gardasil-epar-product-information_en.pdf
- [20] Petersen SB, Gluud C. Was amorphous aluminium hydroxyphosphate sulfate adequately evaluated before authorisation in Europe? *BMJ EBM*. 2020;26(6):285-289. doi:10.1136/bmjebm-2020-111419
- [21] https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/gardasil-epar-summary-public_en.pdf
- [22] Giuliano AR, Palefsky JM, Goldstone S, et al. Efficacy of Quadrivalent HPV Vaccine against HPV Infection and Disease in Males. *N Engl J Med*. 2011;364(5):401-411. doi:10.1056/nejmoa0909537
- [23] Shu Y, Yu Y, Ji Y, et al. Immunogenicity and safety of two novel human papillomavirus 4- and 9-valent vaccines in Chinese women aged 20–45 years: A randomized, blinded, controlled with Gardasil (type 6/11/16/18), phase III non-inferiority clinical trial. *Vaccine*. 2022;40(48):6947-6955. doi:10.1016/j.vaccine.2022.10.022
- [24] Verma R, Khanna P. Human papilloma virus vaccines. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2013;9(1):97-99. doi:10.4161/hv.22063
- [25] Shi L, Sings HL, Bryan JT, et al. GARDASIL®: Prophylactic Human Papillomavirus Vaccine Development – From Bench Top to

- Bed-side. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;81(2):259-264. doi:10.1038/sj.clpt.6100055
- [26] Szarewski A. HPV vaccine: Cervarix. *Expert Opinion on Biological Therapy.* 2010;10(3):477-487. doi:10.1517/14712591003601944
- [27] https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cervarix-epar-product-information_en.pdf
- [28] https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/cervarix-epar-summary-public_en.pdf
- [29] Roy V, Jung W, Linde C, et al. Differences in HPV-specific antibody Fc-effector functions following Gardasil® and Cervarix® vaccination. *npj Vaccines.* 2023;8(1). doi:10.1038/s41541-023-00628-8
- [30] Yousefi Z, Aria H, Ghaedrahmati F, et al. An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types, Protection, and Efficacy. *Front Immunol.* 2022;12. doi:10.3389/fimmu.2021.805695
- [31] <https://www.gov.pl/web/zdrowie/o-szczepionce>
- [32] https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gardasil-9-epar-product-information_en.pdf
- [33] https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/gardasil-9-epar-summary-public_en.pdf
- [34] Zou Z, Fairley CK, Ong JJ, et al. Domestic HPV vaccine price and economic returns for cervical cancer prevention in China: a cost-effectiveness analysis. *The Lancet Global Health.* 2020;8(10):e1335-e1344. doi:10.1016/s2214-109x(20)30277-1
- [35] Zhu FC, Zhong GH, Huang WJ, et al. Head-to-head immunogenicity comparison of an Escherichia coli-produced 9-valent human papillomavirus vaccine and Gardasil 9 in women aged 18–26 years in China: a randomised blinded clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases.* 2023;23(11):1313-1322. doi:10.1016/s1473-3099(23)00275-x
- [36] Hu YM, Bi ZF, Zheng Y, et al. Immunogenicity and safety of an Escherichia coli-produced human papillomavirus (types 6/11/16/18/31/33/45/52/58) L1 virus-like-particle vaccine: a phase 2 double-blind, randomized, controlled trial. *Science Bulletin.* 2023;68(20):2448-2455. doi:10.1016/j.scib.2023.09.020

- [37] Yu XJ, Li J, Lin ZJ, et al. Immunogenicity of an Escherichia coli-produced bivalent human papillomavirus vaccine under different vaccination intervals. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2020;16(7):1630-1635. doi:10.1080/21645515.2020.1761202
- [38] <https://extranet.who.int/prequal/vaccines/p/cecolinr>
- [39] Li M, Zhao C, Zhao Y, Li J, Wei L. Immunogenicity, efficacy, and safety of human papillomavirus vaccine: Data from China. *Front Immunol*. 2023;14. doi:10.3389/fimmu.2023.1112750
- [40] <https://en.walvax.com/media/upload/product/Package%20Insert%20of%20HPV2.pdf>
- [41] Zhao XL, Hu SY, Hu JW, et al. Tackling barriers to scale up human papillomavirus vaccination in China: progress and the way forward. *Infect Dis Poverty*. 2023;12(1). doi:10.1186/s40249-023-01136-6
- [42] Aggarwal S, Agarwal P, Singh AK. Human papilloma virus vaccines: A comprehensive narrative review. *Cancer Treatment and Research Communications*. 2023;37:100780. doi:10.1016/j.ctarc.2023.100780
- [43] Sharma H, Parekh S, Pujari P, et al. Immunogenicity and safety of a new quadrivalent HPV vaccine in girls and boys aged 9–14 years versus an established quadrivalent HPV vaccine in women aged 15–26 years in India: a randomised, active-controlled, multicentre, phase 2/3 trial. *The Lancet Oncology*. 2023;24(12):1321-1333. doi:10.1016/s1470-2045(23)00480-1
- [44] https://www.seruminstitute.com/product_ind_cervavac.php
- [45] <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376546/9789240089167-eng.pdf?sequence=1>
- [46] Kamolratanakul S, Pitisuttithum P. Human Papillomavirus Vaccine Efficacy and Effectiveness against Cancer. *Vaccines*. 2021;9(12):1413. doi:10.3390/vaccines9121413
- [47] Lukács A, Máté Z, Farkas N, et al. The quadrivalent HPV vaccine is protective against genital warts: a meta-analysis. *BMC Public Health*. 2020;20(1). doi:10.1186/s12889-020-08753-y
- [48] Garland SM, Kjaer SK, Muñoz N, et al. Impact and Effectiveness of the Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine: A Systematic Review of

- 10 Years of Real-world Experience. *Clin Infect Dis.* 2016;63(4):519-527. doi:10.1093/cid/ciw354
- [49] Illah O, Olaitan A. Updates on HPV Vaccination. *Diagnostics.* 2023;13(2):243. doi:10.3390/diagnostics13020243
- [50] Phillips A, Patel C, Pillsbury A, Brotherton J, Macartney K. Safety of Human Papillomavirus Vaccines: An Updated Review. *Drug Saf.* 2017;41(4):329-346. doi:10.1007/s40264-017-0625-z
- [51] Shimabukuro TT, Su JR, Marquez PL, Mba-Jonas A, Arana JE, Cano MV. Safety of the 9-Valent Human Papillomavirus Vaccine. *Pediatrics.* 2019;144(6). doi:10.1542/peds.2019-1791
- [52] <https://szczepienia.pzh.gov.pl/dla-lekarzy/szczepienia-hpv/programy-szczepien-przeciw-hpv/>
- [53] <https://www.gov.pl/web/zdrowie/hpv>
- [54] <https://abm.gov.pl/download/1/7841/Raport-HPVPLv2.pdf>
- [55] <https://www.gov.pl/web/zdrowie/nowa-odslona-kampanii-planuje-dlugie-zycie>
- [56] <https://planujedlugiezycie.pl/aktualnosci/szczepienia-profilaktyczne-przeciwko-hpv/>
- [57] <https://pacjent.gov.pl/program-profilaktyczny/profilaktyka-rakaszylki-macicy>

LECZNICZE ZASTOSOWANIA I ZAGROŻENIA ZWIĄZANE Z AYAHUASKĄ

Wiktoria Ignacy, Jakub Słota, Aleksandra Zdunek,
Jakub Warecki, Magdalena Trólka

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Psychodeliki, takie jak ayahuasca, badane są jako potencjalne metody leczenia zaburzeń zdrowia psychicznego. Ayahuasca, tradycyjny napój z Ameryki Południowej, wywołuje efekty psychoaktywne poprzez działanie na receptory serotoniny dzięki obecnym w niej alkaloidom β -karbolinowym, które hamują monoaminooksydazę (MAO). DMT działa jako agonista receptorów 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A}, co wywołuje efekty antydepresyjne, przeciwłękowe i halucynogenne. Inhibitory MAO w ayahuasce, takie jak harmina i tetrahydroharmina, umożliwiają przedłużone działanie DMT, a także same mają działanie psychoaktywne i wpływają na uwalnianie serotoniny i dopaminy. Badania pokazują, że ayahuasca może skutecznie redukować objawy depresji i wspomagać leczenie uzależnień, przynosząc pozytywne efekty psychologiczne przy minimalnych skutkach ubocznych, takich jak wymioty i biegunki. Potrzebne są dalsze badania, aby dokładniej określić mechanizmy działania ayahuaski i jej bezpieczne zastosowanie w terapii.

Słowa kluczowe: ayahuasca, badania, depresja, psychodeliki

Abstract: Psychedelics, such as ayahuasca, are being explored as potential treatments for mental health disorders. Ayahuasca, a traditional drink from South America, produces psychoactive effects by acting on serotonin receptors due to the β -carboline alkaloids present in it, which inhibit monoamine oxidase (MAO). DMT acts as an agonist at 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors, which produces antidepressant, anti-anxiety and hallucinogenic effects. MAO inhibitors in ayahuasca, such as harmine and tetrahydroharmine, allow the prolonged effects of DMT and also have psychoactive effects on their own and affect the release of serotonin and dopamine. Studies show that ayahuasca can effectively reduce symptoms of depression and support addiction treatment, producing positive psychological effects with minimal side effects such as vomiting and diarrhoea. Further research is needed to determine more precisely the mechanisms of action of ayahuasca and its safe use in medical treatment.

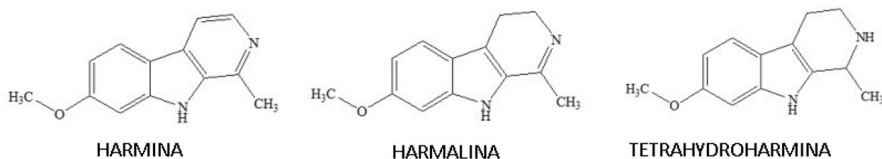
Keywords: ayahuasca, , research, depression, psychedelics

WSTĘP

W XIX i XX wieku psychodeliki stanowiły materiał do badań jako potencjalne środki wspomagające leczenie zaburzeń psychicznych. Badania te zostały zahamowane z powodu zakwalifikowania środków psychodelicznych, jako niemających zastosowań leczniczych, do narkotyków w 1971 roku [1]. Na początku XXI wieku wzrosło zainteresowanie społeczne substancjami psychodelicznymi oraz stopniowo zaczęła wzrastać liczba badań mających na celu wypróbowanie terapii psychodelikami niektórych chorób psychicznych [2]. Psychodeliki zostały również uznane za związki o niskiej toksyczności oraz o małym potencjale uzależniającego. W chwili obecnej chorobami, które są najczęściej badane pod względem leczenia psychodelicznego są depresja, zespół stresu pourazowego (PTSD) oraz zaburzenia związane z nadużywaniem substancji uzależniających. Jedną z takich substancji jest N,N-dimetylotryptamina (DMT), która stanowi główny składnik ayahuaski.

INFORMACJE OGÓLNE O AYAHUASCE

Ayahuasca to napój wywodzący się z Ameryki Południowej, który używany jest jako element rytuałów oraz tradycyjnie jako środek do celów leczniczych. Efekty po spożyciu napoju są zarówno fizjologiczne jak i psychiczne. Często opisywane są stany oderwania umysłu od ciała oraz utraty poczucia czasu i przestrzeni. Dawkowanie ayahuaski jest bardzo indywidualne i zależy między innymi od tolerancji danej osoby [3]. Tradycyjnie napar jest przygotowywany z elementów dwóch roślin - liści *Psychotria viridis* oraz łodygi *Banisteriopsis caapi*, jednak na przestrzeni lat zaczęto używać innych roślin lub analogów syntetycznych [4]. *B. caapi* jest rośliną zawierającą duże ilości alkaloidów β -karbolinowych, takich jak harmina, tetrahydroharmina czy harmalina (Ryc. 1.). Z kolei *P. viridis* zawiera DMT [5].



Rycina 1. Struktury głównych alkaloidów β -karbolinowych [6]

DZIAŁANIE AYAHUASKI I JEJ POSZCZEGÓLNYCH SKŁADNIKÓW

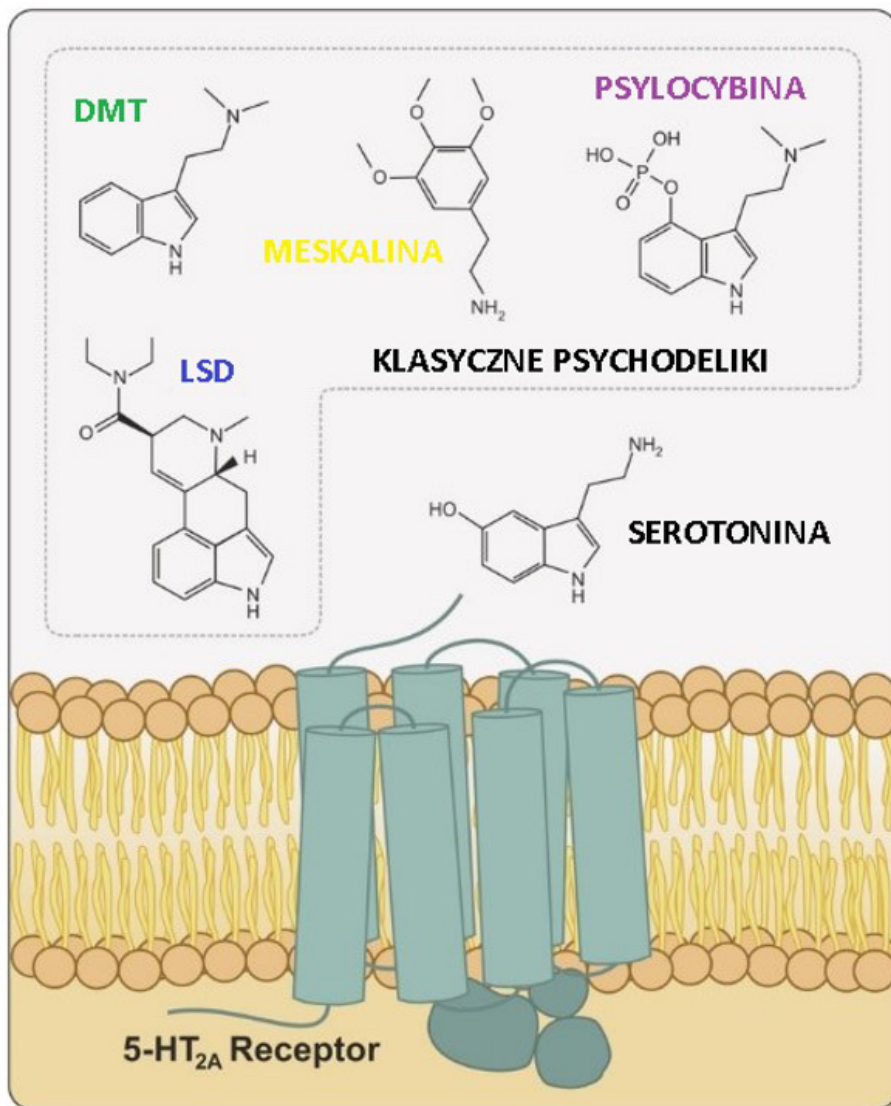
DMT jest agonistą serotoninerгіcznym, działającym głównie na receptory 5-HT, jednak jego podanie doustne nie prowadzi do ich aktywacji, ze względu na rozkład DMT przez oksydazy monoaminowe (MAO). Inhibitory MAO, do których można zaliczyć alkaloidy β -karbolinowe, prowadzą do zmniejszenia intensywnego rozkładu DMT oraz do wywołania przez DMT efektów psychoaktywnych na skutek zwiększonej ilości DMT, która dociera do mózgu [7]. Tetrahydroharmina (THH), będąca alkaloidem β -karbolinowym obecnym w napoju, jest również słabym inhibitorem zwrotnego wchłaniania serotoniny, co prowadzi do jej podwyższonego stężenia w mózgu [8].

Działanie DMT

DMT jest prostą molekułą, która ma charakter hydrofobowy. Pod względem budowy chemicznej jest podobna do niektórych naturalnie występujących cząsteczek w organizmie np. melatoniny czy serotoniny (Ryc.2.). Ma ona również zdolność do pokonywania bariery krew-mózg. DMT ma możliwość wiązania się z pewnymi neuroreceptorami, przez co może wywołać bardzo silną odpowiedź organizmu. Efekty działania N,N-dimetylotryptaminy zależą w dużej mierze od tego w jaki sposób będzie ona dostarczana do organizmu [9].

Podawanie dożylnie powoduje gwałtowne efekty, które są najbardziej intensywne do 5 minut od podania. Efekty te ustają po 30 minutach. Substancja jest szybko rozkładana przez oksydazę monoaminową A (MAO-A) [10]. W związku z intensywnym metabolizmem ilości DMT mierzone zarówno we krwi, jak i w moczu są znikome - wynoszą odpowiednio 1,8% oraz 0,16% dawki podanej [9]. Efekty psychoaktywne i czas działania DMT podanego przez inhalację lub palenie są podobne [11]. Dane na temat efektów tej substancji przez inhalację są znikome. DMT podawane doustnie jest szybko rozkładane przez MAO-A, enzym występujący w jelicie oraz wątrobie. Rozkład ten skutkuje znacznie ograniczonym przedostawaniem się substancji do krwiobiegu [12]. Efekt jaki wywiera DMT jest spowodowany jego interakcjami z receptorami takimi jak 5-HT_{1A} oraz 5-HT_{2A}. Receptory 5-HT_{1A} występują w największej koncentracji w układzie limbicznym i jądrach szwu pnia mózgu. Znajdują się także w korze mózgowej. Opisywane receptory występują jako receptory presynaptyczne oraz postsynaptyczne. Pobudzenie tych receptorów prowadzi do zahamowania produkcji endogennej serotoniny na drodze sprzężenia zwrotnego, czego skutkiem

jest zmniejszone przekąźnictwo w neuronach serotonergicznym [13]. DMT łącząc się z tym typem receptora, działa jako agonista, który wykazuje działanie antydepresyjne oraz przeciwłękowe [14]. Efekt ten jest prawdopodobnie spowodowany zmniejszeniem wrażliwości receptorów 5-HT_{1A} na skutek długotrwałego przyjmowania agonisty serotoniny. Receptory 5-HT_{2A} mają efekt pobudzający, gdzie DMT ponownie działa jako agonista serotoniny [9]. Efekty halucynogenne są wywoływane przez DMT właśnie za pośrednictwem tego receptora [15, 16].



Rycina 2. Struktura klasycznych psychodelików oraz receptora 5-HT_{2A} [16]

Działanie alkaloidów β -karbolinowych

Harmina oraz harmalina zaliczane są do inhibitorów kompetycyjnych oksydazy monoaminowej, podczas gdy tetrahydroharmina jest inhibitorem wychwytu zwrotnego serotoniny. Po zażyciu alkaloidów β -karbolinowych bez dodatku DMT można również doświadczyć efektów halucynogennych na skutek wiązania się z receptorami 5-HT_{2A} [17]. W innym mechanizmie działania harminy, harmaliny oraz THH zakłada się ich stymulujące działanie na uwalnianie dopaminy [18]. W związku z tym, że substancje te mogą powodować zwiększone uwalnianie dopaminy, wpływają na szlaki, w których pośredniczy ten neurotransmitter. Zaproponowano również mniej poznany mechanizm działania [19]. Wypuszczenie, że harmina blokuje transporter dopaminy [20], co skutkuje zwiększonym poziomem dopaminy w szczelinie synaptycznej, wpływając w ten sposób na neuroprzekaźnictwo dopaminergiczne [21]. Dodatkowo, harmina jest silnym inhibitorem kinazy 1A regulowanej fosforylacją tyrozyny (DYRK1A), enzymu odpowiedzialnego za modulację transportu błonowego transportera dopaminy, co stanowi dalsze potwierdzenie możliwej roli harminy w prędkości wychwytu zwrotnego dopaminy [22]. Istnieją dowody na to, że związki indukujące czynnik wzrostu tkanki łącznej (CTGF) mogą mieć korzystny wpływ na leczenie choroby zwyrodnieniowej stawów. W badniu zasugerowano, że wiele naturalnych związków, które indukują CTGF w chondrocytach, może być nowymi kandydatami do łagodzenia zmian zwyrodnieniowych chrząstki powstałych w chorobie zwyrodnieniowej stawów. Zidentyfikowano harminę jako induktor CTGF w ludzkich komórkach chondrocytarnych i chondrocytach stawowych z chorobą zwyrodnieniową stawów. Chondroprotektoryjne działanie harminy badano poprzez stymulację TNF α i wykazano, że łagodzi ona indukowany przez TNF α spadek ekspresji CTGF i markerów chrząstki - agrekanu, SOX-9 i COL2 α 1 [23].

BADANIA NAD AYAHUASKĄ

Wiele badań wykorzystujących ayahuascę i jej zastosowania otrzymały podobne efekty, oraz wskazały na minimalne skutki uboczne zażywania tej substancji. Podawana doustnie dawka DMT oscylowała przeciętnie w granicach od 30mg do 120mg, natomiast w przypadku podawania dożylnego lub inhalacji dawki były odpowiednio mniejsze. Podczas przeglądu systematycznego 28 różnych badań u osób spożywających jednorazowo lub długoterminowo ayahuascę nie wykazano psychopatologii ani problemów poznawczych [24]. Sama substancja była

dobrze tolerowana u osób zdrowych oraz wywoływała pozytywne efekty behawioralne oraz psychologiczne (podczas przeprowadzania dwóch oddzielnych badań obserwacyjnych). Poza odnotowanymi wymiotami nie dostrzeżono innych znaczących efektów ubocznych napoju. Należy zwrócić uwagę, że u osób z wcześniej zdiagnozowanymi symptomami psychiatrycznymi lub takowymi występującymi w rodzinie [25] bądź spożywania DMT wraz z innymi substancjami psychodelicznymi, spożycie ayahuaski prowadziło do epizodów psychotycznych lub innych zaburzeń [26]. Obecnie przeprowadzane są liczne badania, które mają na celu stwierdzenie faktycznych efektów terapeutycznych ayahuaski. Jednym z nich jest badanie przeprowadzone na 6 uczestnikach z epizodami depresyjnymi, leczonymi na oddziale psychiatrycznym, gdzie zaobserwowano redukcję objawów depresyjnych do 82% nawet do 21 dni po podaniu ayahuaski. Do pomiarów użyto skalę oceny depresji Hamiltona, skalę oceny depresji Montgomery-Åsberg i podskalę depresji lękowej w krótkiej skali oceny psychiatrycznej [27]. Z kolei inne badanie przeprowadzone na 12 uczestnikach cierpiących na uzależnienia wykazało znaczną poprawę w przypadku uzależnień od alkoholu, kokainy oraz tytoniu, natomiast nie odnotowano znaczącej poprawy w przypadku opiatów. Badanie było prowadzone na grupie aborygenów, a efekty rytuału ayahuaski zbierano przez sześć miesięcy. Obserwacja sugeruje, że rytualny napar może przynosić pozytywne efekty psychologiczne oraz wspomagać w leczeniu uzależnień [28]. Wpływ harminy, substancji o potencjalnych właściwościach antydepresyjnych, na ludzkie neuronalne komórki progenitorowe (hNPC) pochodzące z pluripotencjalnych komórek macierzystych również został poddany badaniu. Harmina zwiększa proliferację hNPC, wykazując inhibicję DYRK1 jako możliwy mechanizm. w hodowlach komórkowych zawierających ponad 90% hNPC, działanie harminy zwiększyło proliferację bez uszkodzenia DNA lub śmierci komórek. Rezultaty te są zgodne z ustaleniami, w których ekspozycja zarodków piskląt na harminę spowodowała silny wzrost liczby komórek mitotycznych w rdzeniu kręgowym. Harmina hamuje DYRK1B i DYRK2, ale skuteczność tego hamowania jest odpowiednio 5- i 50-krotnie niższa w porównaniu do DYRK1A. Wykazano, że DYRK1A bezpośrednio fosforyluje p53 i prowadzi do indukcji genów docelowych p53, osłabiając proliferację ludzkich neuronalnych komórek progenitorowych. Wyniki sugerują, że harmina wykazuje działanie proliferacyjne w ludzkich progenitorach neuronalnych poprzez hamowanie DYRK1A. Wyniki te pozwalają wyjaśnić możliwe mechanizmy stojące za przeciwdepresyjnym działaniem ayahuaski opisywanym u pacjentów [29].

INNE TERAPEUTYCZNE DZIAŁANIA AYAHUASKI

Podczas badań na modelach zwierzęcych wykazano, że harmina może wpływać na poprawę pamięci [30]. Ayahuasca podawana szczurom zdaje się wywoływać zmiany w koncentracji hamującego neurotransmitera – kwasu γ -aminomasłowego (GABA). W hipokampie zauważa się pobudzenie związane ze zmniejszonym uwalnianiem GABA, natomiast w ciele migdałowatym występuje odwrotny efekt, na skutek zwiększonego uwalniania GABA. Działanie to sugeruje modulację kilku szlaków zaangażowanych w pamięć, uczenie się i zachowania emocjonalne [31]. Niektóre przeprowadzane na ludziach badania sugerują, że substancje zawarte w naparze posiadają działanie przeciwzapalne [3]. W jednym z badań można było zaobserwować znaczne obniżenie poziomu białka C-reaktywnego (CRP). Badanie to było częścią randomizowanego, podwójnie ślepego badania z użyciem placebo dotyczącego depresji odpornej na leczenie. Badanie zostało przeprowadzone w Brazylii na uniwersyteckim oddziale psychiatrii. Grupę pacjentów z depresją oporną na leczenie ($n = 28$) tworzyli ochotnicy, którzy wykazywali słabą odpowiedź na co najmniej dwa leki antydepresyjne z różnych klas. Grupa kontrolna zdrowych osób dorosłych ($n = 45$) składała się z uczestników bez aktualnej lub wcześniejszej diagnozy jakiegokolwiek choroby psychiatrycznej. Ochotnikom została podana jednorazowa dawka 1 ml/kg ayahuaski lub placebo. W fazie przed rozpoczęciem leczenia stwierdzono, że pacjenci z depresją oporną na leczenie mieli podwyższony poziom CRP w stosunku do zdrowych osób z grupy kontrolnej. Próbkę krwi zostały pobrane przed leczeniem i 48 godzin po przyjęciu substancji w celu oceny stężeń biomarkeru stanu zapalnego. Zaobserwowano redukcję poziomu CRP zarówno u pacjentów, jak i osób z grupy kontrolnej poddawanych terapii ayahuasą, ale nie u osób przyjmujących placebo. Ponadto u pacjentów redukcja ta była umiarkowanie powiązana z łagodzeniem objawów depresji [32].

EFEKTY UBOCZNE I TOKSYCZNOŚĆ

Efekty uboczne i toksyczność ayahuaski powinny być rozdzielane od efektów, które wynikają z wpływu oddzielnych jej składników na organizm. W czasie interpretacji różnych badań można znaleźć pojedyncze przypadki, gdzie po podaniu ayahuaski nastąpił zgon, jednak należy również wziąć pod uwagę brak niektórych danych medycznych. Podczas analizy przypadku 42-letniego mężczyzny, który nie posiadał historii psychiatrycznej, niezbędna była interwencja medyczna

na skutek psychozy wywołanej użyciem DMT. Pacjent potwierdził jednoczesne długotrwałe używanie konopi indyjskich. Po trzech tygodniach hospitalizacji symptomy ustąpiły i pacjent został wypisany ze szpitala [33]. Najczęstszymi efektami ubocznymi są: biegunka, mdłości czy wymioty [34, 35]. W przypadku harminy odnotowano nudności, wymioty czy odrętwienie ciała, a efekty te wystąpiły głównie przy dożylnym podaniu substancji lub po doustnym podaniu harminy w dużych dawkach. Harmina jak i harmalina najczęściej były powiązane z nieprzyjemnymi doznaniem psychicznymi, odrętwieniem, parestezją czy intensywnymi wymiotami. Odnotowano również problemy ze skupieniem wzroku [36]. Stopień wymiotów koreluje z ilością harmaliny obecnej w ayahuasce [37]. Zarówno wymioty jak i biegunka mogą być efektem dużej ilości serotoniny w układzie pokarmowym [38]. Jedno z badań [39] opisuje wymioty jako skutek drażnienia nerwu błędnego poprzez receptory serotoninowe. Biegunka jest skutkiem zwiększonej motoryki jelit, poprzez stymulację receptorów serotoninowych. Dla stanu zdrowia istotne są wymioty, które często występujące mogą prowadzić do zniszczenia tkanek, bądź do aspiracji treści żołądkowej, co stanowi bezpośredni stan zagrożenia życia. Zażycie większych dawek ayahuaski jest również powiązane ze zwiększonym ciśnieniem krwi oraz pulsu, co może być niebezpieczne w przypadku obecnych wcześniej chorób serca [40]. W jednym z badań dowiedziono, że doustne przyjęcie dawki DMT w ilości 1mg/kg masy ciała, a dożylne w ilości od 0,1-0,2mg/kg masy ciała jest w stanie wywołać ten efekt [41]. W innym badaniu wykazano, wzrost ciśnienia skurczowego o 35 mmHg, a rozkurczowego o 30 mmHg już po 2 minutach od dożylnego podania DMT. Badanie to również odnotowało wzrost tętna o 26 uderzeń na minutę [39]. Skojarzenie ze sobą niektórych leków, zwłaszcza selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI), oraz ayahuaski stanowi potencjalne zagrożenie, gdyż może prowadzić do zespołu serotoninowego, będącego stanem zagrożenia życia [42, 43]. Istnieje również możliwość potencjalnej interakcji tyraminy wraz z zawartymi w ayahuasce inhibitorami MAO, co może prowadzić do przełomu nadciśnieniowego [44]. Inne efekty działania ayahuaski to halucynacje, stan podobny do delirium, niepokój emocjonalny, psychoza, a nawet schizofrenia [11].

PODSUMOWANIE

Substancje psychodeliczne nieustannie stanowią źródło debaty odnośnie swoich potencjalnych efektów terapeutycznych jak i skutków ubocznych. Ayahuasca, w której skład wchodzi wiele substancji, jest jednym z mniej zbadanych

dotychczas tematów. Wiele badań sugeruje, że jej użycie może sprzyjać leczeniu dolegliwości natury psychicznej, jednak często badania te są przeprowadzane na małych i selekcyonowanych grupach ludzi. Dodatkowo nie zostało dobrze udokumentowane długoterminowe działanie tej substancji. Istotne jest zwrócenie uwagi na liczne efekty uboczne oraz ewentualne interakcje, które mogą znacznie zmniejszyć szansę użycia tego napoju bądź poszczególnych jego składników do celów leczniczych. Rozważając szersze zastosowanie ayahuaski konieczne jest przeprowadzenie szerszych i powtarzalnych badań na większych grupach.

REFERENCJE

- [1] <https://libr.sejm.gov.pl/tek01/txt/onz/1971a.html>
- [2] López E, Yngwe H, Beckman M, Tiger M, Hieronymus F, Lundberg J. Psykedelisk psykiatri det finns anledning att vara optimistisk [Psychedelic psychiatry]. *Lakartidningen*. 2024;121:23195. Published 2024 Apr 4.
- [3] Nižnanský L, Nižnanská Ž, Kuruc R, Szórádová A, Šikuta J, Zummerová A. Ayahuasca as a Decoction Applied to Human: Analytical Methods, Pharmacology and Potential Toxic Effects. *J Clin Med*. 2022;11(4):1147. Published 2022 Feb 21. doi:10.3390/jcm11041147
- [4] Gonçalves J, Luís Â, Gradillas A, et al. Ayahuasca Beverages: Phytochemical Analysis and Biological Properties. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(11):731. Published 2020 Oct 24. doi:10.3390/antibiotics9110731
- [5] Dos Santos RG, Osório FL, Crippa JA, Hallak JE. Antidepressive and anxiolytic effects of ayahuasca: a systematic literature review of animal and human studies. *Braz J Psychiatry*. 2016;38(1):65-72. doi:10.1590/1516-4446-2015-1701
- [6] Santos BWL, Moreira DC, Borges TKDS, Caldas ED. Components of *Banisteriopsis caapi*, a Plant Used in the Preparation of the Psychoactive Ayahuasca, Induce Anti-Inflammatory Effects in Microglial Cells. *Molecules*. 2022;27(8):2500. Published 2022 Apr 13. doi:10.3390/molecules27082500

- [7] de Araujo, D. B., Ribeiro, S., Cecchi, G. A., Carvalho, F. M., Sanchez, T. A., Pinto, J. P., de Martinis, B. S., Crippa, J. A., Hallak, J. E., & Santos, A. C. (2012). Seeing with the eyes shut: neural basis of enhanced imagery following Ayahuasca ingestion. *Human brain mapping*, 33(11), 2550–2560. <https://doi.org/10.1002/hbm.21381>
- [8] Airaksinen MM, Svensk H, Tuomisto J, Komulainen H. Tetrahydro-beta-carbolines and corresponding tryptamines: In vitro inhibition of serotonin and dopamine uptake by human blood platelets. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1980;46(4):308-313. doi:10.1111/j.1600-0773.1980.tb02459.x
- [9] Strassman RJ, Qualls CR. Dose-response study of N,N-dimethyltryptamine in humans. I. Neuroendocrine, autonomic, and cardiovascular effects. *Arch Gen Psychiatry*. 1994;51(2):85-97. doi:10.1001/archpsyc.1994.03950020009001
- [10] Barbosa PC, Mizumoto S, Bogenschutz MP, Strassman RJ. Health status of ayahuasca users. *Drug Test Anal*. 2012;4(7-8):601-609. doi:10.1002/dta.1383
- [11] Callaway JC, Brito GS, Neves ES. Phytochemical analyses of *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*. *J Psychoactive Drugs*. 2005;37(2):145-150. doi:10.1080/02791072.2005.10399795
- [12] Riba J, McIlhenny EH, Valle M, Bouso JC, Barker SA. Metabolism and disposition of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids after oral administration of ayahuasca. *Drug Test Anal*. 2012;4(7-8):610-616. doi:10.1002/dta.1344
- [13] Chilmonczyk Z, Bojarski AJ, Pilc A, Sylte I. Functional Selectivity and Antidepressant Activity of Serotonin 1A Receptor Ligands. *Int J Mol Sci*. 2015;16(8):18474-18506. Published 2015 Aug 7. doi:10.3390/ijms160818474
- [14] Domínguez-Clavé E, Soler J, Elices M, et al. Ayahuasca: Pharmacology, neuroscience and therapeutic potential. *Brain Res Bull*. 2016;126(Pt 1):89-101. doi:10.1016/j.brainresbull.2016.03.002

- [15] Aghajanian GK, Marek GJ. Serotonin induces excitatory postsynaptic potentials in apical dendrites of neocortical pyramidal cells. *Neuropharmacology*. 1997;36(4-5):589-599. doi:10.1016/s0028-3908(97)00051-8
- [16] Schetz D, Schetz A, Kocić I. A retrospective analysis of the "Neverending Trip" after administration of a potent full agonist of 5-HT_{2A} receptor - 25I-NBOMe. *Biomed Pharmacother*. 2022;146:112295. doi:10.1016/j.biopha.2021.112295
- [17] Calleja-Conde J, Morales-García JA, Echeverry-Alzate V, Bühler KM, Giné E, López-Moreno JA. Classic psychedelics and alcohol use disorders: A systematic review of human and animal studies. *Addict Biol*. 2022;27(6):e13229. doi:10.1111/adb.13229
- [18] Hamill J, Hallak J, Dursun SM, Baker G. Ayahuasca: Psychological and Physiologic Effects, Pharmacology and Potential Uses in Addiction and Mental Illness. *Curr Neuropharmacol*. 2019;17(2):108-128. doi:10.2174/1570159X16666180125095902
- [19] Drucker G, Raikoff K, Neafsey EJ, Collins MA. Dopamine uptake inhibitory capacities of beta-carboline and 3,4-dihydro-beta-carboline analogs of N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) oxidation products. *Brain Res*. 1990;509(1):125-133. doi:10.1016/0006-8993(90)90318-6
- [20] Yonezawa T, Lee JW, Hibino A, et al. Harmine promotes osteoblast differentiation through bone morphogenetic protein signaling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;409(2):260-265. doi:10.1016/j.bbrc.2011.05.001
- [21] Schmitt KC, Reith ME. Regulation of the dopamine transporter: aspects relevant to psychostimulant drugs of abuse. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1187:316-340. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05148.x
- [22] Brierley DI, Davidson C. Developments in harmine pharmacology-implications for ayahuasca use and drug-dependence treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012;39(2):263-272. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.06.001

- [23] Hara ES, Ono M, Kubota S, et al. Novel chondrogenic and chondroprotective effects of the natural compound harmine. *Biochimie*. 2013;95(2):374-381. doi:10.1016/j.biochi.2012.10.016
- [24] Di Giorgio C, Delmas F, Ollivier E, Elias R, Balansard G, Timon-David P. In vitro activity of the beta-carboline alkaloids harmine, harmine, and harmaline toward parasites of the species *Leishmania infantum*. *Exp Parasitol*. 2004;106(3-4):67-74. doi:10.1016/j.exppara.2004.04.002
- [25] Frison G, Favretto D, Zancanaro F, Fazzin G, Ferrara SD. A case of beta-carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic Sci Int*. 2008;179(2-3):e37-e43. doi:10.1016/j.forsciint.2008.05.003
- [26] Dos Santos RG, Balthazar FM, Bouso JC, Hallak JE. The current state of research on ayahuasca: A systematic review of human studies assessing psychiatric symptoms, neuropsychological functioning, and neuroimaging. *J Psychopharmacol*. 2016;30(12):1230-1247. doi:10.1177/0269881116652578
- [27] Szmulewicz AG, Valerio MP, Smith JM. Switch to mania after ayahuasca consumption in a man with bipolar disorder: a case report. *Int J Bipolar Disord*. 2015;3:4. Published 2015 Feb 24. doi:10.1186/s40345-014-0020-y
- [28] Dos Santos RG, Bouso JC, Hallak JEC. Ayahuasca, dimethyltryptamine, and psychosis: a systematic review of human studies. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2017;7(4):141-157. doi:10.1177/2045125316689030
- [29] Dakic V, Maciel RM, Drummond H, Nascimento JM, Trindade P, Rehen SK. Harmine stimulates proliferation of human neural progenitors. *PeerJ*. 2016;4:e2727. Published 2016 Dec 6. doi:10.7717/peerj.2727
- [30] Osório Fde L, Sanches RF, Macedo LR, et al. Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a preliminary report. *Braz J Psychiatry*. 2015;37(1):13-20. doi:10.1590/1516-4446-2014-1496

- [31] de Castro-Neto EF, da Cunha RH, da Silveira DX, et al. Changes in aminoacidergic and monoaminergic neurotransmission in the hippocampus and amygdala of rats after ayahuasca ingestion. *World J Biol Chem.* 2013;4(4):141-147. doi:10.4331/wjbc.v4.i4.141
- [32] Thomas G, Lucas P, Capler NR, Tupper KW, Martin G. Ayahuasca-assisted therapy for addiction: results from a preliminary observational study in Canada. *Curr Drug Abuse Rev.* 2013;6(1):30-42. doi:10.2174/15733998113099990003
- [33] Dos Santos RG, Hallak JE. Effects of the Natural β -Carboline Alkaloid Harmine, a Main Constituent of Ayahuasca, in Memory and in the Hippocampus: A Systematic Literature Review of Preclinical Studies. *J Psychoactive Drugs.* 2017;49(1):1-10. doi:10.1080/02791072.2016.1260189
- [34] Galvão-Coelho NL, de Menezes Galvão AC, de Almeida RN, et al. Changes in inflammatory biomarkers are related to the antidepressant effects of Ayahuasca. *J Psychopharmacol.* 2020;34(10):1125-1133. doi:10.1177/0269881120936486
- [35] Paterson NE, Darby WC, Sandhu PS. N,N-Dimethyltryptamine-Induced Psychosis. *Clin Neuropharmacol.* 2015;38(4):141-143. doi:10.1097/WNF.0000000000000078
- [36] Schenberg EE, Alexandre JF, Filev R, et al. Acute Biphasic Effects of Ayahuasca. *PLoS One.* 2015;10(9):e0137202. Published 2015 Sep 30. doi:10.1371/journal.pone.0137202
- [37] Callaway JC, McKenna DJ, Grob CS, et al. Pharmacokinetics of Hoasca alkaloids in healthy humans. *J Ethnopharmacol.* 1999;65(3):243-256. doi:10.1016/s0378-8741(98)00168-8
- [38] Moloudizargari M, Mikaili P, Aghajanshakeri S, Asghari MH, Shayegh J. Pharmacological and therapeutic effects of Peganum harmala and its main alkaloids. *Pharmacogn Rev.* 2013;7(14):199-212. doi:10.4103/0973-7847.120524
- [39] Durante Í, Dos Santos RG, Bouso JC, Hallak JE. Risk assessment of ayahuasca use in a religious context: self-reported risk factors and adverse effects. *Braz J Psychiatry.* 2021;43(4):362-369. doi:10.1590/1516-4446-2020-0913

- [40] Dos Santos RG, Bouso JC, Alcázar-Córcoles MÁ, Hallak JEC. Efficacy, tolerability, and safety of serotonergic psychedelics for the management of mood, anxiety, and substance-use disorders: a systematic review of systematic reviews. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2018;11(9):889-902. doi:10.1080/17512433.2018.1511424
- [41] Checkley SA, Murray RM, Oon MC, Rodnight R, Birley JL. A longitudinal study of urinary excretion of N,N,-dimethyltryptamine in psychotic patients. *Br J Psychiatry*. 1980;137:236-239. doi:10.1192/bjp.137.3.236
- [42] Callaway JC, Grob CS. Ayahuasca preparations and serotonin reuptake inhibitors: a potential combination for severe adverse interactions. *J Psychoactive Drugs*. 1998;30(4):367-369. doi:10.1080/02791072.1998.10399712
- [43] Bilhimer MH, Schult RF, Higgs KV, Wiegand TJ, Gorodetsky RM, Acquisto NM. Acute Intoxication following Dimethyltryptamine Ingestion. *Case Rep Emerg Med*. 2018;2018:3452691. Published 2018 Feb 27. doi:10.1155/2018/3452691
- [44] White E, Kennedy T, Ruffell S, Perkins D, Sarris J. Ayahuasca and Dimethyltryptamine Adverse Events and Toxicity Analysis: A Systematic Thematic Review. *Int J Toxicol*. Published online February 16, 2024. doi:10.1177/10915818241230916

PRZESZCZEP MIKROBIOTY JELITA JAKO NOWY SPOSÓB NA WALKĘ Z CUKRZYCĄ TYPU 2.

Gabriela Bołoz, Natalia Kryus, Zofia Koźlicka

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Obecne badania ukazują wyraźny wpływ mikrobioty jelitowej na organizm człowieka, która ma znaczenie nie tylko w rozwoju chorób pokarmowych, ale również metabolicznych. Do tych ostatnich należy diagnozowana u coraz większej liczby osób cukrzyca typu 2 (ang. *type 2 diabetes mellitus* T2DM). Sposoby jej leczenia obejmują farmakoterapię, zwiększenie aktywności fizycznej oraz zastosowanie zbilansowanej diety. W dobie szybko postępującego rozwoju medycyny pojawia się kolejna możliwość: przeszczep mikrobioty jelitowej (ang. *fecal microbiota transplantation* FMT), która jest wygodniejsza i mniej inwazyjna. Odnosi ona znaczną skuteczność w leczeniu infekcji *Clostridium difficile*. Prowadzone są liczne badania nad wykorzystaniem FMT w leczeniu T2DM, które do tej pory przynoszą obiecujące rezultaty. Należy wskazać wśród nich poprawę poziomu stężenia glukozy, zmniejszenie insulinooporności, zredukowanie nadwagi czy lepszy profil lipidowy. Kluczowym etapem terapii jest wybór dawcy z odpowiednią mikrobiotą jelitową. Prace mające na celu udoskonalenie tego doboru koncentrują się na wprowadzeniu nowych technik, metod oraz utworzeniu puli tzw. "super dawców". Warto zauważyć, że przeszczep mikrobioty jelitowej może znaleźć zastosowanie również w leczeniu otyłości, czy insulinooporności. Trudność w przeprowadzeniu skutecznego FMT wynika z ograniczonej znajomości dokładnych szczepów bakterii odpowiedzialnych za rozwój cukrzycy typu 2. Dodatkowo przebieg zabiegu wymaga ujednoczenia oraz ustalenia norm. Niemniej jednak perspektywa korzyści, które można osiągnąć dzięki wykorzystaniu FMT są warte kontynuacji badań.

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 2, choroby metaboliczne, mikrobiota jelitowa, przeszczep mikrobioty jelitowej, transplantacja,

Abstract: Recent research has demonstrated the significant impact of gut microbiota on the human body, affecting the development of not only gastrointestinal but also metabolic diseases. Among the latter is type 2 diabetes mellitus (T2DM), which is being diagnosed in an increasing number of people. Current treatment methods for T2DM include pharmacotherapy, increased physical activity, and a balanced diet. In the era of rapidly advancing medicine, another possibility

emerges: fecal microbiota transplantation (FMT), which is a more convenient and less invasive method. FMT has shown considerable effectiveness in treating *Clostridium difficile* infections, and numerous studies are being conducted on its application in T2DM treatment, which have so far yielded promising results. These include improvements in glucose concentration levels, reduced insulin resistance, weight loss, and a better lipid profile. A crucial stage of the therapy is the selection of a suitable donor with the appropriate gut microbiota. Efforts to improve this selection process focus on introducing new techniques, methods, and creating a pool of so-called "super donors." It is worth noting that FMT can also be used to treat obesity and insulin resistance. The difficulty in performing effective FMT stems from the limited knowledge of the exact bacterial strains responsible for the development of type 2 diabetes. Additionally, the procedure itself requires standardization and establishment of norms. Nevertheless, the potential benefits of FMT warrant further research.

Keywords: fecal microbiota transplantation, gut microbiota, metabolic diseases, transplantation, type 2 diabetes,

WSTĘP

Cukrzyca co roku wykazuje tendencję wzrostową. Według danych Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (IDF) w 2021 roku ilość zdiagnozowanych pacjentów z cukrzycą wynosiła 537 milionów. Do 2030 roku przewidują oni zwiększenie tej liczby do 643 milionów, z kolei już w 2045 roku ma ona dotyczyć 783 milionów osób [1].

Obecnie najpopularniejszą metodą jej leczenia jest stosowanie leków regulujących stężenie glukozy we krwi. Najczęściej wykorzystywanym wśród nich jest metformina, która zmniejsza oporność na działanie insuliny. Poza tym stosowane są również pochodne sulfonomocznika lub inhibitory kotransporterów sodu i glukozy (ang. *sodium-glucose cotransporter type 2 SGLT2*).

Oprócz farmakoterapii poszukiwane są inne sposoby terapii. Jedną z bardziej obiecujących, będącą w fazie badań jest przeszczep mikrobioty jelita.

CUKRZYCA TYPU 2

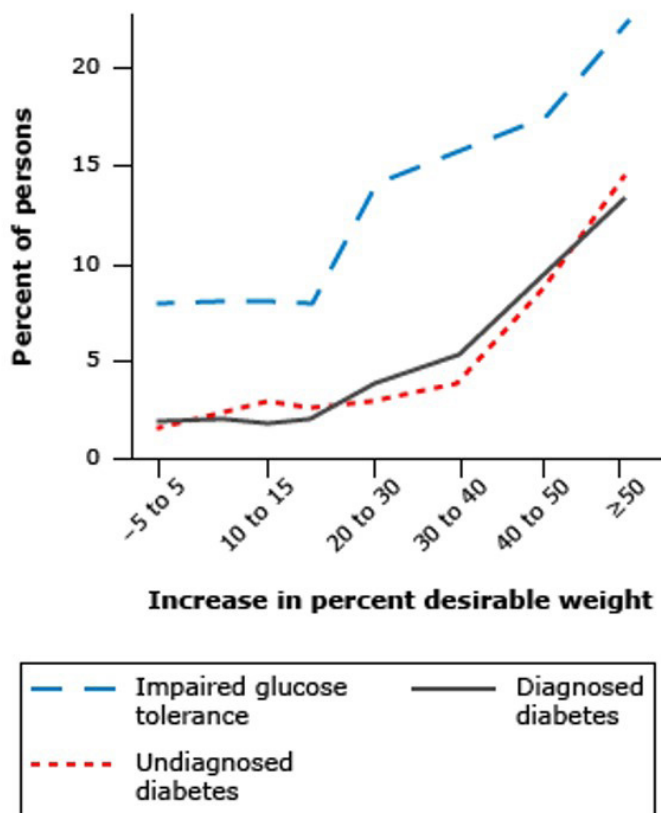
Czynniki wpływające na rozwój cukrzycy

Rozwojowi cukrzycy typu 2 sprzyja między innymi otyłość. Zależność tą ilustrują dane przedstawione na rycinie 1 [2]. Obecnie jest ona coraz częściej spotykaną chorobą przewlekłą, zwłaszcza w Europie i Ameryce Północnej. W 2023 roku problem zbyt wysokiej wagi dotyczył niemalże 10,5% populacji całego świata [3]. Ostatnie dane WHO szacują, że do 2030 roku odsetek ten wzrośnie do

20% [4]. Znane są trzy różne typy otyłości, a każdy z nich w podobnym stopniu może przyczynić się do rozwoju cukrzycy.

Innymi czynnikami sprzyjającymi rozwojowi cukrzycy typu 2 są wiek, rasa oraz wywiad rodzinny [3]. Cukrzyca młodzieży może dotyczyć nawet 1,7 raza częściej kobiet niż mężczyzn. [5]

Znaczący wpływ na rozwój cukrzycy mają przede wszystkim geny. Wyniki badań wskazują, że 31% pacjentów ze zdiagnozowaną cukrzycą typu 2 miało przynajmniej jednego rodzica chorującego [6].



Rycina 1. Zależność między wzrastającą wagą, a zdiagnozowaną cukrzycą [2]

Mechanizm cukrzycy typu 2

Powodem nieprawidłowego stężenia glukozy na czczo (>100 mg/dl) oraz wysokiego stężenia glukozy w osoczu po posiłku (>126 mg/dl) może być uszkodzenie komórek β trzustki [7]. Przyczyną tego jest towarzysząca T2DM insulinooporność. Oporność organizmu na insulinę może wzrastać wraz z wagą lub wiekiem. Innymi powodami braku odpowiedzi tkanek na insulinę mogą być substancje wydzielane przez adipocyty: leptyna, czynnik martwiczy nowotworu, czy adiponektyna [8].

Około 10-15% wydzielanej insuliny jest przekształcane do proinsuliny, a w przypadku osób z T2DM ilość ta wzrasta do 40%. Dysfunkcja wspomnianych komórek β trzustki doprowadza do braku czasu na dojrzewanie w nich ziaren wydzielniczych zawierających proinsulinę. Wskutek tego prekursor insuliny zostaje uwalniany w coraz większych ilościach [9].

Inną przyczyną T2DM może być podwyższone stężenie wysypowego amyloidu polipeptydowego, który wydzielany jest wraz z insuliną z komórek β trzustki [10].

Klasyfikacja T2DM

Istnieją dwie odrębne klasyfikacje dla T2DM. Pierwsza z nich opiera się na wykorzystaniu sześciu parametrów klinicznych. Pod uwagę brane są: wiek, przeciwciała GAD, BMI, hemoglobina glikowana. Na podstawie tej klasyfikacji wyróżniane są 4 podgrupy T2DM:

1. Ciężki niedobór insuliny
2. Ciężka insulinooporność
3. Łagodna, związana z otyłością
4. Łagodna, związana z wiekiem [11]

W drugiej klasyfikacji cukrzycy uwzględniane są czynniki genetyczne. Dzięki temu wyróżniane są grupy zaburzeń genetycznych wpływające na dysfunkcję komórek β trzustki oraz zaburzenia wpływające na insulinooporność [12].

Obecne sposoby leczenia T2DM

Inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego 2

Kotransportery sodowo-glukozowe 2 odpowiadają za reabsorbcję 90% glukozy. Zastosowanie inhibitorów SGLT2 przyczynia się do wydalenia zwiększonej ilości glukozy. Skutkiem tego jest obniżenie hiperglicemii, ciśnienia i objętości krwi. Istnieje kilka rodzajów inhibitorów SGLT2, które dobierane są odpowiednio do pacjenta w zależności od jego potrzeb.

Nie jest zalecane stosowanie ich u pacjentów z cukrzycową kwasicą ketonową. Istnieje ryzyko wystąpienia niepożądanych efektów, a najczęstszym z nich jest infekcja pochwy i sromu oraz hipotensja [13].

Metformina

Stosowana w początkowym etapie leczenia T2DM obniża ciśnienia oraz utrzymuje prawidłową wagę. Poza tym stanowi dobrze tolerowany oraz pozytywnie wpływający na poziom glukozy lek. Dawka dobierana jest w zależności od funkcjonalności nerek pacjenta.

Nieporządane efekty mogą objawiać się metalicznym posmakiem w ustach, wymiotami, lekką anoreksją lub biegunkami [14].

Peptyd glukagono-podobny

Peptyd glukagono-podobny (GLP-1) jest hormonem i prowadzi do uwalniania insuliny z trzustki. Pojawia się po trawieniu posiłku, jednocześnie doprowadza do zwolnienia trawienia w żołądku, ułatwia regulację stężenia glukagonu po posiłku i w ten sposób ogranicza ilość przyjmowanego pokarmu [15].

Wybrane sposoby leczenia cukrzycy typu 2

Podsumowanie zalet i wad wybranych sposobów leczenia T2DM przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wady i zalety wybranych sposobów leczenia T2DM [16]

Leczenie	Skuteczność w obniżaniu hemoglobiny glikowanej (%)	Zalety	Wady
Leczenie początkowe			
Zmiana stylu życia celem utraty wagi i zwiększenia aktywności fizycznej.	1-2	Szerokie korzyści	Dla większości pacjentów niewystarczające po upływie roku leczenia
Metformina	1-2	Prawidłowa waga	Skutki uboczne w układzie pokarmowym oraz zaburzenia funkcji nerek.
Dodatkowe leczenie			
Insulina	1,5-3,5	Brak limitu dawkowania, natychmiastowy efekt, poprawa profilu lipidowego	1-4 dawek dziennie, wymagane stałe monitorowanie, hipoglicemia, przyrost masy ciała, kosztowne
Podwójny agonista receptora GLP-1 i GIP	2-2,5	Utrata masy ciała	Częste efekty uboczne ze strony układu pokarmowego, kosztowne
Sulfonylomocznik	1-2	Natychmiastowy efekt	Przyrost masy ciała, hipoglikemia
Agonista receptora GLP-1	0,5-2	Utrata masy ciała, zmniejszenie niekorzystnych objawów układu krążenia u pacjentów z CVD	Wymaga zastrzyków, częste efekty uboczne ze strony układu pokarmowego, kosztowne
Tiazolidynodion	0,5-1,4	Poprawa profilu lipidowego	Zatrzymywanie płynów, przyrost masy ciała, złamania kości, rak pęcherza moczowego
Glinidy	0,5-1,5	Natychmiastowy efekt	Przyrost masy ciała, hipoglicemia, dawkowanie 3 razy/dzień
Inhibitor SGLT2	0,5-0,7	Utrata wagi, obniżenie ciśnienia skurczowego krwi, obniżenie śmiertelności pacjentów z CVD, polepszenie stanu nerek u pacjentów z nefropatią	Kandydoza sromu i pochwy, infekcje dróg układu moczowego, złamania kości, amputacje kończyn dolnych, DKA

PRZESZCZEP MIKROBIOTY JELITA JAKO NOWY SPOSÓB NA WALKĘ Z CUKRZYCĄ TYPU 2.

Inhibitor DPP-4	0,5-0,8	Prawidłowa waga	Zwiększone ryzyko niewydolności serca, kosztowne
Inhibitor α -glukozydazy	0,5-0,8	Prawidłowa waga	Częste efekty uboczne ze strony układu pokarmowego, dawkowanie 3 razy/dzień
Pramlintide	0,5-1	Utrata wagi	Zastrzyki 3 razy/dzień, Częste efekty uboczne ze strony układu pokarmowego, brak gwarancji długoterminowego bezpieczeństwa terapii, kosztowne

PRZESZCZEP MIKROBIOTY JELITOWEJ

Rola mikrobioty jelitowej

Na mikrobiotę jelitową człowieka składają się bakterie, grzyby i wirusy [17]. Ich rolą jest dopasowanie odpowiedniej siły odpowiedzi układu odpornościowego do powstającego zapalenia oraz ochrona przed rozwojem patogenu [18]. Dysbioza jelitowa powstaje w sytuacji, gdy mechanizmy regulujące homeostazę jelitową są upośledzone. Może to doprowadzić między innymi do rozwoju choroby Crohna lub wrzodziejącego zapalenia jelita grubego [19]. Przyczyną powstawania dysbiozy mogą być przyjmowane antybiotyki lub infekcja *Clostridium difficile* [20].

Dysbioza jelitowa może stać się powodem rozwoju otyłości, cukrzycy typu 2, choroby niedokrwiennej serca, alergii pokarmowych, astmy lub atopowego zapalenia skóry [21]. W wyżej wymienionych przypadkach manipulacja składem flory bakteryjnej jelit może wykazywać korzyści terapeutyczne. Zmianę jej skład mikrobioty można uzyskać poprzez modyfikację nawyków żywienia [22] lub transplantację mikrobiomu [23].

Pierwszy przeszczep mikrobioty jelitowej

W przeszłości antybiotykoterapia była skoncentrowana na jeden konkretny szczep bakterii. Obecnie stosowane antybiotyki mają szerokie działanie, co sprzyja zaburzeniu pracy jelit i przyczynia się do powstawania dysbiozy jelitowej [20].

Pierwsze udokumentowane FMN miało miejsce w IV w. Medycyna chińska wykorzystwała doustną zawiesinę odchodów ludzkich jako sposób na leczenie zatrucia pokarmowego lub ciężkich biegunek.

W XVI w. FMT stosowane było w postaci „żółtej zupy”. Skuteczność tej terapii odnosiła pozytywne skutki nawet u pacjentów ciężko chorych.

Włoski anatom Fabricius Aquapendente w XVII w. przedstawił FMT jako formę leczenia w weterynarii.

W 2013 roku FDA wyraziła zgodę na stosowanie ludzkich fekalii jako potencjalnego sposobu leczenia [24].

Przebieg FMT

Próbka kału pobierana od zdrowego dawcy mikrobioty jelitowej przekazywana jest poprzez drogę odbytu lub jamy ustnej do przewodu pokarmowego chorego pacjenta.

Warto zauważyć, że FMT posiada ryzyko przeniesienia czynnika zakaźnego od dawcy do biorcy, dlatego konieczne jest wykonanie dokładnych badań przesiewowych.

Obecnie stawiany jest nacisk na ulepszenie mechanizmu doboru dawcy do biorcy. Jednym z nich jest stosowanie konkretnych substancji czynnych podczas izolacji materiału przeznaczonego do transplantacji. Dzięki temu materiał przeznaczony do przeszczepu staje się spersonalizowany dla pacjenta. Wykorzystywane są tutaj między innymi prebiotyki, probiotyki. Ostatnio również pod uwagę brane jest zastosowanie bakteriofagów [20].

Poza tym dąży się do ulepszenia formy aplikacji przeszczepu. Obecnie używanymi są lewatywa, intubacja nosogardłowa, intubacja dotchawicza, kolonoskopia oraz gastroskopia [24].

Zastosowanie FMT w leczeniu chorób

Przeczep mikrobioty jelitowej może być wykorzystany jako forma leczenia wspomnianej dysbiozy jelitowej [20]. Obecnie FMT znajduje również eksperymentalne zastosowanie w leczeniu zapalenia jelita grubego, zatwardzenia oraz nieswoistego zapalenia jelit. Wykorzystanie tej formy przeszczepu może wykraczać poza patologie związane z układem pokarmowym i okazać się korzystne w leczeniu chorób takich jak: syndrom chronicznego zmęczenia, choroba Parkinsona czy stwardnienie rozsiane [24].

Do tej pory transplantacja mikrobioty jelitowej odnotowała największy sukces w leczeniu infekcji *C.difficile*. Pacjenci niereagujący na antybiotykoterapię,

zostali poddani FMT. Po przeszczepie mikrobioty jelitowej 90% z nich powróciło do zdrowia [25].

ZASTOSOWANIE FMT W LECZENIU CUKRZYCY TYPU 2.

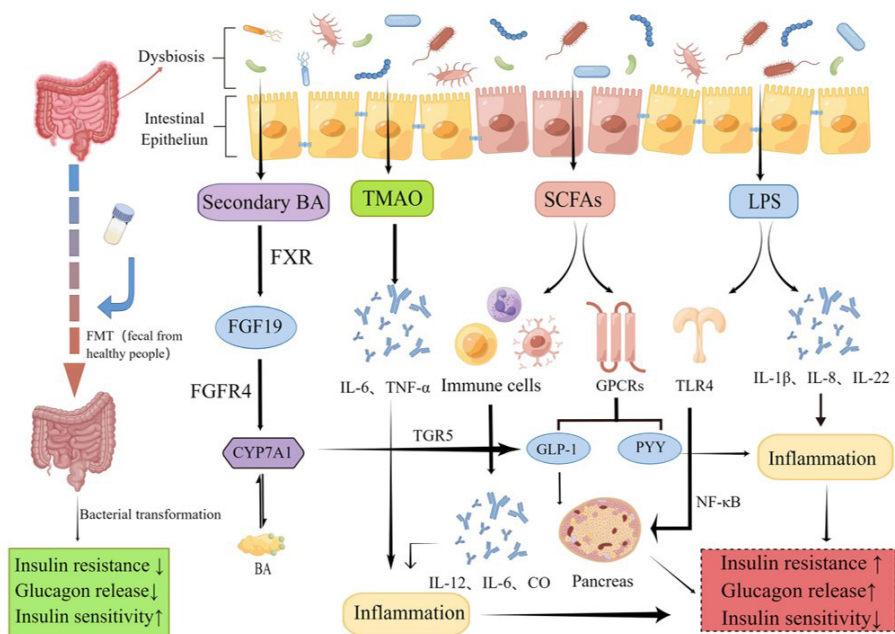
Obecne badania

Ostatnie wyniki badań wykazują zależność między substratami i szybkością metabolizmu, a ich wpływem na mikrobiotę jelitową (ang. *gastrointestinal microbiome* GM) [26]. Mikrobiota jelitowa odpowiada za metabolizm kwasów żółciowych, krótkich łańcuchów kwasów tłuszczowych, lipolisacharydów oraz tlenu trimetyloaminy. Dlatego modyfikacja składu mikrobioty może być skuteczna w leczeniu wspomnianej cukrzycy [27]. Obserwacja ta wyjaśnia również, w jaki sposób nieznaczne zaburzenia GM mogą przyczynić się do rozwoju wspomnianej insulinooporności, otyłości lub powstania przewlekłego zapalenia [28].

Do tej pory FMT odniosło swoją największą skuteczność w leczeniu nawracającej infekcji *C. Difficile*. Obecnie prowadzone są badania w kierunku leczenia chorób metabolicznych: nadwagi, zespołu metabolicznego, czy T2DM z zastosowaniem FMT [29]. Część badań wskazuje na znaczną poprawę insulinooporności po zastosowaniu przeszczepu mikrobioty jelitowej [30]. Wykorzystanie takiej formy terapii u mysz ze stwierdzonym T2DM skutkowało u nich poprawą składu GM [31], spadkiem stężenia hemoglobiny glikowanej oraz czynników immunologicznych zwalczających zapalenie (IL-6, TNF- α). Jednocześnie zanotowano u nich wzrost liczby i rozmiaru wysp trzustkowych oraz większą wrażliwością na insulinę [32]. Dotychczasowe obserwacje pozwoliły również stwierdzić, że skuteczność FMT w leczeniu T2DM zwiększa liczebność bakterii z rodziny *Rikenellaceae* oraz *Ruminococcaceae* [33].

Mikrobiom jelita, a cukrzyca typu 2

Między GM, a T2DM występują pewne korelacje, które zostały przedstawione na rycinie 2 [29].



Rycina 2. korelacja między mikrobiotą żołądkowo-jelitową, a metabolizmem człowieka [29]

Krótkołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe

Krótkołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe (ang. *short chain fatty acids* SCFA) produkowane są przez GM i zaliczane są do nich: octan, propionian oraz maślan. Wszystkie z nich zaangażowane są w utrzymanie efektywnej bariery jelitowej oraz w ochronę przed zapaleniem jelita [34].

Zarówno propionian, jak i maślan nasilają produkcję glukozy. Propionian głównie bezpośrednio oddziałując na wątrobę, natomiast maślan działając pośrednio reguluje geny związane z glukoneogenezą [35].

Z kolei octan aktywuje przywspółczulny układ nerwowy, dzięki czemu może być produkowana insulina lub grelina. Wspomniane hormony mają znaczenie w rozwoju otyłości, hiperfagii oraz insulinooporności [36].

Poza tym SCFA uczestniczą w regulacji cytokin zapalnych wydzielanych przez makrofagi oraz uczestniczą w połączeniach jelito-mózg, które oddziałują na produkcję hormonów związanych z aktywnością metaboliczną (między innymi glukagonopodobny peptyd-1 oraz peptyd YY) [37].

Lipopolisacharyd

Lipopolisacharyd (LPS) tworzy błonę zewnętrzną bakterii gram-ujemnych. Wiele badań wskazuje na zależność między uwalnianym w wyniku endotoksemii LPS do krążenia, a rozwojem cukrzycy typu 2, otyłości i insulinooporności [38].

Badania udowodniły, że inhibitorem receptora TLR4 w komórkach β trzustki może być LPS [39]. Dlatego zastosowanie przeciwwzapalnej Il-22 potrafi zmniejszyć skutki T2DM takie jak insulinooporność, czy hiperglicemia. Pozytywny efekt tego leczenia odnotowano w badaniu przeprowadzonym na myszach chorujących na cukrzycę typu 2 [40].

Działanie przeciwwzapalne na innej badanej grupie mysz również wykazały szczepy bakterii: *L. paracasei*, *Lactobacillus casei* CCFM419 i *A. muciniphila* [41].

Kwasy żółciowe

Kwasy żółciowe to główny produkt metabolizmu cholesterolu, który zachodzi w wątrobie. Mikrobiota jelitowa odpowiada za rozpad glikoronidów w jelicie, a następnie ich dehydrogenezę, dehydratację i epimeryzację [42].

Poza tym GM utrzymuje inhibicję receptora farnезoidu X (FXR), zwanym również receptorem kwasu żółciowego. Odpowiada on za ujemne sprzężenie zwrotne metabolizmu kwasów żółciowych [43]. W ten sposób zachodzi ekspresja genu GLP-1 oraz jego sekrecja, umożliwiającą zmniejszenie poziomu glukozy [44].

Receptorem kwasów żółciowych jest również *Takeda G protein-coupled receptor 5* (TGR5), który znajduje się w brązowej tkance tłuszczowej oraz w tkance mięśniowej. TGR5 odpowiada za uwolnienie GLP-1 z komórek L jelita i w ten sposób kontroluje on stężenie glukozy [45]. Dotychczasowe badania wskazują na korelację między wzrostem liczby bakterii *Acetatifactor* i *Bacteroides*, a aktywacją jelitowego FXR, skutkiem czego jest pobudzenie TGR5 do uwalniania GLP-1. W ten sposób dochodzi do zwiększenia wrażliwości wątroby na insulinę oraz glukozę [46].

Tlenek trimetyloaminy

N-tlenek trimetyloaminy (TMAO) jest metabolitem powstającym w mikrobiocie jelit. Najczęściej przyczynia się do rozwoju choroby sercowo-naczyniowej u pacjentów z rozpoznaniem niealkoholowym stłuszczeniem wątroby [47].

TMAO produkowany jest głównie po spożyciu produktów bogatych w fosfatydylocholinę i L-karnityninę [48].

Tlenek trimetyloaminy przyczynia się do arteriosklerozy, wskutek czego zwiększa ryzyko rozwoju T2DM [49]. Dodatkowo stymuluje on wydzielanie czynników prozapalnych takich jak: IL-6 czy TNF- α , co może doprowadzić do zapalenia naczyniowego [50]. Wzrost TMAO w surowicy powoduje wzrost produkujących go bakterii: *Clostridium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Proteus*.

Poza tym jego wyższe stężenie w surowicy może wiązać się ze wzrostem LPS oraz białkiem Zonulin, co skutkuje wzrostem przepuszczalności jelit [51]. Ostatnie badania wykazały, że wyższe stężenie TMAO w osoczu wiąże się ze zwiększoną szansą zachorowania na T2DM [52]. Jednakże bezpośredni związek między TMAO, a T2DM nie jest całkowicie znany.

Zastosowanie FMT w leczeniu T2DM

Pomimo tego, że FMT najlepiej sprawdza się w leczeniu nawracających infekcji *C.Difficile* istnieje także możliwość wykorzystania go w leczeniu cukrzycy typu 2. Pomysł ten obecnie jest w fazie licznych badań i testów.

Jednym z ograniczających czynników jest brak dokładnego poznania zawartości mikrobioty jelitowej u osoby ze stwierdzonym T2DM. Niektórzy badacze wskazują tutaj na obecność zwiększonej liczby bakterii szczepów *Bacteroidetes* oraz *Escherichia coli*, przy zmniejszonej liczbie szczepów *Clostridium*, *Roseburia* i *Fecalibacteria* [53]. Z kolei inni badacze zauważają, że *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Akkermansia*, czy też *Fusobacterium* nie są związane z rozwojem cukrzycy typu 2 [54]. Natomiast kolejne analizy doprowadzają do wniosku, iż niska liczebność *Bifidobacterium* może przyczyniać się do powstania T2DM [55]. Nieścisłości te wymagają doprecyzowania, gdyż na ten moment utrudnia to dalszy przebieg prowadzenia badań nad leczeniem cukrzycy typu 2 z pomocą FMT.

Pomimo tego liczba badań klinicznych oraz badań przeprowadzonych z udziałem zwierząt wzrasta. W jednym z nich stwierdzono, że donor przeszczepu o szczupłej sylwetce może pomóc biorcy z zespołem metabolicznym oraz poprawić jego wrażliwość na insulinę. Dodatkowo znajomość składu mikroflory dawcy przed wykonaniem przeszczepu pozwalało na efektywniejsze leczenie cukrzycy typu 2 [56].

PRZESZCZEP MIKROBIOTY JELITA JAKO NOWY SPOSÓB NA WALKĘ Z CUKRZYCĄ TYPU 2.

Wykonanie FMT, w którym mysz o prawidłowej tolerancji glukozy była dawcą dla myszy chorującej na T2DM, doprowadziła do spadku stężenia glukozy zarówno na czczo jak i po posiłku u biorcy. Poza tym obniżył się również poziom stężenia całkowitego cholesterolu i triglicerydów, LDL, a wzrósł jedynie poziom HDL. Można wnioskować więc, że przeszczep GM od osoby dobrze tolerującej glukozę dla osoby z cukrzycą typu 2 znacząco poprawia metabolizm glikolipidowy biorcy [57].

Wykonanie FMT pozwala obniżyć wskaźnik HOMA-IR, BMI oraz sprawia, że mikrobiota staje się w większym stopniu różnorodna u pacjentów z T2DM [58]. Pomimo, że większość badań wskazuje na pozytywne skutki tej metody terapii w leczeniu T2DM część badaczy zaznacza, że samo zastosowanie FMT w leczeniu, bądź zapobieganiu chorobom metabolicznym może nie być wystarczające (tabela 2.).

Tabela 2. Sposoby leczenia T2DM w zależności od historii pacjenta [29]

Choroba	Rodzaj badania	Metoda leczenia	Obserwacje
Otyłość + T2DM	24-tygodniowa, podwójnie ślepa próba, randomizowane, kontrolowane badanie kliniczne	1) FMT + zmiana stylu życia, 2) FMT 3) pozorne FMT + zmiana stylu życia	- spadek stężenia całkowitego, cholesterolu oraz LDL, - sztywność wątroby
T2DM	4-tygodniowe, randomizowane, kontrolowane, prospektywne badanie prospektywne	1) Metformina 2) FMT 3) FMT + metoformina	- spadek BMI, - spadek stężenia glukozy po posiłku, - spadek stężenia HbA1c, - poprawie uległo stężenie glukozy na czczo, wskaźnik HOMA-HbC1 oraz HOMA-IR
T2DM	12-tygodniowe, brak próby ślepej, jednoramienne badanie eksperymentalne	1) FMT	- spadek w HbA1c, - spadek stężenia glukozy po posiłku, - spadek stężenia kwasu moczowego - wzrost stężenia C-peptydu poposiłkowego
T2DM	90-dniowe, kontrolowane, otwarta próba kliniczna	1) zmiana diety 2) zmiana diety+FMT	- spadek BMI, - spadek stężenia glukozy po posiłku, - spadek w HbA1c, - spadek ciśnienia skurczowego,

Problemy w zastosowaniu FMT podczas leczenia T2DM

Podczas konferencji w 2017 Europejskie Porozumienie FMT ustaliło dokładne wytyczne w stosowaniu przeszczepu mikrobioty jelita w celu leczenia *C.Difficile* [59]. Dla pozostałych chorób, które mogą wykorzystać FMT jako potencjalną formę terapii, normy nie zostały jeszcze ustalone. Fakt ten utrudnia prowadzenie badań i obserwacji, gdyż wiele czynników może wpływać na przebieg wspomnianego przeszczepu. Znaczenie może mieć transport, sposób przechowywania próbki z kałem oraz jego konserwacja. Wpływ ma również rodzaj grupy docelowej receptorów oraz wprowadzanie dodatkowych form leczenia zwiększających skuteczność FMT [49]. Dlatego konieczne jest uregulowanie norm dotyczących przebiegu przeszczepu mikrobioty jelita podczas leczenia T2DM, gdyż nieznaczne zmiany w poszczególnych etapach mogą przełożyć się na jego efektywność.

Badania przesiewowe w kontekście specyficznych receptorów

Różnorodność bakterii mających wpływ na rozwój T2DM sprawia, że określenie jednego rodzaju grupy docelowej receptorów staje się trudne. Istnieje możliwość wykonania badania przesiewowego, w którym nacisk będzie położony na poszukiwanie receptorów związanych z cukrzycą typu 2. Zdiagnozowane w ten sposób bakterie, które mogą przyczyniać się do rozwoju T2DM mogą stanowić pierwszy punkt odniesienia podczas prowadzenia dalszego leczenia.

Do przeprowadzenia badania bakterii mikrobioty jelitowej zalecane jest użycie sekwencjonowania genów 16S rRNA. Pozwala to wykryć konkretne szczepy bakterii, które mają wpływ nie tylko na metabolizm organizmu, ale jego całą homeostazę [60]. Zaletą tej techniki jest możliwość szybkiej identyfikacji bakterii za pomocą uprzednio utworzonej bazy danych [61]

4.4.2 Przeciwwskazania

Przeciwwskazania do przeprowadzenia przeszczepu mikrobioty jelitowej dotyczą osób z autoimmunologicznym niedoborem odporności, nowotworem złośliwym, ostrymi powikłaniami T2DM, nawracającymi infekcjami, ciężkimi objawami żołądkowo-jelitowymi (biegunka) oraz poważnymi działaniami niepożądanymi po wcześniejszym otrzymaniu FMT. Warto mieć na uwadze,

że negatywne skutki mogą wynikać z przebiegu choroby pacjenta, a niekoniecznie z prowadzonego leczenia za pomocą FMT [62].

W związku z tym wymagane jest przeprowadzenie wstępnej oceny stanu pacjenta przed przystąpieniem do FMT. W pierwszej kolejności należy sprawdzić, czy pacjent przechodził przez zagrażające życiu ostre stany takie jak kwasica ketonowa czy stan hiperglikemiczno-hiperosmolarny. Jeśli tak, najważniejsze jest doprowadzenie do ustabilizowania parametrów życiowych pacjenta. Następnie należy zwrócić uwagę na odporność pacjenta, która może być zmniejszona z powodu wrodzonych niedoborów odporności czy nowotworu złośliwego. Jeśli odporność jest obniżona, FMT nie jest zalecany [63]. W ostatnim etapie należy sprawdzić tolerancje organizmu biorcy na przeszczep. Jakikolwiek poważne reakcje ze strony układu pokarmowego lub inne działania niepożądane zmuszają do zaprzestania stosowania FMT.

Obecnie skutki uboczne po zastosowaniu FMT u osób z T2DM są nieznanne i wymagają dalszych badań [29].

Dobór dawcy

Przeprowadzenie dokładnych badań przesiewowych umożliwia odpowiedni dobór dawcy przeszczepu. Tym samym zmniejsza się ryzyko ewentualnych negatywnych powikłań przeszczepu [64]. Znany jest przypadek pacjenta, który na skutek nieprawidłowego doboru dawcy podczas FMT zachorował na otyłość. Dlatego w przypadku leczenia T2DM ważne jest, aby donor został zbadany pod względem prawidłowego stężenia glukozy i insuliny na czczo [65]. Takie badania powinny być wykonane cztery tygodnie przed dokonaniem przeszczepu. Poza pomiarem stężenia glukozy i insuliny na czczo, warto również przeprowadzić badanie na ewentualną obecność patogenów związanych z chorobami zakaźnymi oraz funkcjonowanie wysp trzustkowych.

Badania dawcy porównujące zmiany przed i po dokonaniu FMT wykazały, że konkretne szczepy bakterii zwiększały swoją liczebność oraz różnorodność po zakończeniu leczenia [66]. Może być to wykorzystane jako kolejny parametr decydujący o doborze.

Kolejnym czynnikiem wpływającym na FMT jest skład GM. Zarówno mikrobiom dawcy, jak i biorcy może być modyfikowany pod wpływem wprowadzonej antybiotykoterapii czy diety. W ten sposób przebieg leczenia staje się efektywniejszy i spersonalizowany dla pacjenta [67].

Istniejące pojęcie „super stool donor” dotyczy dawcy, którego próbka jest skuteczniejsza od pozostałych. Wysoka efektywności wynika z bogatej różnorodności mikrobioty jelitowej „super dawcy” [68]. Jednym z obecnych celów badań nad FMT jest zbieranie próbek kału od najlepszych donorów, a następnie tworzenie kompletnej puli „super dawców”. Dzięki temu może wzrosnąć wykorzystanie potencjału transplantacji GM [69].

Transport

Po zebraniu próbki kału należy przetrzymywać ją w czystym pojemniku i przetransportować natychmiast do szpitala. Próbka powinna wynosić nie mniej niż 30g, a jej dalsze badanie powinno odbyć się nie później niż 5-6 godzin po wypróżnieniu [70]. Chiny dzięki całkowitemu zautomatyzowaniu systemu zminimalizowały ten okres do 1 godziny [71]. Próbki należy następnie rozcieńczyć i zhomogenizować do postaci, w której będą aplikowane [72]. Materiał dawcy należy zawiesić w soli fizjologicznej lub przefiltrować za pomocą mieszadła w celu uniknięcia zatkania strzykawki i rurki. Należy pamiętać o prawidłowym przechowywaniu próbki dawcy. Najlepszą metodą jest tutaj mrożenie w temp -80°C oraz zastosowanie 10% glicerolu. W dzień zabiegu materiał należy rozmrozić w ciepłej wodzie o temperaturze 37°C. Przeszczep należy wykonać nie dłużej niż po 5-6 godzin od rozmrożenia [29].

Operacja

Przebieg FMT u pacjentów z cukrzycą typu 2 nie odbiega znacząco od typowego przebiegu przeszczepu mikrobioty jelitowej. Materiał wprowadzany jest drogą endoskopową, poprzez intubację nosową, wykonanie lewatywy lub kolonoskopii. Ostatnią nową metodą jest przeprowadzenie przeszczepu z wykorzystaniem próbki w postaci kapsułki [73]. Ze względu na niski koszt oraz łatwość aplikacji, jest ona najkorzystniejszym rozwiązaniem w przypadku pacjentów, którzy nie mają problemów z przełykaniem. Należy pamiętać, że przed zastosowaniem kapsułki w FMT musi być ona uprzednio schłodzona [74].

Zalecane jest, aby poza przeprowadzeniem FMT, również wprowadzić zbilansowaną dietę oraz zwiększyć aktywność fizyczną pacjenta. Może to przyczynić się do podniesienia efektywności leczenia [68]. Widoczne korzyści najlepiej widać u pacjentów z nieprawidłowym stężeniem glukozy na czczo lub z występującą insulinoopornością, ale nie posiadających znacznych zmian w mikrobiocie jelita.

Pacjenci z zaawansowanym przebiegiem T2DM mogą wymagać innego sposobu leczenia. Dowiedziono, że kilkukrotne powtarzanie FMT może przynieść u nich większą skuteczność. Dzięki temu GM biorcy może powrócić do normalnego stanu i tym samym przyczynić się do poprawy jakości życia pacjenta. Na ten moment ilość i częstotliwość stosowania wspomnianej metody nie jest jeszcze do końca poznana, dlatego sposób ten wymaga dalszych badań [29].

Obserwacja

Ścisła obserwacja powinna być prowadzona przynajmniej przez 8 tygodni po wykonaniu FMT. Należy szczególnie zwracać uwagę na skutki uboczne takie jak ból brzucha, biegunki, zaparcia, wymioty, odbijanie się, gorączkę, czy nowe infekcje [59]. U pacjentów z T2DM należy również kontrolować stężenie glukozy na czczo oraz po posiłku. Rekomendowane jest przeprowadzanie badań między innymi kału i bakterii w nim obecnych, ocenę funkcjonowania trzustki, BMI oraz pomiar stężenia glukozy, co 4 tygodnie po FMT. Warto również obserwować zmianę składu GM po FMT. Wykorzystana może być do tego wspomniane wyżej sekwencjonowanie genów 16S rRNA lub metoda śledzenia szczepów opublikowana w raporcie Ch. Smillie [75].

Po kompletnym przeprowadzeniu badań, powyższe etapy powinny być powtórzone. Następnie lekarz prowadzący może określić, czy należy modyfikować materiał przeznaczony do FMT bazując na GM biorcy. W celu ułatwienia dalszego prowadzenia obserwacji, próbki dawcy powinny być zamrożone przez przynajmniej 2 lata [29].

FMT, a konwencjonalne metody leczenia T2DM

Nie istnieją przeciwwskazania do stosowania jednoczesnego leczenia T2DM w sposób tradycyjny oraz przeprowadzenia FMT. Niektóre badania wskazują na synergistyczne działanie obu metod. Dostosowana do pacjenta dieta oraz wdrożenie ćwiczeń sprzyjają poprawie stanu osób ze stwierdzonym T2DM zarówno podczas leczenia konwencjonalnego jak i FTM.

Stosowana w tradycyjnym leczeniu metformina przyczynia się do wzrostu bakterii produkujących maślan i propionian oraz do zwiększenia liczby bakterii *E. Coli* w mikrobiocie jelitowej. Innym często stosowanym lekiem w T2DM wpływającym na GM jest fosforan Sitagliptyny. Wspomniana famakoterapia nie wpływa na zmieniony mikrobiom po dokonany FMT i odwrotnie [76].

Wyłączenie żołądkowe z zespoleniem pętli Roux-en-Y (ang. *Roux-en-Y gastric bypass* RYGB), wpływa na zatrzymanie insulinooporności. Dodatkowo dawcy FMT, którzy w przeszłości mieli wykonane RYGB przyczyniali się do zmniejszenia ryzyka inulinooporności u biorcy [77].

Żadne z dotychczas przeprowadzonych badań klinicznych nie wykazuje, czy w leczeniu cukrzycy typu 2 większe efekty przynoszą tradycyjne metody leczenia, czy przeszczep mikrobioty jelitowej. Pomimo tego FMT niesie ze sobą korzyści takie jak mniejsza inwazyjność oraz większa wygoda. Jednak nadal traktowany jest on jako faza testów, aniżeli ostateczny sposób leczenia [29].

PODSUMOWANIE

Mikrobiota jelitowa poprzez powstające w niej produkty metaboliczne ma znaczący wpływ na rozwój cukrzycy typu 2 oraz innych chorób metabolicznych. Dzięki obecnej wiedzy pojawiają się nowe możliwości na leczenie wspomnianych patologii. Tradycyjne leczenie T2DM obejmuje głównie stosowanie leków i wdrożenie zbilansowanej diety oraz aktywności fizycznej.

Wykorzystanie przeszczepu mikrobioty jelita wydaje się być obiecującym sposobem leczenia cukrzycy typu 2. FMT obecnie odnosi liczne sukcesy w leczeniu nawracających infekcji *C.difficile*, dlatego też istnieją duże szanse na wykorzystanie go w terapii leczenia cukrzycy typu 2. Szereg zalet w postaci między innymi wygody w przeprowadzaniu leczenia, czy jego mniejszej inwazyjności zdecydowanie przewyższa ryzyko wystąpienia skutków ubocznych. Dodatkowo przeszczep mikrobioty jelitowej może przyczyniać się do poprawy stanu osoby z T2DM poprzez redukcję nadwagi oraz poprawę metabolizmu glikolipidowego.

Pomimo dużego potencjału FMT, leczenie cukrzycy typu 2 z jego pomocą wymaga znacznego doprecyzowania. Dlatego konieczne jest prowadzenie dalszych badań klinicznych oraz uściślenie norm dotyczących jej przebiegu.

REFERENCJE

- [1] International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas 2021 | IDF Diabetes Atlas. IDF Diabetes Atlas. Published 2021. <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>
- [2] Harris MI. Impaired Glucose Tolerance in the U. S. Population. *Diabetes Care*. 1989;12(7):464-474. doi:<https://doi.org/10.2337/diacare.12.7.464>

- [3] Ruze R, Liu T, Zou X, et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14(1161521). doi:<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1161521>
- [4] World Obesity Federation. *World Obesity Atlas 2022.*; 2022. <https://data.worldobesity.org/publications/World-Obesity-Atlas-2022-updated.pdf>
- [5] Divers J, Mayer-Davis EJ, Lawrence JM, et al. Trends in Incidence of Type 1 and Type 2 Diabetes Among Youths — Selected Counties and Indian Reservations, United States, 2002–2015. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2020;69(6):161-165. doi:<https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6906a3>
- [6] Klein BEK, Klein R, Moss SE, Cruickshanks KJ. Parental History of Diabetes in a Population-Based Study. *Diabetes Care*. 1996;19(8):827-830. doi:<https://doi.org/10.2337/diacare.19.8.827>
- [7] BRUNZELL JD, ROBERTSON RP, LERNER RL, et al. Relationships Between Fasting Plasma Glucose Levels and Insulin Secretion During Intravenous Glucose Tolerance Tests. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1976;42(2):222-229. doi:<https://doi.org/10.1210/jcem-42-2-222>
- [8] Kahn CR. Insulin Action, Diabetogenes, and the Cause of Type II Diabetes. *Diabetes*. 1994;43(8):1066-1085. doi:<https://doi.org/10.2337/diab.43.8.1066>
- [9] Røder ME, Dinesen B, Hartling SG, et al. Intact proinsulin and beta-cell function in lean and obese subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22(4):609-614. doi:<https://doi.org/10.2337/diacare.22.4.609>
- [10] Westermark P, Johnson KH, O'Brien TD, Betsholtz C. Islet amyloid polypeptide--a novel controversy in diabetes research. *Diabetologia*. 1992;35(4):297-303. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00401195>

- [11] Ahlqvist E, Storm P, Käräjämäki A, et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2018;6(5):361-369. doi:[https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(18\)30051-2](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(18)30051-2)
- [12] Udler MS, Kim J, von Grotthuss M, et al. Type 2 diabetes genetic loci informed by multi-trait associations point to disease mechanisms and subtypes: A soft clustering analysis. Langenberg C, ed. *PLOS Medicine*. 2018;15(9):e1002654. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002654>
- [13] DeSantis A. Sodium-glucose Cotransporter 2 Inhibitors for the Treatment of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes Mellitus. www.uptodate.com. Published March 19, 2024. Accessed March 29, 2024. https://www.uptodate.com/contents/sodium-glucose-cotransporter-2-inhibitors-for-the-treatment-of-hyperglycemia-in-type-2-diabetes-mellitus?search=diabetes%20mellitus%20type%20%20treatment&source=search_result&selectedTitle=7%7E150&usage_type=default&display_rank=4#H2124493672
- [14] Wexler DJ. Metformin in the Treatment of Adults with Type 2 Diabetes Mellitus. www.uptodate.com. Published May 3, 2023. Accessed March 29, 2024. https://www.uptodate.com/contents/metformin-in-the-treatment-of-adults-with-type-2-diabetes-mellitus?search=diabetes%20mellitus%20type%20%20treatment&source=search_result&selectedTitle=8%7E150&usage_type=default&display_rank=5#H14
- [15] Dungan K, DeSantis A. Glucagon-like Peptide 1-based Therapies for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. www.uptodate.com. Published February 5, 2024. Accessed March 29, 2024. https://www.uptodate.com/contents/glucagon-like-peptide-1-based-therapies-for-the-treatment-of-type-2-diabetes-mellitus?search=diabetes%20mellitus%20type%20%20treatment&source=search_result&selectedTitle=4%7E150&usage_type=default&display_rank=3#H19

- [16] Wexler DJ. Initial Management of Hyperglycemia in Adults with Type 2 Diabetes Mellitus. www.uptodate.com. Published March 18, 2024. Accessed March 29, 2024. https://www.uptodate.com/contents/initial-management-of-hyperglycemia-in-adults-with-type-2-diabetes-mellitus?search=Summary%20of%20glucose-lowering%20interventions&source=search_result&selectedTitle=1%7E150&usage_type=default&display_rank=1#
- [17] Hinde K, Lewis ZT. Mother's littlest helpers. *Science*. 2015; 348(6242):1427-1428. doi:<https://doi.org/10.1126/science.aac7436>
- [18] Lynch SV, Pedersen O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. Phimister EG, ed. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(24):2369-2379. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmra1600266>
- [19] Chang JT. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. Longo DL, ed. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(27):2652-2664. doi:<https://doi.org/10.1056/nejmra2002697>
- [20] Blaser MJ. Fecal Microbiota Transplantation for Dysbiosis — Predictable Risks. *New England Journal of Medicine*. 2019;VOL. 381 NO. 21(10.1056/NEJMe1913807). doi:<https://doi.org/10.1056/nejme1913807>
- [21] Johnston RB. An Overview of the Innate Immune System. www.uptodate.com. Published April 6, 2023. Accessed March 30, 2024. https://www.uptodate.com/contents/an-overview-of-the-innate-immune-system?search=transplantacja%20mikrobioty&source=search_result&selectedTitle=2%7E150&usage_type=default&display_rank=2#H1439498336
- [22] Brar PC, Kohn B. Use of the microbiome in the management of children with type 2 diabetes mellitus. *Current Opinion in Pediatrics*. 2019;31(4):524-530. doi:<https://doi.org/10.1097/mop.0000000000000781>
- [23] Gurram B, Sue PK. Fecal Microbiota Transplantation in Children. *Current Opinion in Pediatrics*. 2019;31(5):623(10.1097/MOP.0000000000000787):1. doi:<https://doi.org/10.1097/mop.0000000000000787>

- [24] Adak A, Khan MR. An Insight into Gut Microbiota and Its Functionalities. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2018;76(3):473-493. doi:<https://doi.org/10.1007/s00018-018-2943-4>
- [25] Bagdasarian N, Rao K, Malani PN. Diagnosis and Treatment of *Clostridium difficile* in Adults. *JAMA*. 2015;313(4):398. doi:<https://doi.org/10.1001/jama.2014.17103>
- [26] LeChatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500(7464):541-546. doi:<https://doi.org/10.1038/nature12506>
- [27] Wang X, Yang J, Qiu X, et al. Probiotics, Pre-biotics and Synbiotics in the Treatment of Pre-diabetes: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Frontiers in Public Health*. 2021;9(33842424). doi:<https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.645035>
- [28] Healey GR, Murphy R, Brough L, Butts CA, Coad J. Interindividual variability in gut microbiota and host response to dietary interventions. *Nutrition Reviews*. 2017;75(12):1059-1080. doi:<https://doi.org/10.1093/nutrit/nux062>
- [29] Zhou X, Chen R, Cai Y, Chen Q. Fecal Microbiota Transplantation: A Prospective Treatment for Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 2024;Volume 17(647-659):647-659. doi:<https://doi.org/10.2147/dms0.s447784>
- [30] Kootte RS, Levin E, Salojärvi J, et al. Improvement of Insulin Sensitivity after Lean Donor Feces in Metabolic Syndrome Is Driven by Baseline Intestinal Microbiota Composition. *Cell Metabolism*. 2017;26(4):611-619.e6. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.008>
- [31] Su L, Hong Z, Zhou T, et al. Health improvements of type 2 diabetic patients through diet and diet plus fecal microbiota transplantation. *Scientific Reports*. 2022;12(1):1152. doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-022-05127-9>
- [32] Wang H, Lu Y, Yan Y, et al. Promising Treatment for Type 2 Diabetes: Fecal Microbiota Transplantation Reverses Insulin Resistance and Impaired Islets. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020;9(32010641). doi:<https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00455>

- [33] Ding D, Yong H, You Na, et al. Prospective Study Reveals Host Microbial Determinants of Clinical Response to Fecal Microbiota Transplant Therapy in Type 2 Diabetes Patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022;12(35402293). doi:<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.820367>
- [34] Lewis K, Lutgendorff F, Phan V, Söderholm JD, Sherman PM, McKay DM. Enhanced translocation of bacteria across metabolically stressed epithelia is reduced by butyrate†. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2010;16(7):1138-1148. doi:<https://doi.org/10.1002/ibd.21177>
- [35] Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, Verbeke K. The role of short-chain fatty acids in microbiota–gut–brain communication. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2019;16(8):461-478. doi:<https://doi.org/10.1038/s41575-019-0157-3>
- [36] Perry RJ, Peng L, Barry NA, et al. Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature*. 2016;534(7606):213-217. doi:<https://doi.org/10.1038/nature18309>
- [37] Psichas A, Sleeth ML, Murphy KG, et al. The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. *International Journal of Obesity*. 2014;39(3):424-429. doi:<https://doi.org/10.1038/ijo.2014.153>
- [38] Cani PD, Amar J, Iglesias MA, et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*. 2007;56(7):1761-1772. doi:<https://doi.org/10.2337/db06-1491>
- [39] Amyot J, Semache M, Ferdaoussi M, Fontés G, Poitout V. Lipopolysaccharides Impair Insulin Gene Expression in Isolated Islets of Langerhans via Toll-Like Receptor-4 and NF- κ B Signalling. Shirihai OS, ed. *PLoS ONE*. 2012;7(4):e36200. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036200>
- [40] Wang X, Ota N, Manzanillo P, et al. Interleukin-22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes. *Nature*. 2014;514(7521):237-241. doi:<https://doi.org/10.1038/nature13564>

- [41] Sun KY, Xu DH, Xie C, et al. *Lactobacillus paracasei* modulates LPS-induced inflammatory cytokine release by monocyte-macrophages via the up-regulation of negative regulators of NF-kappaB signaling in a TLR2-dependent manner. *Cytokine*. 2017;92(28088611):1-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.01.003>
- [42] Wahlström A, Sayin Sama I, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metabolism*. 2016;24(1):41-50. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.005>
- [43] Inagaki T, Choi M, Moschetta A, et al. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metabolism*. 2005;2(4):217-225. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2005.09.001>
- [44] M. Trabelsi, Mehdi Daoudi, Janne Prawitt, et al. Farnesoid X receptor inhibits glucagon-like peptide-1 production by enteroendocrine L cells. *Nature Communications*. 2015;6(1). doi:<https://doi.org/10.1038/ncomms8629>
- [45] Wang Q, Lin H, Shen C, et al. Gut microbiota regulates postprandial GLP-1 response via ileal bile acid-TGR5 signaling. *Gut microbes*. 2023;15(2). doi:<https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2274124>
- [46] Yang J-Y, Lee Y-S, Kim Y, et al. Gut commensal *Bacteroides acidifaciens* prevents obesity and improves insulin sensitivity in mice. *Mucosal Immunology*. 2016;10(1):104-116. doi:<https://doi.org/10.1038/mi.2016.42>
- [47] Targher G, Byrne CD, Tilg H. NAFLD and increased risk of cardiovascular disease: clinical associations, pathophysiological mechanisms and pharmacological implications. *Gut*. 2020;69(9):1691-1705. doi:<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-320622>
- [48] Arias N, Arboleya S, Allison J, et al. The Relationship between Choline Bioavailability from Diet, Intestinal Microbiota Composition, and Its Modulation of Human Diseases. *Nutrients*. 2020;12(8). doi:<https://doi.org/10.3390/nu12082340>

- [49] Miao J, Ling AV, Manthena PV, et al. Flavin-containing monooxygenase 3 as a potential player in diabetes-associated atherosclerosis. *Nature Communications*. 2015;6(1). doi:<https://doi.org/10.1038/ncomms7498>
- [50] Seldin MM, Meng Y, Qi H, et al. Trimethylamine N-Oxide Promotes Vascular Inflammation Through Signaling of Mitogen-Activated Protein Kinase and Nuclear Factor- κ B. *Journal of the American Heart Association*. 2016;5(2). doi:<https://doi.org/10.1161/jaha.115.002767>
- [51] Al-Obaide M, Singh R, Datta P, et al. Gut Microbiota-Dependent Trimethylamine-N-oxide and Serum Biomarkers in Patients with T2DM and Advanced CKD. *Journal of Clinical Medicine*. 2017;6(9):86. doi:<https://doi.org/10.3390/jcm6090086>
- [52] Shan Z, Sun T, Huang H, et al. Association between microbiota-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide and type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2017;106(3):888-894. doi:<https://doi.org/10.3945/ajcn.117.157107>
- [53] Chen X, Devaraj S. Gut Microbiome in Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes. *Current Diabetes Reports*. 2018;18(12). doi:<https://doi.org/10.1007/s11892-018-1104-3>
- [54] Gurung M, Li Z, You H, et al. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*. 2020;51(102590). doi:<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.051>
- [55] Sedighi M, Razavi S, Navab-Moghadam F, et al. Comparison of gut microbiota in adult patients with type 2 diabetes and healthy individuals. *Microbial Pathogenesis*. 2017;111(28912092):362-369. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.038>
- [56] Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, et al. Transfer of Intestinal Microbiota From Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals With Metabolic Syndrome. *Gastroenterology*. 2012;143(4):913-916. doi:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.031>
- [57] Zhang P, Li L, Han X, et al. Fecal microbiota transplantation improves metabolism and gut microbiome composition in db/db mice. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2020;41(5):678-685. doi:<https://doi.org/10.1038/s41401-019-0330-9>

- [58] Wu Z, Zhang B, Chen F, et al. Fecal microbiota transplantation reverses insulin resistance in type 2 diabetes: A randomized, controlled, prospective study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2023;12(1089991). doi:<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1089991>
- [59] Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017;66(4):569-580. doi:<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-313017>
- [60] Clavel T, Desmarchelier C, Haller D, et al. Intestinal microbiota in metabolic diseases. *Gut Microbes*. 2014;5(4):544-551. doi:<https://doi.org/10.4161/gmic.29331>
- [61] Ejtahed HS ., Soroush AR ., Angoorani P, Larijani B, Hasani-Ranjbar S. Gut Microbiota as a Target in the Pathogenesis of Metabolic Disorders: A New Approach to Novel Therapeutic Agents. *Hormone and Metabolic Research*. 2016;48(06):349-358. doi:<https://doi.org/10.1055/s-0042-107792>
- [62] Quraishi MN, Widlak M, Bhala N, et al. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of faecal microbiota transplantation for the treatment of recurrent and refractory *Clostridium difficile* infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2017;46(5):479-493. doi:<https://doi.org/10.1111/apt.14201>
- [63] Dailey FE. The dirty aspects of fecal microbiota transplantation: a review of its adverse effects and complications. *Current Opinion in Pharmacology*. 2019;49(31103793):29-33. doi:<https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.04.008>
- [64] Smith MB, Kelly C, Alm EJ. Policy: How to regulate faecal transplants. *Nature News*. 2014;506(7488):290. doi:<https://doi.org/10.1038/506290a>
- [65] Woodworth MH, Carpentieri C, Sitchenko KL, Kraft CS. Challenges in fecal donor selection and screening for fecal microbiota transplantation: A review. *Gut Microbes*. 2017;8(3):225-237. doi:<https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1286006>

- [66] Shahinas D, Silverman M, Sittler T, et al. Toward an Understanding of Changes in Diversity Associated with Fecal Microbiome Transplantation Based on 16S rRNA Gene Deep Sequencing. *Drusano GL, ed. mBio.* 2012;3(5). doi:<https://doi.org/10.1128/mbio.00338-12>
- [67] Aron-Wisnewsky J, Clément K, Nieuwdorp M. Fecal Microbiota Transplantation: a Future Therapeutic Option for Obesity/Diabetes? *Current Diabetes Reports.* 2019;19(8). doi:<https://doi.org/10.1007/s11892-019-1180-z>
- [68] Hanssen NMJ, de Vos WM, Nieuwdorp M. Fecal microbiota transplantation in human metabolic diseases: From a murky past to a bright future? *Cell Metabolism.* 2021;33(6):1098-1110. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.05.005>
- [69] Olesen SW, Leier MM, Alm EJ, Kahn SA. Searching for superstool: maximizing the therapeutic potential of FMT. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology.* 2018;15(7):387-388. doi:<https://doi.org/10.1038/s41575-018-0019-4>
- [70] Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, et al. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology.* 2015;149(1):102-109.e6. doi:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.04.001>
- [71] Cui B, Li P, Xu L, et al. Step-up fecal microbiota transplantation (FMT) strategy. *Gut Microbes.* 2016;7(4):323-328. doi:<https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1151608>
- [72] Kelly CR, Kahn S, Kashyap P, et al. Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. *Gastroenterology.* 2015;149(1):223-237. doi:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.05.008>
- [73] Dutta SK, Girotra M, Garg S, et al. Efficacy of Combined Jejunal and Colonic Fecal Microbiota Transplantation for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2014;12(9):1572-1576. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.12.032>

- [74] Lee CH, Steiner T, Petrof EO, et al. Frozen vs Fresh Fecal Microbiota Transplantation and Clinical Resolution of Diarrhea in Patients With Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *JAMA*. 2016;315(2):142. doi:<https://doi.org/10.1001/jama.2015.18098>
- [75] Smillie CS, Sauk J, Gevers D, et al. Strain Tracking Reveals the Determinants of Bacterial Engraftment in the Human Gut Following Fecal Microbiota Transplantation. *Cell Host & Microbe*. 2018;23(2):229-240.e5. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.01.003>
- [76] Yan X, Feng B, Li P, Tang Z, Wang L. Microflora Disturbance during Progression of Glucose Intolerance and Effect of Sitagliptin: An Animal Study. *Journal of Diabetes Research*. 2016;2016(27631013):1-10. doi:<https://doi.org/10.1155/2016/2093171>
- [77] de Groot P, Scheithauer T, Bakker GJ, et al. Donor metabolic characteristics drive effects of faecal microbiota transplantation on recipient insulin sensitivity, energy expenditure and intestinal transit time. *Gut*. 2019;69(3):502-512. doi:<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318320>

MŁODZIEŃCZE IDIOPATYCZNE ZAPALENIE STAWÓW – PRZEGLĄD AKTUALNEJ WIEDZY

Zuzanna Kolanko, Aleksandra Kotapka,
Aleksander Kubiak, Julia Jeziorna

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS) jest najczęstszą artropatią wieku rozwojowego. Charakteryzuje się różnorodnością w obrazie klinicznym, przebiegu oraz rokowaniu. Patogeneza choroby jest złożona i najczęściej ma ona podłoże autoimmunologiczne. Na świecie na MIZS choruje 3 miliony dzieci, z czego dziewczęta chorują częściej. Rozpoznanie choroby jest trudnym zadaniem, gdyż obecnie stosowane metody diagnostyczne nie są swoiste względem MIZS. Mimo licznych badań nie znaleziono dotychczas markera, który skracałby ścieżkę diagnostyczną. Leczenie MIZS jest niezwykle ważne i dąży się do tego, by wdrażać je jak najszybciej. Opóźniona diagnoza a w konsekwencji leczenie mogą mieć dramatyczne skutki dla chorego dziecka i prowadzić do nieodwracalnej niepełnosprawności, zahamowania wzrostu oraz uszkodzenia narządów. Naprzeciw temu wychodzą nowe, coraz to skuteczniejsze metody terapeutyczne, które pozwalają na znaczne kontrolowanie choroby, i które zostały omówione w niniejszej pracy.

Słowa kluczowe: młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, MIZS, leki biologiczne

Abstract: Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is the most common childhood arthropathy. It is characterized by diversity in its medical signs, course and prognosis. The pathogenesis of the disease is complicated and most often has an autoimmune basis. 3 million children worldwide suffer from JIA, of which girls suffer from the disease more often. Diagnosing the disease is a difficult task because the most popular diagnostic methods are not specific for JIA. Despite numerous studies, no marker has been found so far that would shorten the diagnostic path. Treatment of JIA is extremely important and efforts are made to implement it as soon as possible. Delayed diagnosis and treatment may have dramatic consequences for the sick child and lead to irreversible disability, inhibited growth and organ damage. There are many new effective therapeutic methods, which allow for significant control of the disease, and which are discussed below.

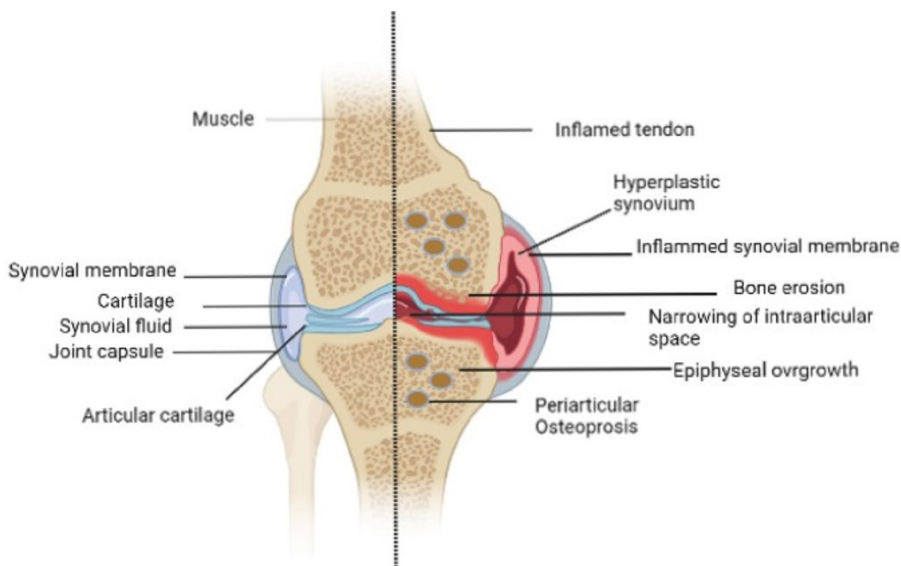
Keywords: juvenile idiopathic arthritis, JIA, biopharmaceuticals

WPROWADZENIE

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS) to heterogenna grupa zapaleń stawów, które utrzymują się ≥ 6 tygodni.

Charakteryzują się różnorodnością w obrazie klinicznym, przebiegu oraz rokowaniu. Patogeneza choroby jest złożona i najczęściej ma ona podłoże autoimmunologiczne. W przebiegu choroby obserwuje się zapalenie błony maziowej oraz zniszczenie tkanek w obrębie stawów (ryc. 1).

Rozpoznanie tej choroby jest wyzwaniem, gdyż nie ma obecnie swoistych markerów, które pozwoliłyby jednoznacznie potwierdzić diagnozę. Cały proces diagnostyczny obejmuje wiele etapów, w których jednym z ważniejszych jest różnicowanie MIZS od innych chorób o podobnym przebiegu. W przypadku MIZS o uogólnionym przebiegu należy wykluczyć zakażenia i choroby o podłożu infekcyjnym (sepsa, ostra gorączka reumatyczna, bakteryjne zapalenie wsierdza, borelioza, mononukleozą zakaźną i inne), choroby nowotworowe (białaczki, chłoniaki, neuroblastoma i inne), układowe choroby reumatyczne i zapalne (toczeń rumieniowaty układowy, zapalenie skórno-mięśniowe, choroba Kawasaki i inne zapalenia naczyń, reaktywne zapalenia stawów, sarkoidoza, choroba Castelmanna, choroba posurowicza i inne), nieswoiste zapalenia jelit (choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego), zespoły autozapalne i ZAM (zespół aktywacji makrofagów). [1]



Rycina 1. Na rycinie przedstawiono stan zapalny w obrębie stawu w przebiegu młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów [12]

ETIOLOGIA

Przyczyna choroby nie jest dokładnie znana. Jednak ze względu na jej różnorodność można podejrzewać, że za jej rozwój odpowiedzialne są czynniki środowiskowe, genetyczne oraz immunologiczne. Dodatkowo ostatnie wyniki badań nad genomami chorych dzieci wskazują, że ważną rolę odgrywają geny HLA (ludzkiego antygeny leukocytowego), a także inne geny.

Przykładowo, dla nielicznostawowego MIZS, które jest najczęstszą postacią tej choroby (40% wszystkich przypadków), wykazano następujące zależności genetyczne: geny HLA DRB1:01, DRB1:08, DRB1:11, DRB1:13, DPB1:02 i DQB1:04 zwiększają podatność na zachorowanie, z kolei allel klasy I HLA:A2 powiązany jest z nielicznostawowym i wielostawowym MIZS z ujemnym RF. Oprócz tego wykazano obecność genów, które “chronią” przed zachorowaniem - HLA DRB1*04 i DRB1*07 występują rzadziej u dzieci z nielicznostawowym MIZS w porównaniu z grupą kontrolną. [4]

Definiowanie genetycznych predyspozycji zapalenia stawów dzieci jest zadaniem trudnym z dwóch przyczyn. Po pierwsze MIZS nie jest pojedynczą jednostką chorobową a zespołem klinicznych objawów. Po drugie w poszczególnych podtypach choroby jest stosunkowo mała liczba pacjentów.

Associations between HLA variants and JIA

HLA allele	Oligo	Poly RF-	RF +	Psor	Sys	ERA
A2	↑	↑	↓			
B27						↑
DRB1:01	↑		↑	↑		↑
DRB1:04	↓		↑	↓	↑	
DRB1:07	↓					
DRB1:08	↑	↑				
DRB1:11	↑	↑			↑	
DPB1:02	↑					
DQA1:01				↑		↑

Tabela 1. W tabeli przedstawiono powiązania pomiędzy wybranymi allelami HLA a różnymi kategoriami MIZS [4]

Prowadzi się również badania nad związkiem polimorfizmów genów różnych cytokin a rozwojem MIZS, m.in. czynnika martwicy nowotworu (TNF), IL-6, IL-10, czynnika regulującego interferon 1 (IRL), czynnika hamującego migrację makrofagów (MIF). Wyniki tych badań są bardzo obiecujące, natomiast potrzebne są kolejne badania oraz analizy, które pozwoliłyby na praktyczne wykorzystanie tych czynników. [5]

KLASYFIKACJA

Dotychczas obowiązująca klasyfikacja ILAR (International League of Associations for Rheumatology) wyróżniała postać: systemową, skąpostawową (prze-trwałą i rozszerzającą się), wielostawową RF-dodatnią, wielostawową RF-ujemną, z zapaleniem przyczepów ścięgien (*enthesitis related arthritis* – ERA), młodzieńcze łuszczykowe zapalenie stawów (MŁZS) oraz niezróżnicowane zapalenie stawów. Klasyfikacja ta jest uznawana na całym świecie.

Jednak pojawiły się nowe potrzeby związane z wprowadzeniem bardziej skutecznych i specyficznych terapii w oparciu o patogenzę choroby oraz zapobieganiu odległym konsekwencjom. Dlatego w 2019r. Alberto Martini wraz z grupą czołowych reumatologów dziecięcych z Pediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO) opublikowali nowe kryteria klasyfikacji.

Zgodnie z klasyfikacją PRINTO 2019, MIZS ma obejmować grupę chorób zapalnych rozpoznawanych przed ukończeniem 18r.ż., które utrzymują się minimum 6tyg. i spełniają kryteria rozpoznania po wcześniejszym wykluczeniu innych jednostek chorobowych. Klasyfikacja opiera się o ściśle określony fenotypowy obraz choroby. Klasyfikacja ta wyróżnia 5 odrębnych postaci: postać systemową, zapalenie stawów RF-dodatnie, zapalenie stawów z *enthesitis/spondylitis*, MIZS o wczesnym początku z obecnością ANA, niesklasyfikowane zapalenie stawów.

Nowe wytyczne wskazują, że paradoksalnie zapalenie stawów nie jest konieczne, do postawienia diagnozy. Czasem zapalenie stawów może wystąpić dopiero kilka lat po pojawieniu się objawów ogólnoustrojowych w uMIZS (układowym MIZS). Dlatego obecność przeciwciał przeciwjądrowych (ANA), zapalenia tęczówki i ciała rzęskowego, asymetria zapalenia stawów i wiek zachorowania mogą mieć większe znaczenie w określeniu jednorodnej jednostki chorobowej. Rozpoznanie opiera się na obecności gorączki, klasycznej wysypki oraz ≥ 2 kryteriach drugorzędowych: (1) uogólnione powiększenie węzłów chłonnych i/lub powiększenie wątroby i/lub splenomegalia; (2) zapalenie błon surowiczych; (3) bóle stawów trwające 2 tygodnie lub dłużej (przy braku zapalenia stawów); (4)

leukocytoza ($\geq 15\ 000/\text{mm}^3$) z neutrofilią. [2,3] Porównanie klasyfikacji ILAR i PRINTO 2019 przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. W tabeli przedstawiono porównanie klasyfikacji ILAR oraz nowej klasyfikacji PRINTO (2019) [2]

	ILAR	PRINTO
Wiek	<16r.ż.	<18r.ż.
Kategorie	7 (układowe zapalenie stawów; Zapalenie stawów związane z zapaleniem przyczepów ścięgniastych; Zapalenie wielostawowe dodatnie pod względem czynnika reumatoidalnego; Oligoartretyzm; zapalenie wielostawowe z ujemnym wynikiem RF; Łuszczycowe zapalenie stawów; Niezróżnicowane zapalenie stawów.) systemową,	5 (układowe MIZS; MIZS z dodatnim wynikiem RF; MIZS związane z zapaleniem przyczepów ścięgniastych/zapaleniem stawów kręgosłupa; MIZS o wczesnym początku z dodatnim wynikiem ANA; Inne MIZS)
Kategorie oparte o	Objawy kliniczne w ciągu 6 miesięcy od wystąpienia objawów przedmiotowych i podmiotowych	Kliniczne i rutynowe pomiary laboratoryjne dostępne na całym świecie
Układowe zapalenie stawów/układowe MIZS	Zajęty jeden staw lub więcej	Zapalenie stawów nie jest konieczne do rozpoznania
Liczba zaangażowanych stawów	Oligoartroza (od jednego do czterech stawów); zapalenie wielostawowe (pięć lub więcej stawów)	Zamiast określenia zapalenia wielostawowego użyto zapalenie stawów, które też przestało być kryterium klasyfikacji

Kryteria kliniczne nieaktywnej choroby

W wybranych typach (o początku nielicznostawowym: typ przetrwały, rozszerzający się, wielostawowy RF(+) i RF(-) oraz uogólniony) opisano kryteria, które wskazują na to, że choroba jest nieaktywna. Są to kolejno:

- Brak aktywnego zapalenia stawów
- Brak gorączki, wysypki, zapalenia błon surowiczych, powiększenia śledziony lub uogólnionego powiększenia węzłów chłonnych przypisanego MIZS

- Brak aktywnego zapalenia błony naczyniowej oka tj. obecność <1 komórki w obszarze o rozmiarze 1mm w 1-milimetrowej wiązce lampy szczelinowej
- Odczyn Biernackiego (OB) lub stężenie białka C-reaktywnego (CRP) w granicach normy dla danego laboratorium, z wyłączeniem podwyższonych wartości wynikających z innych przyczyn niż MIZS
- Całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza – wynik najlepszy z możliwych na stosowane skali
- Czas trwania sztywności porannej przez mniej niż 15 minut [8].

DIAGNOSTYKA

Jak wspomniano wyżej MIZS jest zapaleniem stawów, o nieznannej etiologii, rozpoczynającym się przed 16. rokiem życia (wg klasyfikacji PRINTO 2019 przed 18 r.ż.). Choroba ta może przebiegać pod różnymi postaciami klinicznymi i z różnym nasileniem, dlatego postawienie diagnozy jedynie na podstawie objawów jest praktycznie niemożliwe. Rozpoznanie rozpoczyna się od wykluczenia chorób, które w swoim przebiegu również manifestują zapalenie stawów i przebieg podobny do MIZS (wymienione wyżej). Wczesne rozpoznanie choroby jest niezwykle ważne, gdyż opóźnione rozpoczęcie leczenia może mieć poważne skutki w postaci ciężkich uszkodzeń stawów, zahamowania wzrostu oraz uszkodzenia innych narządów, co w konsekwencji może prowadzić do niepełnosprawności.

U dziecka z zapaleniem jednostawowym należy przeprowadzić diagnostykę różnicową z urazem, septycznym zapaleniem stawu oraz chorobą hematologiczną, gdyż przebieg ich jest bardzo podobny i może wskazywać na MIZS. U dzieci z nielicznostwowym MIZS staw zazwyczaj jest opuchnięty i ciepły, ale nie obserwuje się zaczerwienienia i tkliwości, a bolesność zazwyczaj nie jest duża. Natomiast gdy w przebiegu choroby obserwuje się wysoką gorączkę oraz bolesność i zarumienienie stawu, wtedy bardziej prawdopodobne jest septyczne zapalenie stawu, które potwierdza się wykonując aspirację płynu stawowego.

Rozpoznanie ogólnoustrojowego MIZS jest niezwykle trudne, szczególnie w początkowej fazie choroby, gdy nie występują jeszcze objawy zapalenia stawów. Na początku dominują objawy przypominające ogólnoustrojowe zapalenie. Gorączka w przebiegu MIZS jest wysoka i może występować o każdej porze dnia, ale zazwyczaj jest to od późnego popołudnia do wieczora i może jej też towarzyszyć charakterystyczna wysypka oraz częste dreszcze. Samopoczucie dzieci znacznie obniża się w trakcie gorączki, ale przez resztę czasu czują się zaskakująco dobrze [6].

Diagnostyka laboratoryjna

Nieprawidłowości w badaniu krwi mogą wskazywać na zakres choroby zapalnej. Rutynowo wykonuje się morfologię krwi obwodowej z rozmazem białokrwinkowym, oznacza się poziom płytek krwi, poziom wskaźników stanu zapalnego tj. OB i CRP, aktywność aminotransferaz, stężenie immunoglobulin (IgG, IgM, IgA), czynnik reumatoidalny (RF), przeciwciała przeciwjądrowe z badaniem skriningowym 12 przeciwciał, proteinogram, a także przeciwciała przeciw HCV, HBV, EBV, CMV, oznaczenie stężenia witaminy D, kreatyninę oraz badanie ogólne moczu.

W przypadku wskaźników stanu zapalnego (OB i CRP) poziomy ich są zmienne. OB jest ważną miarą aktywności choroby w początkowych fazach, a także w trakcie kontrolowania przebiegu choroby i monitorowania skuteczności leczenia.

W przypadku przewlekłych chorób zapalnych, także w MIZS często obserwuje się niedokrwistość, która spowodowana jest niedoborem żelaza. Oprócz krwinek czerwonych, zmiany obserwuje się również w liczebności krwinek białych oraz płytek krwi. U pacjentów z aktywną chorobą występuje leukocytoza oraz gwałtowny wzrost płytek krwi szczególnie w ciężkich postaciach układowych i wielostawowych.

Badania serologiczne oparte są o obecność czynnika reumatoidalnego (RF), który nie jest aż tak przydatnym parametrem diagnostycznym w MIZS, ale jego obecność u dzieci chorych na zapalenie wielostawowe ma znaczenie prognostyczne.

Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA) to szeroka grupa autooprzeciwciał skierowanych przeciw różnym składnikom jądra komórkowego. Zalicza się do nich przeciwciała dsDNA, ssDNA, Sm, RNP, RNA, Ro, La, Mi II. ANA jest markerem postaci nielicznostawowej MIZS z towarzyszącym zapaleniem błony naczyniowej oka. Ocenę ANA przeprowadza się u wszystkich chorych dzieci.

Przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowemu peptydowi (anty-CCP), nie są standardowo badane u chorych z MIZS, jednak wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniami przeciwciał anty-CCP a aktywnością procesu reumatoidalnego u dzieci, a także większą progresję uszkodzeń radiologicznych w stawach u dzieci z obecnością tego przeciwciała. Przeciwciała te są czynnikami predysponującymi do rozwoju ciężkiej postaci MIZS i w przypadku ich obecności konieczne jest zastosowanie bardziej agresywnego leczenia [7].

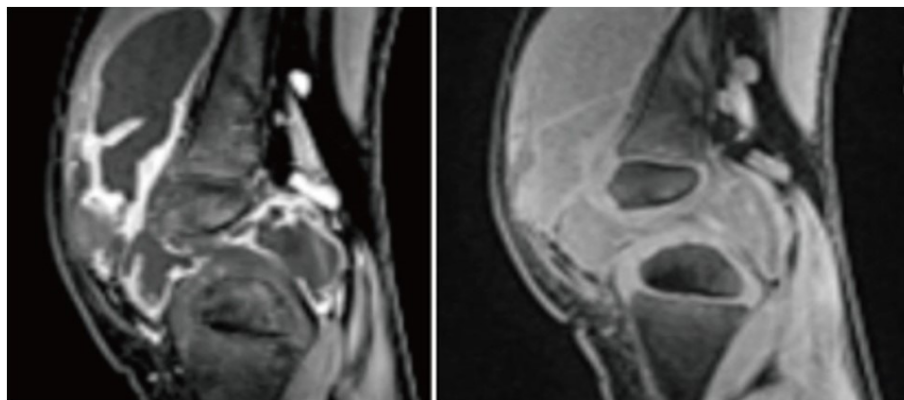
HLA-B27 należy badać u dzieci, które manifestują zapalenie stawów o podłożu zapalenia przyczepów ścięgniętych i które mogą wykazywać podatność na

zapalenie stawów szkieletu osiowego.

Podsumowując, wyniki badań laboratoryjnych nie wykazują satysfakcjonującej swoistości w stosunku do chorób reumatycznych. Zatem należy je zawsze interpretować indywidualnie w stosunku do pacjenta, biorąc pod uwagę wiele aspektów takich jak rzetelnie zebrany wywiad oraz objawy kliniczne.

Diagnostyka obrazowa

Diagnostyka obrazowa opiera się przede wszystkim na powszechnie dostępnej i prostej w wykonaniu radiografii (RTG) oraz ultrasonografii (USG), która służy głównie do wykazania obecności płynu śródstawowego. W ostatniej dekadzie coraz częściej wykonuje się również rezonans magnetyczny (MR), który znacznie ułatwia ocenę choroby. Obrazowanie MR w skuteczny sposób pozwala wykryć zmiany zapalne w stawach i chrząstkach (ryc.2), a także powikłania choroby w postaci nadżerek, uszkodzeń struktur stawu i zmniejszenie jego przestrzeni oraz zajęcia więzadeł.



Rycina 2. Rycina przedstawia rezonans magnetyczny pacjenta z MIZS. Widoczny wysięk i proliferacyjne pogrubienie błony maziowej [6]

LECZENIE

Strategia leczenia MIZS jest oparta o koncepcję “Treat to Target” (T2T), czyli terapii nakierowanej na cel, którym jest osiągnięcie remisji (brak objawów zapalenia oraz objawów pozastawowych) lub stanu choroby nieaktywnej. Lekami pierwszego rzutu są niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) i sterydy podawane dostawowo lub jednoczesne podawanie leków przeciwreumatycznych

modyfikujących przebieg choroby (DMARD) [10,11]. NLPZ hamując aktywność COX-1 i COX-2 wykazują działanie przeciwzapalne oraz przeciwbólowe. Ogólnoustrojowe podawanie dużych dawek sterydów, ma jedynie uzasadnienie w przypadku układowego MIZS i to tylko w terapii krótkotrwałej. Długotrwałe ogólnoustrojowe podawanie sterydów może prowadzić do osteoporozy, zahamowania wzrostu, immunosupresji oraz zaburzeń metabolicznych.

W 2018 opublikowano nadrzędne zasady postępowania wymienione kolejno w punktach: 1) cel i strategia leczenia MIZS powinny opierać się na wspólnych decyzjach rodziców/pacjenta i zespołu reumatologów dziecięcych 2) MIZS to heterogenna grupa chorób, które wymagają odrębnego podejścia do leczenia 3) celem leczenia pacjentów chorujących na MIZS jest remisja, w strategii terapii należy uwzględnić (kontrolowanie oznak i objawów choroby, zapobieganie uszkodzeniom strukturalnym, unikanie chorób współistniejących i toksyczności leków, optymalizację aktywności, wzrostu i rozwoju, jakości życia i udziału w sferze społecznej) 4) zniesienie stanu zapalnego jest niezbędne do osiągnięcia tych celów 5) należy unikać długotrwałego stosowania ogólnoustrojowych glikokortykosteroidów (GKS), aby utrzymać cel leczenia 6) aby osiągnąć cel, ważna jest regularna ocena aktywności choroby i odpowiednie dostosowanie terapii.

Niebiologiczne leki DMARD

(leki przeciwreumatyczne modyfikujące przebieg choroby)

Do niebiologicznych leków przeciwreumatycznych modyfikujących przebieg choroby zaliczamy: metotreksat (MTX), leflunomid i sulfasalazynę.

MTX jest antagonistą kwasu foliowego (antymetabolitem). Poprzez hamowanie reduktazy dihydrofolianowej blokuje przemianę dihydrofolianu w tetrahydrofolina, a z tym syntezę zasad purynowych i tymidynianów, koniecznych do syntezy i naprawy DNA. Metotreksat ma różne szlaki działania: hamuje produkcję cytokin, wpływa na metabolizm kwasu arachidonowego oraz na apoptozę komórki. Stosowany może być w nielicznostawowych MIZS, wielostawowych MIZS, MIZS z zapaleniem błony naczyniówkowej oka (gdy zastosowane leki nie dawały efektów), łuszczycowy MIZS, układowy MIZS z objawowym zapaleniem stawów bez objawów układowych [12, 13].

Leflunomid to lek przeciwreumatyczny pochodny izoksazolu. Za działanie leflunomidu odpowiedzialny jest jego metabolit A771726, który hamuje aktywność dehydrogenazy dihydroortanu, a przez to syntezę rybonukleotydu monofosforanu urydyny. Poza hamowaniem proliferacji komórek, hamuje aktywność

COX-2, a w większych dawkach również kinazę tyrozynową podczas podziału komórek. Stosowany jest u pacjentów z wielostawowymi MIZS bez odpowiedzi lub ze złą tolerancją na metotreksat. Jest stosowany dosyć rzadko u dzieci, gdyż wywołuje wiele działań niepożądanych, dlatego przed włączeniem tego leku należy zawsze prowadzić analizę spodziewanych korzyści do ryzyka [12,14].

Mechanizm działania sulfasalazyny nie jest do końca poznany, wykazuje ona właściwości immunosupresyjne. Lepiej poznane są właściwości produktów jej rozkładu, czyli kwasu 5-aminosalicyłowego (mesalazyny) i sulfapyrydyny. Sulfapyrydyna hamuje działanie cytotoksycznych leukocytów oraz transformację limfocytów. Mesalazyna hamuje cykliczną oksygenazę i oksygenazę lipidową, co blokuje syntezę różnych mediatorów zapalenia (m.in. prostaglandyn, leukotrienów). Stosowana jest jedynie w leczeniu MIZS związanym z zapaleniem przyczepów ścięgniastych [12, 15, 34].

Biologiczne leki DMARD

(leki przeciwreumatyczne modyfikujące przebieg choroby)

Inhibitory TNF α

Pierwszymi zarejestrowanymi lekami biologicznymi do leczenia MIZS był entercept i adalimumab, czyli leki anty-TNF α (jedną z głównych cytokin odpowiedzialnych za przebieg procesu zapalnego w MIZS). Obecnie są one uznawane za najskuteczniejsze leki w leczeniu MIZS. Połączenie tych leków z MTX znacznie zwiększa szansę na osiągnięcie remisji choroby. Są one skuteczne w różnych typach MIZS, również w MIZS związanym z zapaleniem błony naczyniowej oka oraz MIZS związanym z zapaleniem przyczepów ścięgniastych [16]. Entanercept jest białkiem receptorowym p75 Fc wiążącym się z ludzkim czynnikiem martwicy nowotworów (TNF), jest połączeniem domeny receptora 2 ludzkiego TNF (TNFR2/p75), która wiąże się z zewnątrzkomórkowymi ligandami z domeną Fc ludzkiej IgG₁. Entanercept kompetycyjnie hamuje wiązanie TNF z jego receptorami, co sprawia, że staje się on nieaktywny [17]. Stosowany w wielostawowym MIZS z nietolerancją lub brakiem odpowiedzi na metotreksat, MIZS związanym z zapaleniem przyczepów ścięgniastych oraz MIZS związanym z łuszczycą [12].

Adalimumab jest rekombinowanym ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, swoiście wiąże TNF α i uniemożliwia jego łączenie się z receptorami powierzchniowymi p55 i p75. Adalimumab wpływa także na odpowiedź biologiczną wywołaną przez TNF α bądź regulowaną przez TNF α . Prowadzi to do zmian stężeń m.in. cząsteczek adhezji ważnych w migracji leukocytów (ICAM-1 ELAM-1, VCAM-1) [18]. Stosowany jest w leczeniu MIZS z nietolerancją lub brakiem odpowiedzi na metotreksat, wielostawowym MIZS, MIZS z zapaleniem błony

naczyniowej oka, MIZS związane z zapaleniem przyczepów ścięgnistych niereagujący na sulfasalazynę oraz MIZS związane z łuszczycą [12].

Inhibitor aktywacji limfocytów T

W przypadku braku odpowiedzi na inhibitory TNF α lub co najmniej jeden lek DMARD stosuje się abatacept (CTLA-4Ig), czyli białko fuzyjne zatwierdzone przez FDA w 2005r. Abatacept blokuje CD80 i CD86 na powierzchni komórki prezentującej antygen, co zmniejsza kostymulujący wpływ białka CD28, w efekcie proces chorobowy zostaje zahamowany [19].

Inhibitory IL-6

Inną możliwością przy braku odpowiedzi na inhibitory TNF α jest tocilizumab, czyli inhibitor receptora IL-6. Tocilizumab jest też ważną opcją terapeutyczną w przypadku MIZS związanym z zapaleniem błony naczyniowej oka, opornym na MTX oraz inhibitory TNF α [20]. Tocilizumab (anty-IL6R) był pierwszym lekiem zatwierdzonym do leczenia czynnego układowego MIZS.

Inhibitory IL-1

W układowym MIZS skuteczność wykazują również inhibitory IL-1. Anakinra (IL1Ra), ryloncept (inhibitor IL1) i kanakinumab (anty-IL1 β) zostały z powodzeniem zastosowane w badaniach klinicznych z porównywalną długoterminową skutecznością, w przypadku których połowa leczonych pacjentów osiągnęła remisję [21, 22, 23, 24].

Anakinra jest antagonistą ludzkich receptorów dla IL-1. Zmniejsza ona aktywność biologiczną IL-1 α oraz IL-1 β poprzez kompetycyjne hamowanie wiązania się z receptorami. Stosowana jest w opornym na inne leczenie układowym MIZS z przewlekłe utrzymującymi się systemowymi objawami.

Ryloncept jest białkiem fuzyjnym składającym się z białka receptora dla IL-1 połączonego z fragmentem Fc immunoglobuliny ludzkiej. Stosowany jest w aktywnym układowym MIZS.

Z kolei kanakinumab jest przeciwciałem skierowanym przeciwko ludzkiej IL-1 β .

Inhibitory kinaz tyrozynowych związanych z Janusem (JAK)

Mechanizm ich działania polega na blokowaniu szlaków JAK-STAT w celu przerwania przekazywania zewnątrzkomórkowych sygnałów prozapalnych do jądra komórkowego. Misserocchi i in. wykazali skuteczność tych leków w MIZS

z zapaleniem błony naczyniowej oka [26]. Wyniki randomizowanego, międzynarodowego, kontrolowanego badania klinicznego III fazy z podwójnie ślełą próbą (NCT02592434) udowodniły bezpieczeństwo i skuteczność tofacytynibu w MIZS, co skutkuje zmniejszeniem zaostrzeń i aktywności choroby [27]. Nadal prowadzone są badania nad skutecznością tofacytynibu i baricytynibu w innych postaciach MIZS [28].

Do tej grupy leków zaliczany jest również upadacytynib i tak jak wyżej wymienione leki, hamuje kinazę tyrozynową (JAK), przez co tłumi impulsy wywołujące stan zapalny. Jego stosowanie zmniejsza ból, obrzęk, sztywność oraz zniszczenie stawów.

Zalecenia ACR (American Collage of Reumathology) 2019 w leczeniu młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów

Skuteczne, dostosowane do typu MIZS leczenie jest niezbędne do zapobiegania ciężkim powikłaniom tej choroby. W tym celu publikowane są kolejne rekomendacje ACR dotyczące postępowania w MIZS:

- ACR 2011 — zalecenia wstępnej terapii MIZS [29]
- ACR 2013 — leczenie postaci układowej MIZS [30]
- ACR 2019 — leczenie ostrego i przewlekłego uveitis związanego z MIZS [31]
- ACR 2019 — leczenie nieukładowej wielostawowej postaci MIZS, sacroilitis i enthesitis [32]

Zapalenie wielostawowe (polyarthritis) dotyczy populacji dzieci z MIZS i nieukładowym zapaleniem wielostawowym (≥ 5 stawów kiedykolwiek zajętych). Do grupy tej zalicza się pacjentów z postacią wielostawową RF (+) oraz RF (-), postacią nielicznostawową rozszerzającą się, MIZS-ERA oraz niezróżnicowanym zapaleniem stawów. Czynniki ryzyka, które wykorzystane są w celu stratyfikacji leczenia przez autorów rekomendacji to: czynnik reumatoidalny (RF), przeciwciała anty-CCP i uszkodzenie stawów.

Według rekomendacji nieleczeni pacjenci z aktywnym polyarthritis powinni, w odróżnieniu od innych postaci, rozpocząć wstępną terapię od leków przeciwreumatycznych modyfikujących przebieg choroby (LMPCh). Lekiem najczęściej stosowanym jest metotreksat podawany *s.c.* Jeśli pacjenci po włączeniu LMPCh wykazują niską aktywność choroby, wtedy należy podawać GKS dostawowo, zwiększyć dawkę LMPCh (lub zacząć podawać MTX, jeśli pacjent przyjmował inny LMPCh). Gdy pacjent wykazuje z kolei umiarkowaną/wysoką aktywność choroby, wtedy należy włączyć lek biologiczny (anty-TNF, tocilizumab, abatacept), zamiast drugiego LMPCh. GKS nie są rekomendowane jako terapia pomostowa przy niskiej aktywności choroby oraz leczenie niskimi dawkami GKS.

Leczenie aktywnego sacroilitis według ACR 2019 opiera się na wstępnym podawaniu NLPZ. Podanie inhibitorów TNF jest szczególnie rekomendowane. W przypadku przeciwwskazań do inhibitorów TNF, zaleca się podanie sulfasalazyny. Podawanie MTX w monoterapii jest zabronione. Terapia pomostowa GKS p.o. (< 3 m-cy) jest warunkowo rekomendowana podczas leczenia wstępnego lub eskalacji leczenia. Warunkowo rekomendowane są też iniekcje do stawów krzyżowo-biodrowych jako leczenie dodatkowe. Wskazana jest również fizykoterapia w aktywnym sacroilitis.

W przypadku leczenia enthesitis mocno zaleca się podawanie NLPZ, leków anti-TNF (przewaga nad MTX i sulfasalazyną). Warunkowo zalecana jest terapia pomostowa GKS p.o. (< 3 m-cy) w okresie inicjacji lub eskalacji leczenia. Zalecana jest również fizykoterapia przy aktywnym enthesitis [33].

PODSUMOWANIE

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów jest chorobą niezwykle ciężką, wiążącą się z licznymi powikłaniami, które bardzo często prowadzą do niepełnosprawności. Choroba ta dotyka najmłodszych, dlatego tak ważne jest zwalczanie jej objawów oraz zapobieganie powikłaniom. Powstaje coraz więcej badań, które wyjaśniają patogenezę choroby i pozwalają na jej lepsze zrozumienie. Obserwuje się też znaczącą zmianę postrzegania MIZS w środowisku reumatologicznym. Naprzeciw temu powstała nowa klasyfikacja choroby (PRINTO 2019). Kryteria klasyfikacji są w niej bardziej homogenne i opierają się w znacznym stopniu o fenotypy kliniczne.

Obecnie nie ma swoistych markerów wskazujących na MIZS. Dlatego choroba jest często rozpoznawana z opóźnieniem, gdy zmiany w stawach i w narządach są już nieodwracalne. Sam fakt, że pierwszym etapem diagnostycznym jest wykluczenie pozostałych chorób manifestujących zapalenie stawów podobne do MIZS, pokazuje jak długie jest postępowanie diagnostyczne. Opiera się ono na całościowym i indywidualnym podejściu do młodego pacjenta.

Mimo tych ograniczeń kładzie się bardzo duży nacisk na szybkie rozpoznanie choroby i wdrożenie skutecznego leczenia, które hamowałoby postępujący rozwój choroby i chronił przed jej nieodwracalnymi skutkami. Pomocne w tym zakresie są rekomendacje publikowane przez ACR (American College of Rheumatology). Najnowsze rekomendacje ACR z 2019 skupiają się głównie na nieukładowej postaci wielostawowej MIZS, sacroilitis (MIZS z zapaleniem stawów krzyżowo-biodrowych) oraz enthesitis (MIZS z zapaleniem przyczepów ścięgnistych).

Coraz to nowsze leki biologiczne (tj. inhibitory TNF α , IL-1, IL-6, inhibitory aktywacji limfocytów T i wreszcie inhibitory kinaz tyrozynowych (JAK)) pozwalają na znaczną kontrolę choroby i hamują jej negatywne skutki.

W ostatnich latach znacznie wzrosło zainteresowanie młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów, jako że jest to najczęstsza artropatia wieku dziecięcego. Ta heterogenna grupa chorób nadal stawia przed światem nauki wiele niewiadomych [33].

REFERENCJE

- [1] Medycyna praktyczna dla lekarzy; MIZS o początku uogólnionym; dostępne: <https://www.mp.pl/podrecznik/pediatrica/chapter/B42.87.4.1.2.1>.
- [2] Chen K, Zeng H, Togizbayev G, Martini A, Zeng H. New classification criteria for juvenile idiopathic arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2023 Oct;26(10):1889-1892. doi: 10.1111/1756-185X.14813.
- [3] Medycyna praktyczna dla lekarzy; Postępy w reumatologii dziecięcej w latach 2019-2021; dostępne: <https://www.mp.pl/pediatrica/artykuly/wytyczne/postepy/297442,postepy-w-reumatologii-dzieciecej-w-latach-20192021>
- [4] Hersh AO, Prahalad S. Immunogenetics of juvenile idiopathic arthritis: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015 Nov;64:113-24. doi: 10.1016/j.jaut.2015.08.002. Epub 2015 Aug 21. PMID: 26305060; PMCID: PMC4838197.
- [5] Thomson W, Donn R. Juvenile idiopathic arthritis genetics - what's new? What's next? *Arthritis Res.* 2002;4(5):302-6. doi: 10.1186/ar591. Epub 2002 Aug 5. PMID: 12223104; PMCID: PMC128941.
- [6] Kim KH, Kim DS. Juvenile idiopathic arthritis: Diagnosis and differential diagnosis. *Korean J Pediatr.* 2010 Nov;53(11):931-5. doi: 10.3345/kjp.2010.53.11.931. Epub 2010 Nov 30. PMID: 21218014; PMCID: PMC3012272.
- [7] „Przegląd Reumatologiczny” 2009, nr 3-4 (27), s. 3, 6-7. Znaczenie przeciwciał anty-CCP w MIZS; dostępny: https://www.przegladreumatologiczny.pl/znaczenie_przeciwcia_anty_ccp_w_mizs

- [8] Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów Juvenile idiopathic arthritis Lidia Rutkowska-Sak, Piotr Gietka Klinika i Poliklinika Chorób Reumatycznych Wieków Rozwojowego, Narodowy Instytut Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, Reumatologia 2016; supl. 1: 76–79 DOI: 10.5114/reum.2016.60006
- [9] Przedruk z: Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów – nie tylko nowości pod redakcją Lidii Rutkowskiej-Sak, Termedia, Poznań 2014, s. 127–147 - ocena aktywności przebiegu młodzieńczego idiopatycznego reumatoidalnego zapalenia stawów
- [10] Beukelman T, Patkar NM, Saag KG, Tolleson-Rinehart S, Cron RQ, DeWitt EM, Ilowite NT, Kimura Y, Laxer RM, Lovell DJ, Martini A, Rabinovich CE, Ruperto N. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011 Apr;63(4):465-82. doi: 10.1002/acr.20460. PMID: 21452260; PMCID: PMC3222233.
- [11] Ravelli A, Consolaro A, Horneff G, et al. Treating juvenile idiopathic arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(6):819-828. doi:10.1136/annrheumdis-2018-213030
- [12] Bansal N, Pasricha C, Kumari P, Jangra S, Kaur R, Singh R. A comprehensive overview of juvenile idiopathic arthritis: From pathophysiology to management. *Autoimmun Rev*. 2023;22(7):103337. doi:10.1016/j.autrev.2023.103337
- [13] Medycyna praktyczna portal dla pacjentów; Metotreksat (opis profesjonalny); dostępny: <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=556>
- [14] Medycyna praktyczna dla pacjentów; Leflunomid (opis profesjonalny); dostępny : <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=4321>
- [15] Medycyna praktyczna portal dla pacjentów; Sulfasalazyna; dostępne: <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=737>

- [16] Balevic SJ, Rabinovich CE. Profile of adalimumab and its potential in the treatment of uveitis. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:2997-3003. Published 2016 Sep 19. doi:10.2147/DDDT.S94188
- [17] Medycyna praktyczna portal dla pacjentów; Etanercept (opis profesjonalny); dostępny: <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=3933>
- [18] Medycyna praktyczna portal dla pacjentów; Adalimumab (opis profesjonalny); dostępny: <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=4504>
- [19] Lovell DJ, Ruperto N, Mouy R, et al. Long-term safety, efficacy, and quality of life in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with intravenous abatacept for up to seven years. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(10):2759-2770. doi:10.1002/art.39234
- [20] Ramanan AV, Dick AD, Guly C, et al. Tocilizumab in patients with anti-TNF refractory juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis (APTITUDE): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Rheumatol.* 2020;2(3):e135-e141. Published 2020 Feb 7. doi:10.1016/S2665-9913(20)30008-4
- [21] Nigrovic PA, Mannion M, Prince FH, et al. Anakinra as first-line disease-modifying therapy in systemic juvenile idiopathic arthritis: report of forty-six patients from an international multicenter series. *Arthritis Rheum.* 2011;63(2):545-555. doi:10.1002/art.30128
- [22] Ruperto N, Brunner HI, Quartier P, et al. Canakinumab in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis and active systemic features: results from the 5-year long-term extension of the phase III pivotal trials. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(12):1710-1719. doi:10.1136/annrheumdis-2018-213150
- [23] Giancane G, Minoia F, Davì S, Bracciolini G, Consolaro A, Ravelli A. IL-1 Inhibition in Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *Front Pharmacol.* 2016;7:467. Published 2016 Dec 6. doi:10.3389/fphar.2016.00467

- [24] Ilowite NT, Prather K, Lokhnygina Y, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the efficacy and safety of riloncept in the treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(9):2570-2579. doi:10.1002/art.38699
- [25] Medycyna praktyczna portal dla pacjentów; Anakinra (opis profesjonalny); dostępny: <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=4406>
- [26] Miserocchi E, Giuffrè C, Cornalba M, Pontikaki I, Cimaz R. JAK inhibitors in refractory juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Clin Rheumatol.* 2020;39(3):847-851. doi:10.1007/s10067-019-04875-w
- [27] Ruperto N, Brunner HI, Synoverska O, et al. Tofacitinib in juvenile idiopathic arthritis: a double-blind, placebo-controlled, withdrawal phase 3 randomised trial. *Lancet.* 2021;398(10315):1984-1996. doi:10.1016/S0140-6736(21)01255-1
- [28] Welzel T, Winskill C, Zhang N, Woerner A, Pfister M. Biologic disease modifying antirheumatic drugs and Janus kinase inhibitors in paediatric rheumatology - what we know and what we do not know from randomized controlled trials [published correction appears in *Pediatr Rheumatol Online J.* 2021 Aug 16;19(1):124]. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2021;19(1):46. Published 2021 Mar 25. doi:10.1186/s12969-021-00514-4
- [29] Beukelman T, Patkar NM, Saag KG, et al. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2011;63(4):465-482. doi:10.1002/acr.20460
- [30] Ringold S, Weiss PF, Beukelman T, et al. 2013 update of the 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: recommendations for the medical therapy of children with systemic juvenile idiopathic arthritis and tuberculosis screening among children receiving biologic medications. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65(10):1551-1563. doi:10.1002/acr.22087

- [31] Angeles-Han ST, Ringold S, Beukelman T, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Screening, Monitoring, and Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis-Associated Uveitis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019;71(6):703-716. doi:10.1002/acr.23871
- [32] Ringold S, Angeles-Han ST, Beukelman T, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Non-Systemic Polyarthritis, Sacroiliitis, and Enthesitis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019;71(6):717-734. doi:10.1002/acr.23870
- [33] Smolewska, Elzbieta & Zuber, Zbigniew. (2020). Zalecenia ACR 2019 leczenia młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów a możliwości terapii w warunkach polskich. *Forum Reumatologiczne*. 6. 105-112. 10.5603/FR.2020.0015.
- [34] Zaripova, L.N., Midgley, A., Christmas, S.E. et al. Juvenile idiopathic arthritis: from aetiopathogenesis to therapeutic approaches. *Pediatr Rheumatol* 19, 135 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12969-021-00629-8>

ZWALCZANIE GRUŻLICY - WYBRANE ZAGADNIENIA

Aleksandra Zdunek, Daria Kaczor, Kalina Wnęczak

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biofizyki im. prof. Zbigniewa Religi,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt: Gruźlica stanowi poważny problem w dzisiejszych czasach ze względu na skomplikowane i długotrwałe leczenie. Jest ona jedną z najczęstszych chorób prowadzących do śmierci, które wynikają z pojedynczego czynnika zakaźnego. Z tego powodu aktualnie prowadzonych jest wiele badań, które umożliwiłyby przyspieszenie oraz zwiększenie skuteczności terapii. Na przełomie ostatnich lat nastąpił duży postęp, jeżeli chodzi o nowe leki stosowane w gruźlicy wielolekoopornej oraz terapie skojarzone. Coraz częściej też pod rozważenie bierze się obiecujące terapie kierowane na gospodarza, które w przyszłości możliwe, że będą mogły znacząco pomóc w tej dziedzinie. W niniejszej pracy opisano obiecujące sposoby na skrócenie czasu trwania leczenia poprzez zwiększenie dawek ryfampicyny oraz szersze i w większych stężeniach zastosowanie fluorochinolonów. Zwrócono uwagę na istotną rolę rozwoju nowych metod diagnostycznych, których większa czułość i efektywność może w dużym stopniu zapobiec rozprzestrzenianiu się gruźlicy w organizmie. Omówiono także działanie i efekty obiecujących antybiotyków klofazyminy, bedakiliny i pretomanidu oraz poruszono temat obecnie stosowanych terapii skojarzonych i ich intensywnego rozwoju na przełomie lat. W dalszej części opisane zostały inhibitory mTOR, peptydy przeciwbakteryjne, statyny, metformina, inhibitory kinaz tyrozynowych, trehaloza oraz mediatory stanu zapalnego jako ważne do rozważenia metody w terapii kierowanej na gospodarza, które wykazują potencjał do przyszłego zastosowania.

Słowa kluczowe: gruźlica, nowe leki, skrócenie schematu leczenia, terapia skierowana na gospodarza, terapia skojarzona

Abstract: Nowadays tuberculosis remains a serious problem due to its complex and prolonged treatment. It is one of the most common diseases leading to death caused by a single infectious agent. Therefore, numerous studies are currently underway to accelerate and improve the effectiveness of therapy. Over the past few years, there has been significant progress in the development of new drugs for multidrug-resistant tuberculosis and combination therapies. Increasingly, promising host-directed therapies are also being considered, which may significantly help in this field in the future. In a recent study, promising methods for shortening the duration of treatment by increasing doses of rifampicin and broader, higher-dose use of fluoroquinolones were described. Attention was also drawn to the important role of developing new diagnostic methods,

the increased sensitivity and effectiveness of which can greatly prevent the spread of tuberculosis in the body. The action and effects of promising antibiotics such as clofazimine, bedaquiline, and pretomanid were also discussed, as well as the topic of currently used combination therapies and their intensive development in recent years. In the following sections, inhibitors of mTOR, antibacterial peptides, statins, metformin, tyrosine kinase inhibitors, trehalose, and inflammatory mediators were described as important considerations for host-directed therapy, showing potential for future application.

Początek formularza

Keywords: tuberculosis, new drugs, shortened treatment regimens, host-directed therapy, combination therapy

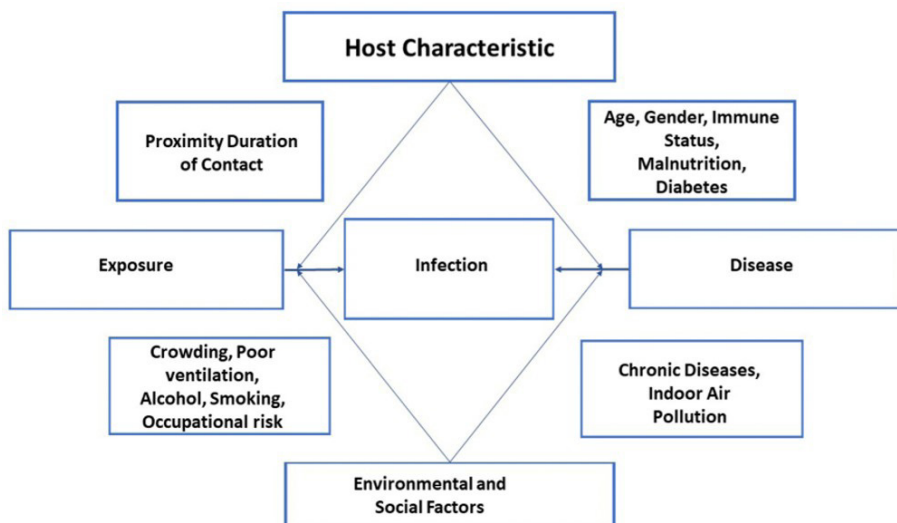
WSTĘP

Mycobacterium tuberculosis

Głównym czynnikiem chorobotwórczym w gruźlicy człowieka jest *Mycobacterium tuberculosis (mtb)*, odkryte przez Roberta Kocha w 1882 roku [1]. Należy do kompleksu *MTBC (mycobacterium tuberculosis complex)*, w skład którego wchodzi: *m.tuberculosis*, *m.bovis BCG*, *m. pinnipedii*, *m. africanum*, *m.caprae* oraz *m.microti*. Oprócz *mtb* niebezpieczne dla człowieka jest *m.bovis*, ponieważ stwarza zagrożenie zoonozy [2,3]. Transmisja *mtb* odbywa się drogą kropelkową, m.in. podczas kaszlu, kichania, śpiewania oraz mówienia [4]. Czynniki mające wpływ na wystąpienie infekcji to częstość przebywania z osobą chorą na gruźlicę płucną, czas spotkania, bliskość kontaktu, ilość i zjadliwość patogenu oraz sprawność układu odpornościowego osoby narażonej na *mtb* [5].

Po ekspozycji na *mtb* ok. 20-25% osób zostaje zainfekowanych, jednakże większość z nich usuwa patogen z organizmu dzięki wrodzonej odpowiedzi immunologicznej [4]. *Mtb* może zostać uśpione w organizmie gospodarza przez lata bez żadnych objawów chorobowych, a osoby te stają się bezobjawowymi nosicielami [1]. U tych osób szansa na reaktywację wynosi 5-10%, w tym u 5% cichych nosicieli choroba wystąpi w przeciągu 2 lat [1,4]. Ryzyko reaktywacji jest większe u osób, u których występuje immunosupresja, czyli m.in. u pacjentów z cukrzycą typu II, końcową niewydolnością nerek lub leczonych TNF- α [5]. Szczególnie zagrożeni są nosiciele wirusa HIV, u których szansa reaktywacji jest 18-20-krotnie razy większa niż u osoby zdrowej [1,5,6]. Co więcej, śmiertelność u osób zakażonych HIV jest większa, a znaczna część umiera przed diagnozą lub w początkowej fazie leczenia gruźlicy [6]. Zwiększone ryzyko reaktywacji można

również zaobserwować u pacjentów niedożywionych, spożywających alkohol, palących oraz z sepsą [1].



Ryc.1. Czynniki wpływające na ryzyko zakażenia [2]

Objawy gruźlicy

Osoby z utajonym zakażeniem prątkiem gruźlicy nie wykazują objawów chorobowych [5].

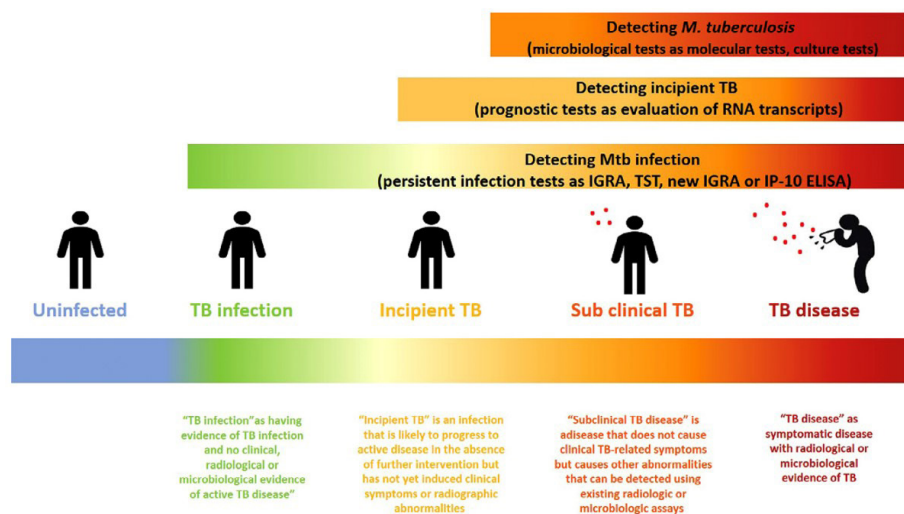
U pacjentów z gruźlicą płucną można zaobserwować gorączkę, nocne poty, nadzwyczajne zmęczenie, utratę apetytu, utratę masy ciała, ból w klatce piersiowej, krwioplucie oraz powiększenie węzłów chłonnych. Jednakże główny objaw gruźlicy płucnej to długotrwały kaszel mokry. Jeśli nie ustępuje od ponad 3 tygodni, będzie stanowił wskazówkę do rozpoznania gruźlicy [1,5].

Dla gruźlicy pozapłucnej objawy są nietypowe, często charakterystyczne dla danego narządu/ narządów. Gruźlica pozapłucna występuje najczęściej u osób o znacznie obniżonej odporności immunologicznej [2,5].

Obecnie przeciwko gruźlicy stosuje się szczepionkę BCG, która zapewnia ochronę tylko niemowlętom i dzieciom (szczególnie chroni przed ciężkimi powikłaniami gruźlicy). Dla dorosłych nie ma szczepień chroniących przed gruźlicą [1].

Diagnostyka gruźlicy

Obecnie w rozpoznawaniu gruźlicy wykorzystuje się metody immunologiczne, radiologiczne, hodowle bakteryjne oraz objawy kliniczne. W metodach immunologicznych można wyróżnić QFT oraz próbę tuberkulinową *Mantoux*. Do metod radiologicznych można zaliczyć RTG klatki piersiowej. Należy zaznaczyć, że nie da się nią wykryć utajonej gruźlicy. Powszechnie używaną metodą jest badanie rozmazu plwociny pod mikroskopem [1]. Wraz z rozwojem choroby wykorzystuje się różne metody diagnostyczne. Osoby zainfekowane *mtb*, ale bez objawów klinicznych, radiologicznych lub mikrobiologicznych aktywnej choroby mogą zostać zdiagnozowane dzięki IGRA, TST, new IGRA lub IP-10 ELISA. Pacjenci w stadium początkowym choroby są rozpoznawani dzięki testom prognostycznym, które badają transkrypt RNA m.in. NAAT. Subkliniczną gruźlicę oraz gruźlicę można wykryć dzięki testom molekularnym oraz wykorzystując hodowlę bakterii [4,5].



Ryc.2. Rycina przedstawiająca przebieg zakażenia *mtb* wraz z odpowiednimi metodami diagnostycznymi [4]

Leczenie gruźlicy

Obecnie w zwalczaniu gruźlicy wykorzystuje się leczenie skojarzone, wykorzystujące zestaw 4 leków: izoniazyd, ryfampicyna, pirazynamid oraz etambutol. Leczenie powinno być długotrwałe (6-12miesiący) i systematyczne [1,5]. Są to leki efektywne, jednakże powodują szereg skutków ubocznych, m.in. zaburzenia

czynności wątroby, neuropatię obwodową, bolesny rumień kończyn, nietolerancje pokarmowe oraz wysypki skórne, a także mają toksyczny wpływ na narząd wzroku oraz OUN [1].

Wczesne wykrycie oraz odpowiednie leczenie gruźlicy są kluczem do powstrzymania rozprzestrzeniania się *mtb* oraz przed powstawaniem opornych na antybiotyki szczepów [1]. Śmiertelność gruźlicy bez leczenia wynosi ok. 50% [7].

Tabela 1. Najważniejsze różnice pomiędzy osobą zakażoną prątkiem gruźlicy a osobą chorą na aktywną gruźlicę [2]

	Uśpione TB	Aktywne TB
Chorobotwórczość	-	+
Objawy	-	+
Testy skórne	+	+
IGRA	+	+
Rozmaz z płwociny	-	+
RTG klatki piersiowej	-	+
Leczenie	+	+

Epidemiologia

Rocznie ponad 10 milionów osób na świecie choruje na gruźlicę. Zaraz po COVID-19 stanowi ona drugą najczęstszą przyczynę śmierci z powodu pojedynczego czynnika zakaźnego [7]. Zachorowalność w latach 2003-2019 wykazywała powolną tendencję spadkową, jednakże wraz z nadejściem pandemii COVID-19 rozpoznawanie gruźlicy w 2020 roku spadło o 50%, a leczenie nie było efektywne [7,8]. Dopiero w 2022 roku diagnozowanie oraz leczenie chorych zaczęło powoli wracać do stanu sprzed pandemii COVID-19. Całkowity powrót do stanu przedpandemicznego może zostać osiągnięty w 2024 roku. W 2022 roku liczba nowo zdiagnozowanych przypadków gruźlicy wynosiła 7,5 miliona, co stanowi największą liczbę od rozpoczętego w 1995 roku monitorowania gruźlicy. Należy jednak pamiętać, że liczba ta obejmuje osoby niezdiagnozowane oraz nieleczone w poprzednich dwóch latach. Liczba wszystkich chorych na gruźlicę w 2022 roku wynosiła 10,6 miliona [7].

NOWE LEKI W OBLICZU LECZENIA W LECZENIU GRUŹLICY

Postępy w zakresie nowych i ponownie przeznaczonych leków do stosowania w leczeniu gruźlicy wielolekoopornej (MDR- TB) lub w znacznym stopniu lekoopornej (XDR- TB) skupiły się na opracowaniu kilku nowych schematów leczenia i ich ocenie w badaniach klinicznych, a obecnie wpływają na wytyczne Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Poniżej przedstawiono kilka substancji, które wydają się być jednymi z najbardziej obiecujących dla zmaksymalizowania skuteczności terapii przeciwgruźliczej.

Klofazymina

Klofazymina (dawniej B663) opisana została już w połowie lat pięćdziesiątych XX wieku jako główny związek nowej klasy antybiotyków - riminofenazyn. Antybiotyki te w badaniach naukowych na zwierzętach wykazywały działanie przeciwgruźlicze porównywalne z od lat znanym i stosowanym w standardowych schematach leczenia gruźlicy izoniazidem [9, 10]. Wczesne badania prowadzone na myszach i chomikach ukazały, że związek ten jest aktywny również przeciwko szczepom opornym na izoniazyd, jednocześnie nie wykazując znacznej toksyczności. Dalszy rozwój badań nad klofazyminą został zahamowany z powodu pojawienia się na rynku silniejszych leków przeciwgruźliczych takich jak izoniazyd i pirazynamid a w późniejszych latach ryfampicyna i etambutol. Rozkwit ponownego zainteresowania klofazyminą jako lekiem przeciwgruźliczym miał miejsce około 2010 roku. Na podstawie ówczesnie prowadzonych badań opracowano tzw. „schemat bangladeski”, który obejmuje klofazyminę w procesie leczenia gruźlicy wielolekoopornej (MDR-TB, definiowanej jako oporność na co najmniej izoniazyd i ryfampicynę), wykazując skrócenie czasu leczenia w trudnych przypadkach. W 2019 roku WHO opublikowała wytyczne zawierające zalecenia włączenia klofazyminy jako leku drugiego rzutu, do stosowania w połączeniu z innymi lekami w leczeniu gruźlicy MDR [9]. Ze względu na tendencję do gromadzenia się w tkance tłuszczowej, klofazymina prawdopodobnie szybko przedostaje się do tkanki mózgowej i może mieć potencjał terapeutyczny również w leczeniu gruźlicy ośrodkowego układu nerwowego [10]. Dokładny mechanizm działania przeciwbakteryjnego zależnego od klofazyminy pozostaje niejasny. Przypuszcza się jednak, że miejscem działania leku jest zewnętrzna błona bakteryjna

- prawdopodobnie substancja zakłóca procesy fizjologiczne związane z błonami, w tym oddychanie komórkowe i transport jonów powodując uszkodzenie

komórki bakteryjnej. Inne proponowane mechanizmy, które mogą przyczynić się do bakteriobójczego działania klofazyminy, obejmują: 1) bezpośrednie, niespecyficzne uszkodzenie błony komórkowej, 2) bezpośrednie zakłócanie wychwytu potasu przez bakterie, 3) selektywne wiązanie z DNA prątków z blokowaniem funkcji matrycy oraz 4) odwrócenie hamującego wpływu niektórych białek prątków na aktywność fagocytów. Biorąc pod uwagę wyżej wymienione potencjalne mechanizmy działania leku, można przypuszczać, że klofazymina ma kilka mechanizmów działania przeciwdrobnoustrojowego w zależności od panujących warunków środowiskowych [10]. Ze względu na powolną eliminację klofazyminy działanie przeciwbakteryjne utrzymuje się przez kilka tygodni po zaprzestaniu leczenia, w zależności od czasu podawania, co może przyczynić się do efektu skrócenia leczenia związanego z jej stosowaniem. Na korzyść klofazyminy w leczeniu MDR-TB przemawia fakt jej bardzo dobrej tolerancji w porównaniu z innymi lekami przeciwgruźliczymi drugiego rzutu. Chociaż zgłaszano poważne powikłania żołądkowo-jelitowe u pacjentów z trądem po długotrwałym leczeniu dużymi dawkami klofazyminy, poważne działania niepożądane wymagające przerwania lub zaprzestania stosowania leku są rzadko opisywane w literaturze dotyczącej leczenia gruźlicy [10]. Efekty uboczne przypisywane klofazyminie najczęściej to odbarwienie skóry, zaburzenia żołądkowo-jelitowe i wydłużenie odstępu QT [10]. U pacjentów otrzymujących długotrwałe leczenie klofazyminą z powodu gruźlicy często obserwuje się czerwono-brązowe lub czarnego koloru przebarwienia skóry, które intensywniej manifestują się w obszarach narażonych na promieniowanie słoneczne. Częstość występowania przebarwień skóry u pacjentów z gruźlicą jest bardzo zróżnicowana i waha się od 10% do 94%. Zazwyczaj ustąpienie ich po zaprzestaniu leczenia zajmuje kilka miesięcy [9,10].

Bedakilina

Bedakilina (BDQ) jest nowym lekiem przeciwgruźliczym, który charakteryzuje się znaczącymi minimalnymi stężeniami hamującymi (MIC), zarówno przeciwko gruźlicy lekoopornej, jak i wielolekoopornej. BDQ należy do klasy związków określanych jako diarylochinoliny, które zawierają chinolinowy centralny rdzeń heterocykliczny z bocznymi łańcuchami alkoholowymi i aminowymi. To właśnie taka specyficzna budowa związków warunkuje ich właściwości przeciwgruźlicze [11]. Bedakilina jest inhibitorem pompy protonowej, co oznacza że działa na trifosforan adenozyiny (ATP) poprzez hamowanie mechanizmu pompowania protonów. Istotne w kontekście użycia substancji jako chemioterapeutyku

jest to, że jej hamujący wpływ na syntazę ATP jest specyficzny dla prątków. Jak wykazano, kompleks syntazy ATP u ludzi charakteryzuje się 20 000 razy niższą wrażliwością na BDQ w porównaniu z *Mycobacterium tuberculosis*, co prawdopodobnie wiąże się z bardzo niską toksycznością leku i małym prawdopodobieństwem interakcji z ludzką syntazą ATP [11,12]. Blokując enzym prątkowy, bedakilina niszczy zarówno uśpione, jak i aktywnie rozmnażające się prątki, hamuje prątki lekooporne wraz z prątkami wrażliwymi na leki. BDQ ma istotny wpływ hamujący również na szeroką gamę prątków niegruźliczych oraz łagodne działanie hamujące na bakterie zarówno Gram-dodatnie jak i Gram-ujemne [12]. Pięć prospektywnych badań klinicznych i siedem badań retrospektywnych nad bedakiliną wykazało, że u pacjentów leczonych schematem zawierającym bedakilinę, wskaźnik konwersji posiewów wynosił od 65 do 100% a wyniki leczenia były bardzo zadowalające. Ponadto skuteczność terapii bedakiliną można znacząco zwiększyć poprzez łączenie jej z linezolidem [13,14]. Okres półtrwania bedakiliny w końcowej fazie eliminacji jest zauważalnie dłuższy niż innych leków przeciwgruźliczych i wynosi do 5–6 miesięcy, co niewątpliwie przemawia na korzyść substancji [11,14]. W obecnych schematach leczenia zaleca się, aby bedakilinę podawać w skojarzeniu z co najmniej jednym lekiem o działaniu bakterioobójczym i sterylizującym, w tym z fluorochinolonami, linezolidem, delamanidem lub pretomanidem [13]. Najnowsze dane z badań klinicznych i przegląd dowodów doprowadziły w sierpniu 2021 r. do decyzji WHO, która potwierdziła, że bedakilinę można stosować u dzieci w każdym wieku. Nowy schemat leczenia zaproponowany przez WHO z wykorzystaniem BDQ to bedakilina, pretomanid i linezolid (BPaL). Schemat ten trwa 26 tygodni i może zostać przedłużony do 39 tygodni, jeśli po 16 tygodniach posiew u pacjenta będzie dodatni [14]. Wstępnie głównym problemem, który rozważano podczas badań nad bedakiliną było bezpieczeństwo kardiologiczne, a zwłaszcza potencjalne ryzyko wydłużenia odstępu QT związane z przyjmowaniem substancji. Z ponad dziesięcioletnich obserwacji wynika, że bedakilina wykazuje stosunkowo korzystny profil bezpieczeństwa, ponieważ odstępienie od leczenia nastąpiło jedynie u 0,6% (8/1266) pacjentów z powodu wydłużenia odstępu QT [13]. Innymi działaniami niepożądanymi BDQ zaobserwowanymi podczas terapii są wysypka, świąd, trądzik, krwioplucie, ból opłucnowy, ból gardła i krtani, głuchota, hiperurykemia i podwyższona aktywność aminotransferaz [11,12].

Pretomanid

Wśród nowszych leków obecnie szeroko branych pod uwagę w kontekście wykorzystania w schematach leczenia gruźlicy wielolekoopornej znajduje się pretomanid (PA), wcześniej znany jako PA-824. Jest to doustny lek przeciwprątkowy zatwierdzony w 2019 roku przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA). Powstał na bazie nitroimidazolu i charakteryzuje się stałym działaniem bakteriostatycznym i bakteriobójczym. PA to bicykliczna nitroimidazooksazynowa substancja przeciwprątkowa, która zawiera pierścień A/B nitroimidazolo-piranu, łącznik eterowy i hydrofobowy łańcuch boczny. Ze względu na długi okres półtrwania wynoszący w fazie eliminacji około 16- 20 godzin, a także dobrą penetrację tkankową możliwe jest stosowanie pojedynczej dawki dziennej. PA przenika przez barierę krew-mózg ze względu na swój lipofilowy charakter, który również wpływa na jego wchłanianie- przyjęcie dawki leku wraz z posiłkiem wysokotłuszczowym i wysokokalorycznym zwiększa jego rozpuszczalność i sprzyja absorpcji z przewodu pokarmowego [15]. Pretomanid jest prolekiem i wymaga aktywacji przez nitroreduktazę zależną od *mtb*, która przekształca PA w trzy główne aktywne metabolity. Wykazuje aktywność kliniczną wobec prątków replikujących i niereplikujących poprzez dwa główne mechanizmy działania: 1) w warunkach tlenowych PA hamuje działanie białek i syntezę lipidów, które są niezbędnymi składnikami komórki *mtb*, poprzez zależną od dawki zdolność do zmniejszania dostępności kwasów ketomykoloowych; 2) w warunkach beztlenowych pod wpływem PA uwalniany zostaje tlenek azotu (NO), który hamuje oksydazę cytochromu c , co prowadzi do znacznego zmniejszenia stężenia ATP w komórkach bakteryjnych [15,16]. Badania przeprowadzane na mysich modelach gruźlicy wykazały mniejszą częstość nawrotów po 2 i 3 miesiącach od leczenia skojarzeniem trzech leków obejmującym pretomanid, bedakilinę i linezolid w porównaniu ze schematem obejmującym dowolne dwa z tych trzech leków. Najskuteczniejsze zatem jest podawanie leku w ramach schematów BPaL (bedakilina, pretomanid i linezolid) oraz BPamZ (bedakilina, pretomanid, moksyfloksacyna i pirazynamid). Pretomanid został zatwierdzony do leczenia dorosłych chorych na płucną gruźlicę MDR-TB nietolerujących leczenia lub niereagujących na leczenie. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi pretomanidu obserwowanymi w badaniach klinicznych były: neuropatia obwodowa, trądzik, niedokrwistość, nudności, wymioty, ból mięśniowo-szkieletowy i zwiększona aktywność enzymów wątrobowych (transaminaz i gamma-glutamylotransferazy).

Brakuje natomiast danych dotyczących stosowania pretomanidu w czasie ciąży i w trakcie karmienia piersią [16].

SKRÓCENIE CZASU LECZENIA

Proces leczenia gruźlicy należy do długich i wymagających dużych nakładów finansowych oraz mocnego zaangażowania ze strony chorego. Obecnie poszukuje się coraz to nowszych rozwiązań w zakresie terapii gruźlicy, które umożliwiłyby krótszy czas trwania leczenia i jednocześnie lepszą skuteczność. Kluczowym aspektem wprowadzania nowych schematów leczenia jest bezpieczeństwo i komfort pacjentów, którzy stanowią najważniejsze ogniwo w całym planie terapeutycznym.

Cele skróconego czasu leczenia gruźlicy

Standardowy schemat leczenia gruźlicy lekoopornej (TB), obejmujący cztery leki stosowane równocześnie, wymaga co najmniej 6 miesięcy terapii. Konwencjonalne lub standardowe krótkotrwałe leczenie gruźlicy płuc obejmuje fazę intensywną z zastosowaniem ryfampicyny i izoniazydu, a także pirazynamidu i etambutolu przez 2 miesiące, po której następuje faza kontynuacji obejmująca jednoczesne stosowanie ryfampicyny i izoniazydu przez kolejne 4 miesiące. Tak długotrwałe leczenie prowadzi w większości przypadków do zwiększonej toksyczności substancji leczniczej i nasilenia działań niepożądanych, które powodują dyskomfort pacjenta oraz znaczny spadek jakości życia. Przeciągający się czas leczenia z często poważnymi skutkami ubocznymi zmniejsza wytrzymałość fizyczną i psychiczną pacjentów w trakcie terapii. Czynniki te sprzyjają rozwojowi oporności bakterii i jednocześnie nawrotom choroby u pacjentów [17, 18]. Chorzy obarczeni obowiązkiem długoterminowego przyjmowania leków często nie przestrzegają zaleceń przez pełen okres zalecanego schematu terapeutycznego, co skutkuje obniżeniem skuteczności leczenia i wywiera negatywny wpływ na jego wyniki. Ponadto koszty leczenia gruźlicy stanowią istotny problem gospodarzy szczególnie w krajach o niskich i średnich dochodach, zwłaszcza w przypadku dłuższych schematów leczenia. By poprawić wskaźnik przestrzegania zaleceń, ograniczyć występowanie skutków ubocznych i obniżyć koszty prowadzenia terapii, uzasadnione jest uproszczenie i skrócenie schematu leczenia. Dlatego też głównym celem współczesnych badań nad lekami na gruźlicę jest zmaksymalizowanie efektu terapeutycznego przy zredukowanym czasie trwania terapii

w stosunku do obecnych standardów. Biorąc pod uwagę również pogarszający się scenariusz narastania oporności prątków, nowe strategie aby sprostać wyzwaniu terapeutycznemu jakim jest gruźlica lekooporna, musiałyby osiągnąć skrócenie i uproszczenie schematów leczenia gruźlicy lekoopornej oraz poprawę skuteczności leczenia gruźlicy MDR i XDR-TB. Strategie te można postrzegać odpowiednio jako zapobiegawcze (zapobiegające pojawieniu się trudnych do leczenia form gruźlicy) oraz ostateczne (mające na celu stawienie czoła utrwalonym już scenariuszom lekooporności) [18].

Wybrane strategie skracające czas leczenia

Zwiększenie dawek ryfampicyny

Żeby skrócić czas leczenia, należy przyrzeć się działaniu sterylizującemu leków przeciwgruźliczych, a ryfampicyna jest lekiem podstawowym podtrzymującym działanie sterylizujące. Ryfampicyna, pochodna rifamycyny, jest skuteczna przeciwko populacjom *Mycobacterium tuberculosis* pozostającym w stanie uśpienia, a także tym ulegającym szybkiemu metabolizmowi. Dlatego zastosowana w odpowiednich schematach może skrócić czas leczenia do mniej niż 6 miesięcy. Wykazano, że większa ekspozycja na ryfampicynę spowodowana zwiększeniem dawki prowadziła do szybszego spadku obciążenia bakteryjnego. Pomimo tych korzystnych zależności dawka-odpowiedź dla ryfampicyny, maksymalna zalecana dawka jest ograniczona do 10 mg/kg/dzień lub 600 mg/dzień, ze względu na ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Należy zaznaczyć jednak, że stosowanie ryfampicyny w dawkach większych niż zalecane nie powodowało dodatkowych poważnych działań niepożądanych. W dwóch niedawnych randomizowanych badaniach kontrolowanych liczba poważnych zdarzeń niepożądanych (w tym hepatotoksyczność) nie była uzależniona od zwiększonej dawki ryfampicyny. Według danych z praktyki klinicznej holenderskiej kohorty, 6–12 miesięcy leczenia dużymi dawkami ryfampicyny było bezpieczne i dobrze tolerowane u 99% pacjentów [17]. Potrzebne są dalsze badania aby potwierdzić, czy dawki wyższe niż obecnie stosowane w standardowych schematach mogą przełożyć się na szybszą konwersję płwociny, wyższy odsetek wyleczeń, mniejszą częstość nawrotów i mniejszą śmiertelność. Budujący jest fakt, że dzienne dawki ryfampicyny do 35 mg/kg okazały się bezpieczne i dobrze tolerowane przez okres obejmujący 12 tygodni [19]. Dlatego też w przyszłych badaniach przy opracowywaniu

potencjalnie krótszych schematów leczenia należy rozważyć podawanie dużych dawek ryfampicyny.

Szersze zastosowanie fluorochinolonów

Pod wpływem zachęcających wyników badań na mysich modelach gruźlicy dotyczących możliwego sterylizującego działania fluorochinolonów późniejszej generacji, szereg badań miało na celu określenie, czy fluorochinolony można zastosować w leczeniu w taki sposób, aby skrócić czas trwania chemioterapii przeciwgruźliczej [18]. Istnieją jednoznaczne dowody na to, że fluorochinolony są kluczowymi środkami w leczeniu gruźlicy lekoopornej. Fluorochinolony późniejszej generacji mają większą skuteczność w porównaniu z wcześniejszymi środkami, szczególnie w przypadku stosowania w opornych przypadkach gruźlicy MDR-TB i XDR-TB. Szczególne zainteresowanie wśród fluorochinolonów budzi lewofloksacyna (Lfx). Ponieważ Lfx podawana w dużych dawkach ma porównywalną skuteczność z moksyfloksacyną (Mfx) i gatifloksacyną (Gfx) przeciwko *mtb*, możliwe jest wprowadzenie Lfx do schematu w celu skrócenia czasu trwania leczenia gruźlicy płuc wrażliwej na leki (DS-PTB) [20]. Jednakże istnieją również obawy, że Lfx może zawieść jako lek przeciwgruźliczy pierwszego rzutu ze względu na jej częste stosowanie w codziennej klinice do leczenia infekcji obejmujących drogi moczowe, układ pokarmowy, rany oraz infekcje płucne. Niepewność spowodowana jest ryzykiem szybszego narastania oporności na lewofloksacynę biorąc pod uwagę szeroką skalę jej zastosowania, co wiązałoby się z ograniczeniem jej skuteczności we wprowadzonych nowych, potencjalnych schematach terapeutycznych [20]. Możliwe jest, że potencjalne działanie sterylizujące fluorochinolonów późniejszej generacji jest związane z zastosowaniem większej dawki, podobnie jak w przypadku ryfampicyny. Aby lepiej zrozumieć tę kwestię, należy przeprowadzić więcej badań. Konieczna jest również szczegółowa ocena bezpieczeństwa i tolerancji tych związków przy wzmacnianiu dawkowania.

Rola metod diagnostycznych

Wczesne wykrycie i leczenie choroby na początkowym etapie jej rozwoju ma kluczowe znaczenie w zapobieganiu rozprzestrzenianiu się gruźlicy i poprawie wyników leczenia pacjentów. Skuteczniejsza diagnostyka ułatwia rozpoznanie, co może prowadzić do skrócenia czasu leczenia. Dodatkowym walorem nowoczesnej diagnostyki jest to, że wykrycie nieprawidłowości we wczesnej fazie znacząco

może zredukować koszty leczenia. Dotychczas stosowane standardowe metody diagnostyczne obejmujące zdjęcia rentgenowskie (RTG) klatki piersiowej oraz badanie mikroskopowe płwociny mają ograniczoną skuteczność i są obciążone dużym ryzykiem błędu i przeoczenia zmian na wczesnych etapach. Poniżej przedstawiono kilka nowych metod diagnostycznych, które wykazują większą czułość i swoistość w wykrywaniu przypadków gruźlicy [21].

Tabela 2. Nowe metody diagnostyczne wykorzystywane celem wykrywania prątków gruźliczych w materiale biologicznym pochodzącym od pacjenta [21]

Metoda diagnostyczna	Komentarz
Xpert (MTB/RIF lub MTB/RIF Ultra) lub Truenat (MTB lub MTB Plus)	Bardzo czułe i specyficzne testy molekularne, które pozwalają wykryć obecność prątków gruźlicy w ciągu kilku godzin.
Test lipoarabinomannanowy moczu z bocznym przepływem (LF-LAM)	Test umożliwiający rozpoznanie prątków gruźlicy na podstawie próbek moczu. Narzędzie diagnostyczne dedykowane dla pacjentów z trudnościami w wytworzeniu płwociny do standardowego badania.
Testy biomarkerów w surowicy np. testy uwalniania interferonu gamma (IGRA)	Test wykonywany z krwi określający odpowiedź układu odpornościowego na antygeny gruźlicy. Zastosowanie w wykrywaniu przypadków gruźlicy utajonej.
Sekwencjonowanie całego genomu (WGS)	Wykorzystywane do identyfikacji szczepów gruźlicy, monitorowania wzorców przeniesienia i identyfikacji mutacji związanych z lekoopornością.
Wspomagane komputerowo wykrywanie gruźlicy (CAD4TB)	Metoda wykrywania prątków gruźlicy oparta na sztucznej inteligencji.

Do głównych zalet tych nowych rozwiązań diagnostycznych zaliczyć można zwiększoną czułość prowadzącą do skuteczniejszego wykrywania gruźlicy szczególnie w przypadkach ujemnych wyników rozmazów, krótszy czas realizacji i oczekiwania na wynik, opcje bez konieczności uzyskania płwociny od pacjenta (oferujące alternatywne metody dla pacjentów, którzy nie są w stanie wyprodukować płwociny) oraz poprawioną swoistość skutkującą redukcją wyników fałszywie dodatnich oraz minimalizacją zbędnych kosztów leczenia i opieki zdrowotnej [21].

Wdrożenie tych ulepszonych narzędzi diagnostycznych niesie ze sobą ogromne nadzieje również w zakresie kontroli liczby zachorowań na gruźlicę.

TERAPIA SKOJARZONA

Historia terapii skojarzonej

Pierwsze skojarzone terapie zastosowano w badaniu prowadzonym przez Medical Research Council, w 1948 roku, w którym badacze postanowili zastosować terapię składającą się ze streptomycyny i kwasu p-aminosalicylowego (PAS) [22]. Do tamtego okresu leczenie gruźlicy polegało na stosowaniu tych środków indywidualnie oraz izolacji chorego. Wyniki badań wykazały, że w leczeniu skojarzonym oporność na streptomycynę dotyka 9% przypadków, a w monoterapii samą streptomycyną oporność ta wynosi aż 70% [23]. Potwierdziło to większą skuteczność terapii skojarzonej i możliwość zmniejszenia rozwijającej się lekooporności, co przyczyniło się do kontynuowania dalszych badań. Pojawienie się hydrazynu izoniazydu w leczeniu prątków gruźlicy i późniejsze dołączenie go do streptomycyny i PAS spowodowało powstanie pierwszej trójlekowej terapii, która cechowała się wskaźnikiem nawrotów na poziomie jedynie 4% oraz wymagała 24-miesięcznego okresu leczenia [22,23]. Następnie odkryty ethambutol zastąpił PAS, ponieważ okazał się skuteczniejszy w terapii i pozwalał skrócić jej czas do 18 miesięcy [22]. W latach 60. XX wieku wyprodukowano pochodne naturalnej ryfamycyny- ryfampicynę, która była środkiem stosowanym doustnie. Wykazywała ona wyższą aktywność oraz umożliwiała skrócenie czasu leczenia do 9 miesięcy [23]. Została dodana do schematu leczenia skojarzonego gruźlicy (izoniazyd, ryfampicyna, streptomycyna, ethambutol). Ważnym lekiem był pyrazynamid, odkryty w 1972 roku, który skrócił czas terapii aż do 6 miesięcy i został zastosowany w krótkoterminowej terapii z izoniazydem, ryfampicyną oraz ethambutolem [23]. Ten zestaw leków jest stosowany do dziś, a jego skuteczność szacuje się na 85% [24]. Te osiągnięcia sprawiły, że oporność na leki przez krótki okres przestała być poważnym problemem. Niestety liczba przypadków gruźlicy wielolekoopornej zaczęła rosnąć najprawdopodobniej w wyniku niestosowania się do zaleceń oraz przerywania terapii [22]. W 2016 roku prowadzono badanie, będące w trzeciej fazie próby klinicznej, które trwało prawie trzy lata. Porównywano w nim między innymi 4-miesięczne schematy leczenia z zastosowaniem ryfampentyny zamiast wcześniej stosowanej ryfampicyny oraz moksyflokscyny zamiast ethambutolu ze standardowym 6-miesięcznym schematem obejmującym izoniazyd, ryfampicynę, pyrazynamid i ethambutol, który stanowił próbę kontrolną. Okazało się, iż zamiana leków daje bardzo podobne wyniki w stosunku do próby kontrolnej, a pozwala na krótszy czas leczenia, co stanowi zaletę tej terapii [24].

Gruźlica wielolekooporna w terapii skojarzonej

Z roku na rok gruźlica wielolekooporna staje się coraz większym problemem na świecie [25]. Pod koniec 2022 roku Światowa Organizacja Zdrowia wprowadziła nowe wytyczne opierające się na dwóch terapiach skojarzonych. Pierwszą z nich jest terapia 6-miesięczna BPaLM. Składa się ona z bedaquiliny, pretomanidu, linezolidu oraz moksyflokscyny, a wszystkie zawarte w niej związki wykazują aktywność bakteriobójczą. W stosowaniu tego leczenia ważne jest zbadanie lekooporności na fluorochinolony. W przypadku pozytywnego wyniku moksyflokscyna powinna zostać wykluczona z terapii, co może spowodować wydłużenie leczenia do 9 miesięcy [25]. Drugi schemat podany przez WHO obejmuje w fazie pierwszej, która trwa 4 miesiące bedaquilinę (stosowaną 6 miesięcy) w połączeniu z lewofloksacyną/moksyflokscyną, etionamidem, ethambutolem, izoniazydem, pyrazynidem i kłofazyminą, a w fazie drugiej przez 5 miesięcy stosowanie lewofloksacyny/moksyflokscyny, kłofazyminy, ethambutolu i pyrazolidu. Jest to 9-miesięczny schemat całkowicie doustny. Możliwa jest w nim zamiana etionamidu (branego 4 miesiące) na linezolid (stosowany przez 2 miesiące) u pacjentów między innymi wrażliwych na fluorochinolony [25]. Linezolid jest znacznie skuteczniejszy w leczeniu, ale stosowanie go wiąże się również ze znaczną toksycznością. W związku z tym niezbędne jest ciągłe monitorowanie pacjenta w celu szybkiego wykrycia niepokojących zmian. W przypadku gdy oba schematy 3 i 9-miesięczny nie mogą być zastosowane, należy użyć dłuższych schematów leczenia, które zazwyczaj wiążą się z większym prawdopodobieństwem wystąpienia skutków niepożądanych [25].

Zalety stosowania terapii skojarzonej

W leczeniu gruźlicy zaleca się zastosowanie co najmniej trzech leków, które współdziałając, powodują zmniejszenie liczby bakterii oraz wyniszczenie form przetrwalnikowych [26]. W wyniku choroby może dojść do powstania różnych typów zmian chorobowych, które będą inaczej reagowały na podane leki. Jest to spowodowane różną przenikalnością leków przez zmiany, a co za tym idzie ich różnym stężeniem w miejscu występowania prątków gruźlicy [26]. Dlatego terapia wielolekowa lub wyższe dawki pozwalają na większą skuteczność leczenia. Ponadto podczas choroby w organizmie bytują formy replikujące oraz uśpione bakterii. Wiele antybiotyków działa tylko na pierwszą aktywną formę. Powoduje to, iż zastosowanie tylko jednego leku może mieć ograniczoną skuteczność i nie

doprowadzić do wyleczenia chorego [26]. Warto też zaznaczyć, że leki działają na różne procesy komórkowe i przy zastosowaniu monoterapii występuje duże prawdopodobieństwo, że komórka będzie oporna na lek. To sprawia, że stosowanie kombinacji paru współdziałających leków pozwala ograniczyć szanse na rozwój oporności komórki i doprowadzić do skutecznego wyleczenia [26].

Potencjał terapii skojarzonej

We współczesnych czasach dostępne są dziesiątki leków w leczeniu gruźlicy, które można by było włączyć do nowych schematów terapii skojarzonej, zwiększając tym samym jej skuteczność [26]. Niestety nie jesteśmy w stanie przetestować wszystkich kombinacji leków i dowiedzieć się, który z nich byłby najbardziej odpowiedni ze względu między innymi na koszty czy trwanie badań [26]. Dlatego pomysłem na opracowywanie nowych terapii skojarzonych jest dodawanie do nich leków bądź modyfikowanie tych, które leżą obecnie u podstawy standardowej terapii czterolekowej, czyli izoniazydu, ryfampicyny, etambutolu oraz pyrazinamidu [26]. W przestrzeni kombinacji leków dużą rolę odgrywiają również badania przedkliniczne na modelach zwierzęcych [26]. W badaniu przeprowadzonym na modelu gruźlicy u myszy BALB/c zbadano nowe schematy leczenia oparte na diarylochinolinie bedaquiliny (BDQ), pretomanidzie (PMD) i oksadolidynonu sutezolidu (SZD). Potwierdziły one, że terapia tymi lekami wykazuje zwiększone działanie sterylizujące niż standardowy schemat obejmujący pyrazinamid, ryfampicynę i izoniazyd oraz udowodniono niezbędność związku SZD [27]. Stwierdzono również jego podobne działanie do linezolidu [27], który również jest badany pod kątem zastosowania go w leczeniu gruźlicy [28].

TERAPIA KIEROWANA NA GOSPODARZA

Terapia kierowana na gospodarza (*host-directed therapy, HDT*)

HDT skupia się na organizmie gospodarza, a nie na patogenie [29]. Dzięki zdolności HDT do regulacji odpowiedzi immunologicznej znalazła ona zastosowanie m.in. w zwalczaniu chorób zakaźnych, autoimmunologicznych oraz w leczeniu nowotworów [30].

Biologiczne procesy gospodarza, które sprzyjają przystosowaniu się patogenów i/lub ich patogenezie, mogą być wykorzystane w celu opracowania nowych terapii przeciwko gruźlicy. Celem HDT jest optymalizacja odpowiedzi

immunologicznej, poprawa właściwości bakteriobójczych fagocytów oraz zainfekowanych komórek. Dzięki HDT ograniczony zostanie rozwój patogenu lub szkodliwa reakcja zapalna. Zaletą HDT jest to, że nie powstaną szczepy odporne na antybiotyki [31].

Procesy fizjologiczne gospodarza występujące podczas zakażenia *mtb*

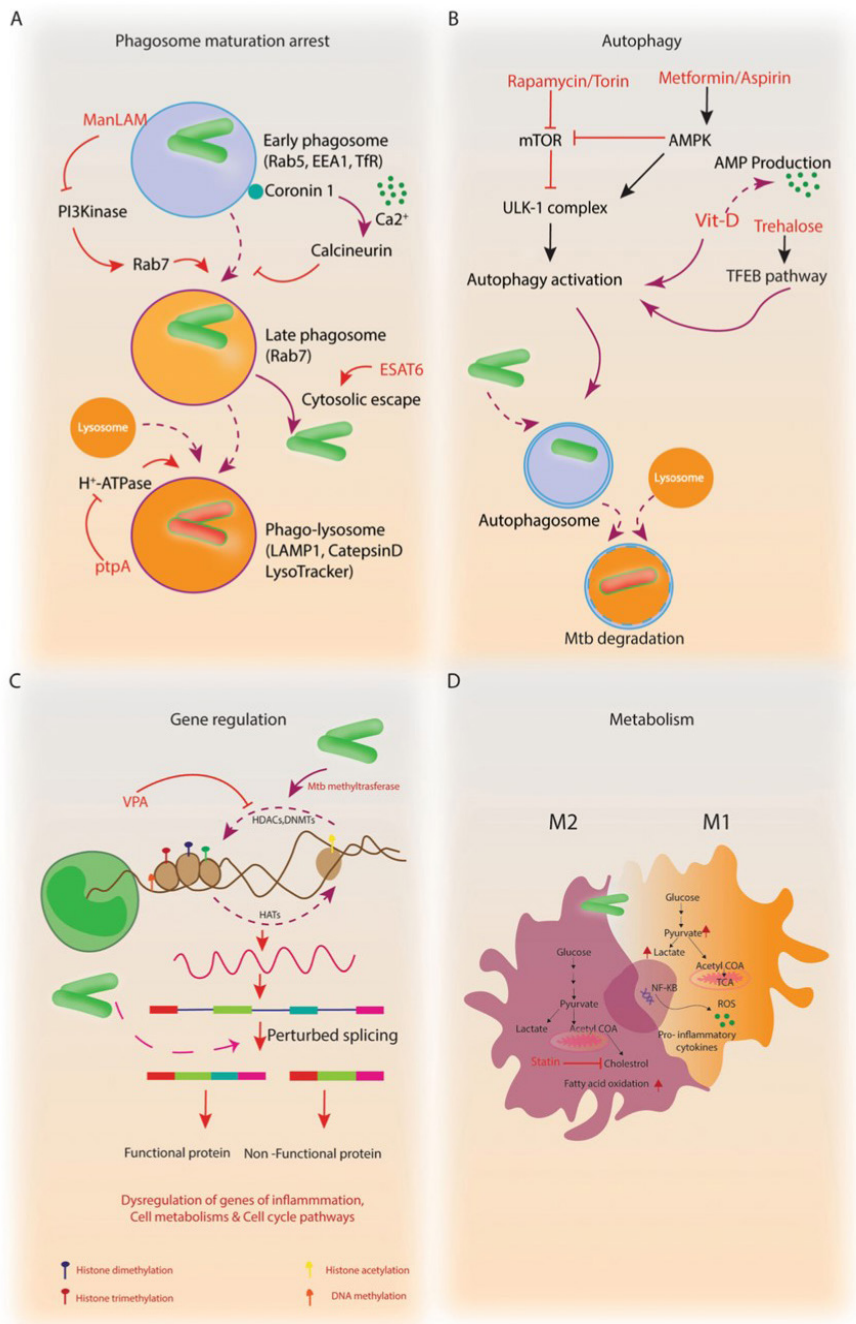
Jednymi z pierwszych komórek gospodarza, które zetkną się z *mtb*, są makrofagi pęcherzykowe obecne w płucach. Są to komórki, które łatwo fagocytują i zabijają patogeny przez degradację lizosomalną. Jednakże *mtb* potrafi blokować proces dojrzewania fagosomu, przez co *mtb* jest w stanie przetrwać wewnątrzkomórkowo przez długi czas. W celu uniknięcia fuzji fagosomu z lizosomem może też dojść do wyłączenia RAB7, aktywacji kalcyneuryny, ucieczki z fagosomu do cytozolu oraz blokady przez zakwaszenie lizosomu [31].

Podczas zakażenia *mtb* niektóre mechanizmy przeciwbakteryjne, takie jak wydzielanie peptydów przeciwbakteryjnych, metabolizm, transport, produkcja ROS lub autofagia, są zaburzone.

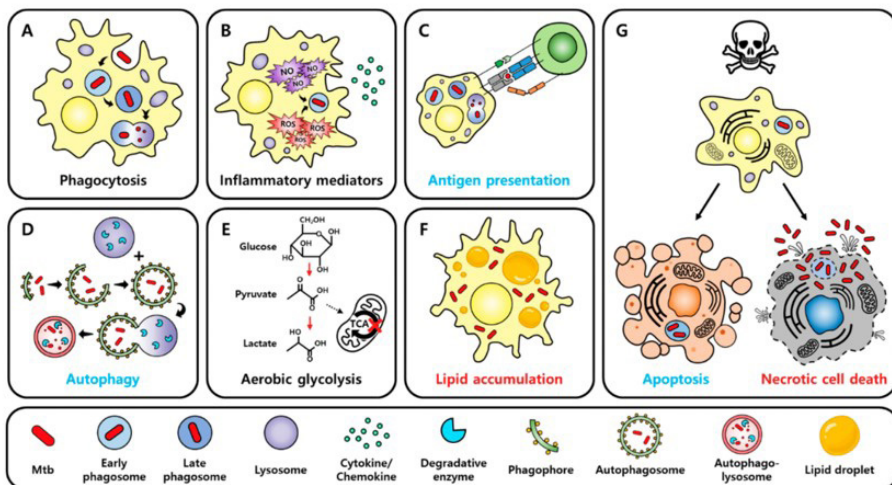
Zakażenie *mtb* może też wpłynąć na długotrwałe odpowiedzi gospodarza przez zmianę regulacji genów na poziomie transkrypcji lub posttranskrypcji [31].

Polaryzacja makrofagów na M1 (klasyczne) oraz M2 (alternatywne) również wpływa na odpowiedzi obronne gospodarza. Wraz ze zwiększeniem zużycia glukozy wzmocnią się funkcje przeciwbakteryjne. Fosforylacja oksydacyjna i metabolizm cholesterolu działają na korzyść *mtb*.

Lepsze poznanie szlaków regulacyjnych gospodarza podczas zakażenia *mtb* pozwoli na optymalizację HDT [31].



Ryc.3. Kluczowe szlaki regulacyjne gospodarza podczas infekcji *mtb* [31]



Ryc.4. Odpowiedź makrofagów na zakażenie *mtb* [30]

Przykłady

Inhibitory mTOR

Przykładem HDT wykorzystującej szlak autofagii w leczeniu gruźlicy może być inhibicja mTOR. W zakażeniu *mtb* aktywność mTOR jest ciągle obserwowana i prowadzi do promocji glikolizy. Ta zmiana metabolizmu jest istotna w uruchomieniu odpowiedzi immunologicznej przeciwko *mtb*. mTOR jest negatywnym regulatorem autofagii, a więc zdolność przetrwania *mtb* koreluje z inhibicją fuzji autofagolizosomów. W związku z tym inhibicja mTOR będzie stymulować autofagię i zwiększy zdolność gospodarza do walki z zakażeniem *mtb* [32].

Przykładami inhibitorów mTOR są analogi rapamycyny, szczególnie everolimus. Everolimus znajduje obecnie zastosowanie w przeszczepach narządów oraz terapiach nowotworowych [32].

Everolimus oraz rapamycyna wykazują potencjał w leczeniu gruźlicy, ale konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań dotyczących inhibicji mTOR [32].

Peptydy przeciwbakteryjne

Sekrecja peptydów przeciwbakteryjnych to główny mechanizm odporności wrodzonej. Dwa najważniejsze typy peptydów przeciwbakteryjnych ssaków to katelicydyny oraz defensyny [31].

Ekspresję LL37, jedynej znanej ludzkiej katelicydyny, można regulować przez witaminę D. Interakcja witaminy D i receptora witaminy D (VDR) prowadzi do zwiększenia poziomu mediatorów odpornościowych i indukuje produkcję peptydów przeciwbakteryjnych, takich jak katelicydyny i defensyny [31].

Katelicydyny zabijają *mtb*, regulują układ odpornościowy za pomocą cytokin i chemokin oraz uczestniczą w autofagii. LL37 przenika przez błonę bakteryjną, powodując powstanie porów oraz lizę bakterii, bez wpływu na komórkę ssaka, posiadającą cholesterol w błonie. Wywiera efekt pro- lub przeciwzapalny w zależności od otoczenia. LL37 produkowane w makrofagach płucnych oraz neutofilach znacząco przyczynia się do hamowania wzrostu patogenów [32].

Badanie wykorzystujące myszy poddane immunosupresji, które posiadają utajone *mtb* w organizmie wykazało, że po podaniu TNF-alfa, beta-defensyny oraz LL37 u myszy nie doszło do reaktywacji *mtb* [32].

Statyny (inhibitory reduktazy HMG-CoA)

Terapia statynami opiera się na modyfikowaniu metabolizmu lipidów. W leczeniu gruźlicy statyny mogą zostać wykorzystane jako promotory dojrzewania fagosomu oraz induktory autofagii przez obniżenie poziomu cholesterolu. *Mtb* preferencyjnie wykorzystuje węgle o pochodzeniu lipidowym jako składniki odżywcze. Badania eksperymentalne, gdzie simwastatyna w połączeniu z rifampiciną, izoniazidem i pirazynamidem skutkowały znacznym zmniejszeniem liczby bakterii. Konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych badań w celu optymalizacji działania statyn, aby uzyskać najbardziej korzystne efekty [32].

Obecnie statyny są wykorzystywane w prewencji przed miażdżycą przez obniżenie cholesterolu LDL w surowicy. Wykazują również działanie przeciwzapalne [32].

Metformina

Metformina promuje autofagię przez zmianę szlaku sygnalizacyjnego AKT-mTOR, działając jako agonista AMPK (aktywuje kinazę białkową aktywowaną przez AMP). Rola AMPK jest już dobrze znana w autofagii i eliminacji *mtb*, ale mechanizm działania metforminy w eliminacji *mtb* nie jest jeszcze w pełni zrozumiany. W badaniach in vitro leczenie metforminą zwiększyło ilość RFT, fuzję fagosomu i lizosomu oraz eliminację *mtb*. W badaniach in vivo zaobserwowano

zmniejszoną ilość kolonii bakterii. Badania kliniczne wykazały redukcję stanu zapalnego i uszkodzeń w tkance płucnej [31,32].

Metformina jest wiodącym kandydatem na przyszłą terapię docelową gruźlicy. Jednakże konieczne są dalsze badania kliniczne w celu zrozumienia roli metforminy, szczególnie u pacjentów z cukrzycą zakażonych gruźlicą [31,32].

Obecnie metformina jest stosowana jako lek przeciwcukrzycowy, szczególnie przeciwko cukrzycy typu II [31,32].

Inhibitory kinaz tyrozynowych

Wiele patogenów wykorzystuje kinazę tyrozynową do wejścia do organizmu gospodarza. Kinazy tyrozynowe są zaangażowane w wiele procesów komórkowych [31].

Imatynib, czyli inhibitor kinazy tyrozynowej BCR-ABL wykazuje silną regulację i związane z tym funkcje przeciwbakteryjne. W modelu zwierzęcym wykazał się funkcją przeciwbakteryjną w gruźlicy, co więcej zauważono synergizm z istniejącymi już lekami przeciwgruźliczymi. Obecnie jest stosowany w leczeniu przewlekłej białaczki szpikowej [31].

SRC AZD0530, czyli inhibitor kinazy tyrozynowej SRC, zmniejsza szanse przeżycia różnych szczepów gruźlicy w modelach zwierzęcych *ex vivo* oraz *in vivo*, tak jak imatynib wykazuje synergizm z istniejącymi lekami na gruźlicę oraz zapobiega reaktywacji gruźlicy po zakończeniu leczenia. Działając wspólnie z lekami przeciwgruźliczymi może skrócić czas trwania leczenia [31].

Inhibitory kinazy tyrozynowej są uznawane za doskonałych kandydatów do uzupełnienia terapii przeciwko gruźlicy [31].

Trehaloza

Trehaloza jest cukrem, który posiada zdolności do regulacji autofagii na wiele sposobów. Rywalizuje z transporterami glukozy komórkowej m.in. GLUT-8, tworząc warunki pseudo-głodzenia, co prowadzi do aktywacji autofagii. Może również działać przez wnikanie do komórki oraz, jako agonista PIKfyve, wewnątrz makrofagu inicjować kaskadę białek np. TRPML1 lub TFEB w celu aktywacji długoterminowej autofagii. Wykazano również, że trehaloza zmniejsza ilość kolonii bakterii w modelach zwierzęcych gruźlicy [31].

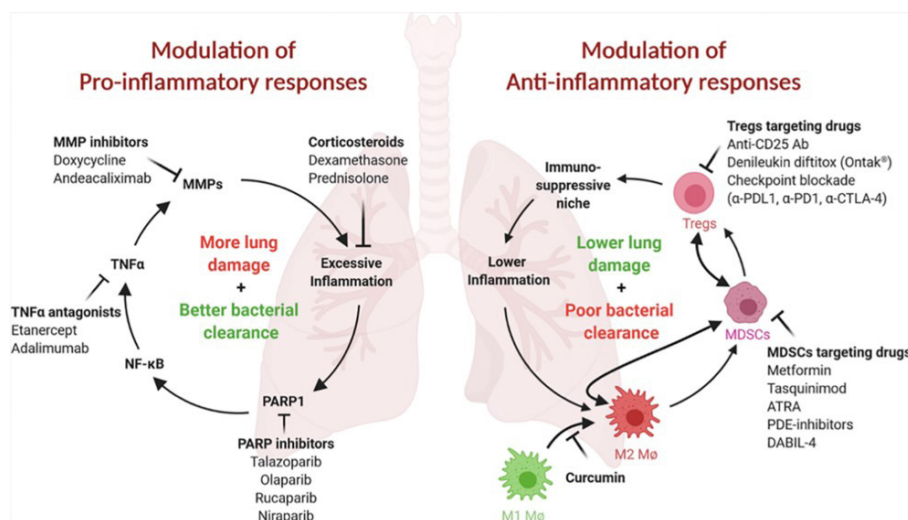
Trehaloza jest łatwo dostępna w przyrodzie i przejawia niewielką toksyczność, dzięki czemu jest bardzo obiecującym materiałem dla HDT [31].

Wykazano, że usuwa toksyczne skupiska białek w chorobie Huntingtona, w stwardnieniu zanikowym bocznym oraz w chorobach prionowych [31].

Mediatory stanu zapalnego

Gospodarz wykorzystuje mechanizmy przeciwzapalne i prozapalne w celu powstrzymania infekcji. W utajonej infekcji *mtb* odpowiedź immunologiczna jest skutecznie zrównoważona, ale podczas aktywnej choroby równowaga zostaje utracona, co powoduje postęp choroby. HDT, które regulują odpowiedzi immunologiczne, mogą być wykorzystane jako leczenie wspomagające w leczeniu gruźlicy [33].

Reakcja zapalna oraz autofagia są to procesy ze sobą powiązane. Autofagia wykazuje działanie przeciwzapalne. Większość HDT kontroluje również reakcje zapalne w sposób pośredni lub bezpośredni. W związku z tym ww. leki, takie jak metformina, witamina D, trehaloza, AZD0530 działające przez regulację autofagii, działają też przeciwzapalnie [31].



Ryc.5. Mechanizm działania odpowiedzi prozapalnej i przeciwzapalnej [5]

Regulacja odpowiedzi prozapalnej

U pacjentów z aktywną gruźlicą odpowiedzi prozapalne są często nasilone, ale niebędące w stanie powstrzymać proliferacji *mtb*, skutkiem czego będzie

uszkodzenie tkanek. U połowy pacjentów z TB można zaobserwować postępujące zaburzenia czynności płuc [33].

Tabela 3. Leki wykorzystywane w regulacji odpowiedzi prozapalnej [33]

Rodzaj HDT	Nazwa leku	Cel	Inne zastosowanie w leczeniu
Inhibitory MMP	Doksycyklina	Wiele MMP	Infekcje bakteryjne
	Marimastat	Wiele MMP (m.in. MMP-2,-2,-7,-9,-14)	Nowotwory
	Andecaliximab	MMP-9	Nowotwory, choroby autoimmunologiczne,
	Cipemastat	MMP-1,-8,-13	RZS
Antagoniści TNF	Etanercept	TNF-alfa	Zapalenie stawów, ZZSK
Kortykosteroidy	Deksametazon Prednizolon	Regulacja sygnalizacji receptorów glikokortykoidowych/ mineralkortykoidowych	Zaburzenia zapalne
Inhibitory PARP	Talazoparib	PARP-1/2,-3,-4 TNKS1, TNKS2	nowotwory
	Olaparyb	PARP-1/2,-3,-4,-16, TNKS1, TNKS2	nowotwory
	Rucaparib	PARP-1/2,-3,-10, TNKS1, TNKS2	nowotwory
	Niraparyb	PARP-1/2,-3,-4,-12	nowotwory

Regulacja odpowiedzi przeciwzapalnej

Mtb posiada zdolność do rozregulowania odpowiedzi immunologicznej gospodarza, co umożliwia przeżycie oraz proliferację patogenu. Przykładem takiego mechanizmu jest rekrutacja komórek immunosupresyjnych przez patogen do miejsca infekcji, dzięki czemu osłabiona zostanie odpowiedź przeciwbakteryjna oraz zwiększona zostanie ilość IL-10, promującego odpowiedzi przeciwzapalne [33].

Tabela 4. Leki wykorzystywane w regulacji odpowiedzi przeciwzapalnej [33]

Rodzaj HDT	Nazwa leku	Cel	Inne zastosowaniu w leczeniu
MDSC	Metformina	HIF1alfa, CD39, CD73, AMP-DACHi-CXCL1	Nowotowry
	Tasquinamod	S100A9	Nowotowry
	DABIL-4	IL-4R	Nowotwór piersi (model przedkliniczny)
	Sildenafil	PDE-5i	Dysfunkcja erekcji, nadciśnienie płucne
	Roflumilast	PDE-4i	Przewłękła obturacyjna choroba płuc
Treg	Denileukina	IL-2R	Pierwotne chłoniaki skóry
	Terapia blokująca punkty kontrolne	CTLA-4, PD1	Nowotowry
	Przeciwciała anty-IL-10	IL-10	Nowotowry (model przedkliniczny)
M2	Kurkumina	IL-10	Nowotowry (model przedkliniczny)

PODSUMOWANIE

Leczenie gruźlicy w obecnych czasach wciąż pozostaje dużym wyzwaniem i jest to temat, który na bieżąco podlega rozwojowi. Aktualnie testowane są nowe leki, które dają szansę na skuteczne i szybkie zwalczanie choroby. Jest to proces długotrwały i niestety wiele badań nie przynosi oczekiwanych skutków. Do grona obiecujących antybiotyków należy klofazymina, która wykazuje niską toksyczność oraz umożliwia przyspieszenie terapii, jak również bedakilina działająca hamująco na pompę protonową prątków, prowadząc tym samym do niszczenia zarówno form uśpionych, jak i aktywnych. Pretomanid z kolei hamuje działanie białek oraz syntezę lipidów w bakteriach, a dodatkowo wpływa na uwalnianie tlenu azotu, przez co wykazuje bakteriostatyczność i bakteriobójczość. W ciągu lat zauważono też, że do zwiększenia szans wyleczenia gruźlicy istotne jest łączenie leków. Jedną z obecnie stosowanych terapii skojarzonych krótkoterminowych jest 6-miesięczne leczenie obejmujące pyrazynamid, izoniazyd, ryfampicynę oraz ethambutol, które wykazuje wysoką skuteczność. W gruźlicy wielolekoopornej zalecana jest 6-miesięczna terapia BPaLM lub 9-miesięczne leczenie, stosowane całkowicie doustnie, które składa się z dwóch etapów zawierających bedakilinę, lewofloksacynę/moksyfloksacynę, etionamid, ethambutol, izoniazyd, pyrazynid.

Należy pamiętać, że ciągle szukane są nowe kombinacje antybiotyków, które będą mogły ulepszyć bądź zastąpić ówczesne terapie, niestety proces ten jest bardzo czasochłonny. Obecnie coraz częściej naukowcy zastanawiają się też nad zastosowaniem w leczeniu gruźlicy terapii kierowanych na gospodarza. Zaliczamy do nich inhibicję mTor stymulującą autofagię oraz zwiększającą zdolność walki gospodarza z prątkami gruźlicy, peptydy przeciwbakteryjne, do których należy LL37 hamujący wzrost patogenów, jak i obiecującą terapię metforminą redukującą stan zapalny i uszkodzenia w tkance płucnej. Innymi ważnymi metodami leczenia w HDT są statyny, inhibitory kinaz tyrozynowych, trehaloza oraz mediatory stanu zapalnego. Terapie te dają nadzieję, chociaż na chwilę obecną potrzebujemy większej ilości badań, które poszerzyłyby naszą wiedzę odnośnie ich działania i wykorzystania w gruźlicy. Dlatego istotne jest dalsze zaangażowanie i szukanie rozwiązań, które pozwolą nam na rozwój w tej dziedzinie.

REFERENCJE

- [1] Alsayed SSR, Gunosewoyo H. Tuberculosis: Pathogenesis, Current Treatment Regimens and New Drug Targets. *IJMS*. 2023;24(6):5202. doi:10.3390/ijms24065202
- [2] Kia P, Ruman U, Pratiwi AR, Hussein MZ. Innovative Therapeutic Approaches Based on Nanotechnology for the Treatment and Management of Tuberculosis. *IJN*. 2023;Volume 18:1159-1191. doi:10.2147/ijn.s364634
- [3] Taye H, Alemu K, Mihret A, i in. Global prevalence of *Mycobacterium bovis* infections among human tuberculosis cases: Systematic review and meta-analysis. *Zoonoses and Public Health*. 2021;68(7):704-718. doi:10.1111/zph.12868
- [4] Goletti D, Delogu G, Matteelli A, Migliori GB. The role of IGRA in the diagnosis of tuberculosis infection, differentiating from active tuberculosis, and decision making for initiating treatment or preventive therapy of tuberculosis infection. *International Journal of Infectious Diseases*. 2022;124:S12-S19. doi:10.1016/j.ijid.2022.02.047
- [5] Suárez I, Fünfer SM, Kröger S, Rademacher J, Fätkenheuer G, Rybniker J. The Diagnosis and Treatment of Tuberculosis. *Deutsches Ärzteblatt international*. Published online 25 październik 2019. doi:10.3238/arztebl.2019.0729

- [6] Meintjes G, Brust JCM, Nuttall J, Maartens G. Management of active tuberculosis in adults with HIV. *The Lancet HIV*. 2019;6(7):e463-e474. doi:10.1016/s2352-3018(19)30154-7
- [7] <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2023>
- [8] Koegelenberg CFN, Schoch OD, Lange C. Tuberculosis: The Past, the Present and the Future. *Respiration*. 2021;100(7):553-556. doi:10.1159/000516509
- [9] Xu J, Koval A, Katanaev VL. Clofazimine: A journey of a drug. *Biomed Pharmacother*. 2023;167:115539. doi:10.1016/j.biopha.2023.115539
- [10] Stadler JAM, Maartens G, Meintjes G, Wasserman S. Clofazimine for the treatment of tuberculosis. *Front Pharmacol*. 2023;14:1100488. Published 2023 Feb 2. doi:10.3389/fphar.2023.1100488
- [11] Khoshnood S, Goudarzi M, Taki E, et al. Bedaquiline: Current status and future perspectives. *J Glob Antimicrob Resist*. 2021;25:48-59. doi:10.1016/j.jgar.2021.02.017
- [12] Deshkar AT, Shirure PA. Bedaquiline: A Novel Diarylquinoline for Multidrug-Resistant Pulmonary Tuberculosis. *Cureus*. 2022;14(8):e28519. Published 2022 Aug 29. doi:10.7759/cureus.28519
- [13] Li Y, Sun F, Zhang W. Bedaquiline and delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: Promising but challenging. *Drug Dev Res*. 2019;80(1):98-105. doi:10.1002/ddr.21498
- [14] Günther G, Ruswa N, Keller PM. Drug-resistant tuberculosis: advances in diagnosis and management. *Curr Opin Pulm Med*. 2022;28(3):211-217. doi:10.1097/MCP.0000000000000866
- [15] Occhineri S, Matucci T, Rindi L, et al. Pretomanid for tuberculosis treatment: an update for clinical purposes. *Curr Res Pharmacol Drug Discov*. 2022;3:100128. doi:10.1016/j.crphar.2022.100128
- [16] Deb U, Biswas S. Pretomanid: The latest USFDA-approved anti-tuberculosis drug. *Indian J Tuberc*. 2021;68(2):287-291. doi:10.1016/j.ijtb.2020.09.003

- [17] Kwak N, Jeon D, Park Y, et al. Treatment shortening of drug-sensitive pulmonary tuberculosis using high-dose rifampicin for 3 months after culture conversion (Hi-DoRi-3): a study protocol for an open-label randomized clinical trial. *Trials*. 2022;23(1):666. Published 2022 Aug 17. doi:10.1186/s13063-022-06631-z
- [18] Yew WW, Koh WJ. Emerging strategies for the treatment of pulmonary tuberculosis: promise and limitations?. *Korean J Intern Med*. 2016;31(1):15-29. doi:10.3904/kjim.2016.31.1.15
- [19] Abulfathi AA, Decloedt EH, Svensson EM, Diacon AH, Donald P, Reuter H. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Rifampicin in Human Tuberculosis. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58(9):1103-1129. doi:10.1007/s40262-019-00764-2
- [20] Dorman SE, Nahid P, Kurbatova EV, et al. Four-Month Rifapentine Regimens with or without Moxifloxacin for Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2021;384(18):1705-1718. doi:10.1056/NEJMoa2033400
- [21] Singh V. Tuberculosis treatment-shortening. *Drug Discov Today*. 2024;29(5):103955. doi:10.1016/j.drudis.2024.103955
- [22] Riva MA. From milk to rifampicin and back again: history of failures and successes in the treatment for tuberculosis. *J Antibiot*. 2014;67(9):661-665. doi:10.1038/ja.2014.108
- [23] Kerantzas CA, Jacobs WR Jr. Origins of Combination Therapy for Tuberculosis: Lessons for Future Antimicrobial Development and Application. Rubin EJ, Collier RJ, red. *mBio*. 2017;8(2). doi:10.1128/mbio.01586-16
- [24] Dorman SE, Nahid P, Kurbatova EV, i in. Four-Month Rifapentine Regimens with or without Moxifloxacin for Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2021;384(18):1705-1718. doi:10.1056/nejmoa2033400
- [25] <https://www.who.int/publications/i/item/9789240063129>
- [26] Larkins-Ford J, Aldridge BB. Advances in the design of combination therapies for the treatment of tuberculosis. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2022;18(1):83-97. doi:10.1080/17460441.2023.2157811

- [27] Tasneen R, Williams K, Amoabeng O, i in. Contribution of the Nitroimidazoles PA-824 and TBA-354 to the Activity of Novel Regimens in Murine Models of Tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(1):129-135. doi:10.1128/aac.03822-14
- [28] Ramesh Kumar S, Narendran G, Padmapriyadarsini C. Role for Linezolid in drug sensitive tuberculosis. *Journal of Infection and Public Health.* 2024;17(1):172-174. doi:10.1016/j.jiph.2023.11.012
- [29] Matteucci KC, Correa AAS, Costa DL. Recent Advances in Host-Directed Therapies for Tuberculosis and Malaria. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12. doi:10.3389/fcimb.2022.905278
- [30] Jeong EK, Lee HJ, Jung YJ. Host-Directed Therapies for Tuberculosis. *Pathogens.* 2022;11(11):1291. doi:10.3390/pathogens11111291
- [31] Udinia S, Suar M, Kumar D. Host-directed therapy against tuberculosis: Concept and recent developments. *J Biosci.* 2023;48(4). doi:10.1007/s12038-023-00374-y
- [32] Dara Y, Volcani D, Shah K, Shin K, Venketaraman V. Potentials of Host-Directed Therapies in Tuberculosis Management. *JCM.* 2019;8(8):1166. doi:10.3390/jcm8081166
- [33] Krug S, Parveen S, Bishai WR. Host-Directed Therapies: Modulating Inflammation to Treat Tuberculosis. *Front Immunol.* 2021;12. doi:10.3389/fimmu.2021.660916

Z wielką radością prezentujemy Państwu siedemnastą edycję monografii „Innowacje w Medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w.". Ta wyjątkowa publikacja gromadzi prace młodych naukowców, którzy dzielą się swoimi najnowszymi badaniami i odkryciami. Monografia zawiera 25 rozdziałów poświęconych przełomowym osiągnięciom, które zyskały szczególne znaczenie w ostatnich latach.

Monografia jest skierowana do szerokiego grona odbiorców – od menedżerów, przez nauczycieli akademickich, po praktykujących lekarzy oraz wszystkich pasjonatów medycyny. Każdy rozdział jest wynikiem ciężkiej pracy i zaangażowania autorów, którym pragniemy serdecznie podziękować.

Mamy nadzieję, że niniejsze wydanie będzie cennym źródłem wiedzy, inspirującym do dalszych badań i tworzenia innowacyjnych projektów naukowych.

ISBN: 978-83-67959-72-8