

PROBLEMY WSPÓŁCZESNEJ MEDYCYNY CZĘŚĆ I

Redakcja naukowa
MONIKA ŁUKOMSKA-SZYMAŃSKA



PROBLEMY WSPÓŁCZESNEJ MEDYCYNY CZĘŚĆ I

PROBLEMS IN CONTEMPORARY MEDICINE
PART I

Redakcja naukowa

MONIKA ŁUKOMSKA-SZYMAŃSKA 

Zakład Stomatologii Ogólnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

monika.lukomska-szymanska@umed.lodz.pl

Seria monografii naukowych dotyczących zagadnień z zakresu dyscyplin nauk farmaceutycznych, nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Wydawnictwo recenzowane i punktowane na zasadach zgodnych z Rozporządzeniem MNiSW z dnia 22 lutego 2019 r. w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej (Dz.U. 2019 poz. 392 z późn. zm.).

RADA NAUKOWA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni – Redaktor naczelna
prof. dr hab. Monika Łukomska-Szymańska – Zastępca redaktor naczelnej
prof. dr hab. Iwona Cygankiewicz
dr hab. Małgorzata Pikała, prof. uczelni

REDAKTOR PROWADZĄCA

prof. dr hab. Monika Łukomska-Szymańska

REDAKCJA I KOREKTA TEKSTÓW POLSKICH

Anna Sikorska, Magdalena Kokosińska

REDAKCJA I KOREKTA TEKSTÓW ANGIELSKICH

Katarzyna Kraska

OPRACOWANIE GRAFICZNE

Tomasz Przybył

PROBLEMY WSPÓŁCZESNEJ MEDYCyny. CZĘŚĆ I

Łódź 2021

WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI

<http://wydawnictwo.umed.pl/>

e-mail: editorial@reports.umed.pl

Unikatowy identyfikator Wydawnictwa: 60000

(Komunikat Ministra Edukacji i Nauki z dnia 22 lipca 2021 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe)

ISBN 978-83-67198-06-6

WYDANIE PIERWSZE



© 2021. Pewne prawa zastrzeżone na rzecz autorów. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.pl>).


Licencjobiorca: Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zezwala się na wykorzystanie treści monografii zgodnie z licencją – pod warunkiem zachowania niniejszej informacji licencyjnej oraz wskazania autorów jako właścicieli praw do tekstu.

Spis treści

Perspektywy zastosowania osiągnięć nanotechnologii w terapii choroby Alzheimera (Beata Rurarz, Angelika Wrzesińska, Bartłomiej Tarkowski, Anna Zalewska-Janowska)	5
Udrażnianie pointubacyjnych zwężeń tchawicy za pomocą samorozprężalnego stentu (Joanna Lipiński, Marcin Wawrzycki, Sławomir Jabłoński).....	28
Ocena wpływu programu profilaktyki uniwersalnej „WIR” na kompetencje psychospołeczne liderów młodzieżowych łódzkich szkół podstawowych (Beata Morawska-Jóźwiak, Jarosław Rakoczy, Jakub Kaźmierski, Magdalena Kostiła)	37
Makroformy hormonów – występowanie, metody diagnostyczne i znaczenie kliniczne (Karolina Beda-Maluga, Katarzyna Winczyk).....	55
Wpływ histaminy na procesy gojenia i włóknienia (Monika Wolak, Ewa Bojanowska, Anna Krzysińska, Jacek Drobnik)	69
Wpływ interwencji antystresowych na wybrane parametry psychologiczne i fizjologiczne u uczniów I Liceum Ogólnokształcącego w Łodzi (Szymon Turkiewicz, Maja Fraszek, Bartłomiej Tarkowski, Magdalena Kozłowska, Anna Pietrzak, Sylwia Jarosz, Jan Czarnecki, Emilia Rogelet, Anna Zalewska-Janowska)	86
Therapeutic applications of lutetium-177 (¹⁷⁷Lu) labelled radiopharmaceuticals (Jacek Makarewicz)	100
ORCID	129

PERSPEKTYWY ZASTOSOWANIA OSIĄGNIĘĆ NANOTECHNOLOGII W TERAPII CHOROBY ALZHEIMERA

PROSPECTS FOR APPLICATION OF NANOTECHNOLOGY IN THE TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

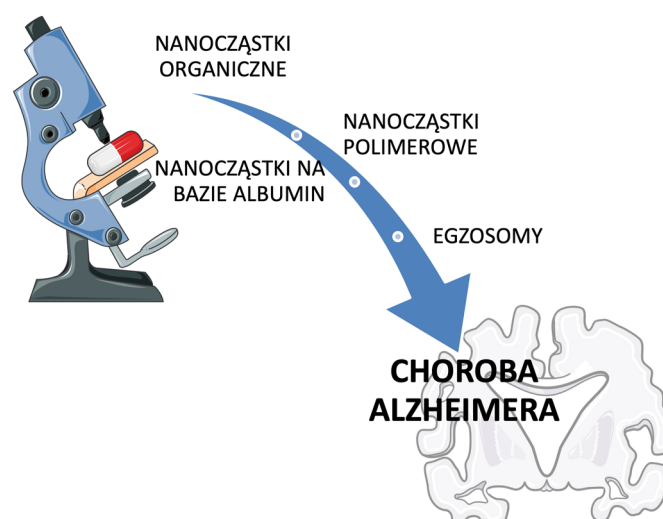
Beata Rurarz^{1*} , Angelika Wrześcińska² ,
Bartłomiej Tarkowski³ , Anna Zalewska-Janowska³

¹ Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka;
Zakład Hodowli Komórkowych i Analiz Genomowych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Katedra Fizyki Molekularnej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka

³ Zakład Psychodermatologii, Katedra Immunologii Klinicznej i Reumatologii,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

* beata.rurarz@umed.lodz.pl



Streszczenie: Choroba Alzheimera (AD) jest najczęstszą przyczyną występowania zespołów otępiennych i demencji w krajach zachodnich oraz jedną z najczęstszych przyczyn śmierci w coraz bardziej starzejącym się społeczeństwie. Artykuł omawia aktualny stan wiedzy dotyczący przyczyn, diagnozowania oraz leczenia choroby Alzheimera oraz wskazuje na możliwe kierunki rozwoju terapii AD. Autorzy skupiają się na możliwościach związanych z wykorzystaniem nanotechnologii, które (biorąc pod uwagę liczbę publikacji indeksowanych w kluczowych bazach naukowych, takich jak Scopus czy PubMed) jawi się jako najbardziej obiecujące. Omówiono postępy w dziedzinie terapii choroby Alzheimera z wykorzystaniem szerokiej gamy nanomateriałów, począwszy od nanocząstek na bazie metali poprzez cząstki organiczne i polimerowe aż po materiały biopochodne, takie jak nanocząstki na bazie albumin czy egzosomy. Bardzo istotne w kontekście nanoterapii są również strategie umożliwiające tzw. active targeting, czyli preferencyjne kierowanie cząstek do zmienionych chorobowo tkanek. Proces ten, wykorzystujący m.in. obecność określonych receptorów w strukturach bariery krew–mózg, umożliwia jej skuteczne pokonanie i dostarczenie substancji leczniczych bezpośrednio do mózgu. Na koniec autorzy krytycznie podsumowują dotychczasowe osiągnięcia nauki i wskazują najbardziej obiecujące kierunki w rozwoju nanoterapii o największym potencjale zastosowania klinicznego w niedalekiej przyszłości.

Słowa kluczowe: choroba Alzheimera, nanomateriały, nanocząstki, active targeting

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in Western countries and one of the most widespread reasons of death in an increasingly aging population. The article discusses the current state of knowledge regarding the causes, diagnosis and treatment of Alzheimer's disease and indicates possible perspectives for the development of AD therapy. The authors focus on the possible use of nanotechnology, which (considering the number of publications indexed in key scientific databases such as Scopus or PubMed) appears to be the most promising. The following article discusses advances in Alzheimer's disease therapy using a variety of nanomaterials, ranging from metal-based nanoparticles, through organic and polymeric particles, to bio-based materials such as albumin-based nanoparticles and exosomes. In the context of nanotherapy, strategies enabling the so-called active targeting, i.e. preferential delivery of particles to diseased tissues are of high importance. This process, using, inter alia, the presence of certain receptors in the structures of the blood-brain barrier, enables nanocarriers to effectively cross and deliver medicinal substances directly to the brain. Finally, the authors critically summarize the hitherto achievements of science, pointing out the most promising directions in the development of nanotherapy with the greatest potential for clinical translation.

Keywords: Alzheimer's disease, nanomaterials, nanoparticles, active targeting

Wprowadzenie

Starzenie się społeczeństwa i idące za tym wyzwania dotyczące opieki nad osobami starszymi oraz leczenia chorób związanych z wiekiem są jednym z ważniejszych wyzwań dla medycyny w nadchodzących latach. Według danych Eurostatu odsetek osób starszych – w wieku 65 lat i powyżej – wśród ludności Unii Europejskiej wyniósł w 2018 roku 19,7%, a prognozy wskazują, że w ciągu kilku dziesięcioleci osoby starsze będą stanowiły 1/3 społeczeństwa (Eurostat, 2019).

W związku z powyższym problem diagnozowania i leczenia chorób wieku starczego nabiera szczególnej wagi. Demencja, czyli postępujące osłabienie funkcji poznawczych prowadzące do pogorszenia codziennego funkcjonowania, dotyka niemal 50 milionów ludzi na świecie i szacuje się, że liczba ta podwaja się co 20 lat (McKenna i in., 2020). Choroba Alzheimera (AD) jest najczęstszą przyczyną występowania zespołów otępiennych i demencji w krajach zachodnich oraz jest jedną z najczęstszych przyczyn śmierci (w pierwszej dziesiątce wśród osób powyżej 65 roku życia) (Sobów i in., 2003). Choć samo zjawisko pogarszania się pamięci i funkcjonowania psychicznego obserwowane jest od setek lat (Berchtold i Cotman, 1998), to wieloczynnikowa i złożona etiologia tej choroby nadal nie jest do końca poznana i opisana, a odkrywanie czynników mogących spowolnić lub zatrzymać postęp choroby Alzheimera wskazywane jest jako jedno z pilnych i niezbędnych wyzwań (Dudkowiak i in., 2013). Celem niniejszego artykułu jest krótkie podsumowanie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego patogenezy choroby Alzheimera i aktualnie stosowanych terapii oraz wskazanie możliwych perspektyw badań nad wykorzystaniem nanotechnologii w leczeniu tego schorzenia.

1. Choroba Alzheimera

1.1. Historia i patogeneza

Choroba Alzheimera wzięła swą nazwę od nazwiska niemieckiego psychiatry i neuropatologa Alojzego Alzheimera, który odkrył i po raz pierwszy opisał specyficzne zmiany w strukturze mózgu. Odnalazł je podczas histopatologicznych badań *post mortem* 50-letniej Augustyny D., która cierpiała na rozwijające się zaburzenia mowy, orientacji przestrzennej, pamięci oraz afektu, prowadzące do coraz większych trudności w radzeniu sobie z życiem codziennym. Zmiany te zostały określone jako płytki starcze (tzw. plaki, agregaty peptydu amyloidu β) oraz sploty neurofibrylarne (kompleksy hiperfosforylowanego białka Tau) (Bartoszewska, 2008).

Choroba Alzheimera obecnie określana jest jako choroba pierwotnie zwyrodnieniowa spowodowana odkładaniem się w mózgu białek o nieprawidłowej strukturze, które powodują zanik neuronów i ich połączeń (Hausz-Piskorz i Buczkowski, 2013). Pomimo upływu ponad stu lat od jej odkrycia i opisanie nadal nie ma zgody co do przyczyn jej powstawania.

1.1.1. Hipoteza cholinergiczna

Jedną z pierwszych teorii dotyczących przyczyn i możliwego leczenia choroby Alzheimera związana była z układem cholinergicznym. W latach 80. XX wieku zwrócono uwagę na występujące u niektórych pacjentów deficyty w przekąźnictwie cholinergicznym – głównie w wyniku śmierci neuronów w jądrze Meynerta i innych jądrach przodomózgowia (Sobów i in., 2003) (Pietrzik i Behl, 2005). Pogorszenie to postępowało wraz z wiekiem i sądzono, że leczenie polegające na stymulowaniu układu cholinergicznego da pożądane rezultaty. Hipoteza ta nie znalazła potwierdzenia w późniejszych badaniach, a obecnie deficyty w przekąźnictwie cholinergicznym uznawane są raczej za drugorzędne w stosunku do innych czynników chorobowych. Pomimo obserwowanego nawet 50-procentowego spadku efektywności syntezy acetylocholin w neuronach mózgowia osób cierpiących na chorobę Alzheimera obecnie przyczyn tego zjawiska upatruje się w problemach metabolicznych. Synteza acetylocholin jest procesem wymagającym znacznych ilości energii, a problemy z metabolizowaniem glukozy mogą prowadzić bezpośrednio do spadku efektywności układu cholinergicznego (Pietrzik i Behl, 2005).

Choć nadal nie ma jednoznacznych wyników badań potwierdzających długofalową skuteczność terapii opartych na stymulowaniu układu cholinergicznego, to nadal podstawą leczenia w chorobie Alzheimera są leki prowadzące do zwiększenia przekaźnictwa w układzie cholinergicznym – mimo że mają one jedynie działanie objawowe i pozwalają na uzyskanie umiarkowanych efektów (Sobów i in., 2003).

1.1.2. Hipoteza kaskady amyloidowej

Kolejną ideą, sformułowaną w 1992 przez Hardy'ego i Higginsa, jest hipoteza tzw. kaskady amyloidowej. Wskazuje się, że powstające w mózgu złogi amyloidowe (złożone głównie z amyloidu β - A β) powodują zmiany, które prowadzą do rozwoju choroby Alzheimera (Hardy i Higgins, 1992; Więdołcha i in., 2012; Rozpędek i in., 2019). Określenie amyloid β odnosi się do całej grupy podobnych strukturalnie peptydów różniących się wielkością – najczęściej zbudowane są z 39 do 43 aminokwasów. A β jest częścią większego białka, prekursora amyloidu (ang. *amyloid precursor protein*, APP) składającego się z 700 aminokwasów (Bartoszewska, 2008; Szwed i Miłowska, 2012). W normalnych warunkach APP kodowany przez gen znajdujący się na chromosomie 21 (Sobów i in., 2003), jest jedną ze składowych błony komórkowej neuronu i uczestniczy w transporcie aksonalnym. Prawidłowo (w wyniku obróbki nieamyloidogennej) APP zostaje rozszczepiony przez enzym α -sekretazę na rozpuszczalne fragmenty. W procesie przemian drogą amyloidogenną z udziałem β - i γ -sekretyz dochodzi niekiedy do powstania nierozpuszczalnych form A β , które (w niesprzyjających, patologicznych warunkach) mogą odkładać się wewnątrz- i zewnątrzkomórkowo właśnie w postaci tzw. blaszek starczych (Kowalska, 2009; Lane, Hardy i Schott, 2018). Zauważono, że najczęściej w blaszkach starczych występuje A β 42, który ma największe tendencje do agregacji ze względu na swoją hydrofobowość (Sobów i in., 2003) (Newman, Musgrave i Lardelli, 2007). Ponadto A β odkłada się także w ścianach mniejszych naczyń krwionośnych w warstwie korowej mózgu. Zjawisko to może prowadzić do powstania ognisk mikrokrwawień zlokalizowanych w strukturach korowych (Gaweł i Potulska-Chromik, 2015), co może mieć wpływ na występowanie i nasilanie się stanów zapalnych (Zabłocka, 2006). Procesy związane z agregowaniem A β prowadzą również do utraty homeostazy wapniowej czy zwiększonego stresu oksydacyjnego (Pietrzik i Behl, 2005; Mantzavinos i Alexiou, 2017) oraz obumierania neuronów i ich połączeń, co skutkuje spadkiem stężenia substancji przekaźnikowych (m.in. acetylocholin) (Gaweł i Potulska-Chromik, 2015).

Niestety, pomimo wykazania tak dużej roli A β w chorobie Alzheimera wyniki badań opartych na tej hipotezie są niejednoznaczne (Crous-Bou i in., 2017) i wydaje się, że nie można uznać hipotezy kaskady amyloidowej (z całym jej liniowym, przyczynowo-skutkowym przebiegiem) jako jedynej słusznej (Herrup, 2015).

1.1.3. Hipoteza białek Tau

Kolejną (po złogach amyloidowych – blaszkach starczych) charakterystyczną cechą w chorobie Alzheimera jest występowanie tzw. splotów neurofibrylarnych lub plak neurotycznych zbudowanych z agregatów hiperfosforylowanego białka Tau (Szwed i Miłowska, 2012; Więdołcha i in., 2012). Białko Tau fizjologicznie pełni swoje funkcje wewnątrz komórek nerwowych i glejowych. Działa ono jako stabilizator dla struktur w neuronach zwanych mikrotubulami i zwiększa stabilność całego aksonu (Tęcza i Żylińska, 2019). W samej komórce białko Tau występuje w różnych formach (powstających w wyniku splicingu mRNA) i może ulegać licznym potranslacyjnym modyfikacjom. W chorobie Alzheimera można obserwować zwiększone poziomy lub nieprawidłowe funkcjonowanie kinaz: białka Tau I GSK3 (ang. *glycogen synthase kinase 3*) oraz białka Tau II Cdk5 (ang. *cyclin-dependent kinase*), których aktywność prowadzi właśnie do hiperfosforylacji i zmniejszenia powinowactwa białka Tau do mikrotubul, co skutkuje destabilizacją cytoszkieletu, pogorszeniem działania lub obumieraniem komórek nerwowych i agregacją białka Tau do splotów neurofibrylarnych (Morsy i Trippier, 2019).

Pomimo stwierdzenia związku pomiędzy pojawieniem się pierwszych symptomów pogorszenia funkcji poznawczych w chorobie Alzheimera a tworzeniem się splotów neurofibrylarnych obecnie

uważa się, że jest to raczej konsekwencja samej choroby i innych procesów neurodegeneracyjnych, a nie sama przyczyna choroby Alzheimera (Pietrzik i Behl, 2005).

1.2. Czynniki ryzyka i inne możliwe przyczyny

W procesie badań nad przyczynami i możliwym leczeniem choroby Alzheimera zauważono również wiele innych czynników, które mają wpływ na zapobieganie chorobie, jej przebieg lub stanowią czynniki ryzyka jej wystąpienia:

- zaburzenia w metabolizmie metali (cynku, miedzi, żelaza) mogą prowadzić do powstawania złogów A β , a podawanie substancji będącej odpowiednikiem chelatów cynku i miedzi prowadziło do zmniejszenia zalegania A β w mózgu oraz zwiększenia stężenia rozpuszczalnych form A β (Pietrzik i Behl, 2005);
- czynniki genetyczne — badania wskazały, że obecność mutacji w genach β APP oraz 1 i 2 PS1 i PS2 (odpowiedzialnych odpowiednio za kodowanie białka prekursora beta-amyloidu oraz presenilin wpływających na metabolizm β APP) stanowi czynnik rozwoju choroby Alzheimera (Kowalska, 2009). Oznacza to, że każdy, kto posiada takie mutacje, zachoruje (często w młodym wieku). Zauważono również częstsze występowanie choroby Alzheimera u osób z zespołem Downa, co tłumaczy się jako konsekwencję trisomii chromosomu 21, w którym znajduje się gen kodujący β APP (Sobów i in., 2003);
- stosowanie leków przeciwzapalnych, obniżających poziom cholesterolu, hormonalnej terapii zastępczej czy przyjmowanie witamin (m.in. antyoksydacyjnych – E, A, C, karotenoidów) zmniejsza ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera (Sobów i in., 2003; Wojtera i in., 2006; Dudkowiak i in., 2013);
- wysoki poziom cholesterolu i wysokie ciśnienie krwi są wskazywane jako czynniki ryzyka (Zhang, Wen i Zhang, 2018). Stosowanie diety śródziemnomorskiej i regularna aktywność fizyczna wpływają na obniżenie ryzyka rozwoju choroby Alzheimera (Dudkowiak i in., 2013),
- nadmierne spożywanie alkoholu (3–4 drinki na dobę) oraz nikotynizm (zwłaszcza palenie więcej niż 2 paczek dziennie) zwiększają ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera (Dudkowiak i in., 2013).

W obliczu powyższych rozważań obecnie wskazuje się na istnienie kompleksowego, wielowymiarowego mechanizmu powstawania i rozwoju choroby Alzheimera, a prowadzone badania skupiają się głównie na odnalezieniu leków, które będą oddziaływały na patologiczne formy A β i białek Tau (zapobiegając ich powstawaniu i/lub agregacji), modulowały przekąźnictwo nerwowe (tak aby utrzymać dobre funkcjonowanie i zachować możliwie najwięcej funkcji poznawczych) oraz chroniły i odbudowywały struktury, które zostały uszkodzone przez toksyczne działanie A β (w celu odwrócenia zmian powstałych w wyniku przebiegu choroby Alzheimera) (Wichur i Malawska, 2015; Morsy i Trippier, 2019). Optymalne wydaje się odnalezienie jednego leku, który działałby jednocześnie na tych trzech polach przy jednoczesnym utrzymaniu jak najmniejszych skutków ubocznych i niepożądanych reakcji organizmu (Wichur i Malawska, 2015).

1.3. Objawy

Objawy choroby Alzheimera są bardzo liczne i wpływają na całokształt funkcjonowania psychofizycznego osoby chorej. Choroba przebiega w następujących po sobie fazach, postępujących powoli i rozwijających się miesiącami lub latami. Często dla określenia tych etapów stosuje się Skalę Ogólnej Deterioracji. Wyróżnia ona 7 faz – od braku lub bardzo łagodnych zaburzeń poznawczych poprzez łagodne i umiarkowane zaburzenia poznawcze (w których osoba chora powoli traci pamięć, orientację w czasie i terenie, cierpi na zaburzenia uwagi i afektu) aż po stan zaburzeń głębokich, w których chory jest niezdolny do samodzielnej egzystencji, celowego działania, a z czasem całkowicie traci zdolności werbalne i ruchowe (Hausz-Piskorz i Buczkowski, 2013).

Pośród objawów choroby, poza zaburzeniami pamięci (które w przebiegu choroby Alzheimera występują najwcześniej), można wymienić zaburzenia językowe, orientacji, koncentracji i uwagi, urojenia, omamy, zaburzenia zachowania i nastroju (głównie irytacja, zdenerwowanie), zaburzenia

snu, depresję, niepokój psychoruchowy i tzw. objaw wędrowania, pojawiające się w późniejszych etapach objawy „lustra” (chory nie rozpoznaje siebie w lustrze, próbuje rozmawiać ze swoim odbiciem) czy „telewizora” (sytuacje widziane w telewizji odbiera jako dziejące się w rzeczywistości) oraz mioklonie i napady padaczkowe występujące w zaawansowanym stadium choroby (Gaweł i Potulska-Chromik, 2015).

1.4. Rozpoznanie

Obecnie stosowane kryteria diagnostyczne stosowane w rozpoznaniu choroby Alzheimera u pacjentów opierają się głównie na ocenie funkcjonowania poznawczego za pomocą testów neuropsychologicznych – Mini-Mental State Examination, Montrealskiej Skali Oceny Funkcji Poznawczych czy Testu Rysowania Zegara (Hausz-Piskorz i Buczkowski, 2013). Wykonuje się również podstawowe badania laboratoryjne, niekiedy stosuje się także metody neuroobrazujące, takie jak tomografia komputerowa czy rezonans magnetyczny, jednak robi się to w celu wykluczenia ewentualnych innych przyczyn otępienia, a nie potwierdzenia choroby Alzheimera. Przyjmuje się, że przeżyciowo można postawić co najwyżej prawdopodobną diagnozę. Pewną chorobę można rozpoznać jedynie na podstawie ilościowej analizy obecności zwyrodnień w mózgu w połączeniu z występowaniem (przed śmiercią) innych objawów klinicznych (Gaweł i Potulska-Chromik, 2015; Sobów i in., 2003). Obecnie trwają także poszukiwania swoistych biomarkerów, których występowanie mogłoby potwierdzać chorobę Alzheimera. Za najbardziej trafne uznaje się oznaczanie fosforylowanych epitopów białka MAP- τ i poziomów peptydów A β w płynie mózgowo-rdzeniowym, jednak żadna z dostępnych na ten moment metod nie jest ani dostatecznie czuła, ani swoista, by stanowić element rozpoznania choroby Alzheimera (Sobów i in., 2003).

1.5. Leczenie

Obecnie zatwierdzone i stosowane w Polsce leczenie opiera się głównie na łagodzeniu objawów choroby. Spośród czterech zarejestrowanych leków najpowszechniejsze są inhibitory cholinesterazy, które wpływają na polepszenie pracy układu cholinergicznego: Donepezyl, Galantamina, Riwastygmina. Niestety, pomimo powszechnego stosowania tych leków zaleca się ich podawanie w otępieniu o nasileniu lekkim i umiarkowanym, a spowolnienie rozwoju choroby obserwuje się w krótkich przedziałach czasowych (kilka do kilkunastu miesięcy) (Hausz-Piskorz i Buczkowski, 2013).

Czwartym z leków dopuszczonych w Polsce i stosowanych w terapii zespołów otępiennych jest memantyna – częściowy antagonist receptoru NMDA (N-metylo-D-asparaginowego), chroniący komórki nerwowe przed toksycznym działaniem nadmiernej stymulacji glutaminergicznej oraz nadmiernym napływem Ca do neuronów (Briggs, Kennelly i O’Neill, 2016). W badaniach przedklinicznych wykazano również, że memantyna chroni neurony przed toksycznym działaniem A β (Sobów i in., 2003) oraz obniża poziom hiperfosforylowanego białka Tau w płynie mózgowo-rdzeniowym (Degerman Gunnarsson i in., 2007). Obecnie lek ten stosowanych jest do leczenia umiarkowanej i zaawansowanej fazy choroby (Gaweł i Potulska-Chromik, 2015).

Poza leczeniem farmakologicznym (które spowalnia postęp choroby, prowadzi do wydłużenia okresu samodzielnego funkcjonowania pacjenta i podnosi komfort funkcjonowania chorego) w praktyce lekarskiej sugeruje się wdrażanie działań edukacyjnych skierowanych do pacjentów i ich rodzin polegających na ułatwianiu funkcjonowania chorego, opracowaniu schematów dnia codziennego, regulowaniu emocji, redukowaniu niepokoju u chorego. Rekomenduje się również treningi pamięci, a także zajęcia gimnastyczne, terapię zajęciową lub muzykoterapię (Paszkiwicz-Mes, 2013). Zwraca się także uwagę na wpływ redukcji stresu jako ważny element zapobiegania i terapii w chorobie Alzheimera (Khalsa, 2015).

1.6. Bariera krew–mózg

W leczeniu choroby Alzheimera istotnym problemem wydaje się być również kwestia dostarczenia substancji bezpośrednio w miejsce tworzenia się i występowania zwyrodnień – do mózgu. W przypadku innych narządów komórki śródbłonna budujące naczynia włosowate nie przylegają do siebie bardzo

ściśle, co pozwala na transport różnych substancji rozpuszczonych we krwi bezpośrednio do tkanek. Bariera krew–mózg stanowi swoisty rodzaj granicy zarówno fizycznej, jak i enzymatycznej pomiędzy tkanką nerwową a naczyniami krwionośnymi (Brzezińska i Ziaja, 2012). Jej skomplikowana i zwarta budowa oparta jest na szczelnej strukturze składającej się z tzw. komórek endotelialnych (śródbłonkowych), astrocytów i pericytów. Sprawne wykonywanie funkcji ochronnych zapewnia gęsta sieć połączeń między komórkami – złączy ścisłych oraz połączeń przylegających (Koper-Lenkiewicz i in., 2018). Wszystko to sprawia, że przepuszczalność tej błony jest niewielka, a transport przez barierę krew–mózg – bardzo selektywny. Przebiegać on może na różne sposoby – na drodze prostej dyfuzji (transport bierny) dla cząsteczek gazów rozpuszczonych w osoczu, związków rozpuszczalnych w lipidach lub peptydów o niewielkiej masie (ok. 400–800 Da) lub w procesie transcytozy przebiegającej z wykorzystaniem różnych mechanizmów, m.in. za pośrednictwem receptora (RMT), adsorpcji (AMT) lub nośników (CMT) dla większych cząsteczek (glukozy, prekursorów neurotransmiterów, jonów) (Mroczkowska, 1999; Brzezińska i Ziaja, 2012; Ewen, Fauzi, Quan i in., 2018). Przyjmuje się, że generalnie zdolność przenikania cząsteczek przez barierę krew–mózg jest odwrotnie proporcjonalna do ich wielkości i wprost proporcjonalna do rozpuszczalności lipidowej (Brzezińska i Ziaja, 2012), jednak znaczenie dla tego procesu mają także czynniki takie jak kształt cząsteczek i ich ładunek (Ewen, Fauzi, Quan i in., 2018).

2. Nanotechnologia w służbie leczenia choroby Alzheimerera

Pomimo znacznego zainteresowania naukowców tematem diagnostyki i leczenia choroby Alzheimerera dotychczas do praktyki klinicznej nie zostały wprowadzone żadne rozwiązania oparte na zdobyczach nanotechnologii. Warto jednak podkreślić, że wysiłki czynione w tym kierunku są szeroko zakrojone, o czym świadczy ilość publikacji figurujących w bazach takich jak np. Scopus. Co więcej, wśród 263 badań na portalu clinicaltrials.gov dotyczących leków na chorobę Alzheimerera (trwających bądź zarejestrowanych, ale nierozpoczętych) można znaleźć również jedno dotyczące nanoformulacji związku APH-1105 do podania donosowego zaprojektowanej przez firmę Aphios (USA) (*Study of APH-1105 in Patients With Mild to Moderate Alzheimer's Disease*). Związek ten jest modulatorem α -sekretazy. Opis badania nie określa dokładnie, jakiego rodzaju nanocząstka wykorzystana jest w przygotowaniu formulacji, jednak na podstawie informacji dotyczących wykorzystywanych technologii podanych na stronie producenta można domniemywać, iż jest to rozwiązanie oparte na liposomach (*Phospholipid Nanosomes*, CFN). Fakt ten, w świetle prób podejmowanych przez naukowców i publikowanych w czasopiśmie naukowych, nie jest zaskoczeniem. Znaczna część badań, z jakimi spotkaliśmy się w trakcie przygotowywania tego opracowania, dotyczy właśnie zastosowania liposomów bądź struktur do nich podobnych lub na nich opartych. Liposomy bowiem są pierwszym systemem kontrolowanego dostarczania w skali nano, który z sukcesem został przeniesiony z laboratorium do użytku klinicznego. Kolejnym, bardzo często wymienianym w publikacjach materiałem do zastosowań w wytwarzaniu nanocząstek do kontrolowanego dostarczania leków w terapii choroby Alzheimerera jest poli(kwas mlekowy-co-kwas glikolowy) (PLGA). Kopolimer ten charakteryzuje się doskonałą biogodnością i niską toksycznością tkankową, jest biodegradowalny, a produkty jego rozkładu są naturalne dla organizmu (występują jako produkty uboczne różnych szlaków metabolicznych).

PLGA umożliwia również kontrolowane uwalnianie transportowanej substancji aktywnej (Baysal i in., 2017). Nie jest to jednak jedyny polimer, który przyciąga uwagę naukowców – wymienić warto również poli(glikol etylenowy), który jest uznanym dodatkiem poprawiającym biogodność materiałów (PEGylowanie), znaleźć go można zarówno w nanocząstkach z PLGA, jak i w liposomach, gdzie wykorzystywany jest do „ukrycia” nanocząstek przed układem odpornościowym oraz degradującymi je enzymami. Ponadto należy wspomnieć również o innych polimerach, takie jak np. chitozan (Kuo i Rajesh, 2017; Fernies i in., 2018; Luo i in., 2018), kwas hialuronowy (Jiang i in., 2018), poliwinylpirolidon (Picone i in., 2016; Picone i in., 2018), poliakrylany (Carradori i in., 2018), poliakrylamidy (Kuo i Rajesh, 2017; Liu i in., 2017; Kim, Gulfam i Lowe, 2018), również w postaci

nanożeli (Picone i in., 2018). Ciekawym podejściem do wytwarzania nanomateriałów jest wykorzystanie prekursorów biopochodnych, takich jak np. albuminy (Wong i Ho, 2018; Yang i in., 2018, Siri i in., 2020) oraz inne proteiny (Moreno i in., 2017) i peptydy (Park i in., 2019), egzosomy (Wang i in., 2019), a nawet błony komórkowe erytrocytów (Gao, Chu, i in., 2020; Gao, Wang, i in., 2020). Nanocząstki oparte na takich materiałach niosą ze sobą duże nadzieje związane z biokompatybilnością oraz biodegradacją; w innych gałęziach medycyny, takich jak onkologia czy diabetologia, w praktyce klinicznej dostępne są już nanoformulacje oparte na albuminach (An i Zhang, 2017). Finalnie w literaturze znaleźć można też doniesienia na temat cząstek nieorganicznych (Rahman i in., 2009; Wang i in., 2009; Jeon, Park i Lee, 2011; Vedagiri i Thangarajan, 2016) bądź nanokrystalicznych form substancji czynnych (Kheradmand, Hajizadeh Moghaddam i Zare, 2018; Rifaai i in., 2020a).

Istotnymi aspektami dotyczącymi nanomateriałów proponowanych do leczenia choroby Alzheimera są również proponowane przez naukowców substancje czynne oraz aktywne celowanie. W przypadku tych pierwszych duża uwaga poświęcana jest w literaturze związkom pochodzenia naturalnego, w przypadku których kluczową rolę w związku z proponowanym zastosowaniem odgrywają ich właściwości przeciwzapalne, antyoksydacyjne i neuroprotektoryjne. Podejmowane są również próby enkapsulacji związków stosowanych jako leki w AD w celu poprawienia ich kinetyki i biodostępności, jak również zmniejszenia efektów ubocznych. W przypadku aktywnego celowania nie można jednoznacznie wskazać jednej, dominującej strategii proponowanej przez naukowców. Wykorzystywane ligandy należą do różnych klas, począwszy od związków małowcząsteczkowych poprzez krótkie sekwencje aminokwasowe aż po złożone przeciwciała.

W dalszej części pracy chcielibyśmy pokrótce omówić obecny stan wiedzy na temat zastosowań nanotechnologii w badaniach dotyczących terapii AD, w szczególności dotyczący:

- *active targeting* w chorobie Alzheimera,
- substancji aktywnych w chorobie Alzheimera,
- nanocząstek w chorobie Alzheimera.

2.1. Aktywne celowanie w chorobie Alzheimera

Jedną z zalet wykorzystania nanomateriałów w terapii jest możliwość ich dostarczenia dokładnie do zmienionych chorobowo miejsc w organizmie. W tym celu wykorzystywane są różne klasy związków, takie jak peptydy i proteiny, w tym przeciwciała, jak i związki małowcząsteczkowe. W przypadku choroby Alzheimera do dyspozycji mamy różne opcje; warto również podkreślić, że w sytuacji przenikania przez BBB konieczne może być użycie dwóch ligandów – jednego zdolnego do promowania przenikania BBB oraz drugiego zdolnego związać nanocząstkę z właściwym celem, np. komórką nerwową bądź samym agregatem A β bądź Tau.

Peptydy i proteiny są cenionymi ligandami ukierunkowującymi ze względu na swoją niską immunogenność i wysokie bezpieczeństwo stosowania. Doskonałym przykładem takiego ligandu o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu AD jest peptyd o sekwencji KLVFF – sekwencja ta jest w stanie rozpoznawać i wiązać się z A β za pomocą wiązań wodorowych. Wykorzystanie tego peptydu przez Luo i in. (2018) do modyfikacji nanocząstek chitozanu pozwoliło na uzyskanie „nanozmiatacza”, który znacząco zahamował formowanie się nierozpuszczalnych agregatów amyloidowych na modelu zwierzęcym, tym samym poprawił niedobory pamięci. Ważnym białkiem w AD jest również apolipoproteina E (ApoE). Jest ona w stanie wiązać się z receptorem LDLR (ang. *low-density lipoprotein receptor*), obecnym w BBB (Kuo, Lou i Rajesh, 2020). Mancini i in. (2017) wykorzystali krótki fragment ApoE (10aa) zdolny do wiązania z receptorem do funkcjonalizacji liposomów przeznaczonych do presymptomatycznej interwencji mającej na celu opóźnienie postępu AD i utraty pamięci, w modelu zwierzęcym. Kuo, Luo i Rajesh (2020) natomiast z sukcesem wykorzystali ApoE w celu zapobiegania hiperfosforylacji białka Tau z wykorzystaniem kwercetyny i kwasu rozmarynowego w postaci liposomalnej.

Zespół pod przewodnictwem Rui-tian Liu (Huang i in., 2017; Zhang i in., 2020) w celu ułatwienia nanocząstkom z PLGA penetracji BBB z powodzeniem wykorzystał specjalną cykliczną sekwencję aminokwasową CRTIGPSVC zdolną do wiązania się z receptorem transferyny (TfR). Wykazano,

iz śródbłonek naczyń włosowatych mózgu jest selektywnie wzbogacony w ten receptor, co pozwala na wykorzystanie mechanizmu transcytozy za pośrednictwem receptora. Również z TfR związane były prace Rodrigues i in., którzy do zmodyfikowania liposomów przeznaczonych do terapii genowej AD użyli transferryiny – białka będącego natywnym ligandem tego receptora (Rodrigues, Kanekiyo i Singh, 2020). W badaniach tych został wykorzystany również dodatkowy ligand, mający spełniać funkcję adiuwantowego wzmacniacza penetracji – heksadekapetyd penetratyna. W toku ewolucji pewne proteiny wykształciły specyficzne sekwencje zdolne do przenikania błon komórkowych (tzw. *protein transduction domains*); peptydy o tych sekwencjach zwane są *cell penetrating peptides* (Sharma i in., 2013) i penetratyna jest jedną z nich. Zastosowanie dodatkowego czynnika wspomagającego penetrację BBB pozwoliło na maksymalne zwiększenie skuteczności liposomów w postaci znacznie zwiększonej ekspresji transfekowanego genu. Podobny efekt odnotowano przy wykorzystaniu penetratyny w połączeniu z mannozą (ligand białka GLUT-1, odpowiedzialnego za transport glukozy przez błony komórkowe, obficie obecny w BBB) (Arora, Sharma i Singh, 2020).

Specjalną klasą protein wykorzystywaną w celowanym dostarczaniu są przeciwciała. Papadia i in. (2017) oraz Loureiro i in. (2017) wykorzystali monoklonalne przeciwciała (mAb) przeciw receptorowi transferryiny do skutecznego pokonania bariery krew–mózg przez lipidowe cząstki transportujące naturalne związki o działaniu neuroprotektynym. Carradori i in. (2018) wykorzystali natomiast mAb przeciw $A\beta_{1-42}$, co pozwoliło na zlokalizowanie nanocząstek nie tylko w wątrobie i śledzionie (co jest ich typowym losem), ale również w wykrywalnej ilości w mózgu. Dodatkową zaletą przeciwciał jest fakt, że mogą one pełnić podwójną funkcję – nie tylko ligandu ukierunkowującego, lecz również substancji aktywnej. Takie zastosowanie zaprezentowane jest w przytoczonej wyżej pracy (Carradori i in., 2018) – zastosowana terapia znacznie poprawiła pamięć długotrwałą transgenicznych myszy obciążonych mutacją białka APP, powodującą występowanie wczesnej formy dziedzicznej choroby Alzheimera.

2.2. Substancje aktywne w chorobie Alzheimera

Strategie proponowane w literaturze różnią się od praktyki klinicznej. Niemniej podejmowane są również próby poprawiania właściwości obecnie stosowanych leków. Baysal i in. (2017) oraz Mendes i in. (2019) obrali sobie za cel donepezyl (DL), który przy typowym podaniu doustnym powoduje bardzo nieprzyjemne skutki uboczne ze strony układu pokarmowego, jak również bezsenność, zmęczenie czy skurcze mięśni. W pierwszej z przytoczonych prac lek został skutecznie enkapsulowany w PEGyloanych nanocząstkach z PLGA i nie stracił przy tym w żaden sposób na aktywności. W drugim przypadku DL został zamknięty w nanostrukturalnych nośnikach lipidowych, które następnie zostały zdyspergowane w hydrożelowej matrycy na potrzeby podania transdermalnego. Podobną strategię – wykorzystującą nanokompozyt z Carbopolu – zaprezentowali Shamarekh i in. (2020). Zespół podjął się próby poprawy właściwości takryny – inhibitora acetylocholinesterazy wycofanego z obrotu ze względu na znaczną hepatotoksyczność i bardzo niską biodostępność. Zastosowanie do podania donosowego hydrożelu zawierającego nanocząstki PLGA modyfikowane ligandem targetującym (z rodziny CPP) umożliwiło skuteczne i bezpieczne dostarczanie leku do mózgu w badaniach *in vivo*.

Jak już wspomniano wcześniej, uwagę naukowców bardzo przyciąga zastosowanie naturalnych związków neuroprotektynnych, takich jak kurkumina (Cur), kwercetyna (QU), resweratrol (RS) czy galusan epigalokatechiny (EGCG) (Liu i in., 2017; Loureiro i in., 2017; Vaz i in., 2017; Jiang i in., 2018; Rajput i in., 2018; Yang i in., 2018; Kuo, Lou i Rajesh, 2020; Rifaai i in., 2020b). Jednym z głównych problemów wskazywanych w literaturze, związanych z wykorzystaniem tych substancji, jest ich niewystarczająca biodostępność, którą próbuje się poprawiać z wykorzystaniem nanonośników. Cur jest polifenolem, któremu przypisuje się duży potencjał, jeśli chodzi o leczenie AD. Jako związek o silnych właściwościach przeciwzapalnych i przeciwutleniających może przeciwdziałać wczesnym zmianom patologicznym zachodzącym w AD, wynikającym ze stresu oksydacyjnego i chronicznego stanu zapalnego. Ponadto postuluje się, iż Cur może hamować odkładanie się amyloidu β m.in. poprzez oddziaływanie na β -sekretazę oraz modulować hiperfosforylację białka Tau (Vaz i in., 2017). Dzięki zastosowaniu nośników takich jak liposomy (Papadia i in., 2017; Vaz i in., 2017) czy nanocząstki PLGA

(Barbara i in., 2017; Fan i in., 2018; Kuo i Tsai, 2018) można znacząco poprawić jej rozpuszczalność w wodzie oraz biodostępność.

Peptydy i proteiny również znajdują zastosowanie jako potencjalne terapeutyki w AD. Insulina (Ins), znany hormon peptydowy odpowiedzialny w organizmie za gospodarkę glukozową, w badaniach klinicznych przy podaniu donosowym okazała się znacząco poprawiać funkcjonowanie mózgu chorych na AD (Benedict i in., 2004). Ponadto receptory insuliny są szeroko rozpowszechnione w różnych częściach mózgu. W związku z tym Picone i in. (2018) podjęli próby przygotowania formacji Ins, w której peptyd osadzony został na nanożelach z PVP. Kim, Gulfam i Lowe (2018) natomiast wykorzystali czynnik wzrostu nerwów (ang. , NGF), który jest czynnikiem neurotroficznym, proteiną sygnałową wspierającą przetrwanie, wzrost i różnicowanie neuronów w układzie nerwowym, jak również wzrost neurytów oraz produkcję neurotransmiterów. Podany dożylnie jest szybko eliminowany z krwiobiegu, dlatego zastosowanie nanonośnika do jego transportu może pozytywnie wpłynąć na jego skuteczne zastosowanie w regeneracji uszkodzonych chorobą nerwów.

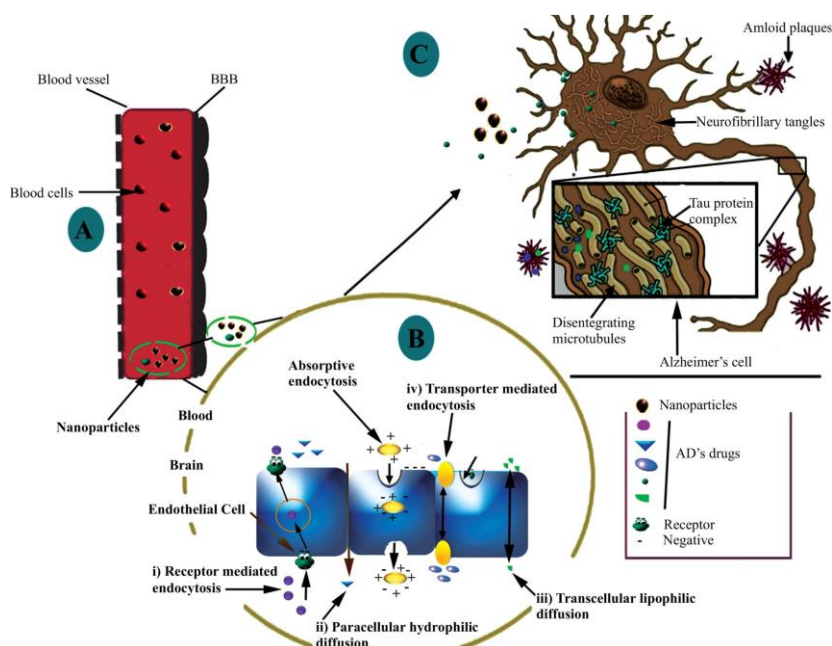
Najbardziej złożoną, ale i obiecującą strategią leczniczą jest terapia genowa. Również w AD proponowane są rozwiązania oparte na manipulowaniu materiałem genetycznym, zarówno przed transkrypcją (DNA), jak i po niej (mRNA). W tym kontekście proponowane jest przede wszystkim wpływanie na gen BACE1, kodujący wspomnianą już β -sekreazę 1, która niezbędna jest do powstawania A β . Park i in. (2019) wykorzystali do tego celu technikę CRISPR-Cas9. Dzięki dostarczaniu enzymu Cas9 oraz wzorcowego RNA (sgRNA) w postaci nanokompleksu z amfifilowym oligopeptydem możliwe było skuteczne modulowanie genu w dojrzałych neuronach *in vivo*.

Uzyskanie stabilnej transfekcji w komórkach postmitotycznych, takich jak właśnie neurony, jest jednym z najtrudniejszych wyzwań w terapii genowej. Dlatego częściej można spotkać się z podejmowaniem prób doprowadzenia do transfekcji przejściowej. Jednym z takich scenariuszy jest blokowanie translacji z transkrybowanego mRNA, do czego wykorzystywane jest np. krótkie interferujące RNA (siRNA). Taką drogę do obniżenia ekspresji β -sekreazy obrali w swoich badaniach Cai oraz Rassu, do transportu przez BBB wykorzystali odpowiednio dendrygraftowy kationowy polimer na bazie poli(lizyny) (Cai i in., 2020) oraz nanocząstki lipidowe (ang. *solid lipid nanoparticles*) (Rassu i in., 2017). Warto wspomnieć również o strategii, w której do komórek dostarcza się gotowe do transkrypcji plazmidowe DNA. Rodrigues, Kanekiyo i Singh (2020) skutecznie wykorzystali taką metodę transfekcji przejściowej do zwiększenia ekspresji wspomnianego już NGF *in vivo* na modelu zwierzęcym.

2.3. Nanocząstki w chorobie Alzheimera

Nanocząstki metaliczne lub tlenków metali stosowane w medycynie mają wielkość od 1 do 200 nm i charakteryzują się specjalnymi właściwościami fizykochemicznymi (Song i in., 2016). W ostatniej dekadzie próby wykorzystania nanocząstek (NP) w leczeniu chorób, w tym neurologicznych jak AD, były przedmiotem licznych badań oraz testów na zwierzętach doświadczalnych. NP dwutlenku tytanu (TiO₂), dwutlenku krzemu (SiO₂), srebra (Ag) i tlenku cynku (ZnO) mogą być podawane do organizmu m.in. poprzez: inhalacje (Parveen i in., 2017), podawanie doustne (Zhang i in., 2010), podawanie dotchawicze (Shinohara i in., 2015), zastrzyk dożylny i dootrzewnowy (Hritcu i in., 2011).

Niestety zaabsorbowane NP, oprócz efektu terapeutycznego, mają tendencję do akumulowania się w różnych narządach, przy czym to mózg jest najbardziej podatny na ich toksyczne działanie (Feng i in., 2015). Biorąc pod uwagę rolę nanotechnologii w terapii Alzheimera, obecnie wyzwaniem jest projektowanie NP o pożądanym rozmiarze i kształcie, co czyni z nich potencjalny lek/środek diagnostyczny/nośnik leku w leczeniu AD, a jednocześnie takich NP, które nie będą powodowały powstawania niepożądanych reaktywnych form tlenu (FRT). NP oferują możliwość zaprojektowania inteligentnych nośników terapeutycznych, które mogą jednocześnie przekraczać barierę krew–mózg i dostarczać ładunek do określonych celów (Ahmad i in., 2017), co przedstawiono na Ryc. 1.



Rycina 1. Schemat przedstawiający sposób, w jaki nanocząstki wspomagają transport leków/substancji biologicznych przez barierę krew–mózg: (A) ogólnoustrojowe podanie/absorbpcja do krwiobiegu nanocząstek (które mogą przenosić leki używane w leczeniu choroby Alzheimera i docierają one do bariery krew–mózg), (B) wchłanianie nanocząstek z lekiem przez barierę krew–mózg zgodnie z możliwymi mechanizmami (pokazanym na rycinie), (C) docieranie nanocząstek do obszaru dotkniętego chorobą Alzheimera (Ahmad i in., 2014).

2.4. Rola nanocząstek w mózgu

Obecność metali w mózgu z jednej strony jest fizjologiczną koniecznością, z drugiej jednak – ich zbyt wysokie stężenie jest niepożądane i szkodliwe. Akumulacja metali w tkankach mózgu występuje nie tylko w postaci wolnych jonów, ale także w formie metaloprotein (Heusinkveld i in., 2016). Nieprawidłowa homeostaza jonów metali w mózgu może powodować uszkodzenie neuronów, jeśli ich stężenia będą przewyższać normalny poziom, z powodu braku specyficzne białek wiążących metale (González-Domínguez, García-Barrera i Gómez-Ariza, 2014). Niektóre nanocząstki bogate w metale są proponowane do stosowania w leczeniu chorób neurologicznych, w tym AD, ale niestety nanocząstki stymulują produkcję RFT i generują stany zapalne. Ponadto nadmierne nagromadzenie cytozoli bogatych w nanocząstki metaliczne w mózgu to kolejny problem wynikający z wysokiej szybkości transportu NP przez BBB.

Dobrze znane nanocząstki, bogate w metale, takie jak TiO_2 , ZnO , tlenek żelaza, SiO_2 , srebro (Ag) i złoto (Au), działają głównie oksydacyjnie w mózgu i generują niepożądane RFT (González-Domínguez, García-Barrera i Gómez-Ariza, 2014; Heusinkveld i in., 2016). Produkcja RFT zachodzi podczas normalnej fizjologicznej funkcji naszego organizmu, a RFT nie są toksyczne, jeśli są kontrolowane przez enzymy i białka przeciwutleniające, takie jak peroksydaza glutationowa (GSH-Px). Jak wcześniej wspomniano, podłoże choroby Alzheimera nie zostało jednoznacznie wyjaśnione, a stres oksydacyjny wymieniany jest jako jeden z ważnych czynników powodujących schorzenie. Poniżej (Tabela 1) umieszczono kilka przykładów obrazujących wpływ różnych nanocząstek na enzymy przeciwutleniające w mózgu zwierząt doświadczalnych.

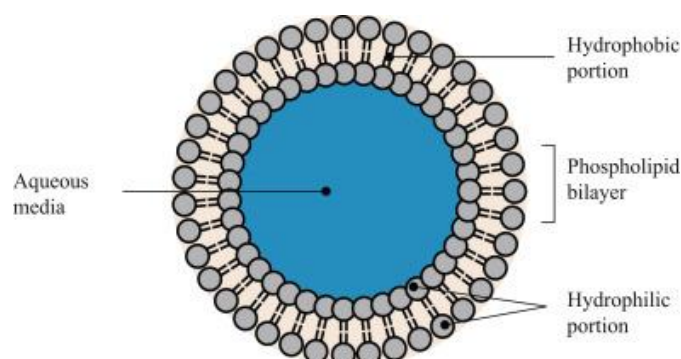
Tabela 1. Wpływ nanocząstek na enzymy przeciwutleniające w mózgu zwierząt doświadczalnych i ludzi, a także na linie komórkowe (GSH-Px; peroksydaza glutationowa, SOD; dysmutaza ponadtlenkowa, Trx1; tioredoksyna).

Nanocząstka	Droga podania	Materiał	Wpływ/Effekt	Referencje
Ag	dootrzewnowo	jądro ogoniaste, płat czołowy kora i hipokamp mózgu myszy	Ekspresja genu glutationu	Rahman i in., 2009
CuO	inkubacja	linia komórkowa PC12	Wzrost ekspresji Trx1, zmniejszenie ekspresji GSH-Px	Wang i in., 2009
Mn	inkubacja	linia komórkowa PC12	Poziom ekspresji Trx1 i GSHPx- bez zmian	Wang i in., 2009
TiO₂	donosowo	mózg myszy	Zmniejszenie GSH-Px, katalazy i SOD	Jeon, Park i Lee, 2011
ZnO	dootrzewnowo	mózg dorosłego i starszego mężczyzny	Zmniejszenie SOD i GSH-Px	Vedagiri i Thangarajan, 2016

Oprócz nanocząstek utleniających istnieją nanocząstki o właściwościach przeciwutleniających, na przykład NP selenu (Se). Wyniki badań z użyciem SeNP o małych rozmiarach (5–15 nm) wskazują, że NP selenu zahamowały tworzenie A β poprzez zmniejszenie produkcji RFT w badaniach przeprowadzonych na zwierzętach, jak również na liniach komórkowych (wciąż brak badań z udziałem ludzi) (Naziroğlu, Muhamad i Pecze, 2017). Raporty o niskim poziomie Se we krwi oraz w próbkach tkanek, a także niskie aktywności GSH-Px, katalazy i enzymów SOD u pacjentów z AD wspierają proponowaną hipotezę o kluczowej roli stresu oksydacyjnego w patogenezie AD. Na dzień dzisiejszy korelacje między poprawą stanu pacjentów z objawami Alzheimera a leczeniem NP selenu wymagają dalszych badań. Wykazano, że efektywność NPSe w usuwaniu RFT jest związana z ich rozmiarem. Najwyższą skuteczność usuwania RFT stwierdzono w przypadku NPSe o rozmiarach od 5 do 15 nm.

Pomimo bardzo interesujących prób dotyczących zastosowania nanocząstek metalicznych w terapii AD, to organiczne konstrukty wiodą prym w badaniach nad nowymi terapiami opartymi o osiągnięcia nanotechnologii. Jak już wspomniano, złotym standardem o największym potencjale dla zastosowań klinicznych są liposomy. Mają one wiele zalet, które sprawiają, że z powodzeniem są stosowane jako nośniki leków dostępnych komercyjnie (Bulbake i in., 2017). Można je wytwarzać z wielu rodzajów lipidów, przede wszystkim z fosfolipidów. Bardzo powszechne jest też stosowanie DSPE (1,2-distearoil-3-sn-glicero-3-fosforyloetanolamina) (Kuo i in., 2017; Aliakbari i in., 2018; Arora, Sharma i Singh, 2020) ze względu na grupę aminową obecną w hydrofilowej głowie, umożliwiającą wygodną modyfikację powierzchni liposomów, np. przez doszczepianie łańcuchów PEG bądź związków do aktywnego celowania. Dodatek cholesterolu natomiast stabilizuje i usztywnia dwuwarstwę lipidową dzięki ugrupowaniom pierścieniowym, jak również zmniejsza jej przepuszczalność i wzmacnia strukturę, co powoduje, że jest ona mniej podatna na uszkodzenia za sprawą sił ścinających (Briuglia i in., 2015). Liposomy opisywane w literaturze wykorzystywane były do dostarczania niemal wszystkich rodzajów substancji aktywnych, począwszy od związków pochodzenia naturalnego (Vaz i in., 2017; Aghajanzadeh i in., 2020; Giacomeli i in., 2020; Sathya, Shanmuganathan i Devi, 2020) poprzez małowcząsteczkowe leki (Mancini i in., 2017; Mendes i in., 2019; Saffari i in., 2020) oraz kwasy nukleinowe w ramach terapii genowych (Rassu i in., 2017; Arora, Sharma i Singh, 2020; Rodrigues, Kanekiyo i Singh, 2020) aż dopołączeń tych różnych substancji (Kuo i in., 2017; Kuo, Chen i Rajesh, 2019). Pokazuje to, jak bardzo uniwersalnymi nośnikami są liposomy – są one w stanie transportować

zarówno związki hydrofilowe, które lokują się wewnątrz struktury, jak również hydrofobowe, które swoje miejsce mają w dwuwarstwie, zdyspergowane między hydrofobowymi ogonami lipidów.



Rycina 2. Schemat idealny budowy liposomu (Deb i in., 2018).

PLGA również jest bardzo wszechstronnym materiałem, zaaprobowanym zarówno przez FDA, jak i Europejską Agencję Leków do zastosowań w systemach dostarczania leków (Amin i in., 2017). PLGA umożliwia kontrolowane uwalnianie transportowanej substancji aktywnej ze względu na stopniowo zachodzącą hydrolizę polimeru (Baysal i in., 2017). Produkty rozkładu – kwas mlekowy oraz kwas glikolowy – są naturalne dla organizmu, występują bowiem jako produkty uboczne różnych szlaków metabolicznych i mogą być metabolizowane w cyklu Krebsa (Amin i in., 2017). Nanocząstki z PLGA (nPLGA) uzyskuje np. metodą nanostrącania w nierozpuszczalniku (Shamarekh i in., 2020) bądź emulsyfikacji (Cano i in., 2019), co pozwala na enkapsulację różnorodnych substancji aktywnych. Sánchez-López i in. (2018) skutecznie zamknęli w nPLGA memantynę, lek stosowany klinicznie w leczeniu AD. Ten sam zespół podjął udane próby enkapsulacji w nPLGA deksibuprofenu, niesteroidowego leku przeciwzapalnego, co pozwoliło na uzyskanie formułacji o korzystnej biodystrybucji i obniżonych efektach ubocznych. Formułacja poprawiła stan związany z utratą pamięci na modelu *in vivo* (Sánchez-López i in., 2017).

Wartym wspomnienia, bardzo ciekawym podejściem do wytwarzania nanomateriałów w kierunku zastosowania w leczeniu AD jest również wykorzystanie biogennych prekursorów. Nanocząstki oparte na takich materiałach niosą ze sobą duże nadzieje związane z biokompatybilnością oraz biodegradacją, korzystają bowiem ze związków (protein) bądź całych układów (egzosomy – Exo, błony komórkowe z np. erytrocytów) pobranych z ludzkiego organizmu. Można wręcz pokusić się o stwierdzenie, iż najbardziej obiecujące nanomateriały wytwarzane przez człowieka i opisane powyżej są naśladowaniem rozwiązań obserwowanych w naturze. Liposomowa dwuwarstwa jest analogiczna do błony biomolekularnej obecnej w egzosomach. I tak samo, jak w przypadku liposomów, Exo można skutecznie „naładować” zarówno hydrofilowymi, jak i hydrofobowymi substancjami aktywnymi. Przewagą Exo może być jednak fakt, iż odpowiednio dobrane pęcherzyki mogą już w swojej strukturze posiadać wbudowane białka z ich komórek pochodzenia, które mogą promować przenikanie przez błony biologiczne, które to przenikanie jest naturalnym zadaniem Exo (Wang i in., 2019). W ten sposób Wang i in. wykorzystali egzosomy wytwarzane przez makrofagi linii RAW264.7, które traktowano uprzednio kurkumina, co pozwoliło na skuteczne włączenie związku w produkowane przez komórki pęcherzyki. Ponadto struktury produkowane przez RAW264.7 „odziedziczyły” po swoich komórkach macierzystych antygen związany z funkcją limfocytów 1 (ang. *lymphocyte function-associated antigen 1*, LFA-1), który z powodzeniem pośredniczył w migracji Exo przez BBB (Wang i in., 2019).

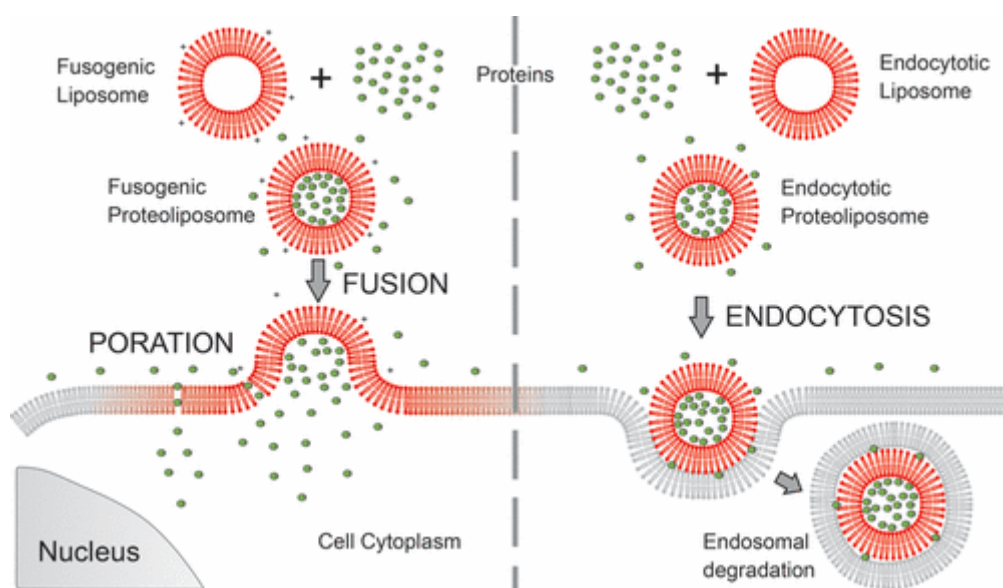
Biopochodnym białkiem o dużym potencjale klinicznym są albuminy – nanocząstki z albumin, podobnie jak z PLGA, można uzyskiwać metodą nanostrącania. Albuminy są szeroko rozpowszechnione w ludzkim organizmie (35–50g/L), nie wykazują immunogenności i mają doskonałą rozpuszczalność oraz długi czas półtrwania w organizmie (średnio 19 dni). Dlatego są idealnymi materiałami do

wytwarzana nanoleków; sztanarowym przykładem takich dostępnych w użytku klinicznym formu są np. Abraxane (nanofarmulacja paklitakselu, hydrofobowego chemioterapeutyku) czy Albiglutide (lek stosowany w leczeniu cukrzycy typu 2) (An i Zhang, 2017). Wong i Ho (2018) do wytworzenia biozgodnych nanocząstek wykorzystali albuminę surowicy ludzkiej (HSA), której nanostrącanie z wykorzystaniem wysokich naprężeń ścinających pozwoliło uzyskać stabilne agregaty o nanometrycznych rozmiarach, z uwięzionym w strukturze flurbiprofenem.

3. Perspektywy

Pomimo wielu prób opisanych w literaturze nadal nie udało się wprowadzić skutecznej, klinicznie przyjętej strategii leczenia choroby Alzheimera opartej na osiągnięciach nanotechnologii. Na podstawie badań opisanych w literaturze można jednak wysnuć pewne wnioski dotyczące najbardziej obiecujących kierunków rozwoju, które mają najwyższy potencjał skutecznej translacji do praktyki leczniczej.

Biorąc pod uwagę liczne przykłady dostępnych komercyjnie nanoterapeutyków na bazie liposomów oraz zaawansowane prace nad dedykowaną AD donosową formą związku APH-1105 firmy Aphios (USA) (*Study of APH-1105 in Patients With Mild to Moderate Alzheimer's Disease*) postulować można, iż zastosowanie takiego nośnika ma największy potencjał. Produkcja liposomów jest relatywnie tania, a otrzymywane produkty charakteryzują się długotrwałą stabilnością, wysoką skutecznością enkapsulacji i wąskim rozkładem rozmiarów, co jest bardzo ważne w formułach dla medycyny. Dobór odpowiednich lipidów jest kwestią optymalizacji eksperymentalnej, ale na pewno warto zastanowić się nad dodatkiem cholesterolu, który dodatkowo stabilizuje pęcherzyki i zmniejsza wyciek substancji aktywnych, jak również nad PEGyłowaniem. Interesująca jest również idea liposomów fuzogennych – są to pęcherzyki, których skład jest tak dobrany, aby nie ulegały one endocytozie, ale łączyły się z błoną komórkową i tym samym uwalniały niesiony ładunek bezpośrednio do cytoplazmy. Jednym ze sposobów osiągnięcia takiej charakterystyki liposomów jest uczynienie ich termolabilnymi przez zastosowanie w odpowiednich proporcjach lipidów takich jak np. dipalmitoilofosfatydylocholina czy kwas elaidynowy (Zellmer i Cevc, 1996). W środowisku zmienionych chorobowo neuronów, gdzie toczy się stan zapalny, można spodziewać się lokalnie podwyższonej temperatury, co przemawia za słusznością takiego rozwiązania.



Rycina 3. Zasada działania liposomów fuzogennych. Nie ulegają one endocytozie, ale łączą się z błoną komórkową (Kube i in., 2017)

Niewątpliwie istotny jest również dodatek lipidów, które uproszczą procedury dołączania ligandów targetujących na powierzchni pęcherzyków. Jest to absolutną koniecznością w sytuacji, kiedy celem jest przekraczanie bariery krew–mózg – tutaj sprawdzi się dobrze znany DSPE, którego grupa aminowa pozwala na modyfikację powierzchni liposomów. Obiecujące niewątpliwie jest również podejście wielu grup naukowców związane z funkcjonalizacją nanocząstki dwoma rodzajami ligandów ukierunkowujących. Co prawda dla formuł, dla których planowane jest wprowadzenie do przemysłu farmaceutycznego, wręcz kluczową sprawą jest prostota – im bardziej złożony system dostarczania, tym jego szanse na translację kliniczną drastycznie maleją, nawet nie ze względu na skuteczność, ale z przyczyn dużo bardziej trywialnych (zbyt skomplikowane procesy technologiczne są trudne w kontroli oraz zbyt drogie, aby zapewnić przedsiębiorstwu farmaceutycznemu odpowiedni zysk).

Niemniej, choć stosowanie podwójnego systemu dostarczania komplikuje procedury syntetyczne, to jest w tym przypadku uzasadnione – przekroczenie BBB jest istotnym utrudnieniem w terapii AD i przyczyną niedostatecznej skuteczności wielu proponowanych terapii celujących w mózg. Dla rozwiązania tego problemu złożoności procedur syntetycznych można stosować związki z tej samej klasy, np. dwa peptydy (otrzymywanie peptydów jest znacznie tańsze niż pełnych protein czy przeciwciał). Dla dwóch peptydów modyfikację powierzchni można przeprowadzić równoległe, przy czym oczywiście należy pamiętać o takim zaprojektowaniu syntezy, aby część sekwencji odpowiedzialna za aktywność biologiczną pozostawała dostępna. Sekwencją odpowiednią do celowania w barierę krew–mózg może być T7 (HAIYPRH), o wysokim powinowactwie do wspomnianego już receptora transferyny (Cai i in., 2020). Jako koligand, mający na celu doprowadzenie cząstek do zmienionych chorobowo neuronów, ma szansę sprawdzić się peptyd Tet1 (HLNILSTLWKYR), który wykazuje silne powinowactwo do neuronów ruchowych (Park i in., 2007). Nie jest to oczywiście jedyny słuszny zestaw, ale na pewno ma on potencjał i byłby dobrym punktem wyjścia. Dodatkowo synergia ligandów targetujących oraz termolabilnych liposomów daje duże nadzieje na skuteczne dostarczanie substancji czynnych bezpośrednio do zmienionych chorobowo neuronów.

Kolejną, nie mniej kluczową kwestią jest wybór substancji aktywnej, która pozwoli skutecznie przeciwdziałać skutkom AD. Teorie dotyczące patogenezy tej choroby są na tyle szerokie, że trudno wskazać jedną słuszną strategię terapeutyczną. W literaturze zdecydowanie najwięcej uwagi poświęca się teorii amyloidowej, jednak liczne badania wskazują, że interwencja terapeutyczna opierająca się tylko o rozwiązanie problemu blaszek starczych nie przynosi oczekiwanych skutków (Herrup, 2015). Wobec tego konieczne są dalsze intensywne badania dotyczące patogenezy AD oraz środków, które mogą zaradzić zarówno skutkom postępującej patologii, jak i jej przyczynom na poziomie molekularnym. Zanim jednak nauka rozwikła to zagadnienie, uzasadnione wydaje się wykorzystanie obecnie stosowanych leków, mających poprawić jakość życia pacjentów i opóźnić rozwój choroby. Takryna mogłaby dzięki takiemu systemowi otrzymać drugą szansę – ten inhibitor acetylocholinesterazy w podaniu doustnym powodował zbyt ciężkie efekty uboczne, aby kontynuować jego kliniczne stosowanie (Shamarekh i in., 2020).

Ostatnią kwestią, którą warto poruszyć, jest droga podania. Istotne jest, aby była skuteczna, ale z drugiej strony jak najmniej uciążliwa dla pacjenta. W tym kontekście, podobnie jak liczni naukowcy (Rassu i in., 2017; Vaz i in., 2017; Meng i in., 2018; Picone i in., 2018; Silva-Abreu i in., 2018; Wong i Ho, 2018; Adnet i in., 2020; Samaridou i in., 2020), warto rozważyć podanie donosowe. Jest to niewątpliwie forma bardzo wygodna, pozwalająca na osiągnięcie wysokiej skuteczności dostarczania, pozwalająca przy tym unikać systemowych efektów ubocznych. W przypadku takiej formulacji istotne jest wykorzystanie środków mukoadhezyjnych, które poprawiają przyleganie preparatu do błony śluzowej nosa i transfer substancji aktywnych z preparatu do organizmu. Z powodzeniem można tutaj zastosować preparat na bazie chitozanu.

Podsumowanie

Opracowanie nowego leku, a szczególnie takiego wykorzystującego osiągnięcia nanotechnologii, trwa wiele lat. Strategie i podejścia oparte na nanotechnologii zyskały dużą uwagę ze względu na dobrą perspektywę przezwyciężenia ograniczeń związanych z pokonaniem BBB. Obecnie testowane są liczne metody z zastosowaniem nanotechnologii, które dają obiecujące wyniki w dostarczaniu substancji terapeutycznych do obszaru ośrodkowego układu nerwowego. Nanonośniki teranostyczne można opracować z różnych materiałów organicznych i nieorganicznych, takich jak nanocząstki polimerowe, nanokapsułki, nanosfery, micelle, emulsje, liposomy, kropki kwantowe, dendrymery, fulereny i nanorurki węglowe (Ahmad i in., 2017). Inteligentnie zaprojektowane nanocząstki (NP), zdolne do pokonywania bariery krew–mózg, mogą być stosowane w leczeniu Alzheimerera do terapii celowanej, która pozwoli opóźnić utratę pamięci i wydłużyć życie. Niestety, od sformułowania obiecującej hipotezy w laboratorium badawczym do uzyskania zatwierdzenia gotowego produktu przez odpowiednie organy zajmujące się rejestracją produktów leczniczych może upłynąć nawet kilkanaście lat. Zazwyczaj badania nad wieloma tysiącami leków owocują opracowaniem tylko jednego, który przejdzie ostateczne badania kliniczne z udziałem ludzi. Jednakże w związku z wydłużaniem się przewidywanego czasu życia, a co za tym idzie wzrastającym odsetkiem społeczeństwa w podeszłym wieku, badania nad nowymi farmaceutykami do leczenia choroby Alzheimerera powinny zajmować ważne miejsce w agendach badawczych.

Bibliografia

- Adnet T., Groo A.C., Picard C., Davis A., Corvaisier S., Since M., Bounoure F., Rochais C., Le Pluart L., Dallemagne P., Malzert-Fréon A. 2020. Pharmacotechnical development of a nasal drug delivery composite nanosystem intended for Alzheimer's disease treatment. *Pharmaceutics* 12(3), nr artykułu 251. DOI: [10.3390/pharmaceutics12030251](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030251).
- Aghajanzadeh M., Andalib S., Danafar H., Rostamizadeh K., Sharafi A. 2020. The effect of Baicalein-loaded Y-shaped mikroarm copolymer on spatial memory an hippocampal expression of DHCR24, SELADIN and SIRT6 genes in rat model of Alzheimer. *International Journal of Pharmaceutics* 586, nr artykułu 119546. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2020.119546](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119546).
- Ahmad J., Akhter S., Rizwanullah M., Khan M.A., Pigeon L., Addo R.T., Greig N.H., Midoux P., Pichon C., Kamal M.A. 2017. Nanotechnology based theranostic approaches in Alzheimer's disease management: Current status and future perspective. *Current Alzheimer Research* 14(11), str. 1164–1181. DOI: [10.2174/1567205014666170508121031](https://doi.org/10.2174/1567205014666170508121031).
- Ahmad M., Ahmad J., Amin S., Rahman M., Anwar M., Mallick N., Ahmad F., Rahman Z., Kamal M., Akhter S. 2014. Role of nanomedicines in delivery of anti-acetylcholinesterase compounds to the brain in Alzheimer's disease. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets* 13(8), str. 1315–1324. DOI: [10.2174/1871527313666141023100618](https://doi.org/10.2174/1871527313666141023100618).
- Aliakbari F., Shabani A.A., Bardania H., Mohammad-Beigi H., Tayaranian Marvian A., Dehghani Esmatabad F., Vafaei A.A., Shojaosadati S.A., Saboury A.A., Christiansen G., Otzen D.E., Morshedi D. 2018. Formulation and anti-neurotoxic activity of baicalein-incorporating neutral nanoliposome. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 161, str. 578–587. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2017.11.023](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.11.023).
- Amin F.U., Shah S.A., Badshah H., Khan M., Kim M.O. 2017. Anthocyanins encapsulated by PLGA@PEG nanoparticles potentially improved its free radical scavenging capabilities via p38/JNK pathway against A β 1-42-induced oxidative stress. *Journal of Nanobiotechnology* 15(1), str. 1–16. DOI: [10.1186/s12951-016-0227-4](https://doi.org/10.1186/s12951-016-0227-4).
- An F.F., Zhang X.H. 2017. Strategies for preparing albumin-based nanoparticles for multifunctional bioimaging and drug delivery. *Theranostics* 7(15), str. 3667–3689. DOI: [10.7150/thno.19365](https://doi.org/10.7150/thno.19365).
- Arora S., Sharma D., Singh J. 2020. GLUT-1: An effective target to deliver brain-derived neurotrophic factor gene across the blood brain barrier. *ACS Chemical Neuroscience* 11(11), str. 1620–1633. DOI: [10.1021/acscchemneuro.0c00076](https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00076).

- Barbara R., Belletti D., Pederzoli F., Masoni M., Keller J., Ballestrazzi A., Vandelli M.A., Tosi G., Grabrucker A.M. 2017. Novel Curcumin loaded nanoparticles engineered for Blood-Brain Barrier crossing and able to disrupt Abeta aggregates. *International Journal of Pharmaceutic* 526(1–2), str. 413–424. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2017.05.015](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.05.015).
- Bartoszewska M. 2008. Molekularne mechanizmy choroby Alzheimerera. *Postępy biologii komórki* 35(3), str. 333–350.
- Baysal I., Ucar G., Gultekinoglu M., Ulubayram K., Yabanoglu-Ciftci S. 2017. Donepezil loaded PLGA-b-PEG nanoparticles: their ability to induce destabilization of amyloid fibrils and to cross blood brain barrier in vitro. *Journal of Neural Transmission* 124(1), str. 33–45. DOI: [10.1007/s00702-016-1527-4](https://doi.org/10.1007/s00702-016-1527-4).
- Benedict C., Hallschmid M., Hatke A., Schultes B., Fehm H.L., Born J., Kern W. 2004. Intranasal insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology* 29(10), str. 1326–1334. DOI: [10.1016/j.psyneuen.2004.04.003](https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.04.003).
- Berchtold N.C., Cotman C.W. 1998. Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-roman period to the 1960s. *Neurobiology of Aging* 19(3), str. 173–189.
- Briggs R., Kennelly S.P., O'Neill D. 2016. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clinical Medicine* 16(3), str. 247–253.
- Briuglia M.L., Rotella C., McFarlane A., Lamprou D.A. 2015. Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. *Drug Delivery and Translational Research* 5(3), str. 231–242. DOI: [10.1007/s13346-015-0220-8](https://doi.org/10.1007/s13346-015-0220-8).
- Brzezińska K. i Ziąja M. 2012. Struktura i funkcje bariery krew-mózg. *Postępy Biologii Komórki* 39(1), str. 84–99.
- Bulbake U., Doppalapudi S., Kommineni N., Khan W. 2017. Liposomal formulations in clinical use: An updated review. *Pharmaceutics* 9(2), str. 1–33. DOI: [10.3390/pharmaceutics9020012](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9020012).
- Ca L., Yang C., Jia W., Liu Y., Xie R., Lei T., Yang Z., He X., Tong R. i Gao H. 2020. Endo/lysosome-escapable delivery depot for improving BBB transcytosis and neuron targeted therapy of Alzheimer's disease. *Advanced Functional Materials* 30(27), nr artykułu 1909999. DOI: [10.1002/adfm.201909999](https://doi.org/10.1002/adfm.201909999).
- Cano A., Ettcheto M., Chang J. H., Barroso E., Espina M., Kühne B.A., Barenys M., Auladell C., Folch J., Souto E.B., Camins A., Turowski P., García M.L. 2019. Dual-drug loaded nanoparticles of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)/Ascorbic acid enhance therapeutic efficacy of EGCG in a APPswe/PS1dE9 Alzheimer's disease mice model. *Journal of Controlled Release* 301, str. 62–75. DOI: [10.1016/j.jconrel.2019.03.010](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.03.010).
- Carradori D., Balducci C., Re F., Brambilla D., Le Droumague B., Flore O., Gaudin A., Mura S., Forloni G., Ordoñez-Gutierrez L., Wandosell F., Masserini M., Couvreur P., Nicolas J., Andrieu K. 2018. Antibody-functionalized polymer nanoparticle leading to memory recovery in Alzheimer's disease-like transgenic mouse model. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 14(2), str. 609–618. DOI: [10.1016/j.nano.2017.12.006](https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.12.006).
- Crous-Bou M., Minguillón C., Gramunt N., Molinuevo J.L. 2017. Alzheimer's disease prevention: From risk factors to early intervention. *Alzheimer's Research and Therapy* 9(1), 71. DOI: [10.1186/s13195-017-0297-z](https://doi.org/10.1186/s13195-017-0297-z).
- Deb P.K., Al-Attraqchi O., Chandrasekaran B., Paradkar A., Tekade R.K. 2019. Protein/peptide drug delivery systems: Practical considerations in pharmaceutical product development. W: Tekade R.K. (red.) *Basic Fundamentals of Drug Delivery*, Cambridge, Academic Press. DOI: [10.1016/B978-0-12-817909-3.00016-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817909-3.00016-9).
- Degerman Gunnarsson M., Kilander L., Basun H., Lannfelt L. 2007. Reduction of phosphorylated tau during memantine treatment of Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 24(4), str. 247–252. DOI: [10.1159/000107099](https://doi.org/10.1159/000107099).
- Dudkowiec R., Grygla A., Poniewierka A., Poniewierka E. 2013. Rola wybranych czynników ryzyka w etiopatogenezie i przebiegu choroby Alzheimerera. *Aktualności Neurologiczne* 13(2), str. 109–118.
- Ewen S.T., Fauz A., Quan T.Y. 2021. A review on advances of treatment modalities for Alzheimer's disease. *Life Sciences* 276, nr artykułu 119129. DOI: [10.1016/j.lfs.2021.119129](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119129).
- Fan S., Zheng Y., Liu X., Fang W., Chena X., Liao W., Jing X., Lei M., Tao E., Ma Q., Zhang X., Guo R., Liu J. 2018. Curcumin-loaded PLGA-PEG nanoparticles conjugated with b6 peptide for potential use in Alzheimer's disease. *Drug Delivery* 25(1), str. 1044–1055. DOI: [10.1080/10717544.2018.1461955](https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1461955).
- Feng X., Chen A., Zhang Y., Wang J., Sha L., Wei L. 2015. Central nervous system toxicity of metallic nanoparticle. *International Journal of Nanomedicine*, 10, str. 4321–4340. DOI: [10.2147/IJN.S78308](https://doi.org/10.2147/IJN.S78308).

- Fernandes J., Ghate M.V., Basu Mallik S., Lewi S.A. 2018. Amino acid conjugated chitosan nanoparticles for the brain targeting of a model dipeptidyl peptidase-4 inhibitor. *International Journal of Pharmaceutic* 547(1–2), str. 563–571. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2018.06.031](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.031).
- Gao C., Chu X., Gong W., Zheng J., Xie X., Wang Y., Yang M., Li Z., Gao C., Yang Y. 2020. Neuron tau-targeting biomimetic nanoparticles for curcumin delivery to delay progression of Alzheimer's disease. *Journal of Nanobiotechnolog* 18(1), str. 1–23. DOI: [10.1186/s12951-020-00626-1](https://doi.org/10.1186/s12951-020-00626-1).
- Gao C., Wang Y., Sun J., Han Y., Gong W., Li Y., Feng Y., Wang H., Yang M., Li Z., Yang Y., Gao C. 2020. Neuronal mitochondria-targeted delivery of curcumin by biomimetic engineered nanosystems in Alzheimer's disease mice. *Acta Biomaterialia* 108, str. 285–299. DOI: [10.1016/j.actbio.2020.03.029](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.03.029).
- Gawel M., Potulska-Chromik A. 2015. Choroby neurodegeneracyjne: choroba Alzheimera i Parkinsona. *Postępy Nauk Medycznych* XXVIII(7), str. 468–476.
- Giacomeli R., de Gome M.G., Reolon J.B., Haas S.E., Colomé L.M., Jesse C.R. 2020. Chrysin loaded lipid-core nanocapsules ameliorates neurobehavioral alterations induced by β -amyloid1-42 in aged female mice. *Behavioural Brain Research* 390, nr artykułu 112696. DOI: [10.1016/j.bbr.2020.11269](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.11269).
- González-Domínguez R., García-Barrera T., Gómez-Ariza J.L. 2014. Homeostasis of metals in the progression of Alzheimer's disease. *BioMetals* 27(3), str. 539–549. DOI: [10.1007/s10534-014-9728-5](https://doi.org/10.1007/s10534-014-9728-5).
- Hardy J.A., Higgins G.A. 1992. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256(5054), str. 184–185. DOI: [10.1126/science.1566067](https://doi.org/10.1126/science.1566067).
- Hausz-Piskorz B., Buczkowska K. 2013. Diagnostyka i leczenie choroby Alzheimera w warunkach praktyki lekarza rodzinnego. *Forum Medycyny Rodzinne* 7(4), str. 198–207.
- Herrup K. 2015. The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis. *Nature Neuroscience* 18(6), str. 794–799. DOI: [10.1038/nn.4017](https://doi.org/10.1038/nn.4017).
- Heusinkveld H.J., Wahl T., Campbell A., Westerink R.H.S., Tra L., Johnston H., Stone .V, Cassee F.R., Schins R.P.F. 2016. Neurodegenerative and neurological disorders by small inhaled particles. *NeuroToxicology* 56, str. 94–106. DOI: [10.1016/j.neuro.2016.07.007](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.07.007).
- Hritcu L., Stefan M., Ursu L., Neagu A., Mihasan M., Tartau L., Melnig V. 2011. Exposure to silver nanoparticles induces oxidative stress and memory deficits in laboratory rats. *Central European Journal of Biology* 6(4), str. 497–509. DOI: [10.2478/s11535-011-0022-z](https://doi.org/10.2478/s11535-011-0022-z).
- Huang N., Lu S., Liu X.G., Zhu J., Wang Y.J., Liu R.T. 2017. PLGA nanoparticles modified with a BBB-penetrating peptide co-delivering A β generation inhibitor and curcumin attenuate memory deficits and neuropathology in Alzheimer's disease mice. *Oncotarget* 8(46), str. 81001–81013. DOI: [10.18632/oncotarget.20944](https://doi.org/10.18632/oncotarget.20944).
- Jeon Y.M., Park S.K., Lee M.Y. 2011. Toxicoproteomic identification of TiO₂ nanoparticle-induced protein expression changes in mouse brain. *Animal Cells and Systems* 15(2), str. 107–114. DOI: [10.1080/19768354.2011.555144](https://doi.org/10.1080/19768354.2011.555144).
- Jiang Z., Dong X., Yan X., Liu Y., Zhang L., Sun Y. 2018. Nanogels of dual inhibitor-modified hyaluronic acid function as a potent inhibitor of amyloid β -protein aggregation and cytotoxicity. *Scientific Reports* 8(1), str. 1–11. DOI: [10.1038/s41598-018-21933-6](https://doi.org/10.1038/s41598-018-21933-6).
- Khalsa D.S. 2015. Stress, meditation, and Alzheimer's disease prevention: Where the evidence stands. *Journal of Alzheimer's Disease* 48(1), str. 1–12. DOI: [10.3233/JAD-142766](https://doi.org/10.3233/JAD-142766).
- Kheradmand E., Hajizadeh Moghaddam A., Zare M. 2018. Neuroprotective effect of hesperetin and nano-hesperetin on recognition memory impairment and the elevated oxygen stress in rat model of Alzheimer's disease. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 97, str. 1096–1101. DOI: [10.1016/j.biopha.2017.11.047](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.047).
- Kim Y.S., Gulfam M., Lowe T.L. 2018. Thermoresponsive- co -biodegradable linear-dendritic nanoparticles for sustained release of nerve growth factor to promote neurite outgrowth. *Molecular Pharmaceutics* 15(4), str. 1467–1475. DOI: [10.1021/acs.molpharmaceut.7b0104](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b0104).
- Koper-Lenkiewicz O., Kamińska J., Lewoniewska S., Wilińska E. 2018. Rola bariery krew–płyn mózgowo-rdzeniowy i bariery krew–mózg w utrzymaniu homeostazy ośrodkowego układu nerwowego. *Polski Przegląd Neurologiczny* 14(4), str. 200–208.
- Kowalska A. 2009. Genetyka zespołów otępiennych. Część 4: spektrum mutacji odpowiedzialnych za rozwój rodzinnej autosomalnie dominującej postaci choroby Alzheimera. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 63, str. 583–591.

- Kube S., Hersch N., Naumovska E., Gensch T., Hendriks J., Franzen A., Landvogt L., Siebrasse J.P., Kubitscheck U., Hoffmann B., Merkel R., Csiszár A.C. 2017. Fusogenic liposomes as nanocarriers for the delivery of intracellular proteins. *Langmuir* 33(4), str. 1051–1059. DOI: [10.1021/acs.langmuir.6b04304](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b04304).
- Kuo Y.C., Chen C.L., Rajesh R. 2019. Optimized liposomes with transactivator of transcription peptide and anti-apoptotic drugs to target hippocampal neurons and prevent tau-hyperphosphorylated neurodegeneration. *Acta Biomaterialia* 87, str. 207–222. DOI: [10.1016/j.actbio.2019.01.065](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.01.065).
- Kuo Y.C., Lin C.Y., Li J.S., Lou YI 2017 Wheat germ agglutinin-conjugated liposomes incorporated with cardiolipin to improve neuronal survival in Alzheimer's disease treatment. *International Journal of Nanomedicine* 12, str. 1757–1774. DOI: [10.2147/IJN.S128396](https://doi.org/10.2147/IJN.S128396).
- Kuo Y.C., Lou Y.I., Rajesh R. 2020. Dual functional liposomes carrying antioxidants against tau hyperphosphorylation and apoptosis of neurons. *Journal of Drug Targeting* 28(9), str. 949–960. DOI: [10.1080/1061186X.2020.1761819](https://doi.org/10.1080/1061186X.2020.1761819).
- Kuo Y.C., Rajesh R. 2017. Targeted delivery of rosmarinic acid across the blood–brain barrier for neuronal rescue using polyacrylamide-chitosan-poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles with surface cross-reacting material 197 and apolipoprotein E. *International Journal of Pharmaceutics* 528(1–2), str. 228–241. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2017.05.039](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.05.039).
- Kuo Y.C., Tsai H.C. 2018. Rosmarinic acid- and curcumin-loaded polyacrylamide-cardiolipin-poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles with conjugated 83-14 monoclonal antibody to protect β -amyloid-insulted neurons. *Materials Science and Engineering* 91, str. 445–457. DOI: [10.1016/j.msec.2018.05.062](https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.05.062).
- Lane C.A., Hardy J., Schott J.M. 2018. Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology* 25(1), str. 59–70. DOI: [10.1111/ene.13439](https://doi.org/10.1111/ene.13439).
- Liu H., Yu L., Dong X., Sun Y. 2017. Synergistic effects of negatively charged hydrophobic nanoparticles and (–)-epigallocatechin-3-gallate on inhibiting amyloid β -protein aggregation. *Journal of Colloid and Interface Science* 491, str. 305–312. DOI: [10.1016/j.jcis.2016.12.038](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.12.038).
- Loureiro J.A., Andrade S., Duarte A., Neves A.R., Queiroz J.F., Nunes C., Sevin E., Fenart L., Gosselet F., Coelho M.A.N., Pereira M.C., Latruffe N. 2017. Resveratrol and grape extract-loaded solid lipid nanoparticles for the treatment of Alzheimer's disease. *Molecules* 22(2), str. 1–16. DOI: [10.3390/molecules22020277](https://doi.org/10.3390/molecules22020277).
- Luo Q., Lin Y.X., Yang S.T.R., Wang Y., Qi G.B., Qiao Z.Y., Li B.N., Zhang K., Zhang J.P., Wang L., Wang H. 2018. A self-destructive nanosweeper that captures and clears amyloid β -peptides. *Nature Communications* 9(1), 1802. DOI: [10.1038/s41467-018-04255-z](https://doi.org/10.1038/s41467-018-04255-z).
- Mancini S., Balducci C., Micotti E., Tolomeo D., Forloni G., Masserini M., Re F. 2017. Multifunctional liposomes delay phenotype progression and prevent memory impairment in a presymptomatic stage mouse model of Alzheimer disease. *Journal of Controlled Release* 258, str. 121–129. DOI: [10.1016/j.jconrel.2017.05.013](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.05.013).
- Mantzavinos V., Alexiou A. 2017. Biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. *Current Alzheimer Research* 14(11), str. 1149–1154. DOI: [10.2174/1567205014666170203125942](https://doi.org/10.2174/1567205014666170203125942).
- McKenna S.P., Rouse M., Heaney A. i Hagell P. 2020. International development of the Alzheimer's patient partners life impact questionnaire (APPLIQUE). *American journal of Alzheimer's disease and other dementias* 35, str. 1–11. DOI: [10.1177/1533317520951690](https://doi.org/10.1177/1533317520951690).
- Mendes I.T., Ruela A.L.M., Carvalho F.C., Freitas J.T.J., Bonfilio R., Pereira G.R. 2019. Development and characterization of nanostructured lipid carrier-based gels for the transdermal delivery of donepezil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 177, str. 274–281. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2019.02.007](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.007).
- Meng Q., Wang A., Hua H., Jiang Y., Wang Y., Mu H., Wu Z., Sun K. 2018. Intranasal delivery of Huperzine A to the brain using lactoferrin-conjugated N-trimethylated chitosan surface-modified PLGA nanoparticles for treatment of Alzheimer's disease. *International Journal of Nanomedicine* 13, str. 705–718. DOI: [10.2147/IJN.S151474](https://doi.org/10.2147/IJN.S151474).
- Moreno L.C.G.E.I., Puerta E., Suárez-Santiago J.E., Santos-Magalhães N.S., Ramirez M.J., Irache J.M. 2017. Effect of the oral administration of nanoencapsulated quercetin on a mouse model of Alzheimer's disease. *International Journal of Pharmaceutics* 517(1–2), str. 50–57. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2016.11.061](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.11.061).
- Morsy A., Trippier P.C. 2019. Current and emerging pharmacological targets for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 72, str. 145–176. DOI: [10.3233/JAD-190744](https://doi.org/10.3233/JAD-190744).
- Mroczkowska E. 1999. Bariera krew–mózg. *Postępy Biologii Komórki* 26(3), str. 593–610.

- Naziroğlu M., Muhamad S., Pecze L. 2017. Nanoparticles as potential clinical therapeutic agents in Alzheimer's disease: focus on selenium nanoparticles. *Expert Review of Clinical Pharmacology* 10(7), str. 773–782. DOI: [10.1080/17512433.2017.1324781](https://doi.org/10.1080/17512433.2017.1324781).
- Newman M., Musgrave I.F., Lardelli M. 2007. Alzheimer disease: amyloidogenesis, the presenilins and animal models. *Biochimica et Biophysica Acta* 1772(3), str. 285–297. DOI: [10.1016/j.bbadis.2006.12.001](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.12.001).
- Papadia K., Giannou A.D., Markoutsas E., Bigot C., Vanhoute G., Mourtas S., Van der Linded A., Stathopoulos G.T., Antimisariis S.G. 2017. Multifunctional LUV liposomes decorated for BBB and amyloid targeting - B. In vivo brain targeting potential in wild-type and APP/PS1 mice. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 102, str. 180–187. DOI: [10.1016/j.ejps.2017.03.010](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.03.010).
- Par H., Oh J., Shim G., Cho B., Chang Y., Kim S., Baek S., Kim H., Shin J., Choi H., Yoo J., Junyeop K., Jun W., Lee M., Lengner C.J., Oh Y.K., Kim J. 2019. In vivo neuronal gene editing via CRISPR–Cas9 amphiphilic nanocomplexes alleviates deficits in mouse models of Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience* 22(4), str. 524–528. DOI: [10.1038/s41593-019-0352-0](https://doi.org/10.1038/s41593-019-0352-0).
- Park I.K., Lasiene J., Chou S.H., Horner P.J., Pun S.H. 2007. Neuron-specific delivery of nucleic acids mediated by Tet1-modified poly(ethylenimine). *Journal of Gene Medicine* 9(8), str. 691–702. DOI: [10.1002/jgm.1062](https://doi.org/10.1002/jgm.1062).
- Parveen A., Rizvi S.H.M., Sushma Mahdi F., Ahmad I., Singh S.T.R., Mahdi A.A. 2017. Intranasal exposure to silica nanoparticles induces alterations in pro-inflammatory environment of rat brain. *Toxicology and Industrial Health* 33(2), str. 119–132. DOI: [10.1177/0748233715602985](https://doi.org/10.1177/0748233715602985).
- Paszkiewicz-Mes E. 2013. Muzykoterapia jako metoda wspomagająca leczenie. *Hygeia Public Health* 48(2), str. 168–176.
- Phospholipid Nanosomes – CFN. 2018. Dostępne online: <https://aphios.com/technology/drug-delivery/cfn/> (dostęp: 6.07.2020).
- Picone P., Ditta L.A., Sabatino M.A., Militello V., San Biagio P.L., Di Giacinto M.L., Cristaldi L., Nuzzo D., Dispenza C., Giacomazza D., Di Carlo M. 2016. Ionizing radiation-engineered nanogels as insulin nanocarriers for the development of a new strategy for the treatment of Alzheimer's disease. *Biomaterials* 80, str. 179–194. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2015.11.057](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.11.057).
- Picone P., Sabatino M.A., Ditta L.A., Amato A., San Biagio P.L., Mulè F., Giacomazza D., Dispenza C., Di Carlo M. 2018. Nose-to-brain delivery of insulin enhanced by a nanogel carrier. *Journal of Controlled Release* 270, str. 23–36. DOI: [10.1016/j.jconrel.2017.11.040](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.11.040).
- Pietrzik C., Behl C. 2005. Concepts for the treatment of Alzheimer's disease: Molecular mechanisms and clinical application. *International Journal of Experimental Pathology* 86(3), str. 173–185. DOI: [10.1111/j.0959-9673.2005.00435.x](https://doi.org/10.1111/j.0959-9673.2005.00435.x).
- Rahman M.F., Wang J., Patterson T.A., Saini U.T., Robinso B.L., Newport G.D., Murdoc R.C., Schlager J.J., Hussai S.M., Ali S.F. 2009. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles. *Toxicology Letters* 187(1), str. 15–21. DOI: [10.1016/j.toxlet.2009.01.020](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.01.020).
- Rajput A., Bariya A., Allam A., Othman S., Butan S.B. 2018. In situ nanostructured hydrogel of resveratrol for brain targeting: in vitro-in vivo characterization. *Drug Delivery and Translational Research* 8(5), str. 1460–1470. DOI: [10.1007/s13346-018-0540-6](https://doi.org/10.1007/s13346-018-0540-6).
- Rassu G., Sodd E., Posadino A.M., Pintus G., Sarmento B., Giunchedi P., Gavini E. 2017. Nose-to-brain delivery of BACE1 siRNA loaded in solid lipid nanoparticles for Alzheimer's therapy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 152, str. 296–301. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2017.01.031](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.01.031).
- Rifaai R.A., Mokhmer S.A., Saber E.A., El-Aleem S.A.A., El-Tahawy N.F.G. 2020. Neuroprotective effect of quercetin nanoparticles: A possible prophylactic and therapeutic role in Alzheimer's disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 107, 101795. DOI: [10.1016/j.jchemneu.2020.101795](https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2020.101795).
- Rodrigues B.D.S., Kanekiyo T., Singh J. 2020. Nerve growth factor gene delivery across the blood-brain barrier to reduce beta amyloid accumulation in AD mice. *Molecular pharmaceutics* 17(6), str. 2054–2063. DOI: [10.1021/acs.molpharmaceut.0c00218](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00218).
- Rozpędek W., Pytel D., Diehl J.A., Majsterek I. 2019. Niskocząsteczkowe inhibitory szlaku adaptacyjnej odpowiedzi na stres zależnego od kinazy PERK jako nowatorska strategia terapeutyczna w leczeniu choroby Alzheimera. *Polski Merkurusz Lekarski* 46(271), str. 9–15.
- Saffari P.M., Aljjanpou S., Takzaree N., Sahebgharani M., Etemad-Moghadam S., Noorbakhsh F., Partoazar A. 2020. Metformin loaded phosphatidylserine nanoliposomes improve memory deficit and reduce

- neuroinflammation in streptozotocin-induced Alzheimer's disease model. *Life Sciences* 255, nr artykułu 117861. DOI: [10.1016/j.lfs.2020.117861](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117861).
- Samaridou E., Walgrave H., Salta E., Álvarez D.M., Castro-López V., Loza M., Alonso M.J. 2020. Nose-to-brain delivery of enveloped RNA – cell permeating peptide nanocomplexes for the treatment of neurodegenerative diseases. *Biomaterials* 230, nr artykułu 119657. DOI: [10.1016/j.biomaterials.2019.119657](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119657).
- Sánchez-López E., Ettcheto M., Egea M.A., Espina M., Calpena A.C., Folch J., Camins A., García M.L. 2017. New potential strategies for Alzheimer's disease prevention: pegylated biodegradable dexibuprofen nanospheres administration to APPswe/PS1dE. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 13(3), str. 1171–1182. DOI: [10.1016/j.nano.2016.12.003](https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.12.003).
- Sánchez-López E., Ettcheto M., Egea M.A., Espina M., Cano A., Calpena A.C., Camins A., Carmona N., Silva A.M., Souto E.B., García M.L. 2018. Memantine loaded PLGA PEGylated nanoparticles for Alzheimer's disease: In vitro and in vivo characterization. *Journal of Nanobiotechnology* 16(1), 32. DOI: [10.1186/s12951-018-0356-z](https://doi.org/10.1186/s12951-018-0356-z).
- Sathya S., Shanmuganathan B., Dev K.P. 2020. Deciphering the anti-apoptotic potential of α -bisabolol loaded solid lipid nanoparticles against A β induced neurotoxicity in Neuro-2a cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 190, nr artykułu 110948. DOI: [10.1016/j.colsurfb.2020.110948](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.110948).
- Shamarekh K.S., Ga H.A., Soliman M.E., Sasmour O.A. 2020. Development and evaluation of protamine-coated PLGA nanoparticles for nose-to-brain delivery of tacrine: In-vitro and in-vivo assessment. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 57, nr artykułu 101724. DOI: [10.1016/j.jddst.2020.101724](https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101724).
- Sharma G., Modgil A., Layek B., Arora K., Sun C., Law B., Singh J. 2013. Cell penetrating peptide tethered bi-ligand liposomes for delivery to brain in vivo: Biodistribution and transfection. *Journal of Controlled Release* 167(1), str. 1–10. DOI: [10.1016/j.jconrel.2013.01.016](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.01.016).
- Shinohara N., Oshima Y., Kobayashi T., Imatanaka N., Nakai M., Ichinose T., Sasaki T., Kawaguchi K., Zhang G., Gamo M. 2015. Pulmonary clearance kinetics and extrapulmonary translocation of seven titanium dioxide nano- and submicron materials following intratracheal administration in rats. *Nanotoxicology* 9(8), str. 1050–1058. DOI: [10.3109/17435390.2015.1015644](https://doi.org/10.3109/17435390.2015.1015644).
- Silva-Abreu M., Espinoza L.C., Halbaut L., Espina M., García M.L., Calpena A.C. 2018. Comparative study of Ex Vivo transmucosal permeation of pioglitazone nanoparticles for the treatment of Alzheimer's disease. *Polymers* 10(3), nr artykułu 316. DOI: [10.3390/polym10030316](https://doi.org/10.3390/polym10030316).
- Siri M., Graselli M., Alonso S.V., 2020. Corellation between assembly structure of a gamma irradiated albumin nanoparticle and its function as a drug delivery system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 603, nr artykułu 125176. DOI: [10.1016/j.colsurfa.2020.125176](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125176).
- Sobów T., Nagata K., Sikorska B., Magierski R., Bratosiewicz-Wsik J., Jaskólski M., Liberski S.T.R. 2003. Choroba Alzheimera. *Aktualności neurologiczne* 3(2), str. 89–120.
- Song B., Zhang Y.L., Liu J., Feng X.L., Zhou T. i Shao L.Q. 2016. Is neurotoxicity of metallic nanoparticles the cascades of oxidative stress? *Nanoscale Research Letters* 11(1), nr artykułu 291. DOI: [10.1186/s11671-016-1508-4](https://doi.org/10.1186/s11671-016-1508-4).
- Struktura ludności i starzenie się społeczeństwa. 2019. *Struktura ludności i starzenie się społeczeństwa*. Dostępne online: <https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?oldid=510211> (dostęp: 6.07.2020).
- Study of APH-1105 in Patients With Mild to Moderate Alzheimer's Disease. 2021. Dostępne online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03806478> (dostęp: 6.07.2020).
- Szwed A., Miłowska K. 2012. Rola białek w chorobach neurodegeneracyjnych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 66, str. 187–195. DOI: [10.5604/17322693.991446](https://doi.org/10.5604/17322693.991446).
- Tęcza P., Żylińska L. 2019. Prewencyjne działanie kurkuminy i resweratrolu w chorobie Alzheimera. *Przegląd Lekarski* 73(5), str. 320–323.
- Vaz G.R., Hädrich G., Bidone J., Rodrigues J.L., Falkembach M.C., Putaux J.L., Hort M.A., Monserrat J.M., Varela Junior A.S., Teixeira H.F., Muccillo-Baisch A.L., Horn A.P., Dora C.L. 2017. Development of nasal lipid nanocarriers containing curcumin for brain targeting. *Journal of Alzheimer's Disease* 59(3), str. 961–974. DOI: [10.3233/JAD-160355](https://doi.org/10.3233/JAD-160355).
- Vedagiri A., Thangarajan S. 2016. Mitigating effect of chrysin loaded solid lipid nanoparticles against Amyloid β 25–35 induced oxidative stress in rat hippocampal region: An efficient formulation approach for Alzheimer's disease. *Neuropeptides* 58, str. 111–125. DOI: [10.1016/j.npep.2016.03.002](https://doi.org/10.1016/j.npep.2016.03.002).

- Wang H., Sui H., Zheng Y., Jiang Y., Shi Y., Liang J., Zhao L. 2019. Curcumin-primed exosomes potentially ameliorate cognitive function in AD mice by inhibiting hyperphosphorylation of the Tau protein through the AKT/GSK-3 β pathway. *Nanoscale* 11(15), str. 7481–7496. DOI: [10.1039/c9nr01255a](https://doi.org/10.1039/c9nr01255a).
- Wang J., Rahman M.F., Duhart H.M., Newport G.D., Patterson T.A., Murdock R.C., Hussain S.M., Schlager J.J., Ali S.F. 2009. Expression changes of dopaminergic system-related genes in PC12 cells induced by manganese, silver, or copper nanoparticles. *NeuroToxicology* 30(6), str. 926–933. DOI: [10.1016/j.neuro.2009.09.005](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2009.09.005).
- Wichur T., Malawska B. 2015. Ligandy wielofunkcyjne: nowa strategia poszukiwania leku w terapii chorób o złożonej etiologii. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 69, str. 1423–1434.
- Więdołcha M., Stańczykiewicz B., Jakubik M., Rymaszewska J. 2012. Wybrane mysie modele oparte na mutacji genów APP, MAPT oraz presenilin wykorzystywane w badaniach nad patogenezą choroby Alzheimera. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 66, str. 415–430. DOI: [10.5604/17322693.1001098](https://doi.org/10.5604/17322693.1001098).
- Wojtera M., Kłoszewska I., Sobów T., Liberski P. 2006. Immunologiczne aspekty choroby Alzheimera. *Aktualności Neurologiczne* 6(2), str. 108–115.
- Wong L.R., Ho P.C. 2018. Role of serum albumin as a nanoparticulate carrier for nose-to-brain delivery of R-flurbiprofen: implications for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 70(1), str. 59–69. DOI: [10.1111/jphp.12836](https://doi.org/10.1111/jphp.12836).
- Yang R., Zheng Y., Wang Q., Zhao L. 2018. Curcumin-loaded chitosan–bovine serum albumin nanoparticles potentially enhanced A β 42 phagocytosis and modulated macrophage polarization in Alzheimer's disease. *Nanoscale Research Letters* 13, nr artykułu 330. DOI: [10.1186/s11671-018-2759-z](https://doi.org/10.1186/s11671-018-2759-z).
- Zabłocka A. 2006. Choroba Alzheimera jako przykład schorzenia neurodegeneracyjnego. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 60, str. 209–216.
- Zellmer S., Cevc G. 1996. Tumor targeting in vivo by means of thermolabile fusogenic liposomes. *Journal of Drug Targeting* 4(1), str. 19–29. DOI: [10.3109/10611869609046257](https://doi.org/10.3109/10611869609046257).
- Zhang L., Liu X., Liu D., Yu X., Zhang L.X., Zhu J., Lu S., Liu R. 2020. A conditionally releasable “do not eat me” CD47 signal facilitates microglia-targeted drug delivery for the treatment of Alzheimer's disease. *Advanced Functional Materials* 30(24), str. 1–10. DOI: [10.1002/adfm.201910691](https://doi.org/10.1002/adfm.201910691).
- Zhang R., Niu Y., Li Y., Zhao C., Song B., Li Y., Zhou Y. 2010. Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 30(1), str. 52–60. DOI: [10.1016/j.etap.2010.03.015](https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.03.015).
- Zhang X., Wen J., Zhang Z. 2018. Statins use and risk of dementia: A dose–response meta analysis. *Medicine* 97(30), nr artykułu 11304. DOI: [10.1097/MD.0000000000011304](https://doi.org/10.1097/MD.0000000000011304).

UDRAŻNIANIE POINTUBACYJNYCH ZWĘŻEŃ TCHAWICY ZA POMOCĄ SAMOROZPRĘŻALNEGO STENTU

DILATATION OF POST-INTUBATION TRACHEAL STENOSIS USING SELF-EXPANDING STENTS

Joanna Lipińska*, Marcin Wawrzycki, Sławomir Jabłoński

Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej,
USK im. WAM-CSW w Łodzi
z.chir.s@skwam.lodz.pl

* joanna.zofia.lipinska@umed.lodz.pl, tel.: 504 478 118



Streszczenie: Często komplikacją przedłużonej intubacji są zwężenia tchawicy wymagające przewlekłej tracheostomii dla utrzymania wentylacji. Jedną z metod leczenia zwężeń tchawicy jest jej udrażnianie z wykorzystaniem różnych technik w tym implantacji stentów samorozprężalnych. Celem pracy jest przedstawienie własnej metody udrożnienia pointubacyjnego zwężenia tchawicy z powodu zamknięcia podgłośniowego u pacjentów z tracheostomią. Do utrzymania drożności tchawicy wykorzystano samorozprężalny stent nitinolowy, który implantowano pod kontrolą bronchofiberoskopii z dwóch dostępów – przezgłośniowego i przez tracheostomię. Dotychczasowe kilkuletnie doświadczenie autorów wskazuje, że pacjenci odzyskują możliwość prawidłowego oddychania fizjologicznego, zdolność mówienia oraz likwidację tracheostomii, co znacznie poprawia jakość ich życia. Aplikacja stentu pod kontrolą bronchofiberoskopową wydaje się wystarczającą i bezpieczną oraz mniej inwazyjną metodą niż bronchoskopia sztywna podczas implantacji stentu do tchawicy. U części pacjentów po usunięciu stentu dochodzi jednak do nawrotu zwężenia, co skutkuje ostatecznie koniecznością wykonania odcinkowej resekcji tchawicy. Wówczas implantacja stentu umożliwia prawidłowe oddychanie chorego w okresie przygotowania do zabiegu.

Słowa kluczowe: pointubacyjne zwężenie tchawicy, stent dotchawiczy, bronchofiberoskopia interwencyjna

Abstract: Tracheal stenosis is a frequent complication of prolonged intubation. It may require chronic tracheostomy in order to maintain correct ventilation. One of the methods of treatment of tracheal stenosis is its dilatation with use of different techniques including implantation of self-expandable stents. The aim of this study is to present authors' own method of subglottic post-intubation stenosis dilatation in a patient with tracheostomy. In order to maintain tracheal patency a self-expandable nitinol stent was used. It was implanted under bronchoscopic control from two accesses – transglottic and through tracheostomy. Previous authors' experience indicates that patients regain possibility to breathe normally, to speak and to remove tracheostomy which significantly improve their quality of life. Application of stent under bronchofiberscopic control seems to be sufficient and safe as well as less invasive than rigid bronchoscopy. In about half of patients after removal of tracheal stent stenosis recurs which requires eventually tracheal resection. At the time stent implantation allows correct breathing in pre-operative period.

Keywords: post-intubation tracheal stenosis, tracheal stent, interventional bronchofiberscopy

Wprowadzenie

Jednym z poważnych powikłań przedłużonej, czyli trwającej powyżej 7 dni intubacji są zwężenia tchawicy. Ocenia się, że występują one u ok. 1–11% pacjentów długotrwanie intubowanych (Drobnik i in., 2009). Do zwężeń tych dochodzi w wyniku powstawania ziarnin i mikrourazów w miejscu ucisku rurki intubacyjnej na ścianę tchawicy, co prowadzi do jej martwicy, a w konsekwencji do nadżerek gojących się przez ziarninowanie. Zwężenia takie mogą częściowo lub całkowicie zamykać światło tchawicy, co powoduje konieczność wykonania tracheostomii poniżej poziomu zwężenia. Do innych powikłań przewlekłej intubacji zalicza się m.in. malację tchawicy, krwiaki ściany tchawicy, obrzęk fałdów głosowych powodujący zmianę głosu i duszność, porażenie fałdów głosowych, zachłystywanie, przetokę tchawiczo-przełykową (Gronkiewicz i in., 2015). Najczęstszym objawem zwężenia tchawicy jest duszność, poza nią występują również suchy kaszel i utrudnione odkrztuszanie wydzieliny z drzewa oskrzelowego (Sajal i in., 2008; Bacon i in., 2014). Złotym standardem w diagnostyce zwężeń tchawicy pozostaje od wielu lat laryngotracheobronchoskopia. Do oceny lokalizacji i rozmiarów zwężeń tchawicy niezbędne jest wykonanie CT klatki piersiowej i/lub szyi (Caretta i in., 2006). Metody leczenia zwężeń tchawicy zależą przede wszystkim od ich etiologii i lokalizacji. Wykorzystuje się w tym celu endoskopowe poszerzanie tchawicy za pomocą bimeru argonowego lub lasera, poszerzanie mechaniczne balonem, odcinkowe resekcje tchawicy z zespoleniem koniec do końca oraz podawanie miejscowe mitomycyny C. Jedną z nowszych, coraz częściej stosowanych metod jest także skojarzenie udroźnienia z implantacją stentów dotchawicznych (Kuźdzał, 2014; Wong i in., 2010).

1. Materiały i metody

W celu oceny przydatności implantacji stentów samorozprężalnych w leczeniu pointubacyjnych zwężeń tchawicy przeprowadzono retrospektywną analizę dokumentacji medycznej pacjentów w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej USK im. WAM w Łodzi w latach 2016–2021 r., hospitalizowanych z powodu zwężeń tchawicy celem leczenia endoskopowego. Grupę badaną stanowiły łącznie 72 osoby, których dokumentacja była kompletna. Poza analizą zbiorczą wyników leczenia tych pacjentów w niniejszej pracy przedstawiono przypadek jednej z pierwszych chorych leczonych w naszej Klinice za pomocą implantacji stentu do tchawicy.

2. Wyniki

W latach 2016–2021 w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej USK im. WAM implantowano stenty tchawicze łącznie 72 pacjentom cierpiącym na zwężenie tchawicy. Większość pacjentów (50 osób) była hospitalizowana z powodu duszności w przebiegu choroby nowotworowej. Pozostałych 22 pacjentów zostało przyjętych do Kliniki z powodu zwężeń pointubacyjnych i potracheostomijnych. Wśród tych osób implantacja stentu była wystarczająca do udroźnienia tchawicy na stałe u 11 osób. Ci pacjenci poddawani byli usunięciu stentu po ok. 4–6 tygodniach oraz kolejnym kontrolnym bronchoskopiom co 4–6 tygodni. Jeśli po kilku kolejnych bronchoskopiach nie stwierdzano cech nawrotu zwężenia, leczenie uznawano za zakończone. U drugiej połowy pacjentów implantacja stentu okazała się niewystarczająca – po usunięciu stentu zwężenie nawracało i ostatecznie pacjenci ci byli poddani leczeniu operacyjnemu (resekcja odcinkowa tchawicy z zespoleniem koniec do końca).

W dniu 18.05.2017 r. do Kliniki Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej przyjęta została 44-letnia kobieta z tracheostomią i pointubacyjnym podgłośniowym zwężeniem tchawicy. Pacjentka była wcześniej hospitalizowana przez wiele tygodni w oddziale neurochirurgicznym z powodu krwiaka śródczaszkowego, który był następstwem urazu w wyniku pobicia. Krewiak odbarczono operacyjnie, po zabiegu pacjentka wymagała wentylacji wspomaganą, początkowo za pomocą rurki intubacyjnej, którą następnie zastąpiono tracheostomią. W dalszym

przebiegu leczenia doszło do jatrogennego zwężenia tchawicy spowodowanego ziarniną, która wyrosła ponad górnym brzegiem otworu tracheostomii. Zwężenie to powodowało znaczącą duszność spoczynkową i uniemożliwiało usunięcie tracheostomii. Kilukrotnie podejmowano próby dekaniulacji, kończyły się one jednak za każdym razem dusznością i spadkami saturacji niemożliwymi do złagodzenia leczeniem zachowawczym. W wykonanym CT szyi stwierdzono wtórne podgłośniowe zwężenie tchawicy (Ryc. 1). Chora przy przyjęciu do Kliniki znajdowała się w ograniczonym kontakcie logicznym, była labilna emocjonalnie, płacziwa, z powodu tracheostomii niemożliwy był kontakt słowny.



Rycina 1. Obraz zwężenia tchawicy w tomografii komputerowej przed zabiegiem.

W dniu 24.05.2017 r. wykonano bronchofiberoskopię, w trakcie której udrożniono zwężenie podgłośniowe poprzez usunięcie mechanicznie ziarniny całkowicie zamykającej światło tchawicy oraz założono samorozprężalną protezę do tchawicy. Zabieg odbywał się w znieczuleniu ogólnym, pacjentkę w trakcie procedury wentylowano przez rurkę tracheostomijną. Po znieczuleniu chorej przez jamę ustną do drzewa oskrzelowego wprowadzono bronchofiberoskop. W odległości około 3 cm od fałdów głosowych stwierdzono całkowite zarośnięcie tchawicy. Następnie przez otwór tracheostomijny wstecznie zrewidowano dystalny odcinek tchawicy. Od strony jamy ustnej przy użyciu bimeru argonowego APC częściowo wycięto ziarninę, a następnie zasondowano kanał w ziarninie miękkim liderem dla przeprowadzenia aplikatora stentu. W trakcie wykonywania podglądu od dołu przez tracheostomię potwierdzono położenie sondy w tchawicy poniżej zwężenia. Następnie pod kontrolą bronchofiberoskopu od strony jamy ustnej wprowadzono na aplikatorze stent, który przeszedł swobodnie do części tchawicy znajdującej się za zwężeniem. Po usunięciu rurki tracheostomijnej pod kontrolą wzroku w miejscu wcześniej ustalonym rozłożono nitynowy stent samorozprężalny, co pozwoliło uzyskać pełną drożność tchawicy. Kołnierz górny stentu ustawiono poniżej fałdów głosowych i umożliwiono ich prawidłową ruchomość. Wentylację pacjentki do momentu wybudzenia zabezpieczono za pomocą maski krtaniowej. Otwór tracheostomijny zamknięto opatrunkiem jałowym. Pacjentka zabieg zniosła dobrze. Po wybudzeniu wydolna oddechowo i krążeniowo została przekazana z bloku operacyjnego do oddziału.

Zabieg trwał 50 minut, wykorzystano podczas niego samorozprężalny powlekany silikonowym mikrofilmem stent Micro-Tech o średnicy 20 mm, którego długość (5 cm) oraz docelową średnicę wcześniej określono na podstawie CT szyi i klatki piersiowej pacjentki. Stent posiadał kołnierze zapobiegające migracji w drzewie oskrzelowym.

Od pierwszych godzin po zabiegu pacjentce podawano podskórnie morfinę w dawkach miareczkowanych oraz nawilżano intensywnie drogi oddechowe za pomocą 6-krotnie wykonywanych w ciągu dnia nebulizacji z wody destylowanej. W pierwszej dobie po zabiegu otrzymywała również

preparat Dexametazon. W drugiej dobie po zabiegu wykonano kontrolne CT klatki piersiowej (Ryc. 2) oraz bronchofiberoskopię, na podstawie których potwierdzono prawidłowe umiejscowienie i pełne rozprężenie stentu w tchawicy.



Rycina 2. Obraz udroźnionej tchawicy w tomografii komputerowej po zabiegu.

Po 7 dniach od zabiegu przeprowadzono konsultację laryngologiczną, podczas której oceniono wentylację drogą fizjologiczną jako swobodą i prawidłową. W dalszym okresie pooperacyjnym rozpoczęło się zamykanie otworu tracheostomijnego drogą ziarninowania, bez nacieku zapalnego, nie stwierdzono wskazań do zakładania szwów skórnych. Pacjentce zalecono ćwiczenia fonacji, dzięki którym odzyskała głos. Dzięki swobodnej komunikacji słownej i zniknięciu duszności jej stan psychiczny uległ znacznej poprawie. W 12. dobie po zabiegu pacjentka została wypisana z Kliniki i przeniesiona do Zakładu Opieki Leczniczej celem dalszej rehabilitacji. Pacjentkę ponownie przyjęto do Kliniki w trybie planowym po 2 miesiącach od zabiegu celem kontrolnej bronchofiberoskopii. Podczas badania stwierdzono pełną ruchomość fałdów głosowych. Około 1 cm poniżej fałdów głosowych uwidoczniło się w pełni rozprężoną protezę szynującą ścianę drożnej tchawicy. Podjęto decyzję o nieusuwaniu stentu ze względu na ryzyko ponownego zamknięcia światła tchawicy. Pacjentka, w okresie obserwacji wynoszącym 4 miesiące, pozostaje pod okresową kontrolą torakochirurgiczną, nie zgłasza pogorszenia funkcji oddychania, przechodzi w dalszym ciągu rehabilitację krtani związaną z niedowładami uniemożliwiającymi samodzielne funkcjonowanie, zaplanowano u niej na najbliższe miesiące operację rekonstrukcji pokrywy czaszki.

3. Dyskusja

Zwężenia tchawicy stanowią grupę niejednorodną pod względem etiopatogenezy, lokalizacji i natężenia objawów. Mogą one mieć charakter idiopatyczny, pourazowy, jatrogenny lub wtórny do chorób toczących się w obrębie tchawicy lub narządów w jej okolicy. Wśród najczęstszych przyczyn jatrogennych wymienia się przede wszystkim przewlekłą intubację, ale także tracheotomię, radioterapię czy leczenie operacyjne krtani [8]. Dużą grupę chorób powodujących zwężenia tchawicy stanowią choroby nowotworowe. Zwężenia w tej grupie mogą być spowodowane przerastaniem mas guza od światła oskrzeli i tchawicy lub uciskiem przez guz z zewnątrz. Najczęstszymi nowotworami powodującymi zwężenie tchawicy są: rak płuca, krtani, przełyku, tarczycy (Kowalewski, 2007). Kolejną grupę etiologiczną zwężeń stanowią choroby łagodne i autoimmunologiczne tchawicy, w tym m.in. sarkoidoza, amyloidoza, ziarniniak Wegenera, guzy łagodne tchawicy, gruźlica (Wierzbicka i in., 2010).

W literaturze odnaleźć można wiele klasyfikacji zwężeń tchawicy służących do oceny zaawansowania choroby i wyboru właściwego sposobu jej leczenia. Jedną z najczęściej wykorzystywanych jest 4-stopniowy system Cottona, według którego I stopień oznacza zwężenie < 50% światła tchawicy, II stopień – 50–70%, III stopień – 71–99%, a IV stopień odpowiada całkowitemu zamknięciu tchawicy (Cotton, 2000). Ze względu na lokalizację zwężenia można podzielić na izolowane: głośniowe, przedgłośniowe i tchawicze lub zwężenia skojarzone – obejmujące 2 lub wszystkie 3 wymienione przedziały. W zależności od okolicy, w której występuje zwężenie, różne są możliwości jego leczenia, w tym kwalifikacja do odcinkowej resekcji tchawicy. Skalą stosowaną do oceny możliwości rekonstrukcji tchawicy w zwężeniach idiopatycznych jest klasyfikacja Grillo. Zgodnie z nią dzieli się zwężenia na: ograniczone do górnego odcinka tchawicy (A), obejmujące okolicę podgłośniową z wolnym marginesem zdrowej tkanki pod fałdami głosowymi (B) i dochodzące do fałdów głosowych (C). W tym ostatnim przypadku chory dyskwalifikowany jest z resekcji tchawicy ze względu na brak możliwości wykonania zespolenia (Grillo i in., 2003). Wreszcie do oceny zaawansowania zwężenia tchawicy wykorzystuje się również 5-stopniową skalę MRC (ang. Medical Research Council Dyspnoe Scale) określającą nasilenie duszności w przebiegu choroby. Stopień 1 odpowiada tu duszności przy intensywnych ćwiczeniach, a stopień 5 przypisany jest do duszności uniemożliwiającej codzienne samodzielne funkcjonowanie, w tym ubieranie się czy mycie. Zaleca się, by skala ta była stosowana do przewlekłego monitorowania pacjentów, również w okresie po operacji resekcji częściowej tchawicy z powodu jej zwężenia (Nouarei i in., 2008).

Przez wiele lat za jedyny skuteczny sposób leczenia zwężeń pointubacyjnych uznawano odcinkową resekcję tchawicy z zespoleniem koniec do końca lub wyłonienie stałej tracheostomii. Dziś jednak, w związku z rozwojem metod endoskopowych poszerzania światła tchawicy, uznaje się leczenie chirurgiczne za wskazane przy braku skuteczności leczenia endoskopowego (Melkane i in., 2010) oraz u pacjentów ze zwężeniami o długości powyżej 3 cm, przy czym maksymalna długość resekowanego odcinka tchawicy nie powinna przekraczać 6,5 cm (Grillo i in., 2003). W literaturze pojawiają się też pojedyncze doniesienia o przeszczepie allogenicznym tchawicy zakończonych sukcesem. Wśród metod poszerzania tchawicy pod kontrolą bronchoskopu najczęściej stosowane jest usuwanie ziarniny za pomocą CO₂- lub Nd:YAG lasera oraz bimera argonowego APC. Jest to również często pierwszy krok do implantacji protez lub stentów dotchawicznych. W literaturze można znaleźć doniesienia o stosowaniu w pointubacyjnych zwężeniach tchawicy zarówno stentów silikonowych, jak i samorozprężalnych, a także rurek „T” (Dass i in., 2014; Chung i in., 2011).

Stenty samorozprężalne stosowane są nie tylko w zwężeniach pointubacyjnych, ale także do zabezpieczania przetok tchawiczo-przełykowych, oskrzelowo-opłucnowych (stenty powlekanie), do udrażniania zwężeń nowotworowych. Są one wykonane z pojedynczej nici nitinolowej (mieszanina tytanu i niklu) splecionej tak, by zminimalizować ryzyko złamania protezy, przy czym brzegi protezy są wyprofilowane w taki sposób, by nie traumatyzować ściany tchawicy. Nitinol charakteryzuje się dużą wytrzymałością i pamięcią termiczną kształtu, dzięki której pod wpływem temperatury ciała człowieka po uwolnieniu z cienkiej prowadnicy rozpręża się do wcześniej zaplanowanych rozmiarów mimo konieczności pokonania oporu uciskanej w ten sposób ziarniny lub masy guzowatej. Stent wyposażony jest w marker widoczny podczas rentgenoskopii, dzięki czemu możliwe jest jego właściwe pozycjonowanie, o ile stent zakładany jest za pomocą sztywnego bronchoskopu i wymaga śródoperacyjnej skopii RTG. Dostępne są wersje stentu niepowlekanie, powlekanie częściowo i całkowicie, proste, typu „Y” i „J” (Micro-Tech, 2017).

Zgodnie z dotychczasowymi wskazaniami pointubacyjna niedrożność tchawicy jest wskazaniem do implantacji stentu samorozprężalnego tylko wtedy, gdy pacjent nie może być poddany operacji (nie wyraża na nią zgody, nie może być poddany znieczuleniu ogólnemu ze względu na poważne obciążenia) lub zwężenie zlokalizowane jest w okolicy podgłośniowej i nie ma możliwości zespolenia tchawicy po jest częściowej resekcji (Chung i in., 2011). Wydaje się, że takie stanowisko we współczesnych czasach wymaga rewizji.

Przewaga samorozprężalnych stentów nad innymi metodami leczenia polega na tym, że ich aplikacja jest stosunkowo prosta, może być przeprowadzona w znieczuleniu miejscowym, stenty dopasowują się do kształtu poszerzanego odcinka tchawicy, są dobrze tolerowane przez pacjentów,

którzy odczuwają poprawę w oddychaniu tuż po implantacji (Kaczmarek, 2021). Wadą stentów powlekanych jest zahamowanie przez nie ruchu rzęsek nabłonka, przez co znacznie utrudnione jest usuwanie z dróg oddechowych wydzieliny śluzowej. Dlatego w pierwszych dobach po zabiegu niezbędne jest stałe nawilżanie dróg oddechowych za pomocą nebulizacji, w razie potrzeby wykonywanie powtarzanych bronchofiberoskopii z bronchoaspiracją.

Tradycyjną metodą implantacji stentów samorozprężalnych jest zakładanie ich przy pomocy sztywnego bronchoskopu, pod kontrolą rentgenoskopii śródoperacyjnej celem kontroli pozycji stentu. Pojawiają się również doniesienia o wprowadzaniu tych stentów pod kontrolą bronchofiberoskopu. Do najczęstszych powikłań protezowania drzewa oddechowego stentami samorozprężalnymi zaliczają się: tworzenie się ziarniny na końcach protezy, migracja protezy, jej rozerwanie lub uszkodzenie tchawicy podczas usuwania stentu czy jego złamanie (Chung i in., 2011). W literaturze wciąż nie można znaleźć jednoznacznych informacji dotyczących wskazań i przeciwwskazań do usuwania protez samorozprężalnych zarówno w zwężeniach pointubacyjnych, jak i w tych o innej etiologii. Wydaje się, że jeśli założenie protezy jest leczeniem paliatywnym i przewidywana długość życia nie przekracza kilku miesięcy, nie ma potrzeby usunięcia implantu. W innych przypadkach jednak doniesienia dotyczące usuwania stentów samorozprężalnych są sprzeczne. Niektórzy autorzy podają, że metalowe stenty samorozprężalne są nieusuwalne i niemożliwe jest ich przesuwanie (Lund i in., 2007; Wood i in., 2003), co – jak wynika z doświadczeń własnych autorów tej pracy – nie potwierdza się w praktyce.

Wnioski

Wydaje się, że udrożnienie pointubacyjnego zwężenia tchawicy skojarzone z aplikacją samorozprężalnych stentów jest atrakcyjną alternatywą dla operacyjnego leczenia wybranych przypadków stenozy tchawicy. Nasze doświadczenia wykazały możliwość implantacji takiego stentu tylko pod kontrolą bronchofiberoskopu zamiast klasycznej metody wymagającej sztywnej bronchoskopii z radiologiczną kontrolą właściwego położenia stentu. Ocena zalet i wad leczenia tą metodą wymaga jednak zebrania znacznie obszerniejszego materiału badawczego, w tym określenia czasu utrzymywania stentu w tchawicy oraz ewentualnej konieczności jej wymiany na inną po pewnym czasie.

Bibliografia

- Bacon J.L., Patterson C.M., Madden B.P. 2014. Indications and interventional options for non-resectable tracheal stenosis. *Journal of Thoracic Disease* 6(3), str. 258–270. DOI: [10.3978/j.issn.2072-1439.2013.11.08](https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.11.08).
- Carretta A., Melloni G., Ciriaco P., Libretti L., Casiraghi M., Bandiera A., Zannini P. 2006. Preoperative assessment in patients with postintubation tracheal stenosis: Rigid and flexible bronchoscopy versus spiral CT scan with multiplanar reconstructions. *Surgical Endoscopy And Other Interventional Techniques* 20(6), str. 905–908. DOI: [10.1007/s00464-005-0475-0](https://doi.org/10.1007/s00464-005-0475-0).
- Chung F.T., Chen H.Ch., Chou Ch.L., You Ch.T., Kuo Ch.H., Kuo H.P., Lin S.M. 2011. An outcome analysis of self-expandable metallic stents in central airway obstruction: a cohort study. *Journal of Cardiothoracic Surgery* 6, str. 1–8 DOI: [10.1186/1749-8090-6-46](https://doi.org/10.1186/1749-8090-6-46).
- Cotton R.T. 2000. Management of subglottic stenosis. *Otolaryngologic Clinics of North America* 33(1), str. 111–130. DOI: [10.1016/s0030-6665\(05\)70210-3](https://doi.org/10.1016/s0030-6665(05)70210-3).
- Dass A., Nagarkar N.M. 2014. Tracheal T-Tube Stent for Laryngotracheal Stenosis: Ten Year Experience. *Iranian Journal of Otorhinolaryngology* 26(74), str. 37–42.
- Drobnik L., Węgorzek M. 2009. Patofizjologia i profilaktyka zwężeń krtaniowo-tchawicznych. *Postępy w chirurgii głowy i szyi* 2, str. 23–9.
- Grillo H.C., Mathisen D.J., Ashiku S.K., Wright C.D., Wain J.C. 2003. Successful treatment of idiopathic laryngotracheal stenosis by resection and primary anastomosis. *The Annals of Otolaryngology, Rhinology and Laryngology* 112(9), str. 798–800. DOI: [10.1177/000348940311200909](https://doi.org/10.1177/000348940311200909).
- Gronkiewicz Z., Wójtowicz P. 2015. Przedłużona intubacja i tracheotomia w etiologii zwężeń krtani i tchawicy. *Otarynolaryngologia* 14(3), str. 117–126.

- Kaczmarek M., Tyrlik-Held J., Paszenda Z., Marciniak J. 2003. Charakterystyka stentów w aspekcie aplikacyjnym i materiałowym. 12th International Scientific Conference Achievements in Mechanical & Materials Engineering. Dostępne online: http://jamme.acmsse.h2.pl/papers_amme03/1289.pdf (dostęp: 23.06.2021).
- Kowalewski J. 2007. Postępy w torakochirurgii paliatywnej. *Medycyna Paliatywna w Praktyce* 1(1), str. 24–29.
- Lorenz R.R. 2003. Adult laryngotracheal stenosis: etiology and surgical management. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery* 11, str. 467–472. DOI: [10.1097/00020840-200312000-00011](https://doi.org/10.1097/00020840-200312000-00011).
- Lund M.E., Garland R., Armin E. 2007. Airway stenting: Applications and practice management considerations. *Chest* 131, str. 579–587. DOI [10.1378/chest.06-0766](https://doi.org/10.1378/chest.06-0766).
- Melkane A.E., Matar N.E., Haddad A.C., Nassar M.N., Almoutran H.G., Rohayem Z., Daher M., Chalouhy G., Dabar G. 2010. Management of Postintubation Tracheal Stenosis. *Respiration* 79, str. 395–401. DOI: [10.1159/000279225](https://doi.org/10.1159/000279225).
- Nouraei S.A., Nouraei S.M., Randhawa P.S., Butler C.R., Magill J.C., Howard D.J., Sandhu G.S. 2008. Sensitivity and responsiveness of the Medical Research Council dyspnea scale to the presence and treatment of adult laryngotracheal stenosis. *Clinical Otolaryngology* 33(6), str. 575–580. DOI: [10.1111/j.1749-4486.2008.01832.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-4486.2008.01832.x).
- Quality Accessories For Therapeutic Endoscopy. Dostęp online: http://www.micro-tech-europe.com/uploads/tx_mtedownloads/MT_Katalog_Tracheal_Stents_GB.pdf (dostęp: 20.08.2017).
- Sajal D., Sarmishtha D. 2008. Post Intubation Tracheal Stenosis. *Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine* 12(4), str. 194–197. DOI: [10.4103/0972-5229.45081](https://doi.org/10.4103/0972-5229.45081).
- Wierzbicka M., Szyfter W., Pastusiak T., Popko M. 2010. Co anestezyjolog powinien wiedzieć o zwężeniach krtańniowo-tchawiczych? *Anestezjologia i Ratownictwo* 4, str. 99–110.
- Wong J.L., Tie S.T., Samril B., Lum Ch.L., Rahman M.R.A., Rahman J.A.A. 2010. Successful treatment of tracheal stenosis by rigid bronchoscopy and topical mitomycin C: A case report. *Cases Journal* 3(2), str. 1–4. DOI: [10.1186/1757-1626-3-2](https://doi.org/10.1186/1757-1626-3-2).
- Wood D.E., Liu Y.H., Vallieres E., Karmy-Jones R., Mulligan M.S. 2003. Airway Stenting for Malignant and Benign Tracheobronchial Stenosis. *The Annals of Thoracic Surgery* 76, str. 167–174. DOI: [10.1016/s0003-4975\(03\)00033-x](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(03)00033-x).
- Zannini P. 2014. Non-neoplastic tracheal stenosis. W: Kuźdżał J. (red.) *ESTS Textbook of Thoracic Surgery*. Vol. 1, Wyd.1. Medycyna Praktyczna, Kraków, str. 342–346.

OCENA WPŁYWU PROGRAMU PROFILAKTYKI UNIWERSALNEJ „WIR” NA KOMPETENCJE PSYCHOSPOŁECZNE LIDERÓW MŁODZIEŻOWYCH ŁÓDZKICH SZKÓŁ PODSTAWOWYCH

ASSESSMENT OF THE IMPACT OF THE UNIVERSAL
PREVENTION PROGRAM WIR ON THE PSYCHOSOCIAL
COMPETENCES OF YOUTH LEADERS
OF PRIMARY SCHOOLS IN ŁÓDŹ

Beata Morawska-Józwiak^{1*} , Jarosław Rakoczy² ,
Jakub Kaźmierski³ , Magdalena Kostyła² 

¹ Stowarzyszenie Wspierania Rozwoju Dzieci i Młodzieży, Profilaktyczno-Rozwojowy
Ośrodek Młodzieży i Dzieci PROM; morawskabeata75@gmail.com

² Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Rehabilitacji Psychospołecznej;
magdalena.kostyla@umed.lodz.pl, jaroslaw.rakoczy@umed.lodz.pl

³ Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń
Psychotycznych, Katedra Gerontologii; jakub.kazmierski@umed.lodz.pl

* morawskabeata75@gmail.com, tel.: 602 863 519



Streszczenie: Warsztaty Integracji Rówieśniczej obejmują problematykę uzależnień chemicznych, behawioralnych oraz przemocy rówieśniczej. Ocena skuteczności oddziaływań programu jest próbą odpowiedzi na pytanie, jak efektywnie wspierać rozwój liderów młodzieżowych uczestniczących w programach profilaktyki uniwersalnej. W badaniu wzięło udział 100 liderów młodzieżowych z łódzkich szkół podstawowych, następnie opiekunowie rozdzielili uczniów do równolicznych grup: z interwencją oraz kontrolnej. W celu oceny wpływu aktywnego udziału w projekcie na poziom kompetencji psychospołecznych uczestników zastosowano następujące narzędzia badawcze: Kwestionariusz do Badania Poczucia Kontroli KBPK-R, Skalę Kompetencji Osobistych KompOs, Listę Wartości Osobistych LWO oraz Listę Kryteriów Zdrowia LKZ. Wyniki wskazują na istotny wzrost wartości „siły” (komponenta poczucia własnej skuteczności) oraz zmianę w zakresie hierarchii kryteriów zdrowia oraz symboli szczęścia i wartości osobistych w grupie z interwencją. Uzyskane wyniki analizowano w oparciu o założenia programu profilaktycznego WIR, wykorzystanego w warunkach szkolnych, uwzględniono etapy rozwojowe oraz aktualne zjawiska społeczno-kulturowe.

Słowa kluczowe: profilaktyka uniwersalna, umiejscowienie poczucia kontroli, poczucie własnej skuteczności, wartości osobiste, kryteria zdrowia

Abstract: The WIR program (Peer Integration Workshop) covers the issues of chemical and behavioral addictions as well as peer violence. The evaluation of the program's impact is an attempt to answer the question of how to effectively support the development of youth leaders participating in universal prevention programs. One hundred youth leaders from primary schools in Lodz participated in the study and were assigned to the group with WIR intervention and the control group. Each group consisted of 50 students. To assess the impact of active participation in the project on the level of psychosocial competences of the participants, the following research tools were used: the Locus of Control Questionnaire-Revised Version (KBPK-R), the Personal Competence Scale (KompOs), the Personal Values Schedule (LWO) and the Health Criteria List. The results show a significant increase in the value of "strength" (self-efficacy component) and a change in the hierarchy of health criteria and symbols of happiness and personal values in the group with the intervention. The obtained results were analyzed based on the presumptions of the WIR prevention program, applied in school conditions, taking into account the developmental stages of the participants and current socio-cultural phenomena.

Keywords: universal prevention, locus of control, self-efficacy, personal values, health criteria

Wprowadzenie

Analiza zjawisk korzystania z substancji psychoaktywnych, niekontrolowanego kontaktu z mediami wykorzystującymi Internet oraz stosowania agresji i przemocy w środowisku rówieśniczym wskazuje na nieustającą konieczność podejmowania wysiłków w kierunku modyfikacji oddziaływań i weryfikacji form wykorzystywanych w profilaktyce uniwersalnej (Gaś, 2005; Porzak, 2019; Szymańska, 2015). Ostatnie badania ESPAD (ang. European School Survey Project on Alcohol and Drugs) wskazują, że alkohol pozostaje najpowszechniej spożywaną substancją psychoaktywną wśród młodzieży (Sierosławski, 2019). Wprawdzie wskaźniki sięgania po alkohol oraz jego deklarowana dostępność wykazują tendencję spadkową, a w percepcji młodzieży pojawia się traktowanie picia alkoholu jako zachowania ryzykownego, to równocześnie towarzyszy temu liberalne podejście rodziców do picia alkoholu przez dzieci.

W zakresie kontaktu z technologiami opartymi na wykorzystaniu Internetu przekrojowa analiza problemu (Makaruk i in., 2019) pokazuje, że 11,9% badanej młodzieży korzysta z tego medium w sposób niosący szkodliwe konsekwencje zdrowotne i społeczne (kontakt z niebezpiecznymi treściami, podejmowanie zachowań autodestrukcyjnych, spadek motywacji do nauki). Odsetek problematycznych użytkowników Internetu (PUI) utrzymuje się na stałym poziomie, z istotną przewagą dziewcząt (Pyżalski i in., 2019). Jak wynika z raportu EU Kids Online 2018 (Pyżalski i in., 2019) towarzyszące PUI zjawisko cyberprzemocy szczególnie dotyka dzieci i nastolatków: co trzeci nastolatek spotkał się z mową nienawiści w Internecie, prawie co dziesiąty doświadczył jej osobiście. Osoby, w przypadku których korzystanie z Internetu powoduje problemy, częściej niż pozostałe doświadczyły wszystkich badanych form cyberprzemocy, 25,1% badanych doświadczyło ignorowania lub odtrącenia przez rówieśników, 19% – przemocy fizycznej, 16,8% było wyzywanych lub obrażanych (Makaruk i in., 2019).

Współczesna profilaktyka dostarcza przykładów oddziaływań, które prowadzą do dialogu i zaangażowania odbiorców (Michel, 2014). Prekursor takich metod, Zbigniew Gaś, wprowadził ideę „rówieśniczych doradców”, wyposażonych w określone cechy i prezentujących prozdrowotne postawy (Gaś, 1992). Strategia wdrażania profilaktyki uniwersalnej zakłada bazowanie na aktywności młodzieży realizującej styl życia wolny od używek, wykazującej gotowość do działań prospołecznych, podejmującej wyzwania związane z ekspozycją społeczną (Ostaszewski, 2010) oraz dostarczenie im wiedzy i umiejętności umożliwiających konstruktywne modelowanie oraz pełnienie roli doradców i łączników między rówieśnikami a kompetentnymi, zaangażowanymi dorosłymi (Antas-Jaszczuk, 2016; Łazuga-Koczurowska, 2018), mogącymi udzielić profesjonalnej pomocy (Gaś, 1995; Rajda-Marek, 2019). Oddziaływanie poprzez pozytywnych liderów, czyli tzw. edukacja rówieśnicza (Lemańczyk, 2019), bazuje na uniwersalnych mechanizmach grupowych, rolach charakterystycznych dla struktury grupy oraz założeniach teorii społecznego uczenia się (obserwacja zachowań ludzi, naśladownictwo). Atrakcyjny rówieśnik ma wyraźną siłę oddziaływania: modeluje oczekiwane postawy, osłabia błędne przekonania normatywne oraz neguje destrukcyjne normy. Inwestycja dorosłych polega na wzmocnieniu u liderów młodzieżowych atutów atrakcyjności, np. poprzez tworzenie warunków do bycia rozpoznawalnymi na terenie szkoły, ofertę treningów umiejętności społecznych oraz poprzez zapewnienie im wsparcia (Szymańska, 2015).

Warsztaty Integracji Rówieśniczej WIR to opracowany w 2016 roku projekt profilaktyczny realizowany przez zespół Profilaktyczno-Rozwojowego Ośrodka Młodzieży i Dzieci PROM w Łodzi, niepubliczną placówkę oświatowo-wychowawczą powołaną przez Stowarzyszenie Wspierania Rozwoju Dzieci i Młodzieży. Program bazuje na wieloletnich doświadczeniach realizacji programów profilaktyki uniwersalnej takich jak: Śnieżna Kula (Śnieżna kula, 1998), Razem (Skrzypczyk, 1999) oraz MOPR (Skrzypczyk, 2003; Poleszak, 2017). Scenariusze programu WIR zostały zmodyfikowane w 2019 roku i zawierają treści dotyczące uzależnień chemicznych i behawioralnych oraz zagadnień przemocy w środowisku szkolnym, w tym cyberprzemocy.

Projekt profilaktyczny był skierowany do uczniów 7 łódzkich szkół podstawowych i zawierał dwudniowe seminarium wyjazdowe, podczas którego młodzież uczestniczyła w wykładach angażujących ich w wymianę opinii, zadawanie pytań, dzielenie się doświadczeniami, obserwacjami

oraz uczestniczenie w inscenizacjach. Kolejnym elementem były warsztaty w kilkusobowych grupach tworzonych przez uczniów z poszczególnych szkół oraz zajęcia kooperacyjne dla całej międzyszkolnej społeczności liderkiej. Po powrocie z seminarium zadaniem grup liderkich była realizacja opracowanego podczas seminarium projektu profilaktycznego na rzecz społeczności szkolnej. Treści projektu młodzieżowego zależne były od kreatywności zespołu (m.in. warsztaty profilaktyczne, inscenizacje, opracowanie plakatów profilaktycznych czy profilaktycznych imprez szkolnych). Poprzez udział w programie młodzież była zaangażowana w kreowanie przekazu profilaktycznego, współpracę w grupie rówieśniczej wraz z opiekunem dorosłym. Treści seminarium były praktycznie wykorzystywane przez jego uczestników, natomiast odbiorcami projektu byli pozostali uczniowie każdej ze szkół, z uwzględnieniem kryterium wiekowego (dostosowanie treści i formy przekazu). W tym kontekście należy podkreślić, że młodzież z grupy kontrolnej w każdej ze szkół biorących udział w programie, została zapoznana (jako odbiorcy) z przekazem płynącym z realizowanych projektów profilaktycznych. W ramach projektu profilaktycznego WIR dostarczano informacji w zakresie zagrożeń związanych z kontaktem z substancjami psychoaktywnymi (uzależnienia chemiczne), realizowaniem zachowań nacechowanych agresją (przemoc), znaczeniem relacji bezpośrednich w stosunku do kontaktów on-line oraz uważliwiano i zachęcano młodzież do reagowania sprzeciwem wobec niekonstruktywnych zachowań napędzanych przekonaniem o anonimowości w sieci (uzależnienia behawioralne i cyberprzemoc).

Weryfikacja skuteczności oddziaływań programu Warsztaty Integracji Rówieśniczej WIR w zakresie poziomu kompetencji psychospołecznych polegała na przeprowadzeniu badania poprzedzającego realizację programu oraz badania w odstępie 11 miesięcy po realizacji programu i wdrożeniu młodzieżowych projektów profilaktycznych. Oba badania przeprowadzono w grupie młodzieży uczestniczącej w seminarium oraz grupie kontrolnej (młodzież, która nie brała udziału w programie). Liderzy młodzieżowi zostali wytypowani przez psychologów lub pedagogów szkolnych z grupy młodzieży przejawiającej predyspozycje psychospołeczne (realizującej zdrowy styl życia, aktywnej na rzecz społeczności szkolnej). Uwzględniono problematykę ujętą w programie i zastosowano narzędzia badające podejście młodzieży do zachowań bezpośrednio związanych ze zdrowiem (Lista Kryteriów Zdrowia LKZ) oraz wartości życiowych powiązanych z prozdrowotnym stylem życia (Lista Wartości Osobistych LWO). Istotnym elementem w kreowaniu liderów młodzieżowych jest wzmacnianie umiejętności samoregulacji (Kadzikowska-Wrzosek, 2010), której osią jest samokontrola oraz antycypacja skuteczności podejmowanego działania, stąd zastosowanie Kwestionariusza do Badania Poczucia Kontroli KBPK-R oraz Skali Kompetencji Osobistej KompOs. Wybór ten znajduje potwierdzenie w teoriach związanych z promocją zdrowia (Piotrowicz i Cianciara, 2011; Syrek, 2019) ukierunkowanych na modyfikację zachowań patogennych oraz rozwój kompetencji osobistych sprzyjających zdrowiu. Istotną rolę w modyfikacji zachowań pełnią oczekiwania związane ze skutecznością własnych działań oraz poczucie umiejscowienia kontroli (Juczyński, 1999). Zgodnie z tą koncepcją wywodzącą się z teorii społecznego uczenia się J. Rottera (Kościelak, 2010), człowiek zaspokaja swoje potrzeby poprzez zachowania instrumentalne, dostarczające wzmocnień. Atrybucja wzmocnień może mieć charakter wewnętrzny – gdy jednostka łączy je z własnymi cechami oraz działaniami, lub też zewnętrzny, interpretowany jako wpływ czynników niezależnych od niego. Ma to bezpośrednie przełożenie na procesy decyzyjne, podejmowanie inicjatywy i samodzielność.

Pojęcie poczucia własnej skuteczności, które wchodzi w skład kompetencji osobistych i odnosi się do wiary jednostki w jej zdolność do wykonania zadania lub osiągnięcia celu, zostało wprowadzone przez A. Bandurę (1977). W efekcie licznych badań zostało uznane jako wskaźnik korespondujący z procesami motywacyjnymi oraz zachowaniami o charakterze prozdrowotnym (Juczyński, 2000).

Przeprowadzone badania miały na celu weryfikację, czy i w jakim stopniu wprowadzenie procedury profilaktycznej wzmocni młodzież liderką w oczekiwanych wymiarach ich percepcji siebie (wewnętrzne poczucie kontroli, poczucie własnej skuteczności) oraz wartości i zachowań związanych ze zdrowiem.

1. Materiał i metody

W dniach 10–11 października 2019 roku zrealizowano seminarium wyjazdowe do programu WIR dla uczniów 7 łódzkich szkół podstawowych. Po powrocie z wyjazdu uczniowie przygotowywali opracowane wstępnie projekty profilaktyczne przeznaczone dla pozostałych uczniów społeczności szkolnej. Czas realizacji projektu określony był do końca pierwszego semestru z możliwością powtórnych realizacji.

Uczniowie do obu grup zostali wytypowani przez psychologów lub pedagogów szkolnych (czyli dorosłego opiekuna programu WIR na terenie szkoły) na podstawie prezentowanego dotychczas zaangażowania w inicjatywy prospołeczne oraz ujawnianego prozdrowotnego stylu życia (głównie w zakresie rezygnacji z kontaktu ze środkami psychoaktywnymi, kontrolowania czasu spędzanego w wirtualnej rzeczywistości oraz eliminowania zachowań nacechowanych agresją). Badaniem przed rozpoczęciem programu objęto 100 uczniów: 50 osób z grupy z interwencją WIR oraz 50 osób z grupy kontrolnej. Według założeń projektu pierwsze badanie zostało przeprowadzone bezpośrednio przed rozpoczęciem programu (jeszcze przed rozdzieleniem młodzieży do obu grup), natomiast drugie planowano dokonać po upływie 6 miesięcy, co pozwalało na pełną realizację profilaktycznych projektów uczniowskich. Ze względu na zamknięcie szkół w okresie pandemii i przejście na nauczanie zdalne powtórne badanie możliwe było do przeprowadzenia dopiero po 11 miesiącach. Oba badania przeprowadzono na terenie szkoły w obecności opiekuna dorosłego (pracownika szkoły) oraz organizatora badań. Uzyskano niezbędne zgody opiekunów prawnych. W grupie z interwencją WIR były 32 dziewczynki oraz 18 chłopców, w grupie kontrolnej – 29 dziewcząt oraz 21 chłopców. Różnica w proporcji płci w porównywanych grupach nie była statystycznie istotna $\chi^2 = 0,3783$, $p = 0,538$. Wszyscy uczestnicy byli w wieku 13–15 lat.

W celu zebrania danych dotyczących umiejscowienia kontroli zastosowano Kwestionariusz do Badania Poczucia Kontroli – wersję zrewidowaną KBPK-R autorstwa G. Krasowicz-Kupis i A. Wojnarskiej (2017). W narzędziu wyodrębniono skale: Sukces (15 stwierdzeń o pozytywnym znaczeniu) i Porażka (10 stwierdzeń o negatywnym znaczeniu) oraz 13 stwierdzeń (o nazwie „Nieokreślone”) dotyczących ogólnych przekonań. Treść pozycji pozwala na zakwalifikowanie tych pozycji do czterech obszarów funkcjonowania: Szkoła (14 pozycji), Rodzice (9 pozycji), Koledzy (7 pozycji) oraz Niespecyficzne (9 pozycji). Wysoki wynik oznacza wewnętrzne poczucie kontroli, wynik niski – zewnętrzne poczucie kontroli, wynik przeciętny – nieustalone poczucie kontroli. Na podstawie polskich badań normalizacyjnych stwierdzono wysoką lub zadowalającą rzetelność kwestionariusza. Współczynnik alfa Cronbacha dla grupy wiekowej 13–15 lat (tożsamej z grupą badaną) wyniósł 0,81 dla wyniku ogólnego oraz 0,63 dla skali Sukces i 0,66 dla skali Porażka.

Skala Kompetencji Osobistej KompOs (Juczyński, 2009) mierzy uogólnione poczucie własnej skuteczności i jego dwa elementy: przekonanie o posiadaniu siły do podjęcia działania oraz wytrwałość niezbędną do kontynuowania działania (dwie podskale po 6 stwierdzeń). Im wyższy wynik, tym wyższe poczucie własnej skuteczności, siły i wytrwałości. Skala przeznaczona jest do badania młodzieży w wieku od 11 do 17 lat. Współczynnik zgodności wewnętrznej alfa Cronbacha dla całej skali wynosi 0,72, dla podskali Siły – 0,74, natomiast dla podskali Wytrwałości – 0,62.

Lista Wartości Osobistych (LWO) Z. Juczyńskiego (2009) to narzędzie umożliwiające śledzenie zmian w wartościowaniu zdrowia m.in. w wyniku edukacji, działań promocyjnych i profilaktycznych. Jest narzędziem do badania dzieci i młodzieży, ale może być także stosowane wobec osób dorosłych. W pierwszej części kwestionariusza opisanych jest 9 symboli szczęścia osobistego, spośród których badany wybiera pięć najistotniejszych dla siebie i porządkuje je hierarchicznie. W części drugiej znajduje się 10 kategorii wartości osobistych (w tym dobre zdrowie rozumiane jako sprawność fizyczna i psychiczna) – procedura badania jest analogiczna jak w przypadku symboli szczęścia. Rzetelność mierzona techniką test–retest wskazuje na zadowalającą stałość metody.

Na kolejną skalę autorstwa Z. Juczyńskiego – Listę Kryteriów Zdrowia (LKZ) wykorzystaną w badaniu – składają się 24 stwierdzenia odnoszące się do trzech wymiarów zdrowia: fizycznego, psychicznego i społecznego. Badany zaznacza, które kryteria mają jego zdaniem znaczenie dla zdrowia,

wybiera 5 najważniejszych i szereguje je zgodnie z kryterium ważności. LKZ można wykorzystywać do badania osób dorosłych i młodzieży w celu poznania sposobów ujmowania zdrowia przez ludzi, a także rodzaju działań i ukierunkowania w sytuacjach podejmowania decyzji dotyczących zdrowia. Współczynnik stałości na poziomie 0,68 (dwukrotne badanie w odstępie sześciu tygodni) uznaje się za zadowalający (Juczyński, 2009).

W celu sprawdzenia założenia dotyczącego normalności rozkładów zastosowano test Shapiro–Wilka. Istotność statystyczną proporcji kobiet i mężczyzn w porównywanych grupach sprawdzono przy pomocy testu χ^2 . W analizie statystycznej dotyczącej wyników KompOs (wynik ogólny oraz podskale Siła i Wytrwałość) zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji w układzie z powtarzanym pomiarem. W celu identyfikacji istotnych statystycznie różnic w analizowanych układach (testy post-hoc) zastosowano test NIR. W celu sprawdzenia istotności różnic w umiejscowieniu poczucia kontroli badanych przed udziałem w programie i po nim oraz zmian w zakresie kryteriów zdrowia i hierarchii wartości (skale LKZ oraz LWO) zastosowano test Wilcoxon dla par obserwacji – oddzielnie dla grupy biorącej udział w programie i grupy kontrolnej. Jako miary siły efektu zastosowano cząstkowe eta kwadrat (ANOVA) oraz r (test Wilcoxon).

2. Wyniki

2.1. Poczucie umiejscowienia kontroli

W celu sprawdzenia istotności różnic w umiejscowieniu poczucia kontroli badanych przed udziałem w programie WIR i po nim zastosowano test Wilcoxon dla par obserwacji. Wybór testu nieparametrycznego był podyktowany brakiem normalności rozkładów analizowanych zmiennych. Analizy przeprowadzono dla każdego z aspektów umiejscowienia kontroli, oddzielnie dla grupy biorącej udział w programie i grupy kontrolnej. Przeciętny wynik ogólny KBPK-R w grupie z interwencją (WIR) przed programem wynosił 31,5 (SD = 4,98), natomiast po udziale w programie – 32,6 (SD = 3,24). Różnica ta nie okazała się istotna statystycznie; $Z = 0,422$, $p = 0,673$. W grupie kontrolnej w preteście średni wynik wynosił 29 (SD = 4,69), natomiast w post-teście 28,9 (SD = 4,81). Uzyskane rezultaty nie pozwalają na potwierdzenie wpływu uczestnictwa w programie WIR na zmiany w zakresie lokalizacji poczucia kontroli; $Z = 0,181$, $p = 0,856$. Również żadna z różnic analizowanych w ramach podskal KBPK-R nie okazała się istotna statystycznie.

2.2. Poczucie własnej skuteczności

Po sprawdzeniu normalności rozkładu analizowanych zmiennych zbadano istotność różnic pomiędzy średnimi wynikami uzyskanymi w porównywanych grupach. Do tego celu zastosowano analizę wariancji w układzie z powtarzanym pomiarem. W grupie eksperymentalnej średni poziom ogólnego poczucia własnej skuteczności wynosił 37,30 (SD = 4,95) w momencie rozpoczęcia programu oraz 37,50 (SD = 4,57) w chwili jego zakończenia. W grupie kontrolnej natomiast średni poziom poczucia własnej skuteczności wynosił 35,50 (SD = 5,68) w momencie rozpoczęcia programu oraz 35,54 (SD = 6,05) w chwili jego zakończenia (Tabela 2). Różnice w wynikach ogólnego poczucia własnej skuteczności między grupą eksperymentalną oraz grupą kontrolną przed realizacją programu i po niej nie okazały się istotne statystycznie; $F(1,84) = 0,957$, $p = 0,33$. Wartość współczynnika wielkości efektu wskazuje na jego małą siłę, cząstkowe $\eta^2 = 0,01$.

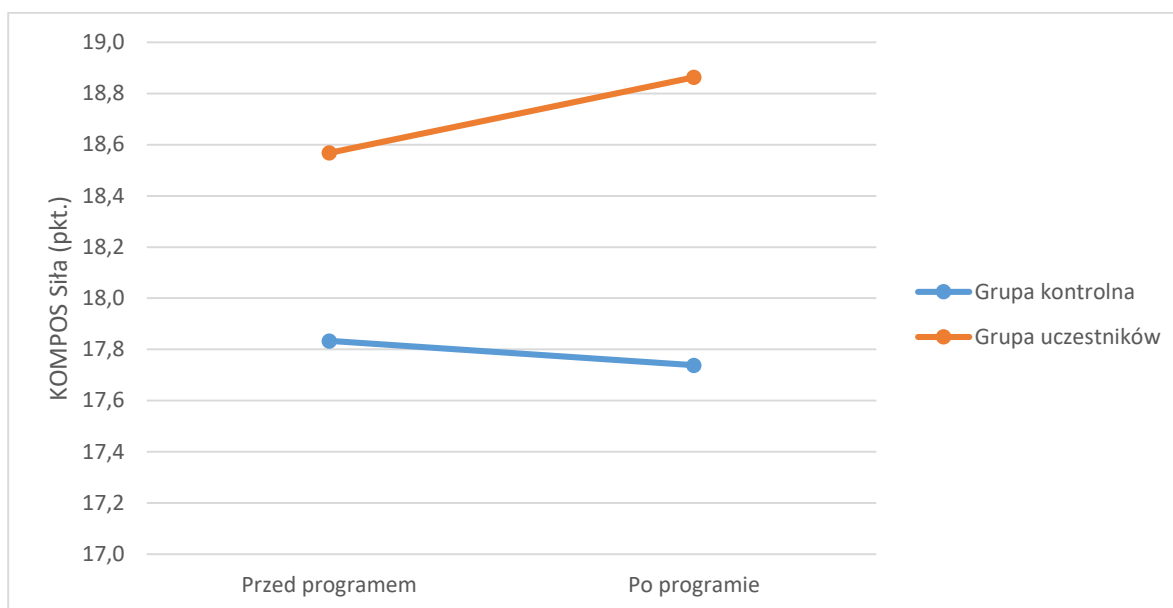
Tabela 1. Poczucie własnej skuteczności (PWS) oraz jej komponenty: Siła i Wytrwałość. Średnie wartości w grupie z interwencją WIR oraz grupie kontrolnej.

GRUPA*	PRZED PROGRAMEM		PO PROGRAMIE		F	p**
	M	SD	M	SD		
PWS					0,957	0,331
I	37,3	0,80	37,5	0,81		
K	35,5	0,82	35,4	0,82		
Siła					5,426	0,022
I	18,6	2,70	18,9	2,22		
K	17,8	3,15	17,7	3,14		
Wytrwałość					0,888	0,349
I	18,6	2,97	18,8	2,70		
K	17,9	3,34	17,9	3,29		

*I – grupa z interwencją WIR, K – grupa kontrolna

**Przyjęty poziom istotności statystycznej $p < 0,05$; wynik istotny statystycznie wytłuszczono

Przy sprawdzaniu, czy udział w programie WIR wpłynął na zmianę poczucia siły (koniecznej do zainicjowania działania) uczestniczących w nim uczniów, porównano wyniki uzyskane przez uczestników na skali przed uczestnictwem w programie oraz po nim, z wynikami uczniów z grupy kontrolnej uzyskanymi w zbliżonych okresach czasu. W grupie uczestników WIR średni poziom siły koniecznej do zainicjowania działania wynosił 18,6 (SD = 2,70) w momencie rozpoczęcia programu oraz 18,9 (SD = 2,22) w chwili jego zakończenia. W grupie kontrolnej średni poziom siły wynosił 17,8 (SD = 3,15) w momencie rozpoczęcia programu oraz 17,7 (SD = 3,14) w chwili jego zakończenia (Tabela 2). Różnice w wynikach siły (będącej komponentą poczucia własnej skuteczności) między grupą eksperymentalną oraz grupą kontrolną przed realizacją programu i po niej okazały się istotne statystycznie; $F(1,84) = 5,426$, $p = 0,022$. Wartość współczynnika wielkości efektu wskazuje na jego umiarkowaną siłę, cząstkowe $\eta^2 = 0,06$. Wyniki testów post-hoc (NIR) jako jedyną istotną wskazały różnicę przed programem i po nim w grupie jego aktywnych uczestników, $p = 0,014$. Uzyskane wyniki potwierdzają założenie, że siła będąca komponentą poczucia własnej skuteczności młodzieży uczestniczącej w programie WIR wzrosła w stosunku do grupy kontrolnej (młodzieży nie uczestniczącej w programie) (Wykres 1).



Wykres 1. Średnie wyniki w podskali Siła kwestionariusza KompOs w grupie uczestników programu oraz grupie kontrolnej, przed uczestnictwem w programie WIR i po nim.

W celu sprawdzenia, czy udział w programie WIR wpłynął na zmianę poczucia wytrwałości (niezbędnej do kontynuacji działania) uczestniczących w nim uczniów porównano wyniki uzyskane przez młodzież z grupy eksperymentalnej przed uczestnictwem w programie oraz po nim z wynikami uczniów z grupy kontrolnej uzyskanymi w zbliżonych okresach czasu. W grupie uczestników WIR średni poziom wytrwałości wynosił 18,6 (SD = 2,97) w momencie rozpoczęcia programu oraz 18,8 (SD = 2,70) w chwili jego zakończenia. W grupie kontrolnej średni poziom wytrwałości wynosił 17,9 (SD = 3,34) w momencie rozpoczęcia programu oraz 17,9 (SD = 3,29) w chwili jego zakończenia (Tab. 2). Różnice w wynikach wytrwałości będącej komponentą poczucia własnej skuteczności między grupą eksperymentalną oraz grupą kontrolną przed realizacją programu i po niej nie okazały się istotne statystycznie; $F(1,84) = 0,888$, $p = 0,349$. Wartość współczynnika wielkości efektu wskazuje na jego małą siłę, cząstkowe $\eta^2 = 0,01$. Uzyskane wyniki nie potwierdzają założenia, że wytrwałość, będąca komponentą poczucia własnej skuteczności młodzieży uczestniczącej w programie WIR (grupa eksperymentalna), wzrosła w większym stopniu niż w grupie kontrolnej (młodzieży nie uczestniczącej w programie).

2.3. Kryteria zdrowia

Postrzeganie zdrowia, w oparciu o wymienione w narzędziu LKZ kryteria, badane było poprzez porównanie rangi przyznanej poszczególnym kryteriom. W związku z brakiem normalności rozkładów analizowanych zmiennych w celu sprawdzenia istotności statystycznej zmian w nadawaniu rangi kryteriom zdrowia zastosowano nieparametryczny test Wilcozona dla par obserwacji (Tabela 3). Jako wskaźnik siły efektu zastosowano współczynnik r , którego wartość 0,1 wskazuje niewielką, 0,3 – przeciętną, a 0,5 – dużą siłę efektu. Wszystkie istotne statystycznie różnice dotyczyły grupy z interwencją WIR. Trzy spośród nich oznaczały zmniejszenie rangi przypisanej kryteriom zdrowia:

1. Dożyć późnej starości; $Z = 2,560$, $p = 0,010$, $r = 0,26$
2. Czuć się szczęśliwym przez większość czasu; $Z = 2,766$, $p = 0,006$, $r = 0,28$
17. Umieć się cieszyć z życia; $Z = 2,366$, $p = 0,018$, $r = 0,24$

W przypadku pozostałych trzech oznaczały zwiększenie rangi kryteriów:

12. Nie odczuwać żadnych dolegliwości fizycznych; $Z = 2,574$, $p = 0,010$, $r = 0,26$
14. Nie chorować, najwyżej rzadko na grypę, niestrawność; $Z = 2,947$, $p = 0,003$, $r = 0,29$
16. Umieć się przystosować do zmian w życiu; $Z = 3,875$, $p = 0,000$, $r = 0,39$

Tabela 2. Średnie wagi kryteriów zdrowia LKZ w porównywanych grupach, przed realizacją programu i po niej.

Kryterium zdrowia	GRUPA*	średnia ranga		Z	p**
		przed	po		
1. Dożyć późnej starości ↓	I	1,20	0,36	2,560	0,010
	K	1,02	1,05	0,085	0,933
2. Czuć się szczęśliwym przez większość czasu ↓	I	1,56	0,66	2,766	0,006
	K	0,74	0,69	0,267	0,789
3. Potrafić dobrze współżyć z innymi ludźmi	I	0,66	0,36	1,887	0,059
	K	0,80	0,69	-***	1,00
4. Umieć rozwiązywać swoje problemy	I	0,72	1,41	1,961	0,050
	K	0,98	1,02	0,0	1,00
5. Należycie się odżywiać	I	1,12	1,23	0,105	0,917
	K	0,51	0,57	0,0	1,00
6. Dbać o wypoczynek, sen	I	1,38	0,98	0,767	0,443
	K	0,69	0,62	0,0	1,00
7. Pić niewielkie ilości alkoholu lub wcale	I	0,82	0,75	0,251	0,802
	K	0,88	0,81	0,535	0,593
8. Nie palić tytoniu	I	1,32	1,07	0,966	0,334
	K	1,33	1,21	0,539	0,590
9. Mieć odpowiednią wagę ciała	I	0,54	0,48	0,471	0,638
	K	0,63	0,71	0,0	1,00
10. Jedynie wyjątkowo przyjmować lekarstwa	I	0,22	0,25	0,0	1,00
	K	0,24	0,19	0,0	1,00
11. Mieć dobry nastrój	I	0,40	0,20	0,533	0,594
	K	0,61	0,60	-	1,00
12. Nie odczuwać żadnych dolegliwości fizycznych ↑	I	0,42	1,20	2,574	0,010
	K	0,42	0,33	-	1,00
13. Potrafić pracować bez napięcia i stresu	I	0,28	0,00	1,826	0,068
	K	0,45	0,52	-	1,00
14. Nie chorować, najwyżej rzadko na grypę, niestrawność ↑	I	0,30	1,16	2,947	0,003
	K	0,33	0,38	-	1,00
15. Mieć zdrowe włosy, oczy, cerę	I	0,32	0,27	0,135	0,893
	K	0,88	1,02	-	1,00
16. Umieć się przystosować do zmian w życiu ↑	I	0,28	1,84	3,875	0,000
	K	0,43	0,50	-	1,00
17. Umieć się cieszyć z życia ↓	I	0,62	0,11	2,366	0,018
	K	0,80	0,74	-	1,00

Tabela 2 (cd.)

18. Być odpowiedzialnym	I	0,32	0,11	1,348	0,178
	K	0,37	0,26	–	1,00
19. Potrafić panować nad swoimi uczuciami i popędami	I	0,18	0,20	0,00	1,00
	K	0,35	0,26	–	1,00
20. Mieć sprawne wszystkie części ciała	I	0,52	0,61	0,535	0,593
	K	0,63	0,74	–	1,00
21. Akceptować siebie, znać swoje możliwości i braki	I	0,74	0,64	1,095	0,273
	K	0,71	0,60	–	1,00
22. Mieć pracę, różnorodne zainteresowania	I	0,14	0,16	0,0	1,00
	K	0,51	0,52	–	1,00
23. Czuć się dobrze	I	0,52	0,52	0,802	0,423
	K	0,30	0,36	–	1,00
24. Prawie nigdy nie musieć chodzić do lekarza	I	0,30	0,27	0,0	1,00
	K	0,33	0,38	–	1,00
25. Inne – jakie?	I	0,14	0,14	–	1,00
	K	0,29	0,33	–	1,00

*I – grupa z interwencją WIR, K – grupa kontrolna

** wyniki istotne statystycznie ($p < 0,05$) wytłuszczono

***Obliczenie wartości statystyki nie było możliwe z powodu braku par pomiarów różniących się rangami

2.4. Symbole szczęścia oraz wartości osobiste

W celu zidentyfikowania istotnych statystycznie zmian, które zaszły w porównywanych grupach, zastosowano test Wilcozona. Wybór testu nieparametrycznego został podyktowany brakiem normalności rozkładów analizowanych zmiennych. Istotne różnice dotyczą wyłącznie wyników grupy z interwencją w zakresie zmniejszenia się rangi symbolu „Dobre zdrowie” ($Z = 3,341$, $p = 0,001$) oraz zwiększenia się rangi symbolu „Bycie potrzebnym dla innych ludzi” ($Z = 3,310$, $p = 0,001$) (Tabela 4). Wartości współczynnika r , wynoszące odpowiednio 0,34 i 0,33, wskazują na umiarkowaną siłę efektu.

Tabela 3. Średnie wagi symboli szczęścia w porównywanych grupach przed realizacją programu i po niej.

Symbol szczęścia	GRUPA*	Średnia ranga		Z	P**
		przed	po		
1. Duży krąg przyjaciół	I	1,98	1,77	0,131	0,896
	K	2,0	1,98	0,548	0,584
2. Udane życie rodzinne	I	3,44	3,52	0,400	0,689
	K	2,62	2,64	0,135	0,893
3. Wykonywanie ulubionej pracy, zawodu	I	1,62	1,59	0,379	0,705
	K	1,42	1,38	0,270	0,787
4. Sukcesy w nauce, pracy	I	1,58	1,57	0,235	0,814
	K	1,92	1,93	0,365	0,715
5. Dobre zdrowie ↓	I	3,22	2,55	3,341	0,001
	K	2,62	2,50	0,548	0,584

6. Bycie potrzebnym dla innych ludzi ↑	I	1,08	2,43	3,310	0,001
	K	1,98	0,83	-***	1,000
7. Dobre warunki materialne	I	2,0	0,23	0,0	1,000
	K	3,44	1,52	0,674	0,500
8. Życie pełne przygód, podróży	I	2,62	1,14	0,909	0,364
	K	1,62	1,50	0,0	1,000
9. Sława popularność	I	1,42	0,20	0,802	0,423
	K	1,58	0,76	0,000	1,000

*I – grupa z interwencją (WIR), K – grupa kontrolna

** wyniki istotne statystycznie ($p < 0,05$) wytłuszczono

***Obliczenie wartości statystyki nie było możliwe z powodu braku par pomiarów różniących się rangami

W zakresie wartości osobistych jedyną istotną statystycznie zmianę przed realizacją programu i po niej odnotowano w przypadku „Odwagi i stanowczości”, $Z = 4,229$, $p = 0,0004$ (Tabela 5). Wyraźny wzrost wystąpił wyłącznie w grupie z interwencją. Wartość współczynnika $r = 0,42$ świadczy o umiarkowanej do znacznej sile efektu.

Tabela 4. Średnie wagi wartości osobistych w porównywanych grupach przed i po realizacji programu.

Wartości osobiste	GRUPA*	średnia ranga		Z	P**
		przed	po		
1. Miłość, przyjaźń	I	1,92	3,36	0,915	0,360
	K	3,22	2,90	0,802	0,423
2. Dobre zdrowie, sprawność fizyczna i psychiczna	I	2,62	3,02	1,006	0,314
	K	1,08	2,14	0,535	0,593
3. Poczucie humoru, dowcip	I	0,8	0,82	0,0	1,000
	K	0,28	1,02	0,314	0,753
4. Inteligencja, bystrość umysłu	I	1,22	1,20	0,314	0,753
	K	1,44	1,69	1,278	0,201
5. Wiedza, mądrość	I	1,54	1,34	0,909	0,363
	K	0,38	1,45	0,839	0,402
6. Odwaga, stanowczość ↑	I	0,78	2,89	4,229	0,000
	K	3,76	1,69	0,447	0,655
7. Radość, zadowolenie	I	2,78	0,89	1,695	0,090
	K	2,76	1,31	0,270	0,787
8. Dobroć, delikatność	I	2,24	0,68	0,592	0,554
	K	0,92	0,74	-***	1,000
9. Ładny wygląd zewnętrzny, prezencja	I	1,08	0,36	0,622	0,534
	K	1,2	0,95	0,913	0,361
10. Bogactwo, majątek	I	1,68	0,43	0,0	1,000
	K	1,5	1,19	0,270	0,787

* I – grupa z interwencją (WIR), K – grupa kontrolna

** wyniki istotne statystycznie ($p < 0,05$) wytłuszczono

***Obliczenie wartości statystyki nie było możliwe z powodu braku par pomiarów różniących się rangami

3. Dyskusja

Niniejsze badanie objęło młodzież stanowiącą nieformalną grupę liderów młodzieżowych na terenie swoich szkół, których postawa charakteryzowała się jednoznacznym, negatywnym stosunkiem do niekonstruktywnych zachowań (stosowania używek, agresji czy nadmiernego korzystania z Internetu). Wyniki uzyskane w zakresie uogólnionego poczucia kontroli wskazały na dominację wewnętrznej lokalizacji poczucia kontroli w grupie z interwencją oraz w grupie kontrolnej, zarówno przed rozpoczęciem programu, jak i po jego zakończeniu. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. Wewnętrzne poczucie kontroli jest czynnikiem, który w istotny sposób kształtuje zachowania zdrowotne młodzieży, m.in. w zakresie stosowania środków psychoaktywnych (Strzelecki, Cybulski i Strzelecka, 2009). Osoby, które są przekonane o swojej umiejętności sprawowania kontroli nad trudnymi wydarzeniami, wykazują mniejsze napięcie emocjonalne w sytuacji zagrożenia i działają bardziej skutecznie oraz są bardziej autonomiczne w podejmowaniu decyzji, częściej też angażują się w aktywności prozdrowotne (Bishop, 2000). Poczucie umiejscowienia kontroli poprzez sposób określania źródeł wpływu na aktualną sytuację ma istotne znaczenie w modyfikacji zachowań, także tych związanych ze zdrowiem (Kościelak, 2010). Natomiast zewnętrzne poczucie kontroli sprzyja podejmowaniu zachowań ryzykownych, głównie poprzez większą podatność na wpływ grupy rówieśniczej (Strzelecki, Cybulski i Strzelecka, 2009). Przekonanie o zewnętrznym poczuciu umiejscowienia kontroli koreluje również z wyższym poziomem strategii agresywnego radzenia sobie w sytuacji konfliktu społecznego przez młodzież. Przekonanie o braku wpływu na zmianę sytuacji oddala koncentrację od źródła problemu i powoduje przyjmowanie strategii obrony zagrożonego JA (Borecka-Biernat, 2018). Udział w programie WIR nie wywołał spodziewanej, statystycznie istotnej zmiany w zakresie zwiększenia wewnętrznego poczucia kontroli u liderów młodzieżowych, co może wskazywać na ograniczony wpływ oddziaływań programu na ten aspekt funkcjonowania psychospołecznego młodzieży, jednocześnie nie można wykluczyć interferencji zmiennych nieprzewidzianych w badaniu. W okresie między badaniami młodzież doświadczyła funkcjonowania w rzeczywistości pandemicznej, czego nie brano pod uwagę na etapie projektowania interwencji i nie kontrolowano. Według opublikowanych już raportów poświęconych m.in. funkcjonowaniu dzieci i młodzieży w okresie pandemii Covid-19 zmiana warunków życia istotnie wpłynęła na pewne aspekty psychicznego i behawioralnego funkcjonowania młodych ludzi, m.in.: na nasilenie objawów niepokoju, napięcia, lęku uogólnionego i depresji oraz wzmożone korzystanie z Internetu, telewizji i urządzeń elektronicznych (Gambin i in., 2021; Makaruk i Włodarczyk, 2020). Nagłe pojawienie się pandemii, jej rozmiary oraz konsekwencje, jakie przyniosła, ograniczyły naturalne możliwości regulacji samopoczucia psychicznego (Ćosić i in., 2020), nasiliły trudne emocje i zmniejszyły możliwości przewidywania i kontroli rzeczywistości w ważnych sferach życia (Jakovljevic i in., 2020; Hamer i Baran, 2021). Na podstawie zebranego materiału badawczego można jedynie przypuszczać, czy pandemia mogła zniekształcić oddziaływanie programu WIR na młodzież liderską, a jeśli tak – to w jakim stopniu.

W zakresie ogólnego poczucia własnej skuteczności zarówno grupa z interwencją WIR, jak i grupa kontrolna osiągnęły wysoki wynik w obu badaniach. Nie stwierdzono wpływu programu WIR na ogólne poczucie własnej skuteczności oraz wytrwałość. Zaobserwowano istotny statystycznie wzrost w poziomie siły w grupie z interwencją WIR w stosunku do poziomu obserwowanego w grupie kontrolnej. Program WIR wzmocnił zatem obraz własnych możliwości w obszarze inicjowania aktywności przez liderów poddanych działaniu programu. Na tej podstawie można spodziewać się wzrostu gotowości liderów młodzieżowych zaangażowanych w program do kreowania oraz realizowania prozdrowotnych aktywności na rzecz społeczności szkolnej.

Siła uważana jest za najważniejszy aspekt poczucia własnej skuteczności, opisuje stopień pewności, z jaką dana osoba ocenia swoje możliwości poradzenia sobie z trudnymi sytuacjami (Ogińska-Bulik, 2001). Poczucie własnej skuteczności oraz wewnętrzne umiejscowienie kontroli prezentuje się również jako wyznacznik radzenia sobie ze stresem u dzieci poprzez stosowanie strategii aktywnego radzenia sobie i koncentracji na emocjach (Ogińska-Bulik, 2001). Badania nad zasobami osobistymi młodzieży prezentują wewnętrzne poczucie kontroli oraz poczucie własnej skuteczności jako czynnik chroniący zdrowie (Nowicki i in., 2017). Jednocześnie posiadanie wewnętrznego

umiejscowienia kontroli nie jest równoznaczne z wysokim poczuciem własnej skuteczności. Percepcja opierająca się na wewnętrznej atrybucji nie generuje automatycznie pewności co do możliwości skutecznego wpływu na rzeczywistość (Condly, 2006). Badania przekrojowe sugerują również związek między postrzeganiem własnej skuteczności w obliczu ogólnego dystresu oraz nasileniem i częstotliwością objawów PTSD (Łuszczynska, Benight i Cieślak, 2009). Powyższe wyniki korespondują z badaniami, w świetle których poczucie własnej skuteczności redukuje podatność na stres, lęk oraz depresję (Bandura A. i in., 1996, Spotoń-Wydra, 2018).

W badaniu Łuszczynskiej i in. (2004) ogólne poczucie własnej skuteczności wiązało się z częściej podejmowaną aktywnością fizyczną u młodzieży na Węgrzech, w Polsce, Turcji i Stanach Zjednoczonych. Tożsame wzorce stwierdzono w zakresie przestrzegania zdrowej diety.

Upatrywanie przez dzieci przyczyn określonych zdarzeń jako efektu ich własnej aktywności lub indywidualnych zasobów wiązało się z niższym nasileniem symptomów zaburzeń depresyjnych (Prince-Embury, 2013). Uczniowie w wieku 12–14 lat prezentujący wyższe wyniki w zakresie poczucia własnej skuteczności ujawniali słabsze objawy depresyjne i mniej myśli dysfunkcyjnych (Pössel i in., 2005) oraz dobre samopoczucie fizyczne i emocjonalne (Kvarme i in., 2009).

W założeniach programu WIR istnieje związek między poczuciem własnej skuteczności a postawą życiową czy prezentowanym stylem życia. Nastolatki ulegają wpływom dotyczącym zażywania środków psychoaktywnych, ale ci, którzy mają wysokie poczucie własnej skuteczności, są na te wpływy mniej wrażliwi (Schwarzer i Łuszczynska 2005). Uczniowie o wysokim poziomie poczucia własnej skuteczności wskazywali na zdolność regulowania swojej uwagi, intensyfikacji wysiłków przy pracy oraz monitorowania wysiłków, aby uzyskiwać lepsze oceny w szkole (Łuszczynska i in., 2005; Łuszczynska, Scholz i Schwarzer, 2005; Usher i Pajares, 2008). Innym korelatem wysokiego poczucia własnej skuteczności okazał się również niższy poziom prokrastynacji (Tuckman, 1991) oraz niższy poziom lęku–stanu (Endler i in., 2001) i lęku–cechy (Schneider i in., 2009).

W badaniach uczniów szkół średnich (Grad i Kiliś-Pstrusińska, 2015) wykazano, że 43% badanych ma wysokie uogólnione poczucie własnej skuteczności, natomiast 19% – niskie. Wysokie poczucie siły i wytrwałości odnotowano u 50% uczniów. Interwencje mające na celu promowanie i wzmacnianie ogólnego poczucia własnej skuteczności zakończyły się sukcesem wśród dziewcząt, ale nie wśród chłopców (Kvarme i in., 2010).

Uczniowie biorący udział w badaniu prezentują wysoki poziom poczucia własnej skuteczności. Ich kompetencje psychospołeczne stanowią cenny kapitał emocjonalny lidera młodzieżowego modelującego prozdrowotny styl życia. W świetle wyników przytoczonych badań liderzy młodzieży mają predyspozycje do radzenia sobie w sytuacjach stresogennych, skutecznego regulowania emocji, podejmowania zachowań chroniących zdrowie psychiczne i somatyczne, a także odnoszenia sukcesów edukacyjnych. Uczniowie z grupy objętej interwencją WIR prezentują się jako posiadający potencjał do podejmowania inicjatyw oraz dostrzegający większą szansę powodzenia tych działań.

W przypadku kryteriów zdrowia istotne statystycznie zmiany w ich hierarchizowaniu zaszły w grupie z interwencją WIR. Odnotowano spadek w przypadku kryteriów: „dożyć późnej starości”, „czuć się szczęśliwym przez większość czasu”, „umieć się cieszyć z życia” oraz wzrost rangi kryteriów: „nie odczuwać żadnych dolegliwości fizycznych”, „nie chorować, najwyżej rzadko na grypę, niestrawność” i „umieć się przystosować do zmian w życiu”. Treści prezentowane w programie akcentują znaczenie adaptacyjnej roli wszystkich emocji (także nieprzyjemnych), elastyczności w działaniu oraz decyzjach, a także aktywności mającej na celu optymalizację sytuacji życiowej w obliczu zdarzeń, zjawisk czy cech, na które nie mamy wpływu. W efekcie „ożyć późnej starości” (czas trwania życia, niekoniecznie jego jakość) obniżyło swoją wartość jako kryterium zdrowia. „Umieć cieszyć się z życia” oraz „czuć się szczęśliwym przez większość czasu” odnoszą się do sposobu przeżywania doświadczeń, bilansu emocjonalnego, stąd prawdopodobnie wzrost akceptacji liderów dla trudnych emocji znalazł swoją manifestację w spadku wartościowania powyższych kryteriów zdrowia. W odniesieniu do udziału w programie WIR zmiany te mogą natomiast świadczyć o gotowości do prozdrowotnej i prospołecznej aktywności młodzieży.

W badaniach LKZ studentów (Litwic-Kaminska i Izdebski, 2012) najwyżej ocenione zostały kryteria: „dbać o wypoczynek, sen”, „umieć się cieszyć z życia”, „czuć się szczęśliwym przez większość czasu”,

„należycie się odżywiać”, „mieć sprawne wszystkie części ciała”. Przeprowadzona analiza ujawniła różnice międzypłciowe. Mężczyźni częściej zwracali uwagę na fizyczne aspekty zdrowia, natomiast kobiety podkreślały znaczenie zdrowego stylu życia.

W zakresie wartości osobistych i symboli szczęścia istotne statystycznie zmiany nadawanych im rang zaszyły w grupie z interwencją WIR. Kryterium, które w największym stopniu straciło na znaczeniu, był symbol „dobre zdrowie”. Zaobserwowano także bardzo wyraźny wzrost w zakresie znaczenia symbolu „bycie potrzebnym dla innych ludzi” oraz wartości osobistej „odwaga, stanowczość”. Dwie ostatnie zmiany mają charakter zdecydowanie prospołeczny, korespondujący z treścią programu profilaktycznego WIR. Sugerować to może koncentrację na aktywności na rzecz społeczności szkolnej („bycie potrzebnym dla innych ludzi”) oraz znaczenia roli modelowania postawy życiowej („odwaga, stanowczość”). Zastanawiający wydaje się natomiast spadek wagi symbolu „dobre zdrowie”, który ma mało precyzyjny charakter, lecz jednoznacznie pozytywne znaczenie. Prawdopodobnie osłabła jego rola jako synonimu dobrostanu czy gwarancji doświadczania psychicznego komfortu. Nieco inaczej przedstawiały się w tym zakresie wyniki badań uczniów szkół średnich (Grad i Kiliś-Pstrusińska, 2015). Dla ponad 30% uczniów kategoria „dobre zdrowie” jest najważniejszym symbolem szczęścia, natomiast 18% badanych nie uznaje jej za taki odpowiednik lub uważa za najmniej istotny spośród pięciu oznak wskazanych jako znaczące. Dla 50% uczniów wartość „dobre zdrowie, sprawność fizyczna i psychiczna” jest istotna: najważniejsza dla 15%, bardzo ważna dla 35%. Wartość ta znajduje się na drugim miejscu wśród 10 najistotniejszych norm osobistych młodzieży, po najczęściej wskazywanej „miłości i przyjaźni” (62,81%). W badaniach uczniów z Łodzi (Juczyński, 2014), wśród 10 rangowanych wartości, „dobre zdrowie” znalazło się na drugim miejscu, jednocześnie 23% badanych nie zaliczyło go do pięciu najważniejszych norm osobistych.

Wnioski

Uczniowie uczestniczący w badaniu stanowią grupę wyselekcjonowaną pod kątem prozdrowotnego stylu życia. Uzyskane wyniki w zakresie poczucia umiejscowienia kontroli, poczucia własnej skuteczności, hierarchii wartości osobistych oraz kryteriów zdrowia silnie korespondują z ich przynależnością do nieformalnej grupy szkolnych liderów młodzieżowych. Uczestnicy obu grup prezentują wewnętrzne poczucie kontroli, charakterystyczne dla osób podejmujących autonomiczne decyzje nie będące efektem presji grupy rówieśniczej. Także wysokie wyniki poczucia własnej skuteczności wskazują na możliwości radzenia sobie w trudnych sytuacjach w sposób chroniący psychiczne oraz somatyczne aspekty zdrowia. Oddziaływanie programu WIR na młodzież przyniosło rezultat w postaci zwiększenia poziomu Siły oraz wpłynęło na profil deklarowanych wartości związanych ze zdrowiem i szczęściem, co ma szansę ewoluować w stronę wzmocnienia prozdrowotnych postaw młodzieży. Zmiany w hierarchizowaniu kryteriów zdrowia, symboli szczęścia oraz wartości osobistych obrazują przesunięcia na drabinie wartości. Znaczenie poszczególnych zmiennych mogło być zachowane, lecz uległo osłabieniu na rzecz innych. W opinii autorów powyższe zmiany korespondują z edukacyjną rolą programu WIR. W tym miejscu warto również podkreślić bezprecedensowe oddziaływanie pandemii na rzeczywistość społeczną, na wielu płaszczyznach codziennego funkcjonowania ludzi (Gambin i in., 2021). Należy przypuszczać, że był to czynnik modyfikujący wpływ interwencji profilaktycznej, jaką jest program WIR.

Finansowanie: Projekt został sfinansowany przez Państwową Agencję Rozwiązywania Problemów Alkoholowych w ramach Narodowego Programu Zdrowia na lata 2016–2020 w ramach Celu Operacyjnego nr 2 Profilaktyka i rozwiązywanie problemów związanych z używaniem substancji psychoaktywnych, uzależnieniami behawioralnymi i innymi zachowaniami ryzykownymi, Zadanie 21/3.2.1.1/19/DRM, numer umowy: 114/21/3.2.1.1/19/DRM z dnia 15.04.2019 roku.

Bibliografia

- Antas-Jaszczuk A. 2016. Preventive actions in educational work found in Polish system of education. *Student Niepełnosprawny. Szkice i Rozprawy* 16(9), str. 15–25. Dostępne online: https://repozytorium.uph.edu.pl/bitstream/handle/11331/1698/Antas-Jaszczuk_A.Preventive_actions_in_educational_work.pdf?sequence=1 (dostęp: 20.05.2021).
- Bandura A. 1977. Self-efficacy: Toward a unifying theory of behavioral change. *Psychological Review* 84(2), str. 191–215. DOI: [10.1037/0033-295X.84.2.191](https://doi.org/10.1037/0033-295X.84.2.191).
- Bandura A., Barbaranelli C., Caprara G.V., Pastorelli C. 1996. Multifaceted impact of self-efficacy beliefs on academic functioning. *Child Development* 67, str. 1206–1222. DOI: [10.2307/1131888](https://doi.org/10.2307/1131888)
- Bishop G. 2000. *Psychologia zdrowia*. Wydawnictwo Astrum, Wrocław, str. 219–225.
- Borecka-Biernat D. 2018. Strategia agresywnego radzenia sobie młodzieży dorastającej w sytuacji konfliktu społecznego. Analiza osobowościowych i rodzinnych uwarunkowań. *Psychologia Rozwojowa* 23, str. 25–40 DOI: [10.4467/20843879PR.18.020.9949](https://doi.org/10.4467/20843879PR.18.020.9949).
- Condly S.J. 2006. Resilience in children: A review of literature with implications for education. *Urban Education* 41(3), str. 211–236. DOI: [10.1177/0042085906287902](https://doi.org/10.1177/0042085906287902).
- Ćosić K., Popović S., Šarlija M., Kesedžić I. 2020. Impact of human disasters and COVID-19 pandemic on mental health: potential of digital psychiatry. *Psychiatria Danubina* 32(1), str. 25–31. DOI: [10.24869/psyd.2020.25](https://doi.org/10.24869/psyd.2020.25).
- Endler N.S., Speer R.L., Johnson J.M., Flett G.L. 2001. General self-efficacy and control in relation to anxiety and cognitive performance. *Current Psychology* 20(1), str. 36–52. DOI [10.1007/s12144-001-1002-7](https://doi.org/10.1007/s12144-001-1002-7).
- Gambin M. (red.) 2021. *Pandemia COVID -19 w Polsce. Perspektywa psychologiczna*. Warszawa, str. 32–37. Dostępne online: <https://covid.psych.uw.edu.pl/wp-content/uploads/sites/50/2021/03/raporty-covid-2020.pdf> (dostęp: 17.05.2021).
- Gaś Z.B. 1992. *Program Rówieśniczych Doradców jako forma podejścia rówieśniczego o charakterze wczesnej interwencji*. Pracownia Wydawnicza Fundacji „Masz szansę”, Lublin.
- Gaś Z.B. 1995. *Pomoc psychologiczna młodzieży*. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne. Warszawa.
- Gaś Z.B. 2005. Profilaktyka w szkole. W: Kamińska-Buško B., Szymańska J. (red.) *Profilaktyka w szkole. Poradnik dla nauczycieli*. CMPPP, Warszawa, str. 5–14.
- Grad I., Kiliś-Pstrusińska K. 2015. Postrzeganie zdrowia jako wartości osobistej przez młodzież szkół licealnych. *Family Medicine & Primary Care Review* 17(1), str. 19–23 Dostępne online: <http://cejsh.icm.edu.pl/cejsh/element/bwmeta1.element.desklight-f882e100-8c6e-47e1-a01d-5646cc9c3000> (dostęp: 21.05.2021).
- Hamer K., Baran M. 2021. Wpływ pandemii COVID -19 na zachowania, postawy i dobrostan Polaków. Warszawa, str. 13. Dostępne online: <https://covid19psychologiacom.files.wordpress.com/2021/02/raport-6.pdf> (dostęp: 17.05.2021).
- Jakovljevic M., Bjedov S., Jaksic N., Jakovljevic I. 2020. COVID-19 pandemia and public and global mental health from the perspective of global health security. *Psychiatria Danubia* 32(1), str. 6–14. DOI: [10.24869/psyd.2020.6](https://doi.org/10.24869/psyd.2020.6).
- Juczyński Z. 1999. Narzędzia do pomiaru w psychologii zdrowia. *Przegląd Psychologiczny* 42(4), str. 43–56.
- Juczyński Z. 2000. Poczucie własnej skuteczności – teoria i pomiar. *Acta Universitatis Lodzianensis. Folia Psychologica* 4.
- Juczyński Z. 2014. Health in the hierarchy of personal values of children and youth. *Family Pedagogy* 4(1), str. 67–79. DOI: [10.2478/fampe-2014-0007](https://doi.org/10.2478/fampe-2014-0007).
- Kadzikowska-Wrzosek R. 2010. Wolna wola w świetle badań współczesnej psychologii nad procesami samoregulacji i samokontroli. *Psychologia Społeczna* 5, str. 330–344.
- Kościelak R. 2010. *Poczucie umiejscowienia kontroli i przekonania o własnej skuteczności w zdrowiu i chorobie*. Oficyna Wydawnicza „Impuls”, Kraków, str. 37–57.
- Kvarme L.G., Haraldstad K., Helseth S., Sørnum R., Natvig G.K. 2009. Associations between general self-efficacy and health-related quality of life among 12-13-year-old school children: A cross-sectional survey. *Health and Quality of Life Outcomes* 7, nr artykułu 85. Dostępne online: <https://hqlo.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7525-7-85> (dostęp: 24.05.2021).

- Kvarme L.G., Helseth S., Sørnum R., Luth-Hansen V., Haugland S., Natvig G.K. 2010. The effect of a solution-focused approach to improve self-efficacy in socially withdrawn school children: A non-randomized controlled trial. *International Journal of Nursing Studies* 47(11), str. 1389–1396. DOI:[10.1016/j.ijnurstu.2010.05.001](https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2010.05.001).
- Lemańczyk R. 2019. Psychoprofilaktyka zachowań ryzykownych u młodzieży. *Annales UMCS Sectio J* 32(3), str. 151–168. DOI: [10.17951/j.2019.32.3.151-168](https://doi.org/10.17951/j.2019.32.3.151-168).
- Litwic-Kaminska K., Izdebski P. 2012. Pojęcie i samoocena zdrowia oraz zachowania zdrowotne a poziom aktywności fizycznej w okresie wczesnej dorosłości. *Medycyna Sportowa* 28(3), str. 167–178. DOI: [10.5604/1232406X.1023265](https://doi.org/10.5604/1232406X.1023265).
- Łuszczynska A., Gibbons F.X., Piko B., Teközel M. 2004. Self-regulatory cognitions, social comparison, perceived peers' behaviors as predictors of nutrition and physical activity: A comparison among adolescents in Hungary, Poland, Turkey, and USA. *Psychology and Health* 19(5), str. 577–593. DOI [10.1080/0887044042000205844](https://doi.org/10.1080/0887044042000205844).
- Łuszczynska A., Gutiérrez-Doña B., Schwarzer R. 2005. General self-efficacy in various domains of human functioning: Evidence from five countries. *International Journal of Psychology* 40(2), str. 80–89. DOI [10.1080/00207590444000041](https://doi.org/10.1080/00207590444000041).
- Łuszczynska A., Scholz U., Schwarzer R. 2005. The general self-efficacy scale: Multicultural validation studies. *Journal of Psychology* 139(5), str. 439–457. DOI: [10.3200/JRLP.139.5.439-457](https://doi.org/10.3200/JRLP.139.5.439-457).
- Łuszczynska A., Benight C.C., Cieslak R. 2009. Self-efficacy and health-related outcomes of collective trauma: A systematic review. *European Psychologist* 14, str. 51–62. DOI: [10.1027/1016-9040.14.1.51](https://doi.org/10.1027/1016-9040.14.1.51).
- Łazuga-Koczurowska J. 2018. System przygotowania realizatorów programów profilaktycznych. *Serwis Informacyjny Uzależnienia* 1(81). str. 13–18. Dostępne online: https://www.kbnp.gov.pl/portal?id=15&res_id=8540547 (dostęp: 20.05.2021).
- Makaruk K., Włodarczyk J., Skoneczna P. 2019. *Problematyczne używanie internetu przez młodzież. Raport z badań*. Fundacja: Dajemy dzieciom siłę, Warszawa, str. 21–35.
- Makaruk K., Włodarczyk J. 2020. *Negatywne doświadczenia młodzieży w trakcie pandemii. Raport z badań ilościowych*. Fundacja: Dajemy dzieciom siłę, Warszawa. Dostępne online: <https://fdds.pl/Resources/Persistent/5/0/0/e/500e0774b0109a6892ce777b0d8595f528adea62/Negatywne-doswiadczenia-mlodziezy-w-trakcie-pandemii.-Raport-z-badan-ilosciowych-1.pdf> (dostęp: 17.05.2021).
- Michel M. 2014. Wzmacnianie czynników chroniących w tworzeniu bezpiecznej przestrzeni szkoły w programach liderów rówieśniczych w kontekście koncepcji resilience. *Resocjalizacja Polska (Polish Journal of Social Rehabilitation)* 6, str. 101–120. Dostępne online: <https://bit.ly/3oNy2ck> (dostęp: 17.05.2021).
- Nowicki G.J., Ślusarska B., Zboina B., Deluga A. 2017. Poczucie własnej skuteczności i umiejscowienie kontroli jako zasoby determinujące podejmowanie zachowań związanych ze zdrowiem. *ASO.A.10(2)/2017.18-37*. Dostępne online: <https://www.ceeol.com/search/article-detail?id=676977> (dostęp: 20.05.2021).
- Ostaszewski K. 2010. Kompendium wiedzy o profilaktyce W: *Przewodnik metodyczny po programach promocji zdrowia psychicznego i profilaktyki*. Fundacja ETOH, Warszawa, str. 73–95.
- Śnieżna kula: program profilaktyczny dla młodzieży. Podręcznik dla prowadzących. 1998. Tłum. A. Pietrzak. Profilaktyczno-Rozwojowy Ośrodek Młodzieży i Dzieci „Prom”. Łódź.
- Piotrowicz M., Cianciara D. 2011. Teoria salutogenezy – nowe podejście do zdrowia i choroby. *Przegląd Epidemiologiczny* 65, str. 521–527.
- Poleszak W. 2017. Standardy i kierunki pracy profilaktycznej z rodziną. *Serwis Informacyjny Uzależnienia* 4(80), str. 10–15. Dostępne online: https://www.kbnp.gov.pl/portal?id=15&res_id=7565138 (dostęp: 20.05.2021).
- Porzak R. (red.) 2019. *Profilaktyka w szkole Stan i rekomendacje dla systemu oddziaływań profilaktycznych w Polsce*. Fundacja „Masz Szansę”. Lublin. Dostępne online: https://www.profilaktycy.pl/images/zasoby_pliki/kniazka/Profilaktyka_w_szkole.pdf (dostęp: 18.05.2021).
- Pössel P., Baldus C., Horn A.B., Groen G., Hautzinger M. 2005. Influence of general self-efficacy on the effects of a school-based universal primary prevention program of depressive symptoms in adolescents: A randomized and controlled follow-up study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 46(9), str. 982–994. DOI:[10.1111/j.1469-7610.2004.00395.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2004.00395.x).

- Prince-Embury S. 2013. Resiliency scales for children and adolescents: theory, research and clinical application. W: Prince-Embury S., Saklofske D.H. (red.), *Resilience in children, adolescents, and adults. Translating research into practice*. Springer, str. 19–44. DOI: [10.1007/978-1-4614-4939-3](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4939-3).
- Pyżalski J., Zdrodowska A., Tomczyk Ł., Abramczuk K. 2019. *Polskie badanie EU Kids Online. Najważniejsze wyniki i wnioski*. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań. Dostępne online: [https://fundacja.orange.pl/files/user_files/EU Kids Online 2019 v2.pdf](https://fundacja.orange.pl/files/user_files/EU_Kids_Online_2019_v2.pdf) (dostęp: 20.11.2021).
- Rajda-Marek D. 2019. Działania młodzieżowych liderów profilaktyki jako nowa forma zapobiegania uzależnieniom w szkołach W: Krzysztofek A., Borcuch A. (red.) *Nowe konteksty w nauce XXI wieku*. Laboratorium Wiedzy Artur Borcuch, Kielce, str. 79–86.
- Schwarzer R., Luszczynska A. 2005. Self-efficacy adolescents' risk-taking behaviors and health. W: Pajares F., Urdan T. (red.) *Self-Efficacy Beliefs of Adolescents*, Information Age Publishing, Greenwich, str. 139–159. Dostępne online: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.386.2465> (dostęp: 24.05.2021).
- Schneider S., Houweling J.E.G., Gommlich-Schneider S., Klein C., Nündel B., Wolke D. 2009. Effect of maternal panic disorder on mother-child interaction and relation to child anxiety and child self-efficacy. *Archives of Women's Mental Health* 12(4), str. 251–259. DOI: [10.1007/s00737-009-0072-7](https://doi.org/10.1007/s00737-009-0072-7).
- Sierosławski J. 2019. *Używanie substancji psychoaktywnych przez młodzież w 2019 roku. Europejski program badań ankietowych w szkołach na temat używania alkoholu i narkotyków ESPAD*. Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa. Dostępne online: <http://www.parpa.pl/images/file/prezentacja%20ESPAD%202019.pdf> (dostęp: 10.05.2021).
- Skrzypczyk W. 1999. *Razem. Podręcznik dla prowadzących*. Fundacja Wspierania Rozwoju Pełnego Zdrowia. Łódź.
- Skrzypczyk W. 2003. *MOPR Młodzieżowe Ochotnicze Pogotowie Rówieśnicze*. Cz. 1–3. Fundacja Wspierania Rozwoju Pełnego Zdrowia. Łódź.
- Spotoń-Wydra M. 2018. Wybrane zasoby osobiste a nasilenie symptomów depresyjnych u dzieci – badanie pilotażowe. *Medycyna Rodzinna* 21(4), str. 322–327. DOI: [10.25121/MR.2018.21.4.322](https://doi.org/10.25121/MR.2018.21.4.322).
- Strzelecki W., Cybulski M., Strzelecka M. 2009. Rola poczucia umiejscowienia kontroli w kształtowaniu wybranych zachowań zdrowotnych adolescentów. *Nowiny Lekarskie* 78(1), str. 18–22. Dostępne online: https://jms.ump.edu.pl/uploads/2009/1/18_1_78_2009.pdf (dostęp: 12.05.2021).
- Szymańska J. 2015. *Programy profilaktyczne. Podstawy profesjonalnej psychoprofilaktyki*. Ośrodek Rozwoju Edukacji, Warszawa.
- Syrek E. 2019. Teoretyczne podstawy współczesnej pedagogiki zdrowia jako subdyscypliny pedagogiki. *Pedagogika Społeczna* 2(72), str. 9–23. DOI: [10.35464/1642-672X.PS.2019.2.01](https://doi.org/10.35464/1642-672X.PS.2019.2.01).
- Tuckman B.W. 1991. The development and concurrent validity of the procrastination scale. *Educational and Psychological Measurement* 51(2), str. 473–480. DOI: [10.1177/0013164491512022](https://doi.org/10.1177/0013164491512022).
- Usher E.L., Pajares F. 2008. Sources of self-efficacy in school: Critical review of the literature and future directions. *Review of Educational Research* 78(4), str. 751–796. DOI: [10.3102%2F0034654308321456](https://doi.org/10.3102%2F0034654308321456).

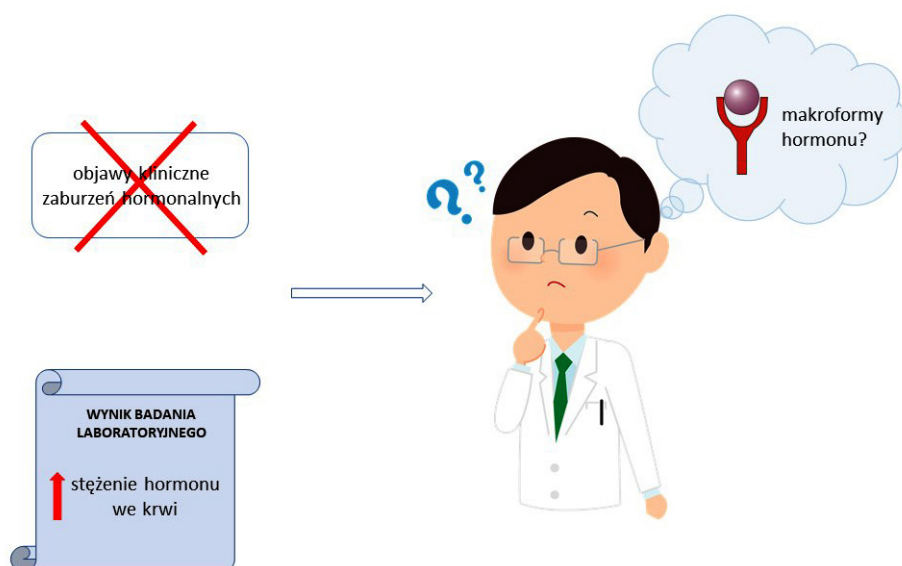
MAKROFORMY HORMONÓW – WYSTĘPOWANIE, METODY DIAGNOSTYCZNE I ZNACZENIE KLINICZNE

HORMONE MACROFORMS – OCCURRENCE, DIAGNOSTIC METHODS AND CLINICAL SIGNIFICANCE

Karolina Beda-Maluga , Katarzyna Winczyk* 

Zakład Neuroendokrynologii, Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
karolina.beda-maluga@umed.lodz.pl, katarzyna.winczyk@umed.lodz.pl

* katarzyna.winczyk@umed.lodz.pl



Streszczenie: W praktyce klinicznej najczęściej wykrywaną we krwi makroformą hormonu jest makroprolaktyna, jednakże występowanie makrocząsteczek we krwi jest możliwe także w przypadku innych hormonów. Klasyczną cechą wspólną dla makroform hormonów jest ich znikoma aktywność biologiczna przy zachowanej immunoreaktywności w testach laboratoryjnych. Z tego powodu istotne jest, aby w każdej sytuacji, gdy stężenie hormonu przekracza górną granicę wartości referencyjnych i brak jest typowych objawów klinicznych jego nadmiaru, mieć na uwadze możliwość występowania we krwi pacjenta zwiększonej ilości makrocząsteczek tego hormonu. Wówczas przeprowadzenie dodatkowych badań oceniających zawartość makroform może zapobiec niewłaściwej diagnozie i wdrożeniu niepotrzebnego leczenia. W pracy zarówno omówiono najczęściej występujące makroformy hormonów, jak i przedstawiono metody ich wykrywania i sugestie dotyczące interpretacji uzyskanych wyników badań laboratoryjnych.

Słowa kluczowe: makroformy hormonów, makroprolaktyna, makrotyreotropina, precypitacja PEG-iem

Abstract: In clinical practice, the most commonly detected hormone macroform in blood is macroprolactin, however, macromolecules of other hormones may also occur. The classic feature of all hormone macroforms is negligible biological activity with maintained immunoreactivity in laboratory tests. For this reason, whenever concentration of a hormone exceeds the upper limit of reference values and there are no typical clinical symptoms of its excess, it is important to consider the possibility of an increased amount of macroforms of this hormone in the patient's blood. In such a case, additional tests assessing the macroforms content may prevent an incorrect diagnosis and implementation of unnecessary treatment. This paper discusses the most common hormone macroforms, methods for detecting them, as well as suggestions on how to interpret laboratory test results.

Keywords: hormone macroforms, macroprolactin, macrothyrotropin, PEG precipitation

Wprowadzenie

Makroformy (MA) hormonów to duże kompleksy stanowiące najczęściej połączenie pojedynczej cząsteczki hormonu z immunoglobuliną G (Mendoza i in., 2009; Nguyen i in., 2021). Ich duża masa cząsteczkowa powoduje, że MA mają utrudniony dostęp do właściwych receptorów komórkowych i nie mogą się z nimi prawidłowo połączyć, dlatego też nie wykazują aktywności biologicznej. Z drugiej strony rozmiar tego kompleksu sprawia, że jest on znacznie wolniej usuwany z organizmu niż monomeryczna postać hormonu, w związku z czym MA wykazują zazwyczaj dłuższy okres półtrwania niż klasyczne cząsteczki (Hattori i in., 2015; Hattori i Inagaki, 1997). W warunkach fizjologicznych MA stanowią nie więcej niż kilka procent całkowitej zawartości hormonu we krwi, niekiedy jednak ich ilość może znacząco wzrosnąć (Soh i in., 2020). Do chwili obecnej, pomimo wielu przeprowadzonych badań, nie udało się precyzyjnie wyjaśnić przyczyny tego zjawiska. Najbardziej prawdopodobna wydaje się hipoteza, według której potranslacyjna modyfikacja cząsteczek hormonalnych sprawia, że są one rozpoznawane przez organizm jako obce i wówczas produkowane są przeciwko nim przeciwciała (Hattori i in., 2005). Jednakże, ze względu na brak aktywności biologicznej, nawet zwiększona ilość makrocząsteczek nie wywołuje u człowieka objawów klinicznych wynikających ze wzrostu stężenia hormonu we krwi. Istotny problem stanowi natomiast ich immunoreaktywność, która powoduje, że makroformy, podobnie jak monomeryczne postacie, są rozpoznawane w testach laboratoryjnych wykorzystywanych do oznaczeń hormonalnych. Jest to efektem łączenia się przeciwciał stosowanych w metodach immunochemicznych (wykorzystywanych w codziennej praktyce laboratoryjnej do pomiaru stężenia hormonów we krwi) ze wszystkimi obecnymi w badanej próbce formami hormonu, posiadającymi na swojej powierzchni swoisty epitop – także z tymi cząsteczkami, które nie wykazują aktywności biologicznej (Sztefko, 2006). Następstwem takiej sytuacji jest uzyskanie w badaniu laboratoryjnym zawyżonego, zazwyczaj przekraczającego górną wartość referencyjną, stężenia hormonu. Co więcej, użycie różnych przeciwciał w immunotestach poszczególnych producentów skutkuje ich odmienną reaktywnością z makrocząsteczkami hormonów. Inaczej mówiąc, wyniki wszystkich stosowanych obecnie immunotestów są zawyżone, gdy w badanym materiale występują duże ilości makrocząsteczek, ale stopień tego zawyżenia nie jest jednakowy i zależy od użytego zestawu pomiarowego (Ellis i Fahie-Wilson, 2005). Na chwilę obecną, według danych literaturowych, nie istnieją immunotesty, które w pełni rozróżniałyby postacie monomeryczne hormonów od makrokompleksów. W związku z powyższym obecność znacznych ilości makroform w próbce krwi prowadzi do zawyżenia wyniku, ale nie wywołuje objawów klinicznych i dlatego też jest przyczyną rozbieżności pomiędzy stężeniami hormonu a stanem klinicznym pacjenta. W konsekwencji powoduje to trudności w interpretacji wyniku laboratoryjnego i może prowadzić do błędów diagnostyczno-terapeutycznych.

W niniejszej pracy opisano najczęściej występujące makroformy hormonów, głównie makroprolaktynę i makrotreotropinę, jak również omówiono podstawowe metody ich wykrywania i wskazówki dotyczące interpretacji uzyskanych wyników laboratoryjnych.

1. Makroprolaktyna (makro-PRL)

Najdokładniej opisanym rodzajem makroform hormonu są makroformy prolaktyny (PRL, ang. *prolactin*). Należy zacząć od tego, iż u ludzi podstawową cząsteczką tego hormonu jest monomer o masie 23 kDa, który fizjologicznie stanowi 80–90% całkowitej ilości krążącej we krwi PRL (Freeman i in., 2000). W surowicy obecne są także inne formy hormonu, takie jak fragmenty proteolityczne o masie 14 kDa, 16 kDa i 22 kDa czy też formy ufosforylowane lub glikozylowane (24 kDa i 25 kDa) (Gardner i Shoback, 2017; Sinha, 1995). Monomeryczna cząsteczka PRL może również ulegać dimeryzacji, polimeryzacji lub łączeniu z innymi białkami osocza. Prowadzi to do powstawania form o masie cząsteczkowej od 45 kDa do 60 kDa określanych jako big-PRL i większych kompleksów nazywanych big-big-PRL lub makroprolaktyną (ang. *macroprolactin*), gdy ich masa przekracza 100 kDa (Fahie-Wilson i in., 2005). Pierwsze doniesienia na temat występowania we krwi dużej cząsteczki PRL nazywanej big-big-PRL pojawiły się w latach 70. XX wieku (Suh i Frantz, 1974). Natomiast terminu

„makroprolaktyna” po raz pierwszy użyli Jackson i in., gdy opisali postać hormonu o masie cząsteczkowej przekraczającej 100kDa, a dominację we krwi tej izoformy określili mianem makroprolaktynemii (Jackson i in., 1985). Obecnie w literaturze terminy big-big-PRL i makroprolaktyna stosowane są często zamiennie. Niektórzy autorzy prac uważają jednak, że określenie makroprolaktyna dotyczy tylko kompleksu monomerycznej PRL i immunoglobuliny (Jackson i in., 1985; Leite i in., 1992; Schiettecatte i in., 2001), zaś termin big-big-PRL odnosi się do innych wielkocząsteczkowych postaci hormonu takich, jak formy polimeryczne, czyli agregaty cząsteczek monomeru i/lub PRL glikozylowanej lub ufosforylowanej, a także cząsteczek PRL połączonych z innym białkiem niebędącym immunoglobuliną (Bartoszewicz, 2003; Jackson i in., 1985; Leite i in., 1992; Schiettecatte i in., 2001).

Częstość występowania makroprolaktynemii (czyli dominujących ilości makro-PRL we krwi) wśród osób z hiperprolaktynemią, w zależności od rodzaju badanej populacji, waha się od 10% do nawet 60% (Chutipboonwat i in., 2020; Sherazi i in., 2018; Vallette-Kasic i in., 2002). W badaniach prowadzonych kilka lat temu w łódzkim ośrodku endokrynologicznym przez autorki niniejszej pracy makroprolaktynemię stwierdzono u 11% pacjentów z podwyższonym stężeniem PRL (Beda-Maluga i in., 2015). Natomiast najnowsza metaanaliza wyników badań przeprowadzonych w 27 krajach wykazała średnią częstość występowania makroprolaktynemii wynoszącą prawie 19% (Che Soh i in., 2020), co potwierdza istotne znaczenie makro-PRL w diagnostyce różnicowej przyczyn hiperprolaktynemii.

Gdy weźmie się pod uwagę właściwości makrocząsteczek hormonów, za typową sytuację kliniczną sugerującą obecność znacznych ilości makro-PRL we krwi uznaje się uzyskanie podwyższonego stężenia PRL w badaniu laboratoryjnym oraz niewystępowanie u pacjenta charakterystycznych objawów związanych z nadmiarem hormonu, czyli przede wszystkim zaburzeń miesiączkowania u kobiet i obniżonego libido u mężczyzn (Jeske W., 2008). Wywołany makroprolaktynemią problem niespójności wyników ze stanem klinicznym pacjenta pogłębia fakt, iż makro-PRL jest rozpoznawana w bardzo różnym stopniu przez immunotesty do oznaczania PRL, czego dowiodły badania przeprowadzone w ramach irlandzkiego programu kontroli jakości (IEQUAS, ang. *Irish External Quality Assesment Scheme*). Wykazano w nich, że wartości PRL oznaczone w próbkach krwi zawierających duże ilości makro-PRL są zawyżone, ale w zależności od rodzaju immunotestu stopień zawyżenia różni się znacznie i wynosi od 2 do aż 8 razy (Smith i in., 2002).

Z tego względu według wytycznych *Endocrine Society* sformułowanych przed 10 laty badanie w kierunku makro-PRL powinno być przeprowadzane u wszystkich bezobjawowych pacjentów z podwyższonym stężeniem tego hormonu we krwi (Melmed i in., 2011). Warto mieć jednak na uwadze, iż makroprolaktynemia może występować także u osób ze stężeniem PRL niewspółmiernie wysokim w stosunku do niewielkiego nasilenia objawów klinicznych hiperprolaktynemii, co może mylnie sugerować gruczolaka prolaktynowego przysadki, szczególnie w przypadku stwierdzenia w badaniu obrazowym okolicy podwzgórzowo-przysadkowej (najczęściej rezonans magnetyczny z kontrastem) zmiany guzowatej w obrębie tego gruczołu. Kolejnym, dość trudnym do rozwiązania problemem diagnostyczno-terapeutycznym jest możliwość występowania przejściowo objawów hiperprolaktynemii u osób z makroprolaktynemią, co przez niektórych badaczy tłumaczone jest okresową dysocjacją makrokompleksów prowadzącą do uwolnienia aktywnych biologicznie form hormonu (Hattori, 2003; Hattori i in., 2008; Olukoga, 2002). W takich przypadkach makro-PRL może stanowić nie tylko problem analityczny, ale także być źródłem aktywnej PRL, której uwolnienie może prowadzić do zaburzeń hormonalnych. Jednakże zasady postępowania w tych sytuacjach klinicznych nie zostały do chwili obecnej jasno sprecyzowane, a ich ustalenie wymaga dalszych szczegółowych badań.

Wiadomo natomiast, że lekarz podejrzewający makroprolaktynemię powinien skontaktować się z diagnostą laboratoryjnym pracującym w medycznym laboratorium diagnostycznym w celu ustalenia możliwości określenia ilości makro-PRL w próbce, bowiem nie wszystkie placówki przeprowadzają takie badanie. Technika laboratoryjna uważana za „złoty standard” w identyfikacji makro-PRL jest filtracyjna chromatografia żelowa (GFC, ang. *gel filtration chromatography*), jednak ze względu na wysoki koszt i czasochłonność metoda ta nie jest rutynowo wykorzystywana w medycznych laboratoriach diagnostycznych (Sadideen i Swaminathan, 2006). Obecnie najczęściej stosowaną metodą oceny ilości

makro-PRL we krwi jest precypitacja 25-procentowym roztworem glikolu polietylenowego (PEG, ang. *polyethylene glycol*) (Biagetti i in., 2021; Che Soh i in., 2020; Yang i in., 2021). Jest to badanie nieskomplikowane, niedrogie i nie wymagające stosowania specjalnych procedur w fazie przedanalizycznej. Z punktu widzenia pacjenta wiąże się jedynie z koniecznością pobrania próbki krwi w taki sposób, jak ma to miejsce przy typowej ocenie stężenia PRL (takie same warunki przygotowania do badania). W laboratorium dokonywane jest oznaczenie PRL w badanej surowicy, a następnie próbka poddawana jest inkubacji z PEG-iem. Na skutek właściwości glikolu wytrąceniu ulegają obecne we krwi konglomeraty makro-PRL. Po odwirowaniu roztworu uzyskiwany jest nadsącz, w którym ponownie oznacza się stężenie PRL, a na podstawie uzyskanych wyników wylicza się odzysk tzw. wolnej (monomerycznej) PRL (ang. *free PRL*) według równania 1 (Leslie i in., 2001; Olukoga i Kane, 1999).

$$\text{odzysk PRL [\%]} = \frac{PRL_{PEG}}{PRL} \cdot 100\%$$

PRLPEG – stężenie prolaktyny w supernatancie uzyskanym po precypitacji glikolem polietylenowym

PRL – stężenie prolaktyny w próbce natywnej surowicy

Równanie 1. Wzór pozwalający na wyliczenie odzysku monomerycznej prolaktyny.

Wartość odcięcia dla tej metody była wielokrotnie ustalana. Najczęściej przyjmuje się, że odzysk wolnej PRL mniejszy niż 40% świadczy o makroprolaktynemii, natomiast wartości powyżej 60% wskazują, że w próbce dominuje monomeryczna postać hormonu. Z kolei odzysk mieszczący się w zakresie 40–60% stanowi tzw. szarą strefę i powinien być zweryfikowany za pomocą GFC (Beda-Maluga i in., 2011; Leslie i in., 2001; Olukoga i Kane, 1999).

Wynik oceny makroprolaktynemii za pomocą precypitacji PEG-iem może być przedstawiany nie tylko w postaci odzysku monomerycznej PRL, ale także jako wartość tzw. „wolnej” PRL, co sugerowali badacze z ośrodków zagranicznych (Beltran i in., 2008; Gibney i in., 2005; Suliman i in., 2003), jak również – na podstawie własnych badań – autorki niniejszej pracy (Beda-Maluga i in., 2014). Wspomniana „wolna” PRL jest to stężenie hormonu po procesie precypitacji, które odzwierciedla ilość monomerycznych cząsteczek PRL w próbce. Wartość „wolnej” PRL przekraczająca górną granicę wartości referencyjnych świadczy o tzw. rzeczywistej hiperprolaktynemii. Z kolei wynik mieszczący się w zakresie normy wskazuje, że przyczyną wysokiego wyjściowego stężenia hormonu jest obecność dużych ilości makro-PRL w badanej próbce. Optymalnie wartość „wolnej” PRL powinna być interpretowana w oparciu o specjalne zakresy normy opracowane właśnie dla wartości hormonu po precypitacji. Próby wyznaczenia takich zakresów dla różnych platform analitycznych podjęło kilka zespołów badawczych, ale uzyskane przez nich wyniki wymagają weryfikacji w badaniach przeprowadzonych na większych grupach osób (Beda-Maluga i in., 2014; Beltran i in., 2008; Overgaard i Pedersen, 2017; Whitehead i in., 2015). Przy omawianiu kwestii wykrywania makroprolaktynemii za pomocą precypitacji PEG-iem należy dodać, iż niewątpliwą zaletą tej techniki jest łatwość wykonania i niski koszt, jednakże metoda ta nie jest pozbawiona wad. Wykazano, że oprócz form wielkocząsteczkowych podczas precypitacji wytrąceniu może ulegać także pewna część PRL monomerycznej (15–25%) (Gilson i in., 2001; Kavanagh i in., 2006). Ponadto PEG może interferować z odczynnikami zawartymi w niektórych systemach analitycznych, np. AxSYM Abbott, Immulite 2000 Siemens, Access Beckman, Immuno-1 Bayer (Beltran i in., 2008). Z tego powodu technika precypitacji nie powinna być stosowana w laboratoriach, gdzie istnieje podejrzenie, że składniki immunotestów do oznaczeń PRL mogą reagować z glikolem polietylenowym (w takiej sytuacji należy rozważyć alternatywne metody diagnostyczne). Pomocna może okazać się procedura ultrafiltracji polegająca na rozdziale molekuł o różnej masie cząsteczkowej za pomocą specjalnej błony filtracyjnej o określonej wielkości porów. Przydatność tej techniki w wykrywaniu makroprolaktynemii została opisana w kilku pracach zagranicznych (Kavanagh i in., 2006; Landberg i in., 2007; Prazeres i in., 2003; Quinn i in., 2006)

oraz w artykule opublikowanym przez autorki tej pracy, zawierającym wyniki badań porównujących skuteczność wykrywania makro-PRL metodą precypitacji i ultrafiltracji (Beda-Maluga i in., 2015).

Stwierdzenie makroprolaktynemii oraz prawidłowej wartości „wolnej” PRL nie wymaga wdrażania leczenia ani dodatkowych badań. Jednakże ze względu na fakt, że makroprolaktynemia jest stanem przewlekłym (Jimenez-Anon i in., 2021; Wallace i in., 2010), przydatne byłoby odnotowanie jej występowania w historii choroby danego pacjenta, co pozwoliłoby w przyszłości uniknąć trudności w interpretacji wyników oznaczeń PRL.

2. Makrotyreotropina (makro-TSH)

W porównaniu z makro-PRL stosunkowo niewiele wiadomo na temat makroformy innego hormonu – tyreotropiny (TSH, ang. *thyroid-stimulating hormone, thyrotropin*). Podobnie jak w przypadku PRL, podstawową cząsteczką TSH oznaczaną we krwi człowieka jest forma monomeryczna o masie cząsteczkowej 28 kDa, wydzielana przez komórki tyreotropowe przedniego płata przysadki (Gardner i Shoback, 2017). W latach 80. XX w. pojawiły się pierwsze doniesienia na temat występowania we krwi ludzkiej form TSH związanych z immunoglobuliną G, które powodowały pewnego rodzaju zafałszowanie wyników badań w stosunku do rzeczywistego stanu klinicznego pacjenta (Lazarus i in., 1983). Choć od tamtej chwili minęło wiele czasu, opublikowane prace zawierają głównie opisy przypadków (D’Arcy i in., 2021; Donadio-Andrei i in., 2019; Larsen i in., 2021; Loh i in., 2012), natomiast stosunkowo niewiele ukazało się badań na temat makrotyreotropiny (makro-TSH) (Giusti i in., 2017; Hattori i in., 2018, Hattori i in., 2015). Na ich podstawie można jednak stwierdzić, że makro-TSH cechuje podobieństwo do makro-PRL nie tylko pod względem budowy (monomeryczna forma hormonu połączona z immunoglobuliną), lecz także właściwości, bowiem makroformy TSH ze względu na swój rozmiar i utrudnione połączenie z właściwymi receptorami komórkowymi również nie wykazują aktywności biologicznej. Konsekwencją tego jest brak wpływu makroformy na syntezę i wydzielanie z gruczołu tarczowego hormonów tarczycy – tyroksyny i trijodotyroniny. Makro-TSH, podobnie jak makro-PRL, zachowuje natomiast immunoreaktywność, to znaczy, że testy stosowane do oznaczania TSH nie rozróżniają monomerycznej cząsteczki hormonu od postaci związanej z immunoglobuliną, zatem obecność znacznych ilości makro-TSH we krwi skutkuje zawyżeniem wartości hormonu (Drees, 2018; Gulbahar i in., 2015; Hattori i in., 2015).

Obecność dużych ilości makro-TSH we krwi może prowadzić więc do uzyskania stężenia TSH powyżej górnej granicy zakresu referencyjnego i prawidłowych wartości hormonów tarczycy przy braku objawów klinicznych wskazujących na zaburzenia osi przysadkowo-tarczycowej. Taki układ badań hormonalnych jest typowy nie tylko dla makrotyreotropinemii (czyli dominacji makro-TSH we krwi), lecz także dla diagnozowanej obecnie bardzo często subklinicznej niedoczynności tarczycy (Hattori i in., 2015). Jak podają dostępne dane literaturowe, makrotyreotropinemia występuje dość rzadko, bo jedynie u 0,17–1,6% osób z podwyższonym stężeniem TSH (Giusti i in., 2017; Hattori i in., 2018; Hattori i in., 2016; Hattori i in., 2015). Doniesienia te znalazły potwierdzenie w wynikach pierwszego w Polsce badania dotyczącego makro-TSH przeprowadzonego przy współudziale autorek niniejszej pracy w Zakładzie Neuroendokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 2018–2019, która to analiza stanowiła temat pracy magisterskiej mgr Partycji Brody. W badaniu tym, obejmującym 100 osób, u których TSH przekraczało górną granicę zakresu referencyjnego, odnotowaliśmy dominację makro-TSH (odsetek wytrąconej frakcji TSH wynoszący 93%) u jednego pacjenta (1%) (dane niepublikowane). Z drugiej strony dane dotyczące rozpoznawania subklinicznej niedoczynności tarczycy (12–18%) (Calissendorff i Falhammar, 2020) z dużym prawdopodobieństwem pozwalają przypuszczać, że częstość występowania makro-TSH może być zdecydowanie wyższa. W praktyce problemem jest więc ryzyko postawienia błędnego rozpoznania i wdrożenia niepotrzebnej długoterminowej (najczęściej do końca życia pacjenta) terapii substytucyjnej preparatami L-tyroksyny. Chociaż dotychczas nie ukazały się odpowiednie rekomendacje w tej kwestii, to na podstawie powyższych danych zasadna wydaje się ocena ilości makrokompleksów hormonu szczególnie w próbkach krwi tych pacjentów, u których podwyższonym wartościom TSH nie towarzyszy obniżone

stężenie hormonów tarczycy ani objawy niedoczynności tarczycy. Jednakże tego rodzaju zalecenia (nie tylko zwiększające koszty diagnostyczne, ale dodatkowo obciążające pracą laboratoria medyczne) powinny być poparte licznymi badaniami przeprowadzonymi w różnych krajach, gdyż jak wiadomo liczba osób z rozpoznawaną i leczoną subkliniczną niedoczynnością tarczycy w Polsce i na świecie jest dość wysoka.

W praktyce klinicznej do określenia zawartości makro-TSH w próbce – tak jak w przypadku makro-PRL – stosowana jest technika precypitacji PEG-iem (Giusti i in., 2017; Hattori i in., 2016; Hattori i in., 2015; Mills i in., 2013), jednakże na chwilę obecną badanie to wykonują tylko pojedyncze laboratoria. Analogicznie dokonywany jest pomiar TSH w próbce wyjściowej oraz po precypitacji, a następnie wyliczany jest procentowy odzysk monomerycznych cząsteczek TSH (Równanie 2) lub odsetek tzw. wytrąconej frakcji TSH odzwierciedlający ilość makro-TSH w próbce (Równanie 3) (Hattori i in., 2016):

$$\text{odzysk TSH [\%]} = \frac{TSH_{PEG}}{TSH} \cdot 100\%$$

TSH_{PEG} – stężenie tyreotropiny w supernatancie uzyskanym po precypitacji glikolem polietylenowym
TSH – stężenie tyreotropiny w próbce natywnej

Równanie 2. Wzór pozwalający na wyliczenie odzysku monomerycznej tyreotropiny.

$$\text{frakcja wytrącona TSH [\%]} = \frac{TSH - TSH_{PEG}}{TSH} \cdot 100\%$$

TSH_{PEG} – stężenie tyreotropiny w supernatancie uzyskanym po precypitacji glikolem polietylenowym
TSH – stężenie tyreotropiny w próbce natywnej

Równanie 3. Wzór pozwalający na wyliczenie wytrąconej frakcji tyreotropiny.

Proponowana interpretacja uzyskanych wartości jest nieco inna niż w przypadku rozpoznawania makroprolaktynemii. Według danych literaturowych na obecność makro-TSH w próbce wskazuje wartość procentowego odzysku poniżej 25–10%, czyli odsetek wytrąconej frakcji TSH przekraczający 75–90% (Hattori i in., 2015; Loh i in., 2012). Zasadne wydaje się, aby przy interpretacji wyników brać pod uwagę także wartość „wolnej” TSH, co pomogłoby trafniej określić, którzy pacjenci rzeczywiście potrzebują wdrożenia farmakoterapii substytucyjnej hormonami tarczycy (Favresse i in., 2018; Hattori i in., 2015). Jednakże, podobnie jak w przypadku badania w kierunku makroprolaktynemii, wymaga to opracowania dla poszczególnych immunotestów zakresów referencyjnych dla wartości hormonu po precypitacji.

3. Makroformy gonadotropin przysadkowych

3.1. Makrolutropina (makro-LH)

Występowanie makrocząsteczek odnotowano także w przypadku hormonu luteinizującego (ang. *luteinizing hormone*, LH), choć dostępne publikacje na ten temat są bardzo nieliczne i obejmują tylko trzy opisy przypadku (Ogura-Ochi i in., 2020; Umemori i in., 2021; Vieira i in., 2003). Wszystkie dotyczą młodych kobiet, u których stwierdzono podwyższone stężenie LH, przy wartościach pozostałych hormonów płciowych mieszczących się w zakresie normy. W próbkach surowicy badanych pacjentek przeprowadzono precypitację PEG-iem, a wyliczone wartości odzysku były bardzo niskie (poniżej 10%), co wskazywało na obecność w nich znacznej ilości makro-LH. Warto dodać, że u dwóch

pacjentek występowały zaburzenia miesiączkowania, co – zdaniem autorów jednej z prac (Umemori i in., 2021) – nasuwać może podejrzenie, że makro-LH, w przeciwieństwie do makro-PRL czy makro-TSH, posiada aktywność biologiczną. Jednakże w celu ustalenia właściwości tej makroformy potrzebne są dalsze badania, gdyż zaburzenia miesiączkowania mogły u tych kobiet wynikać także z innych przyczyn, niezwiązanych bezpośrednio z nadmiernym stężeniem makro-LH.

3.2. Makrofolikulotropina (makro-FSH)

Zjawisko występowania makrocząsteczek dotyczy także hormonu folikulotropowego (ang. *follicle-stimulating hormone*, FSH). Dotychczas w literaturze opisano cztery pacjentki, w których krwi dominowały makroformy FSH, a nie formy monomeryczne (Catteau i in., 2019; Chihara i in., 2020; Guibet i in., 2021; Webster i in., 2010). Wysokie stężenia FSH u tych kobiet (w dwóch przypadkach przekraczające kilkukrotnie górną granicę normy) nie były w pełni zgodne z ich stanem klinicznym, a przeprowadzone badania wykazały u wszystkich osób obecność znacznych ilości makro-FSH pomimo wcześniejszych podejrzeń związanych z nieprawidłowym funkcjonowaniem gonad lub przystarczyc. Niestety, na podstawie opublikowanych danych trudno jest obecnie wnioskować o właściwościach tej makroformy.

4. Makroformy insuliny

Stosunkowo liczne publikacje dotyczą występowania we krwi kompleksów insuliny z przeciwciałami (Casesnoves i in., 1998; Church i in., 2017; Iglesias i in., 2013; Lamy i in., 2016; Zungun i in., 2019), które opisywane są zazwyczaj nie jako makro-insulina, ale jako zespół autoimmunologicznej hiperinsulinemii (inaczej zespół Hirata). Wynika to z okresowej dysocjacji kompleksu, która na skutek uwolnienia hormonu prowadzi do wystąpienia hiperinsulinemii oraz hipoglikemii. Istnienie podobnego mechanizmu dysocjacji nie zostało jak dotąd potwierdzone w przypadku makroform innych hormonów, ale możliwość taka mogłaby stanowić wytłumaczenie obecności objawów nadmiaru hormonu u pacjentów z dominacją MA we krwi. Ze względu na specyfikę i złożoność aspektów klinicznych związanych z obecnością kompleksów insuliny z przeciwciałami szczegółowy opis zespołu autoimmunologicznej hiperinsulinemii wykracza poza ramy tego opracowania.

5. Makroformy pozostałych hormonów

W literaturze dostępne są także informacje na temat występowania we krwi makroform innych hormonów, ale są one bardzo nieliczne.

Dwa doniesienia dotyczą występowania makroform parathormonu (PTH, ang. *parathormone*). Stwierdzono je u mężczyzny po przeszczepie nerki i zapaleniu płuc oraz u kobiety chorującej na niedoczynność tarczycy. U obydwu osób podwyższonemu stężeniu PTH nie towarzyszyły kliniczne symptomy nadczynności przystarczyc, a wyniki przeprowadzonej precypitacji PEG-iem wskazywały na obecność makro-PTH we krwi (Kanonidou i in., 2018; Prodan i in., 2016).

Jedna z publikacji dotyczy makrokalcytoniny (makro-CT), stwierdzonej u trzech pacjentów, u których podwyższone stężenie kalcytoniny (CT, ang. *calcitonin*) nie znajdowało odzwierciedlenia w obrazie klinicznym. Interesujący jest fakt, że wszystkie te osoby przeszły tyreoidektomię, a u dwóch z nich w histopatologicznym badaniu pooperacyjnym rozpoznano raka rdzeniastego tarczycy (Alves i in., 2016).

Również w jednym tylko doniesieniu opisano występowanie makroform gonadotropiny kosmówkowej (hCG, ang. *human chorionic gonadotropin*), czyli makro-hCG. Kompleksy tego hormonu stwierdzono u kobiety, która przeszła procedurę inseminacji. Zdaniem autorów pracy iniekcje hCG wykonywane podczas przygotowania do zabiegu mogły wywołać odpowiedź immunologiczną, której konsekwencją było powstanie makro-hCG (Heijboer i in., 2011).

Wnioski

W podsumowaniu można stwierdzić, że choć w praktyce najczęściej wykrywaną makroformą jest makro-PRL, to występowanie makrocząsteczek we krwi jest możliwe także w przypadku hormonów glikoproteinowych, jak i innych hormonów peptydowych. Z tego powodu istotne jest, aby w każdej sytuacji, w której podwyższonemu stężeniu hormonu w badaniu laboratoryjnym nie towarzyszą typowe objawy kliniczne, mieć na uwadze możliwość występowania we krwi pacjenta dużej ilości makroform tego hormonu. Wówczas przeprowadzenie dodatkowych badań oceniających ich zawartość może zapobiec niewłaściwej diagnozie i wdrożeniu niepotrzebnego leczenia.

Bibliografia

- Alves T.G., Kasamatsu T.S., Yang J.H. i in. 2016. Macrocalcitonin is a novel pitfall in the routine of serum calcitonin immunoassay. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(2), str. 653–658. DOI: [10.1210/jc.2015-3137](https://doi.org/10.1210/jc.2015-3137).
- Bartoszewicz Z. 2003. Makroprolaktynemia – hiperprolaktynemia charakteryzująca się obecnością wysokocząsteczkowej makroprolaktyny. *Labforum* 14, str. 4–5.
- Beda-Maluga K., Pisarek H., Komorowski J., Pawlikowski M., Świętosławski J., Winczyk K. 2011. The detection of macroprolactin by precipitation and ultrafiltration methods. *Endokrynologia Polska* 62(6), str. 529–536.
- Beda-Maluga K., Pisarek H., Komorowski J., Świętosławski J., Fuss-Chmielewska J., Winczyk K. 2014. Evaluation of hyperprolactinaemia with the use of the intervals for prolactin after macroforms separation. *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society* 65(3), str. 359–364.
- Beda-Maluga K., Pisarek H., Romanowska I., Komorowski J., Świętosławski J., Winczyk K. 2015. Ultrafiltration – an alternative method to polyethylene glycol precipitation for macroprolactin detection. *Archives of Medical Science: AMS* 11(5), str. 1001–1007.
- Beltran L., Fahie-Wilson M.N., McKenna T.J., Kavanagh L., Smith T.P. 2008. Serum total prolactin and monomeric prolactin reference intervals determined by precipitation with polyethylene glycol: evaluation and validation on common immunoassay platforms. *Clinical Chemistry* 54(10), str. 1673–1681. DOI: [10.1373/clinchem.2008.105312](https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.105312).
- Biagetti B., Ferrer Costa R., Alfayate Guerra R., Álvarez García E., Berlanga Escalera E., Casals G., Esteban Salán M., Granada Ibern M.-L., Gorrín Ramos J., López Lazareno N., Oriola J., Sánchez Martínez P.M., Torregrosa Quesada M.E., Urgell Rull E., García Lacalle C. 2021. Macroprolactina: del laboratorio a la práctica clínica. Recomendaciones del grupo de trabajo de laboratorio de la SEEN y de la comisión de hormonas de la SEQCML sobre la medición e informe del resultado de la macroprolactina. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, nr artykułu: S2530-0164(21)00082-3. DOI: [10.1016/j.endinu.2020.12.002](https://doi.org/10.1016/j.endinu.2020.12.002).
- Calissendorff J., Falhammar H. 2020. To treat or not to treat subclinical hypothyroidism, what is the evidence? *Medicina* 56(1), str. 40. DOI: [10.3390/medicina56010040](https://doi.org/10.3390/medicina56010040).
- Casesnoves A., Mauri M., Dominguez J.R., Alfayate R., Picó A.M. 1998. Influence of anti-insulin antibodies on insulin immunoassays in the autoimmune insulin syndrome. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* 35(6), str. 768–774. DOI: [10.1177/000456329803500610](https://doi.org/10.1177/000456329803500610).
- Catteau A., Bach-Ngohou K., Blin J., Barrière P., Fréour T., Masson D. 2019. Abnormally elevated follicle-stimulating hormone (fsh) level in an infertile woman. *Case Reports in Endocrinology* 2019, str. 1–5. DOI: [10.1155/2019/3071649](https://doi.org/10.1155/2019/3071649).
- Che Soh N.A.A., Yaacob N.M., Omar J., Mohammed Jelani A., Shafii N., Tuan Ismail T.S., Wan Azman W.N., Ghazali A.K. 2020. Global prevalence of macroprolactinemia among patients with hyperprolactinemia: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(21), nr artykułu: 8199. DOI: [10.3390/ijerph17218199](https://doi.org/10.3390/ijerph17218199).
- Chihara K., Hattori N., Matsuda T., Murasawa S., Daimon M., Shimatsu A. 2020. Procedures for the diagnosis of macro-follicle stimulating hormone (FSH) in a patient with high serum FSH concentrations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 58(2), str. e40–e43. DOI: [10.1515/cclm-2019-0846](https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0846).
- Church D., Cardoso L., Bradbury S., Clarke C., Stears A., Dover A., Halsall D., Semple R. 2017. Diagnosis of insulin autoimmune syndrome using polyethylene glycol precipitation and gel filtration chromatography with *ex vivo* insulin exchange. *Clinical Endocrinology* 86(3), str. 347–353. DOI: [10.1111/cen.13179](https://doi.org/10.1111/cen.13179).

- Chutpiboonwat P., Yenpinyosuk K., Sridama V., Kunjan S., Klaimukh K., Snaboon T. 2020. Macroprolactinemia in patients with hyperprolactinemia: an experience from a single tertiary center. *Pan African Medical Journal* 36(8). DOI: [10.11604/pamj.2020.36.8.22923](https://doi.org/10.11604/pamj.2020.36.8.22923).
- D'Arcy R., Hunter S., Spence K. & McDonnell M. 2021. A case of macro-TSH masquerading as subclinical hypothyroidism. *BMJ Case Reports* 14(7), nr artykułu: e243436. DOI: [10.1136/bcr-2021-243436](https://doi.org/10.1136/bcr-2021-243436).
- Donadio-Andrei S., Hubert N., Raverot V., Plantin-Carrenard E., Kuczewski E., Charrié A., Ronin C., Gauchez A.S., Chikh K. 2019. A challenging case: highly variable TSH in a mother and her two children. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 57(6), str. e114–e117. DOI: [10.1515/cclm-2018-0871](https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0871).
- Drees J.C. 2018. Case of the improbably high TSH. *Clinical Chemistry* 64(5), str. 872–873. DOI: [10.1373/clinchem.2017.280040](https://doi.org/10.1373/clinchem.2017.280040).
- Ellis A.R., Fahie-Wilson M. 2005. Method recognition of big prolactin in serum and prolactin in amniotic fluid. *Edinburgh: UK NEQAS Report* 310, str. 1–4.
- Fahie-Wilson M.N., John R., Ellis A.R. 2005. Macroprolactin; high molecular mass forms of circulating prolactin. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* 42(3), str. 175–192. DOI: [10.1258/0004563053857969](https://doi.org/10.1258/0004563053857969).
- Favresse J., Burlacu M.C., Maiter D., Gruson D. 2018. Interferences With Thyroid Function Immunoassays: Clinical Implications and Detection Algorithm. *Endocrine Reviews* 39(5), str. 830–850. DOI: [10.1210/er.2018-00119](https://doi.org/10.1210/er.2018-00119).
- Freeman M.E., Kanyicska B., Lerant A., Nagy G. 2000. Prolactin: Structure, Function, and Regulation of Secretion. *Physiological Reviews* 80(4), str. 1523–1631. DOI: [10.1152/physrev.2000.80.4.1523](https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.4.1523).
- Gardner D.G., Shoback D. 2017. *Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology*. Wyd. 10. McGraw-Hill Education, New York.
- Gibney J., Smith T.P., McKenna T.J. 2005. The impact on clinical practice of routine screening for macroprolactin. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90(7), str. 3927–3932. DOI: [10.1210/jc.2004-2234](https://doi.org/10.1210/jc.2004-2234).
- Gilson G., Schmit P., Thix J., Hoffman J.P., Humbel R.L. 2001. Prolactin results for samples containing macroprolactin are method and sample dependent. *Clinical Chemistry* 47(2), str. 331–333.
- Giusti M., Conte L., Repetto A.M., Gay S., Marroni P., Mittica M., Mussap M. 2017. Detection of polyethylene glycol thyrotropin (TSH) precipitable percentage (Macro-TSH) in patients with a history of thyroid cancer. *Endocrinology and Metabolism* 32(4), str. 460–465. DOI: [10.3803/enm.2017.32.4.460](https://doi.org/10.3803/enm.2017.32.4.460).
- Guibet C., Lauro C., Grouthier V., Corcuff J.B., Violin A., Brossaud J., Georges A. 2021. Une grosse FSH qui trompe énormément: à propos d'un cas de macro-FSH [About a case of macro-FSH analytical interference]. *Annales De Biologie Clinique* 76(4), str. 353–355. DOI: [10.1684/abc.2021.1630](https://doi.org/10.1684/abc.2021.1630).
- Gulbahar O., Konca Degertekin C., Akturk M., Yalcin M.M., Kalan I., Atikeler G.F., Altinova A.E., Yetkin I., Arslan M., Toruner F. 2015. A case with immunoassay interferences in the measurement of multiple hormones. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100(6), str. 2147–2153. DOI: [10.1210/jc.2014-4023](https://doi.org/10.1210/jc.2014-4023).
- Hattori N. 2003. Macroprolactinemia: a new cause of hyperprolactinemia. *Journal of Pharmacological Sciences* 92(3), str. 171–177. DOI: [10.1254/jphs.92.171](https://doi.org/10.1254/jphs.92.171).
- Hattori N., Inagaki C. 1997. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia: bioassay and clearance studies of PRL-immunoglobulin G complex. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 82(9), str. 3107–3110. DOI: [10.1210/jcem.82.9.4250](https://doi.org/10.1210/jcem.82.9.4250).
- Hattori N., Ikekubo K., Nakaya Y., Kitagawa K., Inagaki C. 2005. Immunoglobulin G subclasses and prolactin (PRL) isoforms in macroprolactinemia due to anti-PRL autoantibodies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90(5), str. 3036–3044. DOI: [10.1210/jc.2004-1600](https://doi.org/10.1210/jc.2004-1600).
- Hattori N., Nakayama Y., Kitagawa K., Ishihara T., Saiki Y., Inagaki C. 2008. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies suppress PRL bioactivity in patients with macroprolactinaemia. *Clinical Endocrinology* 68(1), str. 72–76. DOI: [10.1111/j.1365-2265.2007.03001.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.03001.x).
- Hattori N., Ishihara T., Yamagami K., Shimatsu A. 2015. Macro TSH in patients with subclinical hypothyroidism. *Clinical Endocrinology* 83(6), str. 923–930. DOI: [10.1111/cen.12643](https://doi.org/10.1111/cen.12643).
- Hattori N., Ishihara T., Shimatsu A. 2016. Variability in the detection of macro TSH in different immunoassay systems. *European Journal of Endocrinology* 174(1), str. 9–15. DOI: [10.1530/eje-15-0883](https://doi.org/10.1530/eje-15-0883).

- Hattori N., Aisaka K., Chihara K., Shimatsu A. 2018. Current thyrotropin immunoassays recognize macrothyrotropin leading to hyperthyrotropinemia in females of reproductive age. *Thyroid* 28(10), str. 1252–1260. DOI: [10.1089/thy.2017.0624](https://doi.org/10.1089/thy.2017.0624).
- Heijboer A.C., Martens F., Mulder S.D., Schats R., Blankenstein M.A. 2011. Interference in human chorionic gonadotropin (hCG) analysis by macro-hCG. *Clinica Chimica Acta* 412(23–24), str. 2349–2350. DOI: [10.1016/j.cca.2011.08.004](https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.08.004).
- Iglesias P., Grande C., Cano A.G., Maurí M. 2013. Anti-insulin antibodies interference in the Siemens Immulite chemiluminescent insulin immuno-assay. *Clinica Chimica Acta* 425, str. 186–187. DOI: [10.1016/j.cca.2013.08.001](https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.08.001).
- Jackson R.D., Wortsman J., Malarkey W.B. 1985. Macroprolactinemia presenting like a pituitary tumor. *The American Journal of Medicine* 78(2), str. 346–350. DOI: [10.1016/0002-9343\(85\)90448-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(85)90448-6).
- Jeske W. 2008. Przyczyny rozbieżności wyników oznaczeń prolaktyny i powody prawdziwej albo pozornej niezgodności ze stanem klinicznym. *Endokrynologia Polska* 59(1), str. 30–32.
- Jimenez-Anon L., Barallat J., Regidor D., Urgell E., Dolade M., Granada M.L. 2021. Assessment of intraindividual agreement in prolactin results after post-polyethylene glycol precipitation test for the estimation of macroprolactin. Should the precipitation procedure be repeated in the same patient? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 59(1), str. e27–e29. DOI: [10.1515/cclm-2020-0858](https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0858).
- Kanonidou C., Mc Neilly J., Srivastava R. 2018. Macrohormones: bigger isn't always better. *Endocrine Abstracts* 59(41), nr postera: EP41. DOI: [10.1530/endoabs.59.EP41](https://doi.org/10.1530/endoabs.59.EP41).
- Kavanagh L., McKenna T.J., Fahie-Wilson M.N., Gibney J., Smith T.P. 2006. Specificity and Clinical Utility of Methods for the Detection of Macroprolactin. *Clinical Chemistry* 52(7), str. 1366–1372. DOI: [10.1373/clinchem.2005.065854](https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.065854).
- Lamy P.J., Sault C., Renard E. 2016. High fasting serum insulin level due to autoantibody interference in insulin immunoassay discloses autoimmune insulin syndrome: a case report. *Annales de biologie Clinique* 74(4), str. 490–494. DOI: [10.1684/abc.2016.1168](https://doi.org/10.1684/abc.2016.1168).
- Landberg E., Wahlberg J., Rydén I., Arvidsson B.M. & Ekman B. 2007. Detection of molecular variants of prolactin in human serum, evaluation of a method based on ultrafiltration. *Clinica Chimica Acta* 376(1–2), str. 220–225. DOI: [10.1016/j.cca.2006.08.029](https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.08.029).
- Larsen C.B., Petersen E.R.B., Overgaard M., Bonnema S.J. 2021. Macro-TSH: A diagnostic challenge. *European Thyroid Journal* 10(1), str. 93–97. DOI: [10.1159/000509184](https://doi.org/10.1159/000509184).
- Lazarus J.H., John R., Ginsberg J., Hughes I.A., Shewring G., Smith B.R., Woodhead J.S., Hall R. 1983. Transient neonatal hyperthyrotrophinaemia: a serum abnormality due to transplacentally acquired antibody to thyroid stimulating hormone. *British Medical Journal (Clinical Research ed.)* 286(6365), str. 592–594. DOI: [10.1136/bmj.286.6365.592](https://doi.org/10.1136/bmj.286.6365.592).
- Leite V., Cosby H., Sobrinho L.G., Fresnoza A., Santos M.A., Frlesen H.G. 1992. Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinaemia. *Clinical Endocrinology* 37(4), str. 365–372. DOI: [10.1111/j.1365-2265.1992.tb02340.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1992.tb02340.x).
- Leslie H., Courtney C.H., Bell P.M., Hadden D.R., McCance D.R., Ellis P.K., Sheridan B., Atkinson A.B. 2001. Laboratory and Clinical Experience in 55 Patients with Macroprolactinemia Identified by a Simple Polyethylene Glycol Precipitation Method. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 86(6), str. 2743–2746. DOI: [10.1210/jcem.86.6.7521](https://doi.org/10.1210/jcem.86.6.7521).
- Loh T.P., Kao S.L., Halsall D.J., Toh S.A.E.S., Chan E., Ho S.C., Tai E.S., Khoo C.M. 2012. Macro-Thyrotropin: A case report and review of literature. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97(6), str. 1823–1828. DOI: [10.1210/jc.2011-3490](https://doi.org/10.1210/jc.2011-3490).
- Melmed S., Casanueva F.F., Hoffman A.R., Kleinberg D.L., Montori V.M., Schlechte J.A., Wass J.A.H. 2011. diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96(2), str. 273–288. DOI: [10.1210/jc.2010-1692](https://doi.org/10.1210/jc.2010-1692).
- Mendoza H., Connacher A., Srivastava R. 2009. Reminder of important clinical lesson: Unexplained high thyroid stimulating hormone: a „BIG” problem. *BMJ Case Reports*, nr artykułu: bcr0120091474. DOI: [10.1136/bcr.01.2009.1474](https://doi.org/10.1136/bcr.01.2009.1474).
- Mills F., Jeffery J., Mackenzie P., Cranfield A., Ayling R.M. 2013. An immunoglobulin G complexed form of thyroid-stimulating hormone (macro thyroid-stimulating hormone) is a cause of elevated serum thyroid-stimulating

- hormone concentration. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* 50(5), str. 416–420. DOI: [10.1177/0004563213476271](https://doi.org/10.1177/0004563213476271).
- Nguyen K.N., Langevin R.H., McPhaul M.J., Hashim I.A. 2021. Circulating macroprolactin exhibits molecular heterogeneity and is not exclusively an antibody complex. *Clinica Chimica Acta* 514, str. 90–95. DOI: [10.1016/j.cca.2020.12.018](https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.12.018).
- Ogura-Ochi K., Itoshima K., Kamada Y., Otsuka F. 2020. SAT-LB1 detection of serum macro-luteinizing hormone. *Journal of the Endocrine Society* 4(Suppl 1). DOI: [10.1210/jendso/bvaa046.2069](https://doi.org/10.1210/jendso/bvaa046.2069).
- Olukoga A.O. 2002. Macroprolactinemia is clinically important. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87(10), str. 4833–4834. DOI: [10.1210/jc.2002-020936](https://doi.org/10.1210/jc.2002-020936).
- Olukoga A.O., Kane J.W. 1999. Macroprolactinaemia: validation and application of the polyethylene glycol precipitation test and clinical characterization of the condition: Macroprolactinaemia. *Clinical Endocrinology* 51(1), str. 119–126. DOI: [10.1046/j.1365-2265.1999.00757.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.1999.00757.x).
- Overgaard M., Pedersen S.M. 2017. Serum prolactin revisited: parametric reference intervals and cross platform evaluation of polyethylene glycol precipitation-based methods for discrimination between hyperprolactinemia and macroprolactinemia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 55(11), str. 1744–1753. DOI: [10.1515/cclm-2016-0902](https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0902).
- Prazeres S., Santos M.A., Ferreira H.G., Sobrinho L.G. 2003. A practical method for the detection of macroprolactinaemia using ultrafiltration. *Clinical Endocrinology* 58(6), str. 686–690. DOI: [10.1046/j.1365-2265.2003.01721.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2003.01721.x).
- Prodan P., Nandoshvili E., Webster C., Shakher J. 2016. Asymptomatic elevated PTH level due to immunoassay interference resulting from Macro-PTH: a case report. *Endocrine Abstracts* 44, nr abstraktu CC4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1530/endoabs.44.CC4>.
- Quinn A.M., Rubinas T.C., Garbincius C.J., Holmes E.W. 2006. Determination of ultrafilterable prolactin: elimination of macroprolactin interference with a monomeric prolactin-selective sample pretreatment. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 130(12), str. 1807–1812. DOI: [10.5858/2006-130-1807-DOUPEO](https://doi.org/10.5858/2006-130-1807-DOUPEO).
- Sadideen H., Swaminathan R. 2006. Macroprolactin: What is it and what is its importance? *International Journal of Clinical Practice* 60(4), str. 457–461. DOI: [10.1111/j.1368-5031.2006.00732.x](https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2006.00732.x).
- Schiettecatte J., Schepper J.D., Velkeniers B., Smits J., Steirteghem A.V. 2001. Rapid detection of macroprolactin in the form of prolactin-immunoglobulin G complexes by immunoprecipitation with anti-human IgG-Agarose. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 39(12), str. 1244–1248. DOI: [10.1515/cclm.2001.200](https://doi.org/10.1515/cclm.2001.200).
- Sherazi N., Baig M.Z., Khan A.H., Khan A. 2018. Frequency of macroprolactin in hyperprolactinemia. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan* 28(2), str. 93–97. DOI: [10.29271/jcpsp.2018.02.93](https://doi.org/10.29271/jcpsp.2018.02.93).
- Sinha Y.N. 1995. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocrine Reviews* 16(3), str. 354–369. DOI: [10.1210/edrv-16-3-354](https://doi.org/10.1210/edrv-16-3-354).
- Smith T.P., Suliman A.M., Fahie-Wilson M.N., McKenna T.J. 2002. Gross variability in the detection of prolactin in sera containing big big prolactin (macroprolactin) by commercial immunoassays. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87(12), str. 5410–5415. DOI: [10.1210/jc.2001-011943](https://doi.org/10.1210/jc.2001-011943).
- Suh H.K., Frantz A.G. 1974. Size Heterogeneity of Human Prolactin in Plasma and Pituitary Extracts. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 39(5), str. 928–935. DOI: [10.1210/jcem-39-5-928](https://doi.org/10.1210/jcem-39-5-928).
- Suliman A.M., Smith T.P., Gibney J., McKenna T.J. 2003. Frequent Misdiagnosis and Mismanagement of Hyperprolactinemic Patients before the Introduction of Macroprolactin Screening: Application of a New Strict Laboratory Definition of Macroprolactinemia. *Clinical Chemistry* 49(9), str. 1504–1509. DOI: [10.1373/49.9.1504](https://doi.org/10.1373/49.9.1504).
- Sztefko K. 2006. *Wykłady monograficzne z diagnostyki laboratoryjnej. Cz. 1.* Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków.
- Umemori Y., Murai R., Asanuma K., Takahashi Y., Kuno Y., Saito T., Takahashi S. 2021. Luteinizing hormone (LH) formed a complex with an immunoglobulin G caused abnormally high levels of LH: A case report. *Clinical Biochemistry* 93, str. 33–35. DOI: [10.1016/j.clinbiochem.2021.03.010](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.03.010).
- Vallette-Kasic S., Morange-Ramos I., Selim A., Gunz G., Morange S., Enjalbert A., Martin P.M., Jaquet P., Brue T. 2002. Macroprolactinemia revisited: a study on 106 patients. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 87(2), str. 581–588. DOI: [10.1210/jcem.87.2.8272](https://doi.org/10.1210/jcem.87.2.8272).

- Vieira J.G.H., Nishida S.K., Faria de Camargo M.T., Hauache O.M., Monteiro de Barros Maciel R., Guimarães V. 2003. „MacroLH”: anomalous molecular form that behaves as a complex of luteinizing hormone (LH) and IgG in a patient with unexpectedly high LH values. *Clinical Chemistry* 49(12), str. 2104–2105. DOI: [10.1373/clinchem.2003.024992](https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.024992).
- Wallace I.R., Satti N., Courtney C.H., Leslie H., Bell P.M., Hunter S.J., McCance D.R., Sheridan B., Atkinson A.B. 2010. Ten-year clinical follow-up of a cohort of 51 patients with macroprolactinemia establishes it as a benign variant. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 95(7), str. 3268–3271. DOI: [10.1210/jc.2010-0114](https://doi.org/10.1210/jc.2010-0114).
- Webster R., Fahie-Wilson M., Barker P., Chatterjee V.K., Halsall D.J. 2010. Immunoglobulin interference in serum follicle-stimulating hormone assays: autoimmune and heterophilic antibody interference. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* 47(4), str. 386–389. DOI: [10.1258/acb.2010.010044](https://doi.org/10.1258/acb.2010.010044).
- Whitehead S., Cornes M., Ford C., Gama R. 2015. Reference ranges for serum total and monomeric prolactin for the current generation Abbott Architect assay. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* 52(1), str. 61–66. DOI: [10.1177/0004563214547779](https://doi.org/10.1177/0004563214547779).
- Yang W., Guo Z., Zhou Y., Du J., Liu H., Jia J., Shen Y., Chen Y. 2021. Optimization of a screening method for macroprolactinemia. *Journal of Chromatography B* 1175, nr artykułu: 122723. DOI: [10.1016/j.jchromb.2021.122723](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122723).
- Zungun C., Gungoren M., Laleli Y. 2019. *What if all is well except insulin: a macroinsulin case report*. Dostępne online: <https://bit.ly/3DOyYCU> (dostęp: 20.07.2021).

WPŁYW HISTAMINY NA PROCESY GOJENIA I WŁÓKNIENIA

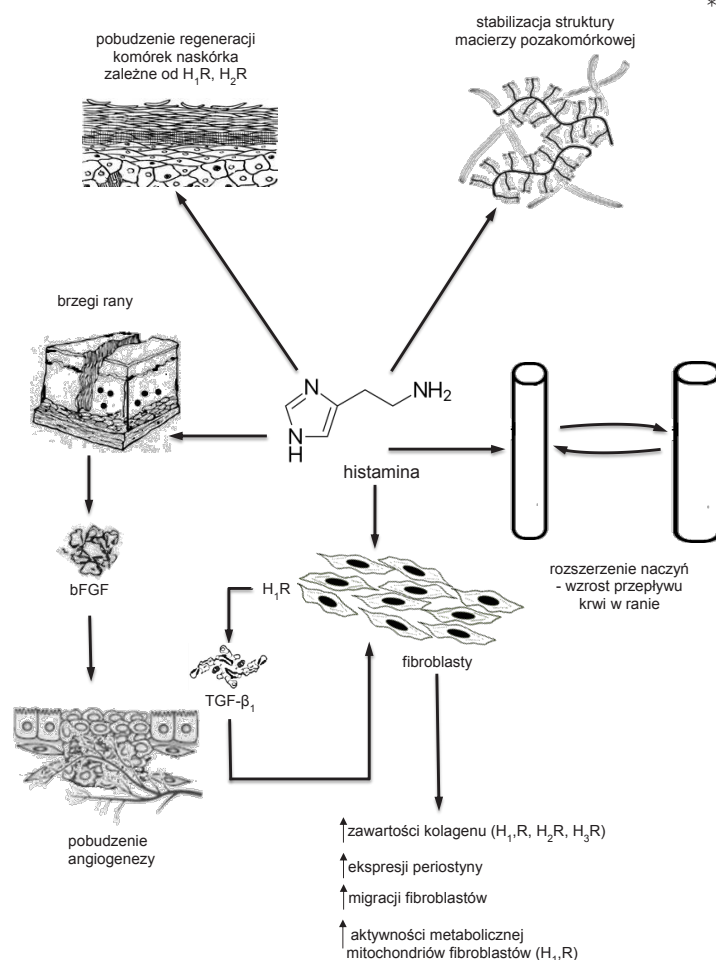
THE EFFECT OF HISTAMINE ON HEALING AND FIBROSIS

Monika Wolak¹ , Ewa Bojanowska¹ ,
Anna Krzywińska² , Jacek Drobnik^{2*} 

¹ Zakład Patofizjologii Behavioralnej, Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Żeligowskiego 7/9, Łódź; monika.wolak@umed.lodz.pl

² Zakład Patofizjologii, Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Żeligowskiego 7/9, Łódź

* drob@op.pl



Streszczenie: Odczyn zapalny w ranie wpływa na szybkość gojenia oraz określa jakość blizny. Histamina jest mediatorem zapalenia, który w istotny sposób wywiera regulacyjny wpływ na procesy gojenia i bliznowacenia. Liczne doniesienia pokazują znaczące nagromadzenie komórek tłuszczowych w ranie w różnych fazach procesu gojenia. Stwierdzono również wzrost poziomu histaminy w ranie. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach eksperymentalnych udowodniono, że histamina przyspiesza gojenie ran skórnych, zwiększa kolagenogenezę i podwyższa poziom glikoaminoglikanów. Działanie histaminy w procesach gojenia wiąże się z regulacją przepływu krwi przez ranę lub bezpośrednim działaniem histaminy na komórki rany poprzez pobudzenie receptorów błonowych głównie H1 i H2. W badaniach przeprowadzonych na miofibroblastach pobranych z ran powierzchniowych udowodniono, że histamina zwiększa aktywność metaboliczną komórek, podwyższa poziom kolagenu oraz zwiększa poziom transformującego czynnika wzrostu $\beta 1$ (TGF $\beta 1$). Udowodniono zależny od histaminy wzrost stężenia zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF) w brzegach rany. W hodowlach miofibroblastów pobranych z blizny pozawałowej zwiększenie poziomu kolagenu przez histaminę jest zależne od receptorów H3. Histamina stabilizuje strukturę kolagenu oraz kompleksów kolagen – glikoaminoglikany, wpływa na angiogenezę oraz migrację i proliferację komórek w ranie.

Histamina wywiera regulacyjny wpływ na gojenie ran, modyfikując, zależnie od dawki syntezę macierzy pozakomórkowej w ziarninie, angiogenezę, migrację i proliferację komórek w ranie. Efekt histaminy jest zależny od pobudzenia receptorów błonowych. Najlepiej udokumentowany jest udział receptorów H1, H2 i H3 w regulacji procesów gojenia. Pod wpływem histaminy wydzielane są czynniki wzrostu (TGF $\beta 1$, bFGF) i periostyna, które mogą modyfikować procesy gojenia.

Słowa kluczowe: fibroblasty, glikoaminoglikany, kolagen, komórki tłuszczowe, włóknienie

Abstract: Tissue repair and the quality of the scar depend on the inflammatory process. Both healing and scar formation are mediated by histamine. The repair process is characterized by mast cell accumulation and histamine augmentation within the wound. Histamine accelerated healing, increased collagenogenesis and augmented glycosaminoglycan accumulation. Histamine itself influences vasodilatation and increases blood flow to the wound or has direct effects on the fibroblasts within the wound. These effects are dependent on the activation of both H1 and H2 histamine receptors. In myofibroblasts isolated from wound granulation tissue, histamine increased cell metabolic activity, augmented collagen level within the culture and stimulated secretion of transforming growth factor β 1 (TGF β 1); it also accelerated basic fibroblast growth factor (bFGF) release. In a culture of myofibroblasts derived from myocardial infarction scar, histamine increased collagen level by stimulation of H3 receptors. Histamine was also observed to stabilize both the collagen molecule and collagen-glycosaminoglycan complexes, and to accelerate angiogenesis, migration and cell proliferation within the wound.

Conclusion: Histamine exerts a regulatory action on the extracellular matrix synthesis, angiogenesis, cell migration and proliferation within the wound. The effects are mainly dependent on the activation of H1 and H2 receptors. Histamine-dependent effects may be mediated by growth factors (bFGF and TGF β 1) and periostin.

Keywords: collagen, fibroblasts, fibrosis, glycosaminoglycans, mast cells

Wprowadzenie

Gojenie się ran jest procesem mającym na celu przywrócenie ciągłości uszkodzonego narządu poprzez wytworzenie blizny. Proces ten składa się z kilku nakładających się na siebie faz: hemostazy, zapalenia, migracji i proliferacji komórek, syntezy białek oraz przebudowy i obkurczenia rany.

Hemostaza jest odpowiedzialna za wytworzenie skrzepu i zahamowanie krwawienia. Skrzep stanowi jednocześnie naturalny opatrunek chroniący ranę przed wpływem środowiska zewnętrznego, zapewniający zranionej powierzchni odpowiednią wilgotność i temperaturę. Obkurczanie naczyń krwionośnych, tworzenie sieci fibrynowej oraz adhezja, agregacja i sekrecja płytek są podstawowymi mechanizmami hamowania krwawienia. Płytki krwi wydzielają czynniki wzrostu, takie jak płytkopochodny czynnik wzrostu (ang. *platelet derived growth factor*, PDGF), transformujący czynnik wzrostu α i $\beta 1$ (TGF α i TGF $\beta 1$, ang. *transforming growth factor α* i *transforming growth factor $\beta 1$*), czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *fibroblast growth factor*, FGF) czynnik wzrostu naskórka (ang. *epidermal growth factor*, EGF) i inne. Zatem płytki krwi wywierają korzystny wpływ i przyspieszają gojenie. Spolimeryzowana sieć fibrynowa połączona z fibronektyną stabilizuje czop płytkowy (Grinnell i in., 1981). Sieć fibrynowo-fibronektynowa tworzy prowizoryczną macierz komórkową będącą rusztowaniem dla migrujących w ranie komórek. Wędrujące komórki przylegają do włókien fibronektyny (Grinnell i in., 1984). Upośledzenie polimeryzacji fibryny jest obserwowane w zespole braku czynnika XIII i wiąże się z zaburzeniem adhezji komórek i chemotaksji, co zatem prowadzi do zahamowania gojenia (Fukai i in., 1991). Proces formowania skrzepu może być modyfikowany przez tryptazę wydzielaną przez komórki tuczne. Enzym ten hamuje krzepnięcie krwi. Z drugiej strony stwierdzono wpływ komórek tucznych na zwiększenie ekspresji czynnika krzepnięcia XIIIa w dendrocytach skóry (Artuc i in., 1991).

Proces zapalny jest miejscową reakcją obronną obejmującą zmiany w mikrokrążeniu i rekrutację komórek mezenchymy. Głównym celem zapalenia jest dostarczenie komórek zapalnych do miejsca uszkodzenia. Czynniki inicjujące proces zapalny są uwalniane z martwych komórek. Pochodzą one z jądra komórkowego, mitochondriów, cytozolu i macierzy pozakomórkowej. Należą do nich jądrowy lub mitochondrialny DNA, RNA, histony, białko szoku cieplnego, białko S100, kwas hialuronowy, versican, biglikan, siarczan heparanu (Mack, 2018). Czynniki te, określane jako DAMP (ang. *danger associated molecular patterns*), łączą się z grupą receptorów PRR (ang. *pattern recognition receptors*). Do receptorów PRR zaliczamy: TLR (ang. *tool-like receptors*), NLR (ang. *NOD-like receptors*), RLR (ang. *retinoid acid inducible gene-like receptors*) i CLR (ang. *cell-type lectin receptors*). DAMP aktywują komórki układu immunologicznego (Lundberg i Gerdin, 1984). Czynniki uwalniane z uszkodzonych komórek, określane jako alarminy (defenzyny, katelicydyny, cytokiny IL-1 α , IL-33), indukują migrację monocytów i granulocytów do obszaru rany. Migracja komórek do rany jest poprzedzona ekspresją cząsteczek adhezyjnych na powierzchni zapalnie zmienionego śródbłonna. Po tym etapie obserwujemy zależne od selektyn toczenie się leukocytów po powierzchni śródbłonna. Po zatrzymaniu się komórki następuje wydzielanie chemokin, które są odpowiedzialne za aktywację integryn pośredniczących w ścisłej adhezji. W ostatnim etapie komórka przedostaje się przez barierę śródbłokową (transmigracja), a następnie przesuwa się w kierunku wzrastającego stężenia chemoatraktantów. Jako pierwsze w ranie pojawiają się po 24 godzinach neutrofile i mogą pozostawać w niej 2–5 dni. Monocyty napływają do rany 3 dni po zranieniu i ulegają tam transformacji do makrofagów. Makrofagi i neutrofile rozpoczynają fagocytozę bakterii i uszkodzonych części komórek (Ellis i in., 2018). Mogą one wydzielać również do środowiska rany metaloproteinazy (kolagenazy i elastazy) (Hartney i in., 2011; Nwomeh i in., 1999). Makrofagi są komórkami plastycznymi i pod wpływem sygnału płynącego ze środowiska rany mogą ulegać przemianom fenotypowym. Transformacja makrofagów z typu M1 do M2 charakterystyczna jest dla zakończenia fazy zapalnej i przejście do procesu odbudowy (Rosenkilde i Schwartz, 2004). W przypadku przewlekłego odczynu zapalnego obserwujemy niszczenie czynników wzrostu przez enzymy proteolityczne. Skutkuje to zahamowaniem procesu gojenia (Xu i in., 2019). Limfocyty T CD4 i CD8 przedostają się do rany i osiągają największą gęstość w 5–7 dniu po zranieniu (Ellis i in., 2018). Komórki te są źródłem licznych cytokin (IL-1, IL-2, TNF- α , fibroblast activating factor, EGF, TGF- $\beta 1$), (Lucas i in., 2010; Minchenko i in., 1994; Mottl-Link i in., 1998; Patel i in., 1994). Limfocyty

T oraz makrofagi wydzielają cytokiny pełniące istotną rolę w regulacji procesów gojenia (Peterson i in., 1984; Kohyama i in., 2010). Badania eksperymentalne pokazały, że niedobór makrofagów lub limfocytów T w środowisku rany powodował zahamowanie gojenia, natomiast brak neutrofilii nie zmieniał tempa procesów gojenia. Komórki zapalne eliminowane są z rany poprzez apoptozę.

W fazie migracji i proliferacji komórek zachodzą trzy istotne procesy: tworzenie ziarniny w ranie (fibroblasty/miofibroblasty), angiogeneza (komórki śródbłonna) oraz reepitelializacja (komórki śródbłonna).

Na skutek narastającej hipoksji, kwasicy oraz wysokiego poziomu kwasu mlekowego rozpoczyna się napływ komórek śródbłonna do rany i proces angiogenezy. Proces ten rozpoczyna się w 2 dniu po zranieniu i wiąże się ze spadkiem stężenia w środowisku rany czynnika angiostatycznego IP10 (Rosenkilde i Schwartz, 2004).

W 4 dniu gojenia do rany napływają również fibroblasty. Prowizoryczna macierz jest rusztowaniem ułatwiającym proces migracji komórek. Fibroblasty, pod wpływem wydzielanego przez makrofagi TGF- β 1 (ang. transforming growth factor- β 1), ulegają transformacji fenotypowej do miofibroblastów (Roberts i in., 1986). Są to komórki zawierające α -SMA (ang. α -smooth muscle actin) wbudowaną do aktywno-miozynowych włókien ułożonych równolegle do błony komórkowej. Komórki te syntetyzują kolagen oraz są odpowiedzialne za obkurczanie ran (Ehanire i in., 2015). Orientacja komórek w bliźnie jest istotnym czynnikiem określającym jej oporność mechaniczną (Blankesteyn i in., 1997). W ranach skórnych miofibroblasty ulegają apoptozie już w 4 tygodniu gojenia. Natomiast w bliznach po zawale serca komórki te spotykane były nawet po 17 latach.

W miarę zwiększania się liczby komórek w ranie zwiększa się synteza kolagenu, proteoglikanów, fibronektyny, lamininy lub innych białek macierzy komórkowej. Głównym źródłem kolagenu w ranie są fibroblasty lub miofibroblasty. W bliźnie dominują dwa typy kolagenu tworzącego włókna: I i III oraz nie tworzący włókien kolagen typu IV.

Proces syntezy kolagenu jest regulowany przez czynniki zapalne. Komórki Th-2 wydzielają trzy cytokiny odpowiedzialne za proces włóknienia: IL-4, IL-5 i IL-13. Natomiast cytokiny wydzielane przez komórki Th1 – interferon- γ i IL-12 – hamują włóknienie. Wydzielana przez te komórki TNF- α ma działanie profibrotyczne (Marone i in., 2016; Oldroyd i in., 1997). Twardość podłoża fibroblastów jest również istotnym czynnikiem wpływającym na sekrecję IL-6, interleukiny odpowiedzialnej za regulację procesu włóknienia. Zjawisko to jest zależne od integryny α 2 β 1 oraz kinazy Src (Gałdyszyńska i in., 2020).

Regulacja procesu transkrypcji kolagenu warunkowana jest przez TGF- β 1, który działa przez receptory na powierzchni komórek. Do jądra komórkowego sygnał przekazywany jest przez białka R-Smad, Smad2 i Smad3. Białka R-Smad są fosforylowane, a po wytworzeniu heterodimerów przedostają się do jądra komórkowego i wiążą się z DNA. Sekwencja wiążąca Smad - CAGA znajduje się w promotorach genów różnych typów kolagenu (COL1A1, COL3A1, COL5A1, COL6A1, COL6A3) (Mack, 2018; Ellis i in., 2003). Alternatywnym szlakiem sygnałowym dla TGF- β jest szlak sygnałowy zależny od MAPK (ang. mitogen-activated protein kinase) (Mu i in., 2012). Nadmierna metylacja promotora genów COL1A1 i COL1A2 zmniejsza ich ekspresję (Rhodes i in., 1994). Istotne znaczenie mają również modyfikacja białek histonowych oraz niekodujące RNA (Mack, 2018). Wcześniejsze badania ujawniły istnienie 18 miRNA hamujących włóknienie oraz 16 miRNA przyspieszających ten proces w sercu, płucach, wątrobie i nerkach (Vettori i in., 2012). Większa stabilność kolagenowego mRNA jest również związana z jego większą ekspresją (Mack, 2018). Po syntezie na rybosomach białko kolagenowe ulega postranslacyjnym modyfikacjom, takim jak hydroksylacja lizyny i proliny oraz glikozylacja. Procesy hydroksylacji są zależne od witaminy C, α -ketoglutaranu, Fe²⁺ i tlenu. Procesy hydroksylacji zwiększają stabilność kolagenu, która wyraża się wzrostem temperatury topnienia tego białka. Trzy łańcuchy polipeptydowe skręcają się spontanicznie w α -helisę tworzącą tropokolagen. Po wydzieleniu cząsteczki tropokolagenu na zewnątrz komórki następuje odcięcie telopeptydów za pośrednictwem endopeptydazy. Lizyna i hydroksylizyna ulega oksydacyjnej dezaminacji przy pomocy oksydazy lizylowej, co prowadzi do powstania aldehydu lizyny i hydroksylizyny, które spontanicznie kondensują z innymi grupami aldehydowymi lub aminowymi. To z kolei powoduje powstanie wiązań kowalencyjnych pomiędzy cząsteczkami kolagenu. Wiązania te stabilizują włókna kolagenowe,

zmniejszają rozpuszczalność tego białka oraz jego podatność na działanie enzymów proteolitycznych (Mack, 2018).

Obok kolagenu w ranie syntetyzowane są również proteoglikany i glikozoaminoglikany. W ranach skórnych maksymalne stężenie glikozoaminoglikanów osiągnięte jest w 8 tygodniu po zranieniu, po czym poziom tych związków spada (Drobnik i in., 2017). Podobne zjawisko widoczne jest w bliznie po zawale serca (Drobnik i in., 2004). Glikozoaminoglikany warunkują gospodarkę wodno-elektrolitową, determinują działanie czynników wzrostu oraz wpływają na ekspresję genów.

Przebudowa rany wiąże się ze zmniejszeniem liczby komórek w bliznie, lepszym uporządkowaniem włókien kolagenowych, wytworzeniem większej liczby wiązań poprzecznych we włóknach białka kolagenowego i w ten sposób zwiększeniem oporności blizny na zerwanie (Takemura i in., 1998). Zmniejsza się również poziom glikozoaminoglikanów w ranie i jej uwodnienie. W efekcie przebudowy dominuje I typ kolagenu (Gantus i in., 2004). W trakcie przebudowy obserwujemy katabolizm przypadkowo ułożonych włókien kolagenowych i syntezę nowych, lepiej usieciowanych i uporządkowanych. W rozpadzie kolagenu uczestniczą metaloproteiny macierzy (ang. matrix metalloproteinases, MMP), których aktywność jest kontrolowana przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz macierzy międzykomórkowej (ang. tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP) (Arpino i in., 2004). Ponadto w rozpadzie kolagenu uczestniczą adamalizyny (dezintegryny i metaloproteiny), katepsyny, meprina oraz plazmina. Fragmenty kolagenu powstałe na skutek jego proteolizy mogą mieć działanie biologiczne (matrykiny) (Mack, 2018). Przykładami są endostatyna pochodząca z kolagenu XVIII i endotrofina pochodząca z łańcucha $\alpha 3$ kolagenu VI (Lundberg i Gerdin, 2004).

Obkurczanie ran wiąże się ze zbliżaniem brzegów rany do siebie. Odbywa się to z prędkością 0,6–0,7 mm/dziennie. Proces ten jest zależny głównie od miofibroblastów ziarniny ran (Ellis i in., 2018).

Komórki tuczne w ranach

Mastocyty (komórki tuczne) syntetyzują de novo liczne mediatory, które gromadzą, a następnie pod wpływem bodźca wydzielają do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Komórki te odgrywają istotną rolę w nadwrażliwości typu I (Shiota i in., 2010), zapaleniu (McLachlan i in., 2001) oraz pełnią funkcję obronną skierowaną przeciwko patogenowi (Maurer i in., 2003). Uczestniczą również w regulacji wielu procesów w warunkach fizjologicznych (Maurer i in., 2003; Wichmann, 1955). Ponadto mastocyty kontrolują proces gojenia ran oraz włóknienia narządów (Oskeritzian, 2012). Komórki te mogą ulegać degranulacji pod wpływem bodźców zależnych od IgE i niezależnych od IgE aktywatorów oraz cytokin (Brzezińska-Błaszczak i in., 1987). Ziarnistości mastocytów uwalniają głównie histaminę, proteoglikany, tryptazę, chymazę, NGF (ang. nerve growth factor), TNF- α (ang. tumor necrosis factor- α) oraz mediatory lipidowe syntetyzowane de novo, takie jak prostaglandyny, leukotrieny i czynnik aktywujący płytki (Brzezińska-Błaszczak i in., 1987; Claman, 1990).

Podczas procesu włóknienia oraz gojenia zaobserwowano znaczący wzrost komórek tucznych w tkance. Zjawisko to wiąże się ze wzrostem poziomu histaminy (Claman, 1990; Atkins i Clark 1987; Wichmann, 1955; Gruber i in., 1997; Hebda i in., 1993; Levi-Schaffer i Rubinchik, 1995; Papp i in., 2005; Seibold i in., 1990). El Sayed i Dyson (1993) stwierdzili spadek liczby komórek tucznych w zranionej skórze w czasie 2 godzin po zranieniu. Liczba tych komórek rosła, począwszy od szesnastej aż do siedemdziesiątej drugiej godziny gojenia. Autorzy postawili hipotezę, że spadek gęstości mastocytów na bardzo wczesnym etapie gojenia jest względny i może wynikać z obrzęku tkanki. Komórki tuczne ulegają znaczącej degranulacji już na początku procesu gojenia (Tellechea i in., 2016). Degranulacja mastocytów rozpoczęła się w pół godziny po zranieniu i osiągała wysokie wartości w 2 i 8 godzinie, a następnie zmniejszała się w 72 godzinie (el Sayed i Dyson, 1993). W 7 dniu gojenia ran ostrych stwierdzono spadek liczby komórek tucznych zawierających chymazę o 63%. Natomiast w owrzodzeniach żylnych obserwowano znacznie większą liczbę komórek tucznych w okolicy brzegów niż w dniu rany. Ponadto w ranach ostrych stwierdzono niską zawartość IL-4 i TNF- α w komórkach tucznych. W ranach przewlekłych (owrzodzenie żyłne goleni) nie wykryto IL-4 w mastocytach. Nieliczne

komórki tuczne zawierające TNF- α występowały zaś w skórze w brzegach ran przewlekłych (Huttunen i in., 2000). W uszkodzonym ścięgnie Achillesa stwierdzono również zwiększoną liczbę zdegranulowanych komórek tucznych w porównaniu ze ścięgnem nieuszkodzonym (Alim i in., 2017).

W bliznach zaobserwowano spadek liczby komórek tucznych zawierających chymazę i tryptazę. Stare blizny w czasie 36–369 dni po zabiegu chirurgicznym zawierały zwiększoną liczbę mastocytów z tryptazą w porównaniu ze świeżymi bliznami powstałymi do 36 dnia po zranieniu (Hermes i in., 1997). Mediatory komórek tucznych pobudzają proliferację, migrację komórek oraz zwiększają syntezę macierzy zewnątrzkomórkowej w fibroblastach (Artuc i in., 1999; Hatamochi i in., 1991).

Nadmierne gromadzenie i degranulację mastocytów wykazano również w późniejszych etapach gojenia podczas fazy migracji i proliferacji komórek oraz przebudowy (Schneider i Seifert, 2017). U myszy zaobserwowano znaczącą akumulację komórek tucznych w brzegach rany pomiędzy 14 a 21 dniem gojenia. Poziom chymazy w ranie był niski tuż po zranieniu i wzrastał dopiero między 14 a 21 dniem reparacji.

U myszy cukrzycowych z deficytem komórek tucznych KitW/KitW-v gojenie ran od 5 do 10 dnia po zranieniu było opóźnione. Natomiast substancja P (SP) nie powodowała przyśpieszenia procesu gojenia u tych zwierząt w przeciwieństwie do efektu tej substancji podanej myszom typu dzikiego. Fakt ten świadczy o tym, że działanie SP na rany jest zależne od komórek tucznych oraz dowodzi regulacyjnego wpływu tych komórek w procesie gojenia. U myszy z niedoborem komórek tucznych (KitW/KitW-v) zaobserwowano zahamowanie angiogenezy oraz spowolnienie proliferacji komórek na brzegach rany. Mediatory komórek tucznych mogą również stymulować angiogenezę lub lymphangiogenezę (Marone i in., 2016). Podobnie u myszy bez komórek tucznych KitW-sh/KitW-sh stwierdzono upośledzenie gojenia od 1 do 10 dnia po zranieniu. Myszy te (KitW-sh/KitW-sh) wytworzyły mniej tkanki ziarnistej w ranie. W przeciwieństwie do poprzednich zwierząt (KitW/KitW-v) myszy te (KitW-sh/KitW-sh) były pozbawione komórek tucznych, ale posiadały prawidłowy poziom komórek hematopoetycznych i limfoidalnych (Tellechea i in., 2016).

Liczba miofibroblastów w tkance jest proporcjonalna do zawartości mastocytów. Zjawisko to zaobserwowano w ranach (Gailit i in., 2001). Obserwacja ta sugeruje, że mediatory komórek tucznych mogą uczestniczyć w transformacji fibroblastów w miofibroblasty. Stwierdzono, że lizat mastocytów, histamina oraz tryptaza zwiększały ekspresję α -aktyny mięśniówki gładkiej w fibroblastach. Głównym czynnikiem odpowiedzialnym za transformację jest tryptaza (Gailit i in., 2001). Zwiększenie liczby komórek tucznych w ranie na skutek stosowania CLDD (ang. *cross-linked diethylaminoethyl dextran*) powodowało wzrost oporności mechanicznej powstałej blizny (Sasaki i in., 2003). Komórki tuczne również pobudzają proliferację i migrację komórek macierzystych, proces ten jest zależny od aktywacji PDGF (ang. *platelet derived growth factor*) i hamowania mi-R145/143 (Nazari i in., 2016). Komórki tuczne hodowane w kokulturze z fibroblastami przyśpieszają ich migrację (Levi-Schaffer i Rubinchik, 1995). Lizat komórek tucznych dodany do hodowli fibroblastów skórnych pobudza ich proliferację, zwiększa syntezę kolagenu oraz przyspiesza obkurczanie żelu kolagenowego przez hodowane w nim fibroblasty (Garbuzenko i in., 2002).

U szczurów aplikacja stabilizatora komórek tucznych, kromoglikanu dwusodowego powodowała zahamowanie gojenia ran okrągłych od 3 do 14 dnia po zranieniu oraz zmniejszenie poziomu białka kolagenowego w 10 i 14 dniu gojenia. Zatem stabilizacja komórek tucznych hamuje wczesne i późne etapy gojenia ran (Dabrowski i Drobnik, 1990). W eksperymentach przeprowadzonych in vitro dodanie lizatu komórek tucznych do hodowli miofibroblastów pobranych z blizny pozawałowej serca w sposób istotny statystycznie podwyższało poziom białka kolagenowego w hodowli. Wzrost zawartości kolagenu w hodowli pod wpływem homogenatu mastocytów był znacząco większy w porównaniu z efektem samej histaminy (Piera i in., 2019).

W bliźnie pozawałowej Frangogianis i in. (2008) zaobserwowali, że komórki tuczne gromadzą się głównie w miejscach zwiększonej akumulacji kolagenu. Gęstość mastocytów znacząco rośnie po zawale serca. W 21 dniu po zawale liczba komórek tucznych zwiększa się nawet do 21/mm² w okolicy przylegającej do nasierdzia. Może to świadczyć o tym, że mastocyty mogą brać udział w regulacji procesów gojenia zawału serca nawet w późnych etapach jego gojenia (Engels i in., 1995). Natomiast Kwon i in. (2011) opisali dokładne zmiany liczby mastocytów w bliźnie pozawałowej. W 1 dniu po

zawale wywołanym przez niedokrwienie i reperfuzję wystąpił znaczący wzrost liczby mastocytów (pierwsze maksimum), a następnie liczba tych komórek zmniejszała się w polu zawału i osiągała minimum w 7 dniu gojenia. Ponowny wzrost liczby komórek tucznych stwierdzono w 21–28 dniu po zawale (drugie maksimum). Podanie ziarnistości izolowanych z komórek tucznych myszom po zawale serca pobudzało migrację kardiomiocytów oraz komórek śródbłonna. U zwierząt traktowanych ziarnistościami komórek tucznych obserwowano większą gęstość kapilar naczyńiowych w obszarze zawału. Ponadto stwierdzono, że ziarnistości komórek tucznych zwiększały zawartość makrofagów w obszarze gojenia zawału. W grupie zwierząt, którym wstrzykiwano ziarnistości komórek tucznych, stwierdzono również mniejszą apoptozę kardiomiocytów w warunkach hipoksji (Kwon i in., 2011). U myszy z deficytem komórek tucznych (KitW/KitW-v) zauważono większą ekspansję blizny po zawale, zmniejszenie proliferacji komórek zawierających α -aktynę komórek mięśniowych gładkich oraz redukcją liczby CD31-pozytywnych naczyń krwionośnych. U zwierząt tych stwierdzono również mniejszą liczbę fibroblastów i miofibroblastów w obszarze zawału (Cimini i in., 2007; Shao i in., 2015; Wolak i in., 2017). Zmniejszoną proliferację fibroblastów zaobserwowano też u myszy z deficytem komórek tucznych (Seibold i in., 1990). Fibroblasty pobrane z tych zwierząt słabiej obkurczały żel kolagenowy (Shao i in., 2015). U myszy pozawałowych pozbawionych komórek tucznych stwierdzono ścięćczenie ścian żywego miokardium. Zjawisku temu towarzyszyło znaczne powiększenie komory oraz wyższy poziom kolagenu w żywej ścianie serca (Ayach i in., 2007).

U zarodków myszy w 16 dniu po zapłodnieniu uwidoczono w skórze niewielką liczbę komórek tucznych, słabiej dojrzałych i nie ulegających degranulacji pod wpływem zranienia. Rany takie goiły się bez wytworzenia blizny. W 15 dniu rozwoju zarodka dodanie do rany zawiesiny ziarnistości komórek tucznych powodowało gojenie prowadzące do powstania blizny. W późniejszym okresie rozwoju zarodkowego gojenie zwykle przebiegało z wytworzeniem blizn. Blizny te były jednak mniejsze u myszy z deficytem komórek tucznych (KitW/KitW-v).

Stymulowanie mastocytów przez dodanie IgE powodowało wzrost proliferacji fibroblastów hodowanych w kokulturze. Natomiast w warunkach tych nie stwierdzano zmian poziomu białka kolagenowego (Marone i in., 2016).

Rola histaminy w procesach gojenia

Histamina jest heterocykliczną aminą pochodną imidazolu, syntetyzowaną w procesie dekarboksylacji histydyny. Amina ta występuje w postaci tautomerów i jest magazynowana głównie w ziarnistościach komórek tucznych w kompleksie z cynkiem oraz heparyną. Głównym źródłem histaminy u człowieka są komórki tuczne i bazofile (Abe i in., 2002), ale amina ta może być również wytwarzana w niewielkich ilościach przez granulocyty, makrofagi, limfocyty, płytki krwi, neurony, błonę śluzową żołądka, nerki oraz szybko rosnące tkanki (Borriello i in., 2002; Endo i in., 1997; Hunyady i in., 1998; Kahlson i Zederfeldt, 1960; Scammell i in., 2019). Działanie histaminy zależne jest od 4 receptorów: H1, H2, H3 i H4 (Shao i in., 2015).

W szybko rosnących tkankach wykryto wysoki poziom histaminy przekraczający nawet kilkadziesiąt razy poziom podstawowy tej aminy. Spostrzeżenie to dotyczy również ziarniny ran, w której poziom histaminy jest kilkadziesiąt razy wyższy niż w tkankach nieuszkodzonych (Kahlson i in., 1960). W oparciu o te obserwacje Kahlson wprowadził pojęcie histamine forming capacity (HFC), które dotyczy zdolności tworzenia dużych ilości histaminy przez szybko rosnące tkanki. Koncepcja ta zakłada znaczącą rolę histaminy w procesach wzrostu i proliferacji komórek istotnych podczas gojenia ran. W ranach oparzeniowych stwierdzono wzrost poziomu histaminy w 2 godzinie po zranieniu, później poziom ten spadał do 12 godziny, a następnie obserwowano wzrost stężenia badanej aminy w 24 godzinie gojenia. Płyn pozakomórkowy uzyskano metodą mikrodializy rany (Papp i in., 2005). W krwi pobranej z rany pacjentów po artroplastyce stawu biodrowego stwierdzono wysoki poziom histaminy (Kwon i in., 2011). W ranach wątroby obserwowano wzrost poziomu histaminy po 12 godzinach od zranienia (Kampmann i in., 1980). Podobny efekt uwidoczono w ranach skórnych królików (Bairy i in., 1991). U pacjentów po tyreoidotomii wysoki poziom histaminy w ranie pooperacyjnej korelował

z szybszym gojeniem ran, natomiast gdy zawartość aminy w ranie była niska, proces gojenia był wolniejszy (Arai i in., 2012). Wzrost stężenia histaminy we krwi wykazano już po 15 minucie po zranieniu bodźcem termicznym (Devereux i in., 1978).

Stwierdzenie wzrostu poziomu histaminy w ranach pozwoliło postawić hipotezę, że amina ta może wywierać regulacyjny wpływ na procesy reparacyjne. Celem sprawdzenia hipotezy podawano egzogenną histaminę do rany lub wstrzykiwano liberatory histaminy, tj. związki zwiększające uwalnianie tej aminy. Działanie egzogennej histaminy jest uzależnione od jej dawki. Małe dawki histaminy powodowały wcześniejszy wzrost syntezy kolagenu i dwukrotnie wyższy poziom tego białka w ranie w porównaniu z kontrolą. W 14 dniu gojenia histamina nie wpływała na zawartość kolagenu w ranie jednak poziom kolagenu rozpuszczalnego był wysoki. Fakt ten może świadczyć o modyfikacji polimeryzacji lub rozpadu białka przez histaminę. Podobny efekt był widoczny po podaniu liberatora histaminy – substancji 48/80 (Dąbrowski i Maśliński, 1970). W związku z tym, że mimo modyfikacji poziomu kolagenu nie zmieniała się powierzchnia rany, zauważono brak korelacji między szybkością syntezy kolagenu a zmniejszaniem powierzchni rany (Dąbrowski, 1981). Histamina zwiększała również poziom kolagenu w hodowli fibroblastów pochodzących z keloidu (Kikuchi, i in., 1995). Natomiast stosowanie wysokich dawek histaminy (5 mg/kg) zmniejszało poziom kolagenu całkowitego w ranie, hamowało jego polimeryzację oraz obniżało poziom glikozoaminoglikanów w ziarninie ran. Stwierdzono też obniżenie siarczanów chondroityny, siarczanu dermatanu oraz kwasu hialuronowego (Dąbrowski i in., 1977).

Stosowanie liberatora histaminy substancji 48/80 zwiększało poziom kolagenu w ranach oraz oporność ran na rozerwanie (Dąbrowski i in., 1975). W doświadczeniach z liberatorami histaminy uzyskano pozytywną korelację pomiędzy wzrostem poziomu białka kolagenowego a zmniejszaniem się pola powierzchni rany okrągłej (Dąbrowski i in., 1975; Dąbrowski, 1981).

W ranach ciętych u szczurów traktowanych liberatorem histaminy (48/80) stwierdzono większą zawartość kolagenu w ranie oraz większą oporność rany na rozerwanie. Natomiast podanie inhibitora dekarboksylazy histydyny (4-imidazolyl-3-amino-2-butanone) obniżało poziom białka kolagenowego oraz zmniejszało oporność rany na rozerwanie (Fitzpatrick i Fisher, 1982). Podobne wyniki uzyskali również inni autorzy (Bairy i in., 1991). U zranionych myszy oporność rany na rozerwanie zwiększała się pod wpływem histaminy podanej razem z substancją 48/80. Wstrzykiwanie oddzielnie obydwu substancji było nieefektywne (Yang i in., 2014). Regeneracja uszkodzenia naskórka u myszy bezwłosych hamowana była przez histaminę i jej liberator (48/80) (Ashida i in., 2001). Dodanie histaminy do hodowli fibroblastów zwiększało migrację komórek (Bairy i in., 1991). Potwierdzono również stymulujący wpływ histaminy na fibroblasty uzyskane z błony śluzowej nosa (Hong i in., 2015).

Mechanizm działania histaminy nie jest jasny. Dąbrowski (1981) postuluje możliwość działania histaminy bezpośrednio na komórki syntetyzujące kolagen oraz odpowiedzialne za obkurczanie ran (miofibroblasty) lub modyfikowanie przez badaną aminę przepływu krwi przez ranę. Indukowana przez histaminę zmiana przepływu krwi przez ziarninę może wtórnie wpływać na gojenie. Wyniki prac eksperymentalnych potwierdzają wpływ histaminy na regulację przepływu krwi w ranie. Stosowanie histaminy na skórne rany okrągłe pokazało wzrost przepływu krwi przez ziarninę rany o 36% (Lucas i in., 2010). Efekt ten nie był modyfikowany przez inhibitory receptorów histaminowych H1 i H2 (Ashida i in., 2001). Podanie agonisty receptora histaminowego H3 – imetitu – powodowało większe ukrwienia ran oparzeniowych, zatem receptor ten może uczestniczyć w regulacji przepływu krwi przez rany (Räntfors i Cassuto, 2003). Istnieją jednak wyniki prac eksperymentalnych przeprowadzonych *in vitro*, które dokumentują wpływ histaminy bezpośrednio na fibroblasty lub miofibroblasty. Histamina pobudzała proliferację fibroblastów pobranych ze zdrowej spojówki lub z jej zmian rozrostowych. Uwidoczniono jednak, że dla wywołania zmian w zdrowych komórkach (10-4M) należało zastosować stężenie histaminy 10 razy większe w stosunku do efektywnego stężenia działającego na fibroblasty pobrane z pterygium (10- M). Histamina nie zmieniała migracji tych komórek (Qin i in., 2016). Podanie histaminy do hodowli fibroblastów uzyskanych od pacjentów z zapaleniem spojówek powodowało wzrost proliferacji komórek mierzony testem MTT oraz zwiększało ich migrację w porównaniu z kontrolą. Histamina również pobudzała syntezę prokolagenu typu I, jednak efekt ten nie był modyfikowany przez stosowane inhibitory receptorów histaminowych (Leonardi i in., 1999). Histamina

potencjalizuje właściwości chemotaktyczne fibronektyny dla ludzkich fibroblastów pobranych z płuc ludzkich płodów (Kohyama i in., 2010). W naszych badaniach prowadzonych na fibroblastach pobranych z ziarniny ran stwierdziliśmy, że histamina zwiększała aktywność metaboliczną komórek oraz podwyższała poziom kolagenu w hodowli. Natomiast amina ta nie zmieniała proliferacji pobranych komórek, badanej testem BrDU. Nie stwierdzono również zmiany liczby komórek w hodowli (Wichmann, 1955). Badania te świadczą, że opisywana amina nie wpływa na proliferację komórek, ale zwiększa ich aktywność metaboliczną. Histamina zwiększała zawartość białka kolagenowego w hodowlach miofibroblastów pobranych z ziarniny ran skórnych u szczurów. Potwierdziliśmy również, że efekt ten był zależny od pobudzenia receptora H1 (Wolak i in., 2021). Ponadto histamina stosowana w różnych stężeniach zwiększała poziom białka kolagenowego w hodowli miofibroblastów pobranych z blizny pozawałowej w mięśniu sercowym (Piera i in., 2019). Powyższe badania dowodzą, że histamina działa bezpośrednio na komórki i może modyfikować ich czynność istotną dla procesów gojenia (McCaffrey i in., 2020).

Mechanizm działania histaminy w procesach gojenia i włóknienia

Swoistość działania histaminy w procesach reparacyjnych była postulowana przez Dąbrowskiego (1981). Autor ten sugerował dominujący wpływ receptora H2 w przebiegu regulacji poziomu kolagenu przez histaminę. Cymetydyna podawana do ran hamowała wzrost poziomu kolagenu indukowany przez małe dawki histaminy oraz spadek poziomu tego białka spowodowany wysokimi dawkami histaminy. Natomiast 4-metylo-histamina, agonista receptora H2, w małych dawkach podwyższała zawartość kolagenu w ranach, a duże dawki tej substancji zmniejszały zawartość kolagenu w ziarninie ran. Inhibitor i agonista receptora H1 nie były efektywne (Dąbrowski i Maśliński, 1981). Również Takeda i in. (1997) potwierdzili *in vitro* hamujący wpływ cymetydyny na indukowany przez histaminę wzrost syntezy kolagenu typu I przez ludzkie fibroblasty. Stosowanie famotydyny obniżało poziom hydroksyproliny w ranach jelita grubego u szczurów. Fakt ten może świadczyć o obniżeniu zawartości kolagenu (Inan i in., 2009). Natomiast poziom hydroksyproliny w eksperymentalnie indukowanych owrzodzeniach błony śluzowej żołądka nie ulegał modyfikacji pod wpływem cymetydyny (Park i in., 1990). W ciętych ranach skórnych u szczurów stosowanie mepiraminy i prometazyny – inhibitorów receptorów H1 – obniżało poziom kolagenu w ziarninie oraz zmniejszało oporność mechaniczną rany. Inhibitory H2 pozostawały bez efektu (Bairy i in., 1991). Ponadto difumaran emedastyny – inhibitor receptora H1 – obniżał poziom białka kolagenowego w ranach. W naszych pracach potwierdziliśmy, że inhibitor receptorów H1 obniża podwyższoną przez histaminę aktywność metaboliczną komórek oraz obniża indukowany przez histaminę wzrost poziomu kolagenu w hodowli fibroblastów. Natomiast agonista receptorów H1, podobnie jak histamina, podwyższa poziom kolagenu w hodowli komórkowej oraz zwiększa aktywność metaboliczną komórek (Wolak i in., 2017). Hatamouchi i in. (1985) potwierdzili, że zarówno chlorpheniramina, jak i cymetydyna (antagoniści receptorów H1 i H2) hamowały indukowany przez histaminę wzrost poziomu kolagenu w hodowlach komórek podobnych do fibroblastów. Histamina również pobudzała syntezę prokolagenu typu I w fibroblastach pobranych z zapalnie zmienionej spojówki. Jednak efekt ten nie był modyfikowany przez stosowane inhibitory receptorów histaminowych (Leonardi i in., 1999). W miofibroblastach pobranych z blizny pozawałowej serca ciproksifan (antagonista receptorów H3) obniżał indukowany przez histaminę wzrost poziomu kolagenu, natomiast imetit (agonista H3) zwiększał poziom kolagenu całkowitego w hodowlach komórkowych. Ponadto, potwierdzono ekspresję receptorów H3 w miofibroblastach z blizny pozawałowej (Piera i in., 2017).

Histamina zwiększa również stężenie TGF- β 1 (ang. *transforming growth factor- β 1*) w hodowlach fibroblastów z ziarniny ran szczurów. Proces ten jest zależny od aktywacji receptora H1 (Wolak i in., 2017). TGF- β 1 jest czynnikiem zwiększającym syntezę kolagenu w tkankach (Kim i in., 2017). W hodowli fibroblastów pobranych z zapalnie zmienionych spojówek stwierdzono większą zawartość smad3 oraz prokolagenu typu I. Histamina oraz cytokiny mogą zwiększać aktywność smad3 oraz syntezę prokolagenu typu I w hodowli fibroblastów (Leonardi i in., 2011). U myszy z nadekspresją genu

dekarboksylazy histydynowej (i w związku z tym – z nadprodukcją histaminy) stwierdzono przyspieszony proces gojenia ran skórnych. Natomiast zahamowanie angiogenezy i zmniejszenie liczby migrujących makrofagów obserwowano u zwierząt ze zmniejszoną ekspresją dekarboksylazy histydynowej i niskim poziomem histaminy. Efekt ten był kompensowany poprzez podanie histaminy. Poziom bFGF (ang. *basic fibroblast growth factor*) był wyższy u myszy z nadekspresją dekarboksylazy histydynowej w porównaniu ze zwierzętami pozbawionymi tego enzymu. Natomiast stosowanie antagonisty receptora bFGF (Su5402) u zwierząt z nadekspresją dekarboksylazy histydynowej hamowało gojenie ran i zmniejszało angiogenezę oraz migrację makrofagów do rany (Numata i in., 2006). BFGF obok właściwości proangiogennych może zwiększać poziom mRNA dla prokolagenu typu I i III (Jia i in., 2011).

Histamina zwiększa ekspresję kolagenu i periostyny w hodowli mysich fibroblastów. Działanie aminy jest zależne od receptorów H1 oraz kinazy ERK1/2 (ang. *extracellular signal-regulated kinases*). Opisany efekt jest jednak nieobecny w komórkach z zahamowaną ekspresją periostyny (Vettori i in., 2012).

Histamina stabilizuje strukturę kolagenu w środowisku kwaśnym. Proces ten wyraża się poprzez podniesienie temperatury topnienia kolagenu. W środowisku obojętnym amina ta zmniejsza stabilność białka kolagenowego i obniża jego temperaturę topnienia. Należy podkreślić, że w środowisku kwaśnym histamina jest akceptorem jonów wodorowych, a w środowisku obojętnym – dawcą tych jonów (Dąbrowski, 1981). Histamina w środowisku kwaśnym zwiększa stabilność kompleksów kolagen–chondroityno–6-siarczan. Kompleksowanie kolagenu z glikoaminoglikanami zmniejsza jego rozpad (Dąbrowski, 1987).

Proliferacja i migracja komórek w ranie mogą być regulowane przez receptory histaminowe. Regeneracja uszkodzonego naskórka u myszy bezwłosych hamowana była przez agonistę receptorów H2 – dimaprit. Natomiast regeneracja naskórka pobudzana była przez antagonistów receptora H1 (difenhydramina i tripelennamina) oraz H2 (cymetydyna i famotydyna) (Ashida i in., 2001). Zatem receptory histaminowe H1 i H2 na komórkach naskórka uczestniczą w procesie regulacji odnowy bariery naskórkowej (Ashida i in., 2001). Cymetydyna hamowała również migrację fibroblastów w hodowli (Bairy i in., 1991). Kontrolowana przez histaminę migracja fibroblastów z błony śluzowej nosa była zależna od pobudzenia receptorów H1 i H4 (Räntfors i Cassuto, 2003). Spowodowany przez histaminę wzrost proliferacji (mierzonej testem MTT) fibroblastów uzyskanych od pacjentów z zapaleniem spojówek był hamowany przez antagonistów receptorów histaminowych H1 (difenhydramina) i H2 (cymetydyna). Natomiast zależną od histaminy migrację tych komórek blokowało podanie H2 inhibitora. Histamina potencjalizuje właściwości chemotaktyczne fibronektyny dla ludzkich fibroblastów pobranych z płuc ludzkich płodów. Działanie to jest hamowane przez inhibitor receptorów H4 (JNJ7777120) i toksynę krztuśca (Hong i in., 2015).

Podsumowanie

Przeprowadzone badania własne oraz przegląd literatury dokumentują istotny regulacyjny wpływ histaminy na procesy gojenia ran i włóknienia narządów.

We wczesnych i późnych etapach reparacji stwierdzono wzrost liczby i zwiększoną degranulację komórek tucznych. Towarzyszył temu wzrost poziomu histaminy oraz innych mediatorów pochodzących z komórek tucznych, takich jak tryptaza. Mediatory komórek tucznych wywierały wpływ na szybkość gojenia, proliferację, migrację komórek, angiogenezę oraz syntezę macierzy zewnątrzkomórkowej.

Udokumentowano wpływ histaminy na wzrost syntezy kolagenu, glikoaminoglikanów, angiogenezę oraz proliferację i migrację fibroblastów lub komórek nabłonka w ranie.

Mechanizm działania histaminy nie został jeszcze całkowicie wyjaśniony. Wiadomo jednak, że amina ta wywiera regulacyjny wpływ na procesy gojenia przez receptory błonowe: H1, H2, H3 i H4. Najlepiej udokumentowany jest wpływ pobudzenia receptorów H1 i H2 na procesy syntezy kolagenu oraz proliferację i migrację komórek. Jednak rodzaj receptora zaangażowanego w regulację gojenia

i włóknienia zależny jest od wybranego modelu doświadczalnego (gatunek zwierząt doświadczalnych, uszkodzony narząd, rodzaj uszkodzenia, badany typ komórek). Wiadomo również, że histamina może zwiększać wydzielanie czynników wzrostu takich jak TGF- β 1 i bFGF. Mogą one po wydzieleniu działać parakrynnie i autokrynnie na komórki rany oraz pobudzać angiogenezę, transmigrację komórek zapalnych lub syntezę kolagenu. Wydzielanie TGF- β 1 jest również zależne od pobudzenia receptora H1. Potwierdzono również udział periostyny i kinazy ERK1/2 w pośredniczeniu efektu histaminy w procesach gojenia i włóknienia. Należy również pamiętać o stabilizowaniu przez histaminę struktury kolagenu lub kompleksów kolagen–glikozaaminoglikany w środowisku kwaśnym.

Identyfikacja receptorów histaminowych lub szlaków wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału w procesach gojenia i włóknienia typowych dla różnych narządów pozwoli na celowaną interwencję farmakologiczną.

Bibliografia

- Abe M., Yokoyama Y., Amano H., Matsushima Y., Kan C., Ishikawa O. 2002. Effect of activated human mast cells and mast cell-derived mediators on proliferation, type I collagen production and glycosaminoglycans synthesis by human dermal fibroblasts. *European Journal of Dermatology* 12(4), str. 340–346.
- Alim M.A., Ackermann P.W., Eliasson P., Blomgran P., Kristiansson P., Pejler G., Peterson M. 2017. Increased mast cell degranulation and co-localization of mast cells with the NMDA receptor-1 during healing after Achilles tendon rupture. *Cell and Tissue Research* 370(3), str. 451–460. DOI: [10.1007/s00441-017-2684-y](https://doi.org/10.1007/s00441-017-2684-y).
- Arai M., Ogita-Nakanishi H., Lee K., Yoshimura K., Kawata R., Kanazawa A., Terada T., Takenaka H., Sato T., Endo Y., Kato R., Ijiri Y., Tanaka K., Tashiro-Yamaji J., Kubota T., Yoshida R. 2012. Role of cytokines in lavage or drainage fluid after hemithyroidectomy in wound healing: involvement of histamine in the acceleration and delay of wound healing. *Wound Repair and Regeneration* 20(2), str. 158–165. DOI: [10.1111/j.1524-475X.2012.00770.x](https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2012.00770.x).
- Arpino V., Brock M., Gill S.E. 2015. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis. *Matrix Biology* 44–46, str. 247–254. DOI: [10.1016/j.matbio.2015.03.005](https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.03.005).
- Artuc M., Hermes B., Steckelings U.M., Grützkau A., Henz B.M. 1999. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing—active participants or innocent bystanders? *Experimental Dermatology* 8(1), str. 1–16.
- Ashida Y., Denda M., Hirao T. 2001. Histamine H1 and H2 receptor antagonists accelerate skin barrier repair and prevent epidermal hyperplasia induced by barrier disruption in a dry environment. *Journal of Investigative Dermatology* 116(2), str. 261–265. DOI: [10.1046/j.1523-1747.2001.01238.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2001.01238.x).
- Atkins F.M., Clark R.A. 1987. Mast cells and fibrosis. *Archives of Dermatology* 123, str. 191–193.
- Ayach B.B., Yoshimitsu M., Dawood F., Sun M., Arab S., Chen M. 2006. Stem cell factor receptor induces progenitor and natural killer cell-mediated cardiac survival and repair after myocardial infarction. *Proceedings of National Academy of Science USA* 103, str. 2304–2309. DOI: [10.1073/pnas.0510997103](https://doi.org/10.1073/pnas.0510997103).
- Bairy K.L., Rao C.M., Ramesh K.V., Kulkarni D.R. 1991. Effect of histamine on wound healing. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 35(3), str. 180–182.
- Blankesteijn W.M., Essers-Janssen Y.P., Verluyten M.J., Daemen M.J., Smits J.F. 1997. A homologue of Drosophila tissue polarity gene frizzled is expressed in migrating myofibroblasts in the infarcted rat heart. *Nature Medicine* 3(5), str. 541–544.
- Borriello F., Iannone R., Marone G. 2017. Histamine Release from Mast Cells and Basophils. *Handbook of Experimental Pharmacology* 241, str. 121–139. DOI: [10.1007/164_2017_18](https://doi.org/10.1007/164_2017_18).
- Brzezińska-Błaszczak E., Czuwaj M., Kuna P. 1987. Histamine release from mast cells of various species induced by histamine releasing factor from human lymphocytes. *Agents and Actions* 21(1–2), str. 26–31. DOI: [10.1007/BF01974916](https://doi.org/10.1007/BF01974916).
- Cimini M., Fazel S., Zhuo S., Xaymardan M., Fujii H., Weisel R.D., Li R.K. 2007. c-kit dysfunction impairs myocardial healing after infarction. *Circulation* 116(11), str. 177–182. DOI: [10.1161/Circulation.107.708107](https://doi.org/10.1161/Circulation.107.708107).
- Claman H.N. 1990. Mast cells and fibrosis. The relevance to scleroderma. *Rheumatic Disease Clinics of North America* 16, str. 141–151.
- Dabrowski R., Maslinski C. 1970. The effect of histamine on collagen formation and collagen polymerisation in the skin wound healing of guinea pigs. *Life Science* 9, str. 189–202.

- Dabrowski R., Maslinski C., Górski P. 1975. The effects of histamine liberators and exogenous histamine on wound healing in rat. *Agents and Actions* 5/4, str. 311–314.
- Dabrowski R., Maśliński C., Olczak A., 1977. The role of histamine in wound healing I. The effect of high doses of histamine on collagen and glycosaminoglycan content in wounds. *Agents and Actions* 7(2), str. 219–224. DOI: [10.1007/BF01969976](https://doi.org/10.1007/BF01969976).
- Dabrowski R. 1981. Histamine in the process of development of connective tissue. *Acta Physiologica Polonica* 22, str. 141–163.
- Dąbrowski R., Maśliński C. 1981. The role of histamine in wound healing. II. The effect of antagonists and agonists of histamine receptors (H1 and H2) on collagen levels in granulation tissue. *Agents and Actions* 11(1–2), str. 122–124.
- Dabrowski R. 1987. Alteration in thermal stability of collagen and collagen-chondroitin-6-sulphate complex induced by histamine. *Acta Physiologica Polonica* 38(5), str. 439–444.
- Dabrowski R., Drobnik J. 1990. The effect of disodium cromoglycate on the skin wound healing and collagen content in the wounds of rats. *Acta Physiologica Polonica* 41(4–6), str. 195–198.
- Devereux D.F., Rice S.A., Giri S.N. 1978. The effects of heparin pretreatment on plasma histamine following thermal injury in rats and cats. *Circulatory Shock* 5(3), str. 310–316.
- Drobnik J., Szczepanowska A., Dabrowski R. 2004. Temporary augmentation of glycosaminoglycans content in the heart after left coronary artery ligation. *Pathophysiology* 11(1), str. 35–39. DOI: [10.1016/j.pathophys.2004.01.024](https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2004.01.024).
- Drobnik J., Krucinska I., Komisarczyk A., Sporny S., Szczepanowska A., Ciosek J. 2017. Effects of electrospun scaffolds of di-O-butyrylchitin and poly-(ε-caprolactone) on wound healing. *Canadian Journal of Surgery* 60(3), str. 162–171. DOI: [10.1503/cjs.010116](https://doi.org/10.1503/cjs.010116).
- Ehanire T., Ren L., Bond J., Medina M., Li G., Bashirov L., Chen L., Kokosis G., Ibrahim M., Selim A., Blobe G.C., Levinson H. 2015. Angiotensin II stimulates canonical TGF-β signaling pathway through angiotensin type 1 receptor to induce granulation tissue contraction. *Journal of Molecular Medicine* 93(3), str. 289–302. DOI: [10.1007/s00109-014-1211-9](https://doi.org/10.1007/s00109-014-1211-9).
- Ellis L.R., Warner D.R., Greene R.M., Pisano M.M. 2003. Interaction of Smads with collagen types I, III, and V. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 310(4), str. 1117–1123.
- Ellis S., Lin E.J., Tartar D. 2018. Immunology of Wound Healing. *Current Dermatology Report* 7(4), str. 350–358. DOI: [10.1007/s13671-018-0234-9](https://doi.org/10.1007/s13671-018-0234-9).
- el Sayed S.O., Dyson M. 1993. Responses of dermal mast cells to injury. *Journal of Anatomy* 182(3), str. 369–376.
- Endo Y., Shibasaki M., Nakamura M., Takada H. 1997. Contrasting effects of lipopolysaccharides (endotoxins) from oral black-pigmented bacteria and Enterobacteriaceae on platelets, a major source of serotonin, and on histamine-forming enzyme in mice. *Journal of Infectious Diseases* 175(6), str. 1404–1412. DOI: [10.1086/516473](https://doi.org/10.1086/516473).
- Engels W., Reuters P.H., Daemen M.J., Smits J.F., van der Vusse G.J. 1995. Transmural changes in mast cell density in rat heart after infarct induction in vivo. *Journal of Pathology* 177(4), str. 423–429.
- Fitzpatrick D.W., Fisher H. 1982. Histamine synthesis, imidazole dipeptides, and wound healing. *Surgery* 91(4), str. 430–434.
- Forsythe P., Kitamura Y., Galli S. 2003. What is the physiological function of mast cells? *Experimental Dermatology* 12, str. 886–910. DOI: [10.1111/j.0906-6705.2003.0109a.x](https://doi.org/10.1111/j.0906-6705.2003.0109a.x).
- Frangogiannis N.G. 2008. The immune system and cardiac repair. *Pharmacological Research* 58(2), str. 88–111. DOI: [10.1016/j.phrs.2008.06.007](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.06.007).
- Fukai F., Suzuki H., Suzuki K., Tsugita A., Katayama T. 1991. Rat plasma fibronectin contains two distinct chemotactic domains for fibroblastic cells. *Journal of Biological Chemistry* 266(14), str. 8807–8813.
- Gabbiani G., Ryan G.B., Majne G. 1971. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia* 27(5), str. 549–550. DOI: [10.1007/BF02147594](https://doi.org/10.1007/BF02147594).
- Gailit J., Marchese M.J., Kew R.R., Gruber B.L. 2001. The differentiation and function of myofibroblasts is regulated by mast cell mediators. *Journal of Investigative Dermatology*, 117(5), str. 1113–1119.
- Galdyszyńska M., Drobnik J. 2018. Collagen metabolism within a cardiac fibroblasts culture is dependent on physical properties of the cell environment Conference: Matrix Biology Europe Meeting Location: Manchester. *Journal of Experimental Pathology* 99(6), str. A64.

- Galdyszyńska M., Bobrowska E., Lekka M., Radwańska P., Piera L., Szymański J., Drobnik J. 2020. The stiffness-controlled release of interleukin-6 by cardiac fibroblasts is dependent on integrin $\alpha 2\beta 1$. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 24(23), str. 13853–13862. DOI: [10.1111/jcmm.15974](https://doi.org/10.1111/jcmm.15974).
- Gantus M.A., Nasciutti L.E., Cruz C.M., Persechini P.M., Martinez A.M. 2006. Modulation of extracellular matrix components by metalloproteinases and their tissue inhibitors during degeneration and regeneration of rat sural nerve. *Brain Research* 1122(1), str. 36–46. DOI: [10.1016/j.brainres.2006.09.016](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.09.016).
- Garbuzenko E., Nagler A., Pickholtz D., Gillery P., Reich R., Maquart F.X., Levi-Schaffer F. 2002. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. *Clinical and Experimental Allergy* 32(2), str. 237–246. DOI: [10.1046/j.1365-2222.2002.01293.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2002.01293.x).
- Grinnell F., Billingham R.E., Burgess L. 1981. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. *Journal of Investigative Dermatology* 76(3), str. 181–189. DOI: [10.1111/1523-1747.ep12525694](https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12525694).
- Grinnell F. 1984. Fibronectin and wound healing. *Journal of Cellular Biochemistry* 26(2), str. 107–116. DOI: [10.1002/jcb.240260206](https://doi.org/10.1002/jcb.240260206).
- Gruber B.L., Kew R.R., Jelaska A., Marchese M.J., Garlick J., Ren S., Schwartz L.B., Korn J.H. 1997. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *Journal of Immunology* 158(5), str. 2310–2317.
- Hatamochi A., Fuiiwaru K., Ueki H. 1985. Effects of histamine on collagen synthesis by cultured fibroblasts derived from guinea pig skin. *Archives of Dermatological Research* 277, str. 60–64.
- Hatamochi A., Ueki H., Mauch C., Krieg T. 1991. Effect of histamine on collagen and collagen mRNA production in human skin fibroblasts. *Journal of Dermatological Science* 2, str. 407–410.
- Hartney J.M., Gustafson C.E., Bowler R.P., Pelanda R., Torres R.M. 2011. Thromboxane receptor signaling is required for fibronectin-induced matrix metalloproteinase 9 production by human and murine macrophages and is attenuated by the Arhgef1 molecule. *Journal of Biological Chemistry* 286(52), str. 44521–44531. DOI: [10.1074/jbc.M111.282772](https://doi.org/10.1074/jbc.M111.282772).
- Hebda P.A., Collins M.A., Tharp M.D. 1993. Mast cell and myofibroblast in wound healing. *Dermatologic Clinics* 11(4), str. 685–696.
- Hermes B., Feldmann-Boddeker I., Kruger-Krasagakes S., Henz B.M. 1997. Mast cells express NGF- and GM-CSF-receptors. Comparison of normal versus scar tissue. *Archives of Dermatological Research* 289, str. A40.
- Hong S.M., Park I.H., Um J.Y., Shin J.M., Lee H.M. 2015. Stimulatory effects of histamine on migration of nasal fibroblasts. *International Forum Allergy and Rhinology* 5(10), str. 923–928. DOI: [10.1002/alr.21555](https://doi.org/10.1002/alr.21555).
- Hunyady B., Zólyomi A., Hoffman B.J., Mezey E. 1998. Gastrin-producing endocrine cells: a novel source of histamine in the rat stomach. *Endocrinology* 139(10), str. 4404–4415.
- Huttunen M., Aalto M.L., Harvima R.J., Horsmanheimo M., Harvima I.T. 2000. Alterations in mast cells showing tryptase and chymase activity in epithelializing and chronic wounds. *Experimental Dermatology* 9(4), str. 258–265. DOI: [10.1034/j.1600-0625.2000.009004258.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2000.009004258.x).
- Inan A., Sen M., Sürgit O., Ergin M., Bozer M. 2009. Effects of the histamine H2 receptor antagonist famotidine on the healing of colonic anastomosis in rats. *Clinics* 64(6), str. 567–570. DOI: [10.1590/S1807-59322009000600012](https://doi.org/10.1590/S1807-59322009000600012).
- Jia Y.Y., Zhou J.Y., Chang Y., An F., Li X.W., Xu X.Y., Sun X.L., Xiong C.Y., Wang J.L. 2018. Effect of Optimized Concentrations of Basic Fibroblast Growth Factor and Epidermal Growth Factor on Proliferation of Fibroblasts and Expression of Collagen: Related to Pelvic Floor Tissue Regeneration. *Chinese Medical Journal* 131(17), str. 2089–2096. DOI: [10.4103/0366-6999.239301](https://doi.org/10.4103/0366-6999.239301).
- Kahlson G., Zederfeldt B. 1960. Association between Histamine Forming Capacity and Regeneration. *Acta Chirurgica Scandinavica* 119, str. 207.
- Kahlson G., Nilsson K., Rosengren E., Zederfeldt B. 1960. Wound healing as dependent on rate of histamine formation. *Lancet* 279, str. 230–234.
- Kampmann H., Garbe G., Armbrust H., Bode G. 1980. Investigations on the morphology and biochemistry of wound healing after injury of the liver. *Zeitschrift für Rechtsmedizin* 84(4), str. 291–304. DOI: [10.1007/BF02098753](https://doi.org/10.1007/BF02098753).
- Kikuchi K., Kadono T., Takehara K. 1995. Effects of various growth factors and histamine on cultured keloid fibroblasts. *Dermatology* 190(1), str. 4–8.








- Kim C.R., Kim Y.M., Lee M.K., Kim I.H., Choi Y.H., Nam T.J. 2017. Pyropia yezoensis peptide promotes collagen synthesis by activating the TGF- β /Smad signaling pathway in the human dermal fibroblast cell line Hs27. *International Journal of Molecular Medicine* 39(1), str. 31–38. DOI: [10.3892/ijmm.2016.2807](https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2807).
- Kohyama T., Yamauchi Y., Takizawa H., Kamitani S., Kawasaki S., Nagase T. 2010. Histamine stimulates human lung fibroblast migration. *Molecular and Cellular Biochemistry* 337(1–2), str. 77–81. DOI: [10.1007/s11010-009-0287-y](https://doi.org/10.1007/s11010-009-0287-y).
- Kwon J.S., Kim Y.S., Cho A.S., Cho H.H., Kim J.S., Hong M.H., Jeong S.Y., Jeong M.H., Cho J.G., Park J.C., Kang J.C., Ahn Y. 2011. The novel role of mast cells in the microenvironment of acute myocardial infarction. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 50(5), str. 814–825. DOI: [10.1016/j.yjmcc.2011.01.019](https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.01.019).
- Leonardi A., Radice M., Fregona I.A., Plebani M., Abatangelo G., Secchi A.G. 1999. Histamine effects on conjunctival fibroblasts from patients with vernal conjunctivitis. *Experimental Eye Research* 68(6), str. 739–746.
- Leonardi A., Di Stefano A., Motterle L., Zavan B., Abatangelo G., Brun P. 2011. Transforming growth factor- β /Smad – signalling pathway and conjunctival remodelling in vernal keratoconjunctivitis. *Clinical and Experimental Allergy* 41(1), str. 52–60. DOI: [10.1111/j.1365-2222.2010.03626.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03626.x).
- Levi-Schaffer F., Rubinchik E. 1995. Activated mast cells are fibrogenic for 3T3 fibroblasts. *Journal of Investigative Dermatology* 104, str. 999–1003. DOI: [10.1111/1523-1747.ep12606237](https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12606237).
- Lucas T., Waisman A., Ranjan R., Roes J., Krieg T., Müller W., Roers A., Eming S.A. 2010. Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. *Journal of Immunology* 184(7), str. 3964–3977. DOI: [10.4049/jimmunol.0903356](https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903356).
- Lundberg C., Gerdin B. 1984. The role of histamine and serotonin in the inflammatory reaction in an experimental model of open wounds in the rat. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery* 18(2), str. 175–180. DOI: [10.3109/02844318409052834](https://doi.org/10.3109/02844318409052834).
- Mack M. 2018. Inflammation and fibrosis. *Matrix Biology* 68–69, str. 106–121. DOI: [10.1016/j.matbio.2017.11.010](https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.11.010).
- Marone G., Varricchi G., Loffredo S., Granata F. 2016. Mast cells and basophils in inflammatory and tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. *European Journal of Pharmacology* 778, str. 146–151. DOI: [10.1016/j.ejphar.2015.03.088](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.088).
- Maurer M., Theoharides T., Granstein R.D., Bischoff S.C., Bienenstock J., Henz B., Kovanen P., Piliponsky A.M., Kambe N., Vliagoftis H., Levi-Schaffer F., Metz M., Miyachi Y., Befus D. 2003. What is the physiological function of mast cells? *Experimental Dermatology* 12(6), str. 886–910. DOI: [10.1111/j.0906-6705.2003.0109a.x](https://doi.org/10.1111/j.0906-6705.2003.0109a.x).
- McCaffrey S.L., Lim G., Bullock M., Kasparian A.O., Clifton-Bligh R., Campbell W.B., Widiapradja A., Levick S.P. 2020. The Histamine 3 Receptor Is Expressed in the Heart and Its Activation Opposes Adverse Cardiac Remodeling in the Angiotensin II Mouse Model. *International Journal of Molecular Science* 21(24), nr artykułu 9757. DOI: [10.3390/ijms21249757](https://doi.org/10.3390/ijms21249757).
- McLachlan J.B., Abraham S.N. 2001. Studies of the multifaceted mast cell response to bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 4, str. 260–266. DOI: [10.1016/s1369-5274\(00\)00200-9](https://doi.org/10.1016/s1369-5274(00)00200-9).
- Minchenko A., Salceda S., Bauer T., Caro J. 1994. Hypoxia regulatory elements of the human vascular endothelial growth factor gene. *Cellular and Molecular Biology Research* 40(1), str. 35–39.
- Mottl-Link S., Russlies M., Klinger M., Seyfarth M., Ascherl R., Gradinger R. 1998. Erythrocytes and proinflammatory mediators in wound drainage. *Vox Sanguinis* 75, str. 205–211.
- Mu Y., Gudey S.K., Landström M. 2012. Non-Smad signaling pathways. *Cell and Tissue Research* 347(1), str. 11–20. DOI: [10.1007/s00441-011-1201-y](https://doi.org/10.1007/s00441-011-1201-y).
- Nazari M., Ni N.C., Lüdke A., Li S.H., Guo J., Weisel R.D., Li R.K. 2016. Mast cells promote proliferation and migration and inhibit differentiation of mesenchymal stem cells through PDGF. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 94, str. 32–42. DOI: [10.1016/j.yjmcc.2016.03.007](https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.03.007).
- Numata Y., Terui T., Okuyama R., Hirasawa N., Sugiura Y., Miyoshi I., Watanabe T., Kuramasu A., Tagami H., Ohtsu H. 2006. The accelerating effect of histamine on the cutaneous wound-healing process through the action of basic fibroblast growth factor. *Journal of Investigative Dermatology* 126(6), str. 1403–1409. DOI: [10.1038/sj.jid.5700253](https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700253).
- Nwomeh B.C., Liang H.X., Cohen I.K., Yager D.R. 1999. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers. *Journal of Surgical Research* 81(2), str. 189–195. DOI: [10.1006/jsre.1998.5495](https://doi.org/10.1006/jsre.1998.5495).

- Oldroyd S.D., Thomas G.L., Gabbiani G., El Nahas A.M. 1999. Interferon-gamma inhibits experimental renal fibrosis. *Kidney International* 56(6), str. 2116–2127. DOI: [10.1046/j.1523-1755.1999.00775.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1999.00775.x).
- Oskeritzian C.A. 2012. Mast Cells and Wound Healing. *Advances of Wound Care (New Rochelle)* 1(1), str. 23–28. DOI: [10.1089/wound.2011.0357](https://doi.org/10.1089/wound.2011.0357).
- Papp A., Härmä M., Harvima R., Lahtinen T., Uusaro A., Alhava E. 2005. Microdialysis for detection of dynamic changes in tissue histamine levels in experimental thermal injury. *Burns* 31(4), str. 476–481. DOI: [10.1016/j.burns.2004.12.004](https://doi.org/10.1016/j.burns.2004.12.004).
- Park P.O., Alumets J., Arvidsson S., Grimelius L., Haglund U. 1990. The influence of histamine₂-receptor antagonists on the healing of an experimentally induced gastric mucosal lesion. *APMIS* 98(4), str. 305–312.
- Patel B., Khaliq A., Jarvis-Evans J., McLeod D., Mackness M., Boulton M. 1994. Oxygen regulation of TGF-beta 1 mRNA in human hepatoma (Hep G2) cells. *Biochemistry and Molecular Biology International* 34(3), str. 639–644.
- Peterson J.M., Barbul A., Breslin R.J., Wasserkrug H.L., Efron G. 1987. Significance of T-lymphocytes in wound healing. *Surgery* 102(2), str. 300–305.
- Piera L., Olczak S., Kun T., Gałdyszyńska M., Ciosek J., Szymański J., Drobnik J. 2019. Disruption of histamine/H3receptor signal reduces collagen deposition in cultures scar myofibroblasts. *Journal of Physiology and Pharmacology* 70(2), str. 239–247. DOI: [10.26402/jpp.2019.2.07](https://doi.org/10.26402/jpp.2019.2.07).
- Qin Z., Fu Q., Zhang L., Yin H., Jin X., Tang Q., Lyu D., Yao K. 2016. Proliferative Effects of Histamine on Primary Human Pterygium Fibroblasts. *Mediators of Inflammation*, nr artykułu 9862496. DOI: [10.1155/2016/9862496](https://doi.org/10.1155/2016/9862496).
- Räntfors J., Cassuto J. 2003. Role of histamine receptors in the regulation of edema and circulation post burn. *Burns* 29(8), str. 769–777. DOI: [10.1016/s0305-4179\(03\)00203-1](https://doi.org/10.1016/s0305-4179(03)00203-1).
- Rhodes K., Rippe R.A., Umezawa A., Nehls M., Brenner D.A., Breindl M. 1994. DNA methylation represses the murine alpha 1(I) collagen promoter by an indirect mechanism. *Molecular and Cellular Biology* 14(9), str. 5950–5960. DOI: [10.1128/mcb.14.9.5950](https://doi.org/10.1128/mcb.14.9.5950).
- Roberts A.B., Sporn M.B., Assoian R.K., Smith J.M., Roche N.S., Wakefield L.M., Heine U.I., Liotta L.A., Falanga V., Kehrl J.H. 1986. Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83(12), str. 4167–4171.
- Rosenkilde M.M., Schwartz T.W. 2004. The chemokine system – a major regulator of angiogenesis in health and disease. *APMIS* 112(7–8), str. 481–495. DOI: [10.1111/j.1600-0463.2004.apm11207-0808.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2004.apm11207-0808.x).
- Sasaki A., Mueller R.V., Xi G., Sipe R., Buck D., Hollinger J. 2003. Mast cells: an unexpected finding in the modulation of cutaneous wound repair by charged beads. *Plastic and Reconstructive Surgery* 111(4), str. 1446–1453. DOI: [10.1097/01.PRS.0000049451.38505.45](https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000049451.38505.45).
- Scammell T.E., Jackson A.C., Franks N.P., Wisden W., Dauvilliers Y. 2019. Histamine: neural circuits and new medications. *Sleep* 42(1). DOI: [10.1093/sleep/zsy183](https://doi.org/10.1093/sleep/zsy183).
- Seibold J.R., Giorno R.C., Claman H.N. 1990. Dermal mast cell degranulation in systemic sclerosis. *Arthritis and Rheumatology* 33, str. 1702–1709.
- Shiota N., Nishikori Y., Kakizoe E., Shimoura K., Niibayashi T., Shimbori C., Tanaka T., Okunishi H. 2010. Pathophysiological role of skin mast cells in wound healing after scald injury: study with mast cell-deficient W/W(V) mice. *International Archives of Allergy and Immunology* 151(1), str. 80–88. DOI: [10.1159/000232573](https://doi.org/10.1159/000232573).
- Schneider E.H., Seifert R. 2017. Pharmacological Characterization of Human Histamine Receptors and Histamine Receptor Mutants in the Sf9 Cell Expression System. *Handbook of Experimental Pharmacology* 241, str. 63–118. DOI: [10.1007/164_2016_124](https://doi.org/10.1007/164_2016_124).
- Shao Z., Nazari M., Guo L., Li S.H., Sun J., Liu S.M., Yuan H.P., Weisel R., Li R.E. 2015. The cardiac repair benefits of inflammation do not persist: evidence from mast cell implantation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 19(12), str. 2751–2762. DOI: [10.1111/jcmm.12703](https://doi.org/10.1111/jcmm.12703).
- Takeda T., Goto H., Arisawa T., Hase S., Hayakawa T., Asai J. 1997. Effect of histamine on human fibroblasts in vitro. *Arzneimittelforschung* 47, str. 1152–1155.
- Takemura G., Ohno M., Hayakawa Y., Misao J., Kanoh M., Ohno A., Uno Y., Minatoguchi S., Fujiwara T., Fujiwara H. 1998. Role of apoptosis in the disappearance of infiltrated and proliferated interstitial cells after myocardial infarction. *Circulation Research* 82(11), str. 1130–1138. DOI: [10.1161/01.res.82.11.1130](https://doi.org/10.1161/01.res.82.11.1130).

- Tellechea A., Leal E.C., Kafanas A., Auster M.E., Kuchibhotla S., Ostrovsky Y., Tecilazich F., Baltzis D., Zheng Y., Carvalho E., Zabolotny J.M., Weng Z., Petra A., Patel A., Panagiotidou S., Pradhan-Nabzdyk L., Theoharides T.C., Veves A. 2016. Mast Cells Regulate Wound Healing in Diabetes. *Diabetes* 65(7), str. 2006–2019. DOI: [10.2337/db15-0340](https://doi.org/10.2337/db15-0340).
- Vettori S., Gay S., Distler O. 2012. Role of MicroRNAs in Fibrosis. *The Open Rheumatology Journal* 6, str. 130–139. DOI: [10.2174/1874312901206010130](https://doi.org/10.2174/1874312901206010130).
- Wichmann B.E. 1955. The mast cell count during the process of wound healing: an experimental investigation on rats. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* 108, str. 1–35.
- Wolak M., Bojanowska E., Staszewska T., Ciosek J., Juszcak M., Drobnik J. 2017. The role of histamine in the regulation of the viability, proliferation and Transforming Growth Factor b1 secretion of rat wound fibroblasts. *Pharmacological Reports* 69, str. 314–321. DOI: [10.1016/j.pharep.2016.11.006](https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.11.006).
- Wolak M., Bojanowska E., Staszewska T., Piera L., Szymański J., Drobnik J. 2021. Histamine augments collagen content via H1 receptor stimulation in cultures of myofibroblasts taken from wound granulation tissue. *Molecular and Cellular Biochemistry* 476(2), str. 1083–1092. DOI: [10.1007/s11010-020-03974-6](https://doi.org/10.1007/s11010-020-03974-6).
- Xu S., Weng X., Wang Y., Lv D., Zeng M., Zhao F., Sun Y. 2019. Screening and preliminary validation of T lymphocyte immunoregulation-associated long non-coding RNAs in diabetic foot ulcers. *Molecular Medicine Reports* 19(3), str. 2368–2376. DOI: [10.3892/mmr.2019.9877](https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9877).
- Yager D.R., Zhang L.Y., Liang H.X., Diegelmann R.F., Cohen I.K. 1996. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. *Journal of Investigative Dermatology* 107(5), str. 743–748. DOI: [10.1111/1523-1747.ep12365637](https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12365637).
- Yang L., Murota H., Serada S., Fujimoto M., Kudo A., Naka T., Katayama I. 2014. Histamine contributes to tissue remodeling via periostin expression. *Journal of Investigative Dermatology* 134(8), str. 2105–2113. DOI: [10.1038/jid.2014.120](https://doi.org/10.1038/jid.2014.120).

WPŁYW INTERWENCJI ANTYSTRESOWYCH NA WYBRANE PARAMETRY PSYCHOLOGICZNE I FIZJOLOGICZNE U UCZNIÓW I LICEUM OGÓLNOKSZTAŁCĄCEGO W ŁODZI

THE IMPACT OF ANTI-STRESS INTERVENTIONS
ON SELECTED PSYCHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL
PARAMETERS IN STUDENTS OF SECONDARY SCHOOL
IN LODZ

Szymon Turkiewicz^{1A} , Maja Fraszek^{1A}, Bartłomiej Tarkowski^{2*} ,
Magdalena Kozłowska³ , Anna Pietrzak² , Sylwia Jarosz² ,
Jan Czarnecki² , Emilia Rogelet¹, Anna Zalewska-Janowska² 

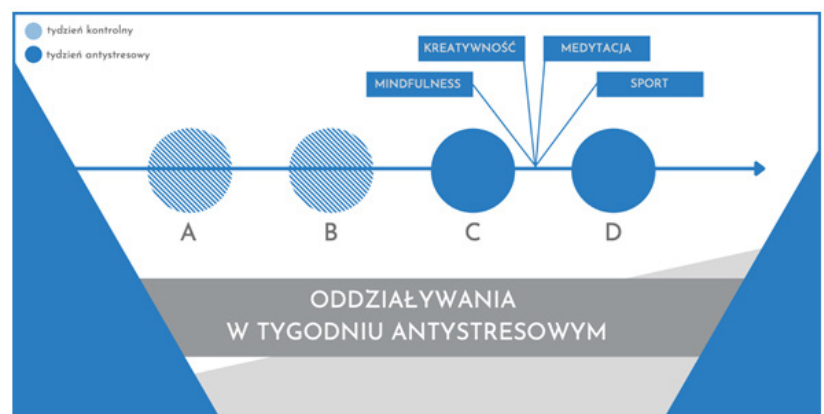
¹ Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Zakład Psychodermatologii, Katedra Immunologii Klinicznej i Reumatologii UM w Łodzi

³ Klinika Dermatologii, Dermatologii Dziecięcej i Onkologicznej UM w Łodzi

^A dzielone pierwsze autorstwo

* bartlomiej.tarkowski@umed.lodz.pl



Streszczenie: Stres to zjawisko powszechnie występujące w społeczeństwie, którego doświadcza 98% Polaków – w tym dzieci i młodzież. Reakcja stresowa pociąga za sobą szereg konsekwencji natury psychologicznej, behawioralnej i fizjologicznej: prowadzi do pojawienia się trudnych emocji, zmęczenia, problemów z pamięcią i uwagą, występowania i nasilania się chorób natury psychosomatycznej. Prowadzi też do zmian w zakresie poziomów hormonów, ciśnienia krwi, tętna czy tempa oddychania. Aby zmniejszyć odczuwany stres, możliwe jest podejmowanie różnorodnych zachowań zaradczych – korzystanie ze strategii radzenia sobie ze stresem, wśród których można wyróżnić style skoncentrowane na problemie, emocjach lub unikaniu. Celem pracy była ocena wpływu interwencji antystresowych na poziom wybranych parametrów psychologicznych i stężenia hormonów stresu (kortyzol, DHEA-S) u uczniów 1 i 2 klasy Liceum Ogólnokształcącego. Badanie zostało przeprowadzone na 38 uczniach klasy I oraz II liceum (17 dziewcząt, 21 chłopców) na terenie I Liceum Ogólnokształcącego im. Mikołaja Kopernika w Łodzi. Cała procedura trwała dwa tygodnie: tydzień kontrolny i tydzień badany. W badaniu zebrano dane z wykorzystaniem pomiaru zmiennych biologicznych (poziom hormonów w ślinie), pięciu kwestionariuszy psychologicznych (PSS10, HADS, STAI, COPE, LOT-R) oraz ankiet własnych. Wyniki uzyskane w badaniu wskazują na istotną rolę oddziaływań antystresowych przeprowadzonych w szkole na redukcję poziomu stresu mierzonego zarówno z wykorzystaniem wskaźników biologicznych (hormonu DHEA-S), jak i za pomocą kwestionariuszy psychologicznych i ankiet własnych. Uzyskane pomiary pozwalają stwierdzić, że wspomniane oddziaływania antystresowe wpływają na obniżenie poziomu lęku i redukcję jego objawów. Na ich podstawie można także wnioskować o preferencjach dotyczących sposobów radzenia sobie ze stresem w zależności od płci lub klasy, a także wskazać na sposoby (skoncentrowane na zadaniu), których częstsze wykorzystywanie prowadzi do bardziej efektywnego radzenia sobie w sytuacjach stresowych. Badania własne wskazują także, że antycypacja zdarzeń pozytywnych już sama w sobie powoduje obniżenie poziomu stresu, a cykliczne stosowanie tygodnia antystresowego w trakcie roku szkolnego może stymulować uczniów do wypracowania nawyku dbania o higienę psychiczną.

Słowa kluczowe: stres, liceum, kortyzol, DHEA-S, lęk, coping

Abstract: Stress is a common phenomenon in the society, experienced by 98% of Poles – including children and adolescents. The stress reaction has a number of psychological, behavioral and physiological consequences: it leads to the emergence of difficult emotions, fatigue, problems with memory and attention, the occurrence and worsening of psychosomatic diseases. It also leads to changes in hormone levels, blood pressure, heart rate and breathing rate. In order to reduce the perceived stress, it is possible to undertake a variety of coping behaviors among which there can be distinguished styles focused on the problem, emotions or avoidance. The aim of the study was to assess the impact of anti-stress interventions on the level of selected psychological parameters and the concentration of stress hormones (cortisol, DHEA-S) in students of the 1st and 2nd grade of General Secondary School. The study was carried out on 38 students of the 1st and 2nd grade of high school (17 girls, 21 boys) at the 1 Liceum Ogólnokształcące im. Mikołaja Kopernika in Łódź. The entire procedure lasted two weeks: a control week and a test week. The study collected data using the measurement of biological variables (hormone levels in saliva), five psychological questionnaires (PSS10, HADS, STAI, COPE, LOT-R) and own questionnaires. The results obtained in the study indicate a significant role of anti-stress interventions conducted at school in reducing the level of stress measured both with the use of biological indicators (DHEA-S hormone) and with the use of psychological questionnaires and own questionnaires. The obtained measurements allow to conclude that the mentioned anti-stress effects reduce the level of anxiety and reduce its symptoms. On their basis, one can also conclude about preferences regarding ways of coping with stress depending on gender or class, as well as indicate methods (focused on the task), the more frequent use of which leads to more effective coping in stressful situations. Own research also shows that anticipating positive events in itself reduces the level of stress, and the cyclical use of an anti-stress week during the school year may stimulate students to develop a habit of taking care of mental hygiene.

Keywords: stress, secondary school, cortisol, DHEA-S, anxiety, coping

Wprowadzenie

Stres to zjawisko występujące naturalnie i powszechnie, jest elementem funkcjonowania człowieka. Termin ten został wprowadzony przez Hansa Selyego w połowie ubiegłego wieku. Obecnie zwraca się uwagę na rosnące zagrożenia płynące z odczuwania przewlekłego stresu. Według raportu GFK „Polacy a stres” aż 98% Polaków odczuwa stres, a niemal 20% badanych doświadcza go codziennie. Problem ten dotyczy jednak nie tylko osób dorosłych. Młodzież w okresie dorastania doświadcza wielu trudnych sytuacji szkolnych, rówieśniczych, rodzinnych i osobistych, wśród których szkoła wymieniana jest jako główne źródło stresu (Jelonkiewicz i Kosińska-Dec, 2007). Chociaż z perspektywy osoby dorosłej problemy te mogą wydawać się nieznaczące, należy podkreślić, że to subiektywna ocena sytuacji (jako znaczącej, trudnej, zagrażającej) i własnych zasobów (jako niewystarczających) ostatecznie prowadzi do powstania stresu (Lazarus i Folkman, 1984).

1. Skutki stresu

Reakcja stresowa pociąga za sobą szereg konsekwencji natury psychologicznej i behawioralnej. Osoby odczuwające stres skarżą się na lęk, niepokój, drażliwość, zniecierpliwienie, nadmierne pobudzenie czy złość. Odczuwanie stresu prowadzi do pojawienia się problemów z pamięcią, koncentracją uwagi, podejmowaniem decyzji i adekwatną oceną sytuacji. Osoba pod wpływem stresu może odznaczać się brakiem elastyczności w działaniu, kieruje się sztywnymi wzorcami, nie wdraża nowych rozwiązań (Litzcke, Schuh i Pletke, 2013).

Stres wywołuje również określone reakcje w obszarze fizjologicznym. Jego działanie najmocniej uwidacznia się w działaniu dwóch układów: nerwowego i hormonalnego. W pierwszym przypadku główną rolę pełni układ współczulny. Jego zadaniem w sytuacji stresowej jest przygotowanie organizmu do reakcji „uciekaj albo walcz”. Wpływ współczulnego układu nerwowego wiąże się m.in. z pobudzeniem pracy serca, zwiększonym wydzielaniem adrenaliny i noradrenaliny, lepszym ukrwieniem mięśni oraz zahamowaniem procesów trawiennych. Jednocześnie dochodzi do intensyfikacji procesów katabolicznych, czego skutkiem jest uwalnianie dużych ilości energii (Heszen i Sęk, 2007).

Reakcja układu endokrynnego na stres jest zależna od długości trwania czynnika stresowego. W przypadku stresu krótkotrwałego, układ współczulny stymuluje rdzeń nadnerczy do wydzielania adrenaliny i noradrenaliny. Są to hormony, które zwiększają stężenie glukozy we krwi, ciśnienie tętnicze i metabolizm energetyczny oraz obniżają aktywność układów pokarmowego, wydalniczego i rozrodczego. Długotrwały stres przyczynia się do aktywności układu podwzgórzowo-przysadkowo-korowonadnerczowego. W wyniku utrzymujących się stresorów, sygnał z centralnego układu nerwowego pobudza podwzgórze do wydzielania adrenokortykoliberynu, stymulując wydzielanie adrenokortykotropiny (ACTH) przez przysadkę. ACTH jest hormonem tropowym, mającym działanie pobudzające na komórki wydzielające kortykoidy oraz hamujące komórki wydzielające hormony płciowe w korze nadnerczy (Załużka i Janota, 2009).

W badaniach wskazywana jest także istotna rola tzw. „hormonów stresu”, do których zaliczane są: kortyzol, DHEA (dehydroepiandrosteron) i jego siarczan (DHEA-S). Kortyzol wykazuje działanie supresorowe na układ odpornościowy, zmniejszając odporność w sytuacji długotrwałego stresu (Stojanovich i Marisavljevich, 2008). Badania wskazują, że może on również wpływać negatywnie na pamięć (nie tylko krótko-, lecz także długotrwałą). U badanych narażonych na długotrwały stres objętość mózgu zmniejszała się oraz znacznie gorzej radzili sobie z ponownymi testami (Echouffo-Tcheugui i in., 2018). Natomiast DHEA ma działanie prokognitywne, przeciwdepresyjne, przeciwłękowe oraz zmniejszające poziom agresji (Morgan i in., 2004). W badaniach na ludziach narażonych na ostry stres wykazano, że u osób, u których pojawił się nasilony lęk, stwierdzano również wysoki poziom kortyzolu przy niskim stężeniu DHEA. Natomiast u osób nie narażonych na stres to poziom DHEA jest wysoki, a kortyzolu niski (Boudarene, Legros i Timsit-Berthier, 2002). Wynika z tego, że sam sposób reagowania na stres jest bezpośrednio związany z oceną poznawczą oraz poziomem hormonów stresu.

Fizjologiczny pomiar poziomu stresu skupia się głównie na monitorowaniu takich parametrów jak tętno, ciśnienie krwi, tempo oddychania czy zmian oporu elektrycznego skóry (Heszen i Sęk, 2007).

Pomiar biochemiczny polega głównie na pomiarze poziomu hormonów kory nadnerczy we krwi, moczu bądź ślinie. Wzrost stężenia katecholamin świadczy o działaniu stresu krótkotrwałego. Wzrost stężenia kortykoidów (np. kortyzol) i niski poziom DHEA-s towarzyszy stresowi przewlekłemu (Heszen i Sęk, 2007).

1.1. Metody radzenia sobie ze stresem

W obliczu trudnych sytuacji możliwe jest podejmowanie różnych zachowań zaradczych – korzystanie ze strategii radzenia sobie ze stresem. Indywidualną cechą każdej jednostki jest preferowany styl radzenia sobie, wśród których można wyróżnić style skoncentrowane na problemie (np. planowanie, aktywne radzenie sobie), na emocjach (np. akceptacja lub koncentracja na emocjach) lub na unikaniu (np. zaprzeczanie) (Carver, Scheier i Weintraub, 1989).

W celu redukcji stresu można także podejmować pewne interwencje zmierzające do obniżenia napięcia i redukcji odczuwanego stresu. Skutecznymi strategiami radzenia sobie ze stresem są medytacja, trening mindfulness, joga i techniki im podobne. Podstawowym celem tego działania jest uzyskanie świadomej kontroli nad procesami myślowymi. Ułatwia to koncentracja na czynnościach fizjologicznych, tj. oddychanie lub czucie smaku. Strategia ta obniża skutki stresu, pozwalając się wyciszyć poprzez zwolnienie akcji serca, zmniejszenie tempa oddychania czy też uspokojenie emocji (Błaszczak, 2018).

Innym powszechnie wykorzystywanym sposobem jest aktywność fizyczna. Może ona mieć różne postacie np. sztuki walki, joga czy bieganie. Wykazano, że aktywność fizyczna wpływa na stres poprzez m.in. zmniejszanie lęku w wyniku zredukowania napięcia mięśniowego poprzez zwiększenie ukrwienia nadnerczy i wzrost wydzielania norepinefryny, czy zwiększonego wydzielania beta-endorfin (Wojtasik i in., 2015). Ważnym jest jednak, żeby dobrać właściwy rodzaj i intensywność ćwiczeń, ponieważ niewłaściwa aktywność fizyczna może wiązać się z pogorszeniem stanu zdrowia, a tym samym zwiększyć stres i jego skutki (lęk) (Heszen i Sęk, 2007).

Ostatnią z interwencji, o których warto wspomnieć w kontekście przeprowadzonych badań, jest wykorzystanie arteterapii. Pozwala ona na uzyskiwanie stanu relaksacji i równowagi emocjonalnej. Aktywność plastyczna w najróżniejszych formach pozwala na doświadczanie polisensorycznych doznań związanych z dotykiem, ruchem, dźwiękiem i wrażeniami wizualnymi. Poprzez działania arteterapeutyczne (rysunek, sztuki plastyczne, zajęcia manualne) możliwa jest redukcja stresu na drodze ekspresji emocji i fizycznego odreagowania napięcia (Stańko, 2009).

1.2. Cel badań

Celem pracy była ocena wpływu interwencji antystresowych na poziom wybranych parametrów psychologicznych i stężenia hormonów stresu (kortyzol, DHEA-S) u uczniów 1 i 2 klasy Liceum Ogólnokształcącego.

2. Materiały i metody

Badanie zostało przeprowadzone na 38 uczniach klasy 1 i 2 liceum (17 dziewcząt, 21 chłopców) na terenie I Liceum Ogólnokształcącego im. Mikołaja Kopernika w Łodzi. Cała procedura trwała dwa tygodnie: tydzień kontrolny (13–17.02.2017 r.) i tydzień badany (Antystresowy – 20–24.02.2017 r.). Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetyki przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi, nr zgody RNN/61/17/KE.

W tygodniu kontrolnym uczniowie biorący udział w badaniu uczestniczyli w normalnym życiu szkolnym. W trakcie Tygodnia Antystresowego wdrożono interwencję polegającą na usunięciu obciążających uczniów sytuacji takich jak kartkówki, sprawdziany czy odpowiedzi przed nauczycielem. Przeprowadzono również serię warsztatów mających na celu redukcję stresu i rozwijanie umiejętności i wiedzy dotyczącej radzenia sobie ze stresem:

- „filcowanie na odstresowanie” – polegające na przygotowaniu różnych form z filcu, pobudzające kreatywność i redukujące napięcie;
- „szalej, krzycz, odpocznij” – ćwiczenia sportowe aktywne i relaksacyjne nakierowane na ekspresję emocji i ich regulację;
- „od świadomego jedzenia do uważnego życia bez stresu” – ćwiczenie oparte na technice mindfulness polegającej na świadomym i pełnym doświadczaniu swoich odczuć i emocji
- „w zdrowym ciele spokojny duch” – trening jogi mający na celu osiągnięcie stanu relaksacji poprzez odpowiedni oddech i ćwiczenia fizyczne.

W badaniu zebrano dane z wykorzystaniem pomiaru zmiennych biologicznych (poziom hormonów w ślinie), pięciu kwestionariuszy psychologicznych opisanych poniżej oraz ankiet własnych.

Do badań poziomu hormonów pobierano ślinę w godzinach porannych, za każdym razem o tej samej porze od wszystkich badanych osób. Niestymulowane próbki śliny pobierano przy użyciu gotowych probówek do pobierania śliny tzw. Salivetek firmy Sarstedt, a następnie wirowano (3000xG przez 10 minut w temperaturze 4°C), porcjowano i zamrażano (-200°C). Przed wykonaniem oznaczeń odpowiednie porcje śliny rozmrażano. W celu pomiaru hormonów stresu w ślinie wykorzystano test immunoenzymatyczny ELISA (metoda „kanapkowa”). Do oznaczenia w ślinie kortyzolu użyto gotowego zestawu: Cortisol Salivary HS firmy DRG, a do oznaczania DHEA-S gotowego zestawu DHEA-S Elisa (Saliva) firmy DRG. Absorbancje mierzone były przy pomocy czytnika płytek Mindray, długość fali 450 nm. Wynik podano w ng / ml.

Skala Odczuwanego Stresu (PSS10) zawiera dziesięć pytań, które mają na celu pomiar poziomu odczuwanego stresu związanego z własną sytuacją życiową na przestrzeni ostatniego miesiąca (Juczyński i Ogińska-Bulik, 2009).

Szpitalna Skala Depresji i Lęku (HADS) oraz Inwentarz Stanu i Cechy Lęku (STAI) to narzędzia przesiewowe, które wykorzystuje się do wykrywania zaburzeń spowodowanych długotrwałym stresem, takich jak depresja i lęk (Mihalca i Pilecka, 2015). HADS to kwestionariusz składający się z 16 pytań podzielonych na dwie podskale służące do pomiaru nasilenia objawów lęku (A) i depresji (D). STAI również składa się z dwóch podskal zawierających 20 pozycji, z których jedna (X1) służy do pomiaru lęku jako stanu, a druga (X2) lęku jako cechy.

Wielowymiarowy Inwentarz do Pomiaru Radzenia Sobie ze Stresem (COPE) jest to narzędzie służące do oceny 15 strategii reagowania w sytuacjach stresowych. Narzędzie składa się z 60 stwierdzeń – po 4 dla każdej badanej strategii (Juczyński i Ogińska-Bulik, 2009).

Test Orientacji Życiowej (LOT-R) jest kwestionariuszem składającym się z 10 pytań służącym do pomiaru poziomu dyspozycyjnego optymizmu (Glaesmer i in., 2012).

Wszystkie z wymienionych narzędzi psychologicznych posiadają satysfakcjonujące własności psychometryczne – wysoką trafność i rzetelność. Ich wyniki zostały poddane interpretacji i przeliczeniu przez psychologów z zespołu prowadzącego badanie zgodnie z normami.

Za pomocą krótkich ankiet własnych skonstruowanych na potrzeby badania dokonano również pomiaru subiektywnych zmian w poziomie odczuwanego stresu (STRES) oraz wiedzy i umiejętności dotyczących radzenia sobie ze stresem (COPING).

Materiał biologiczny oraz wyniki kwestionariuszy STAI i HADS zbierano czterokrotnie – w poniedziałki i piątki w obu tygodniach. Punkty te oznaczono kolejno literami A, B, C i D. Pomiaru ankietami własnymi dokonano dwukrotnie w punktach B i D. Kwestionariusze badające zmienne niezależne (PSS10, COPE i LOT-R) zostały wypełnione raz – w punkcie A na początku badania (por. Tab. 1).

Tabela 1. Punkty pomiarowe w kolejnych tygodniach i lista zbieranych pomiarów.

	Poniedziałek	Piątek
Tydzień 1 – kontrolny	<p>Punkt A, zebrane pomiary:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ślina do pomiaru hormonów kortyzolu i DHEA-S; • kwestionariusze PSS10, COPE, LOT-R, STAI, HADS. 	<p>Punkt B, zebrane pomiary:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ślina do pomiaru hormonów kortyzolu i DHEA-S; • kwestionariusze STAI, HADS; • ankiety własne.
Tydzień 2 – antystresowy	<p>Punkt C, zebrane pomiary:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ślina do pomiaru hormonów kortyzolu i DHEA-S; • kwestionariusze STAI, HADS. 	<p>Punkt D, zebrane pomiary:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ślina do pomiaru hormonów kortyzolu i DHEA-S; • kwestionariusze STAI, HADS; • ankiety własne.

3. Wyniki

Uzyskane wyniki badanych parametrów biologicznych i psychologicznych przedstawiono szczegółowo w Tabeli 2. Poszczególne hipotezy i ich omówienie zostały przedstawione poniżej. W badaniu przyjęto poziom istotności $\alpha=0.05$. Analizy dokonano z wykorzystaniem programu Statistica w wersji 13.

Tabela 2. Wyniki pomiarów parametrów biologicznych i psychologicznych uzyskane w badaniu.

	N	Min	Max	Średnia	Odchylenie standardowe
DHEA-S pomiar A	38	0,720	4,270	2,409	1,087
DHEA-S pomiar B	38	0,80	5,080	2,684	1,154
DHEA-S pomiar C	38	0,790	5,070	2,684	1,144
DHEA-S pomiar D	38	0,850	4,390	2,642	1,097
Kortyzol pomiar A	38	17,90	52,20	34,905	10,012
Kortyzol pomiar B	38	16,30	53,30	35,205	9,363
Kortyzol pomiar C	38	17,70	54,90	34,555	9,749
Kortyzol pomiar D	38	18,10	56,00	35,20	9,465
STAI X1 pomiar A	38	22	74	43,66	12,33
STAI X1 pomiar B	38	21	63	41,63	11,04
STAI X1 pomiar C	38	20	75	38,24	10,32
STAI X1 pomiar D	38	20	67	34,03	9,27
HADS A pomiar A	38	0	19	12,61	4,64
HADS A pomiar B	38	2	20	13,97	3,77
HADS A pomiar C	38	0	21	14,05	4,50
HADS A pomiar D	37	4	21	15,92	3,86
HADS D pomiar A	38	4	21	15,63	3,97
HADS D pomiar B	38	10	21	16,61	3,00
HADS D pomiar C	38	3	21	17,29	3,59
HADS D pomiar D	37	10	21	19,14	2,16
Ankieta własna COPING pomiar B	38	0	9	6,16	2,40
Ankieta własna COPING pomiar D	38	0	10	7,24	2,36
Ankieta własna STRES pomiar B	38	1	10	5,42	2,51
Ankieta własna STRES pomiar D	38	0	10	2,88	2,57
PSS10	38	6	39	19,18	7,20
LOT-R	38	18	29	23,42	2,77

3.1. Zastosowanie interwencji antystresowych u uczniów liceum ogólnokształcącego wpływa na obniżenie stężenia kortyzolu oraz wzrost stężenia kortyzolu oraz wzrost stężenia DHEA-S w ślinie

Ze względu na odstępstwa od normalności rozkładu w niektórych pomiarach poziomu hormonów w ślinie podjęto decyzję o wykorzystaniu nieparametrycznego testu ANOVA Friedmana. Porównując wartość $p=0,004$ z przyjętym poziomem istotności, można stwierdzić, że poziom hormonów DHEA-S różnił się w kolejnych pomiarach (Tab. 3).

Tabela 3. Analiza wariancji poziomu hormonu DHEA-S w ślinie z wykorzystaniem testu ANOVA Friedmana.

	N	Suma rang	df	Średnia rang	F	P
DHEA-S	38	1,980	3	0,660	4,969	0,004

Analiza z wykorzystaniem testów post-hoc (Holm, Bonferroni) wykazała, że istotne statystycznie różnice poziomu DHEA-S występują pomiędzy pomiarami w punktach A-B oraz A-C. W punktach B i C zauważyć można wzrost stężeń DHEA-S w ślinie względem punktu A (Tab. 4).

Tabela 4. Porównanie poziomu hormonu DHEA-S w ślinie pomiędzy kolejnymi punktami pomiaru.

	Średnia		N	Średnia	MD	SE	t	p_{holm}	p_{bonf}
DHEA-S A	2,409	DHEA-S B	38	2,684	-0,274	0,057	-4,783	<,001	<,001
		DHEA-S C	38	2,684	-0,275	0,085	-3,252	0,012	0,015
		DHEA-S D	38	2,642	-0,232	0,094	-2,78	0,072	0,107
DHEA-S B	2,684	DHEA-S C	38	2,684	-5,263e-4	0,083	-0,006	1,000	1,000
		DHEA-S D	38	2,642	0,042	0,102	0,417	1,000	1,000
DHEA-S C	2,684	DHEA-S D	38	2,642	0,043	0,075	0,574	1,000	1,000

Poziom drugiego z badanych hormonów, kortyzolu, nie różnił się w sposób istotny statystycznie w olejnych pomiarach ($p = 0.270$).

3.2. Czynniki takie jak płeć, klasa, profil klasy, odczuwany stres i lęk wiążą się z częstszym wykorzystywaniem konkretnych sposobów radzenia sobie ze stresem

W celu porównania, w jaki sposób grupy różniące się płcią, profilem klasy, rocznikiem, poziomem odczuwanego stresu i lęku różnią się od siebie pod względem preferowanych strategii radzenia sobie ze stresem, wykorzystano statystykę χ^2 Pearsona.

W badanej grupie młodzieży szkolnej chłopcy istotnie częściej niż dziewczęta sięgali po strategię nakierowaną na poszukiwanie wsparcia i koncentrację na emocjach: „powstrzymanie się od działania” i „akceptacja”. Uczniowie klas drugich mieli silniejszą tendencję do wykorzystywania skoncentrowanej na problemie strategii „planowanie”.

Wykazano również związek pomiędzy poziomem odczuwanego stresu (którego wskaźnikiem są wyniki kwestionariusza PSS10) i lęku (mierzonego z wykorzystaniem skali STAI) a wykorzystywanymi strategiami (mierzonymi za pomocą kwestionariusza COPE). Osoby o niskim poziomie odczuwanego stresu częściej preferowały strategię „pozytywne przewartościowanie i rozwój”. Niski poziom odczuwanego stresu wiązał się także z częstszym sięganiem po strategię „odwracanie uwagi”. Zauważono również, że osoby o wyższym poziomie lęku rzadziej wskazywały jako preferowaną strategię „pozytywne przewartościowanie i rozwój”. Szczegółowe wyniki powyższych analiz przedstawiono w Tabelach 5, 6 i 7.

Tabela 5. Związek pomiędzy płcią a preferowanymi strategiami radzenia sobie ze stresem.

	<i>N</i>	<i>Średnia Mężczyźni</i>	<i>Średnia Kobiety</i>	<i>V</i>	<i>df</i>	χ^2	<i>p</i>
Płeć a powstrzymanie od działania	38	10,25	11,12	0,743	6	41,97	<,001
Płeć a akceptacja	38	10,50	10,94	0,54	6	22,14	0,001

Tabela 6. Związek pomiędzy klasą a preferowanymi strategiami radzenia sobie ze stresem.

	<i>N</i>	<i>Średnia COPE Klasa I</i>	<i>Średnia COPE Klasa II</i>	<i>V</i>	<i>df</i>	χ^2	<i>p</i>
Klasa a planowanie	35	10,53	10,06	0,496	3	8,60	0,035

Tabela 7. Związek poziomem odczuwanego stresu i lęku a preferowanymi strategiami radzenia sobie ze stresem.

	<i>N</i>	<i>Średni a PSS10</i>	<i>Średni a STAI</i>	<i>Średnia COPE</i>	<i>V</i>	<i>df</i>	χ^2	<i>p</i>
Poziom stresu a przewartościowanie i rozwój	3 8	2,03	-	2,87	0,46 3	6	16,2 9	0,01 2
Poziom stresu a odwracanie uwagi	3 8	2,03	-	2,40	0,48 1	6	17,6 0	0,00 7
Poziom lęku a przewartościowanie i rozwój	3 8	-	2,18	2,87	0,75 6	6	43,4 8	<,00 1

Dodatkowo dokonano oceny związku pomiędzy optymizmem a preferowanymi strategiami radzenia sobie ze stresem z wykorzystaniem współczynnika korelacji rang (ρ -Spearmana). Osoby charakteryzujące się większym optymizmem istotnie częściej skłaniały się ku strategii „pozytywne przewartościowanie i rozwój” i rzadziej sięgały po strategię „zaprzestanie działań” (Tab. 8).

Tabela 8. Związek pomiędzy optymizmem a preferowanymi strategiami radzenia sobie ze stresem.

	<i>N</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
Optymizm a przewartościowanie i rozwój	38	0,51	<,001
Optymizm a zaprzestanie działań	38	0,37	0,001

3.3. Zastosowanie interwencji antystresowych u uczniów liceum ogólnokształcącego wpływa na obniżenie stężenia kortyzolu oraz wzrost stężenia kortyzolu oraz wzrost stężenia DHEA-S w ślinie

W celu weryfikacji kolejnej hipotezy dokonano analizy poziomu lęku jako stanu (mierzonego kwestionariuszem STAI X-1) oraz objawów lęku (mierzonych za pomocą kwestionariusza HADS) z wykorzystaniem testu ANOVA Friedmana. Porównując wartości $p < 0,001$ dla lęku jako cechy i $p = 0,039$ dla objawów lęku z przyjętym poziomem istotności, można stwierdzić, że pomiędzy kolejnymi pomiarami występowały istotne różnice (Tab. 9).

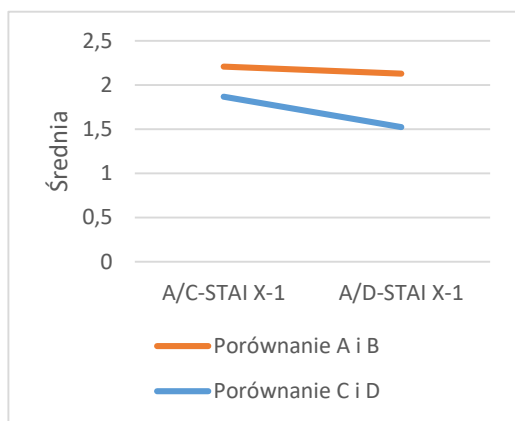
Tabela 9. Analiza wariancji poziomu lęku jako stanu i nasilenia objawów lęku z wykorzystaniem testu ANOVA Friedmana.

	N	Suma rang	df	Średnia rang	F	P
Lęk jako stan	38	10,868	3	3,623	12,917	<,001
Objawy lęku	38	2,076	3	0,692	2,887	0,039

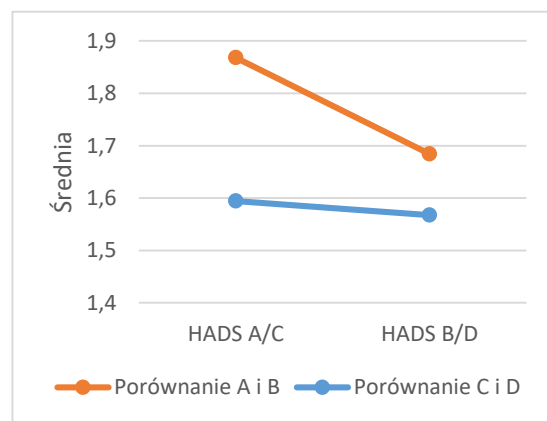
Analiza z wykorzystaniem testów post-hoc (Holm, Bonferroni) wykazała, że istotne statystycznie różnice w wynikach skali X1 kwestionariusza STAI występują pomiędzy pomiarami w punktach A i C, A i D, B i D, C i D, a istotne różnice w nasileniu objawów lęku pojawiły się pomiędzy pomiarami w punktach A i D (por. Tab. 10 oraz Ryc. 1). Jednocześnie podobnej zmiany nie zaobserwowano dokonując analizy objawów depresji – te nie różniły się w sposób istotny statystycznie w przebiegu badania.

Tabela 10. Porównanie poziomu lęku jako stanu (STAI-X1) i nasilenie objawów lęku (HADS) pomiędzy kolejnymi punktami pomiaru.

	Średnia		Średnia	N	MD	SE	t	P_{holm}	p_{bonf}
STAI X-1 A	43,66	STAI X-1 B	41,63	38	0,07	0,11	0,68	0,49	1,00
					9	6	3	9	0
		STAI X-1 C	38,24	38	0,34	0,09	3,62	0,00	0,00
STAI X-1 B	41,63	STAI X-1 D	34,03	38	0,68	0,14	4,83	<,00	<,00
					4	2	0	1	1
		STAI X-1 C	38,24	38	0,26	0,11	2,24	0,06	0,18
STAI X-1 C	38,24	STAI X-1 D	34,03	38	0,60	0,12	4,72	<,00	<,00
					5	8	4	1	1
		STAI X-1 D	34,03	38	0,34	0,12	2,70	0,03	0,06
HADS A	12,61	HADS B	13,97	38	0,22	0,12	1,84	0,29	0,43
					2	0	8	2	9
		HADS C	14,05	38	0,27	0,10	2,71	0,05	0,06
HADS B	13,97	HADS D	15,92	37	0,30	0,10	2,93	0,03	0,03
					6	4	7	5	5
		HADS C	14,05	38	0,05	0,13	0,40	1,00	1,00
HADS C	14,05	HADS D	15,92	37	0,08	0,11	0,72	1,00	1,00
					3	5	3	0	0
		HADS D	15,92	37	0,02	0,10	0,25	1,00	1,00
					8	9	5	0	0



(a)

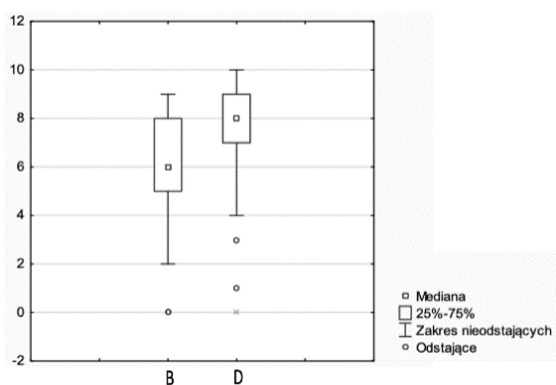


(b)

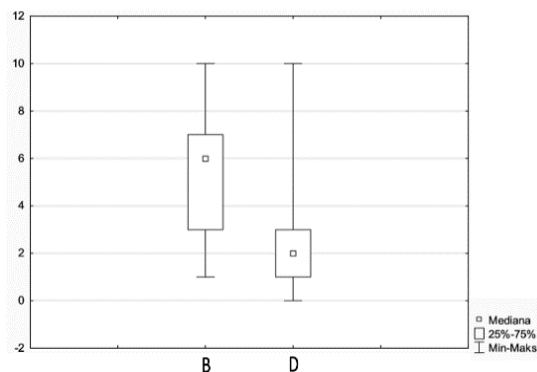
Rycina 1. Średni poziom lęku jako stanu uczestników mierzony za pomocą kwestionariusza STAI w kolejnych punktach badaniach (a). Średni poziom lęku jako stanu uczestników mierzony za pomocą kwestionariusza HADS w kolejnych punktach badania (b).

Dane dotyczące subiektywnie ocenianego poziomu stresu badanych mierzonego w punktach B i D przeanalizowano z wykorzystaniem testu Wilcozona. Stwierdzono istotny spadek subiektywnie odczuwanego stresu ($p < 0,000$) w ciągu tygodnia dzielącego oba pomiary (Ryc. 2a.).

Stosując test t-Studenta, dokonano analizy pomiarów subiektywnych opinii badanych dotyczących poziomu ich umiejętności radzenia sobie ze stresem, które zmierzono dwukrotnie w punktach B i D i wykazano istotne statystycznie różnice ($p = 0,003$). W Tygodniu Antystresowym osoby badane wyżej oceniały swoje umiejętności radzenia sobie ze stresem (por. Ryc. 2b.).



(a)



(b)

Rycina 2. Subiektywna ocena odczuwanego stresu uczestników przed warsztatami antystresowymi i po warsztatach (a). Średnia subiektywnego poziomu oceny własnych umiejętności antystresowych uczestników przed warsztatami antystresowymi i po warsztatach (b).

4. Dyskusja

Liczne badania na przestrzeni lat potwierdzają, że wzrost poziomu kortyzolu i spadkiem poziomu DHEA-S w organizmie świadczy o nasileniu się tzw. stresu przewlekłego (Heszen i Sęk, 2007). Luo i in. w swojej pracy dotyczącej wpływu dobrostanu i przewidywań pozytywnych zdarzeń na aktywność neuronalną wykazali, że obustronna środkowa kora przedczołowa wykazywała się zwiększoną aktywnością podczas antycypacji zdarzeń pozytywnych w stosunku do zdarzeń neutralnych. Dodatkowo, zwiększona aktywność mózgu była związana z wyższym poziomem dobrego samopoczucia. Badania te sugerują istnienie mechanizmu neuronowego, za pomocą którego proces przewidywania przyszłych zdarzeń koreluje z dobrostanem człowieka (Luo i in., 2018). Z kolei MacLeod i Byrne wskazują na to, że zmniejszona pozytywna antycypacja, a zwiększona antycypacja negatywna wiążą się ze stanem depresji i niepokoju (MacLeod i Byrne, 1996). Dlatego też przewidywanie pozytywnych zdarzeń prawdopodobnie może również zmniejszać poziom stresu, jednak konieczne są dalsze badania potwierdzające te wyniki.

W wynikach uzyskanych w badaniu własnym obserwowano istotne różnice poziomu DHEA-S. Różnica poziomu tego hormonu między początkiem Tygodnia Kontrolnego a końcem Tygodnia Kontrolnego oraz początkiem Tygodnia Kontrolnego i początkiem Tygodnia Antystresowego wskazuje na to, że istotną rolę w obniżeniu biochemicznych markerów stresu może mieć samo nastawienie i myśl o tygodniu, który jest wolny od kartkówek oraz wypełniony oddziaływaniami antystresowymi. Brak istotnych różnic w poziomie kortyzolu może wiązać się z trudnościami w uchwyceniu jego średniego poziomu. Podlega on dużym wahaniom w ciągu doby oraz wpływa na niego wiele czynników, których w badaniu nie można było w pełni kontrolować.

Warto zwrócić uwagę na wyniki dotyczące porównania preferencji w kierunku określonych strategii radzenia sobie ze stresem w różnych grupach osób badanych. Wskazują one, że zdecydowana większość chłopców oraz prawie połowa dziewcząt biorących udział w badaniu preferuje strategię „powstrzymanie się od działań”. Świadczy to o ich bierności w stosunku do zaistniałej sytuacji stresowej. Jest to zbieżne z wynikami zaprezentowanymi w pracy Sikory i Pisuli, które sugerują, że młodzież w wieku 14–16 lat znacznie rzadziej stosuje techniki służące przepracowaniu problemu, analizie i próbie zmiany sytuacji (Sikora i Pisula, 2002).

Należy także wskazać, że wraz ze wzrostem odczuwanego stresu maleje skłonność do wykorzystywania strategii „pozytywne przewartościowanie i rozwój”, a rośnie tendencja do stosowania strategii „odwracanie uwagi”, co również wskazuje na bierną postawę w sytuacji stresowej. Tendencja do wykorzystywania pierwszego z tych sposobów radzenia sobie wiąże się również z poziomem lęku. Osoby o niższym odczuwanym poziomie lęku częściej sięgają po efektywne strategie radzenia sobie ze stresem skoncentrowane na zadaniu („pozytywne przewartościowanie i rozwój”). Można zatem uznać, że częstsze stosowanie strategii nakierowanych na regulację emocji i aktywne radzenie sobie z problemem chroni przed wzrostem poziomu odczuwanego stresu i pojawieniem się coraz silniejszego lęku.

W badaniach Chodkiewicza stwierdzono, że wyższy poziom optymizmu wiąże się z częstszym stosowaniem aktywnych form radzenia sobie ze stresem („planowanie”), a niższy koreluje z wyborem strategii bardziej biernych („zaprzeczanie”) (Chodkiewicz, 2000). Potwierdzają to również wyniki przeprowadzonego przez autorów badania, wskazujące na silną, pozytywną korelację optymizmu z „pozytywnym przewartościowaniem i rozwojem” oraz słabszą ujemną korelację optymizmu z „zaprzestaniem działań”.

Widoczne obniżenie poziomu lęku jako stanu w czasie trwania badania można uznać za wyznacznik efektywności zastosowanych oddziaływań. Jego istotny spadek między punktami A i C oraz B i C może potwierdzać hipotezę, że to właśnie antycypacja pozytywnych zdarzeń (Tygodnia Antystresowego) w postaci braku kartkówek i zaplanowanych oddziaływań antystresowych może istotnie obniżyć odczuwany stres. Z kolei zmiany między punktami B i D oraz C i D mogą świadczyć o słuszności stosowania oddziaływań antystresowych nakierowanych na obniżanie poziomu stresu. Powyższe wnioski potwierdzają także wyniki uzyskane w badaniu za pomocą kwestionariusza HADS wskazujące na istotną redukcję objawów lęku w trakcie Tygodnia Antystresowego.

Subiektywna ocena uczestników badania dotycząca poprawy ich umiejętności radzenia sobie ze stresem i spadku poziomu stresu wskazuje, że interwencje przygotowane i przeprowadzone w ramach Tygodnia Antystresowego spełniły swoją rolę zarówno w aspekcie edukacji, jak i promocji zdrowia w aspekcie dbania o własną „higienę psychiczną”. Umożliwiły także zwrócenie uwagi na problem stresu u młodzieży wywołany codziennymi aktywnościami szkolnymi i dostarczenia im skutecznych narzędzi do radzenia sobie ze szkodliwym napięciem odczuwanym na co dzień.

Wnioski

Badania własne wskazują, że antycypacja zdarzeń pozytywnych już sama w sobie powoduje obniżenie poziomu stresu.

Cykliczne stosowanie tygodnia antystresowego w trakcie roku szkolnego może stymulować uczniów do wypracowania właściwej higieny psychicznej.

Warto także nadmienić, że cały projekt realizowany był w ramach współpracy Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z I Liceum Ogólnokształcącym im. Mikołaja Kopernika w Łodzi. Pozwoliło to na włączenie grupy licealistów w proces przygotowania i prowadzenia badań naukowych oraz opracowania i publikacji ich wyników. Stanowiło to dla nich ważne doświadczenie, które doprowadziło do postawienia pierwszego kroku na ich ścieżce naukowej w bardzo młodym wieku.

Finansowanie: Badania finansowane ze środków statutowych – 503/1-137-04/503-11-001-19-00 oraz ze środków I edycji projektu mentorskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, „Kumpel” – 564/9-901-07/564-01.

Podziękowania: Autorzy dziękują dr n.med. Alicji Ograczyk-Piotrowskiej oraz mgr Zofii Kabzińskiej za pomoc w realizacji badań w ramach projektu „Kumpel” oraz Dyrekcji I Liceum Ogólnokształcącego w Łodzi za współpracę przy realizacji projektu.

Bibliografia

- Boudarene M., Legros J.J., Timsit-Berthier M. 2002. Study of the stress response: role of anxiety, cortisol and DHEAs. *L'Encephale* 28(2), str. 139–146.
- Błaszczak A. 2018. Wpływ Treningu Redukcji Stresu opartego na uważności (MBSR) na zdrowie fizyczne. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio J. Paedagogia-Psychologia* 31(1), str. 61–73. DOI: [10.1795/j.2018.31.1.61-73](https://doi.org/10.1795/j.2018.31.1.61-73).
- Carver C.S., Scheier M.F., Weintraub K.J. 1989. Assessing Coping Strategies: A Theoretically Based Approach. *Journal of Personality and Social Psychology* 56(2), str. 267–283. DOI: [10.1037/0022-3514.56.2.267](https://doi.org/10.1037/0022-3514.56.2.267).
- Chodkiewicz J. 2000. Psychologiczne wyznaczniki stylów radzenia sobie ze stresem u osób uzależnionych od alkoholu. *Acta Universitatis Lodziensis. Folia Psychologica* 3, str. 77–85.
- Echouffo-Tcheugui J.B., Conner S.C., Himali J.J., Maillard P., DeCarli C.S., Beiser A.S., Vasan R.S., Seshadri S. 2018. Circulating cortisol and cognitive and structural brain measures. *Neurology* 91(21), str. e1961–e1970. DOI: [10.1212/WNL.0000000000006549](https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006549).
- Glaesmer H., Rief W., Martin A., Mewes R., Brähler E., Zenger M., Hinz A. 2012. Psychometric properties and population-based norms of the Life Orientation Test Revised (LOT-R). *British Journal of Health Psychology* 17, str. 432–445. DOI: [10.1111/j.2044-8287.2011.02046.x](https://doi.org/10.1111/j.2044-8287.2011.02046.x).
- Heszen I., Sęk H. 2007. *Psychologia zdrowia*, wyd. I. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Jelonkiewicz I., Kosińska-Dec K. 2007. Spostrzegane wsparcie a występowanie stresu rodzinnego wśród młodzieży (Kto i jak pomaga młodzieży w stresie?). *Kwartalnik Pedagogiczny* 210(4), str. 171–193.
- Juczyński Z., Ogińska-Bulik N. 2009. *NPSR – Narzędzia Pomiaru Stresu i Radzenia Sobie ze Stresem*, wyd. I. Pracownia Testów Psychologicznych, Warszawa.
- Lazarus R.S., Folkman S. 1984. *The Stress Concept in the Life Sciences. Stress, appraisal, and coping*, wyd. I. Springer Pub. Co., New York.

- Litzcke S., Schuh H., Pletke M. 2013. *Stress, Mobbing und Burn-out am Arbeitsplatz, Stress, Mobbing und Burn-out am Arbeitsplatz*, wyd. VI. Springer, Berlin. DOI: [10.1007/978-3-642-28624-7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-28624-7).
- Luo Y., Chen X., Qi S., You X., Huang X. 2018. Well-being and anticipation for future positive events: Evidences from an fMRI study. *Frontiers in Psychology* 8, str. 2199. DOI: [10.3389/fpsyg.2017.02199](https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.02199).
- MacLeod A.K., Byrne A. 1996. Anxiety, depression, and the anticipation of future positive and negative experiences. *Journal of Abnormal Psychology* 105(2), str. 286–289. DOI: [10.1037/0021-843X.105.2.286](https://doi.org/10.1037/0021-843X.105.2.286).
- Morgan C.A., Southwick S., Hazlett G., Rasmusson A., Hoyt G., Zimolo Z., Charney D. 2004. Relationships among plasma dehydroepiandrosterone sulfate and cortisol levels, symptoms of dissociation, and objective performance in humans exposed to acute stress. *Archives of General Psychiatry* 61(8), str. 819–825. DOI: [10.1001/archpsyc.61.8.819](https://doi.org/10.1001/archpsyc.61.8.819).
- Mihalca A.M., Pilecka W. 2015. Struktura czynnikowa oraz walidacja polskiej wersji Szpitalnej Skali Lęku i Depresji (HADS) dla młodzieży. *Psychiatria Polska* 49(5), str. 1071–1088. DOI: [10.12740/PP/38139](https://doi.org/10.12740/PP/38139).
- Sikora R., Pisula E. 2002. Przyczyny stresu i strategie radzenia sobie ze stresem u młodzieży w wieku 14–16 lat. *Polskie Forum Psychologiczne* 7(2), str. 110–122.
- Stojanovich L., Marisavljevich D. 2008. Stress as a trigger of autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews* 7(3), str. 209–213. DOI: [10.1016/j.autrev.2007.11.007](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2007.11.007).
- Stańko M. 2009. Arteterapia z dziećmi i młodzieżą – perspektywa rozwojowa. *Psychiatria* 6(2), str. 66–73.
- Wojtasik W., Szulc A., Kołodziejczyk M., Szulc A. 2015. Wpływ wysiłku fizycznego na homeostazę i środowisko wewnętrzne organizmu człowieka. *Journal of Education, Health and Sport* 5(9), str. 754–767. DOI: [10.5281/zenodo.44340](https://doi.org/10.5281/zenodo.44340).
- Załużska M., Janota B. 2009. Dehydroepiandrosteron (DHEA) w mechanizmach stresu i depresji. *Psychiatria Polska* 43(3), str. 263–274.

THERAPEUTIC APPLICATIONS OF LUTETIUM-177 (^{177}LU) LABELLED RADIOPHARMACEUTICALS

ZASTOSOWANIA RADIOFARMACEUTYKÓW
ZNAKOWANYCH LUTETEM-177 (^{177}LU)
W TERAPII IZOTOPOWEJ

Jacek Makarewicz 

Zakład Medycznych Technik Obrazowania, Oddział Nauk Biomedycznych Wydziału Lekarskiego,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

* jacek.makarewicz@umed.lodz.pl



Abstract: The potential use of radionuclides in therapy has been recognized for many decades. A number of radionuclides, such as iodine-131 (^{131}I), phosphorous-32 (^{32}P), strontium-90 (^{90}Sr), and yttrium-90 (^{90}Y), have been used successfully for the treatment of many benign and malignant disorders. The evolving field of personalised medicine, especially in the field of oncology, has recently stimulated the introduction of new radionuclides and radiopharmaceuticals for the treatment of metastatic bone pain, neuroendocrine and other malignant tumours. Although lutetium-177 (^{177}Lu) was first implemented for medical use around 50 years ago, its use as a therapeutic nuclide has only recently increased with the advent of modern radiopharmaceuticals exploiting molecular alterations in malignant disease, which results in the expression or upregulation of various targets that can be used for imaging and treatment with radiopharmaceuticals. Physical characteristics of ^{177}Lu , which is one of the radionuclides most suitable for theranostic approaches, are discussed. Most important clinical studies using ^{177}Lu -labelled radiopharmaceuticals are presented with the emphasis on the role of peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) and radioligand therapy (RLT) in patients with advanced neuroendocrine tumours (NETs) and castration-resistant prostate cancer (CRPC).

Keywords: radionuclide therapy, lutetium-177, peptide receptor radionuclide therapy, radioligand therapy

Streszczenie: Możliwości zastosowania radionuklidów w terapii są uznawane od dziesięcioleci. Szereg radionuklidów, takich jak jod-131 (^{131}I), fosfor-32 (^{32}P), stront-90 (^{90}Sr) i itr-90 (^{90}Y), jest z powodzeniem stosowanych w leczeniu wielu chorób o charakterze łagodnym i nowotworowym. Dokonujący się w ostatnim czasie rozwój medycyny spersonalizowanej, zwłaszcza w dziedzinie onkologii, był bodźcem do wprowadzenia w ostatnim czasie szeregu nowych radionuklidów i radiofarmaceutyków w leczeniu bólu związanego z przerzutami nowotworowymi do kości, leczeniu guzów neuroendokrynych i innych nowotworów złośliwych. Chociaż lutet-177 (^{177}Lu) został po raz pierwszy zastosowany w medycynie około 50 lat temu, jego rola jako radionuklidu w terapii izotopowej wzrosła dopiero w ostatnim czasie wraz z pojawieniem się nowoczesnych radiofarmaceutyków wykorzystujących zmiany do jakich dochodzi na poziomie molekularnym w chorobie nowotworowej, które powodują nadekspresję lub wzmożoną regulację różnych struktur, co może być wykorzystane w diagnostyce obrazowej i do leczenia za pomocą radiofarmaceutyków. W pracy omówiono fizyczne cechy ^{177}Lu , które sprawiły, że jest on jednym z radionuklidów najbardziej przydatnych w teranostyce. Przedstawiono najważniejsze badania kliniczne z zastosowaniem radiofarmaceutyków znakowanych ^{177}Lu ze zwróceniem szczególnej uwagi na receptorową terapię izotopową z użyciem peptydów (PRRT) i leczenie z użyciem radioligandów (RLT) u pacjentów z zaawansowanymi guzami neuroendokrynymi (NET) i opornym na kastrację rakiem prostaty (CRPC).

Słowa kluczowe: leczenie radioizotopowe, lutet-177, receptorową terapię izotopową z użyciem peptydów, leczenie z użyciem radioligandów

List of abbreviations

AML – acute myeloid leukaemia
BPAMD – (4-{bis-(phosphonomethyl)carbamoyl}methyl)-7,10-bis(carbamoxymethyl) 1,4,7,10-tetraazacyclo-dodec-1-yl acetic acid
Bq – Becquerel
BSA – body surface area
CRPC – castration-resistant prostate cancer
CS – clinical stage
CTCAE – Common Terminology Criteria for Adverse Events
Ci – Curie
CR – complete response
d – day(s)
DCR – disease control rate
DOTA – 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetra-acetic acid
DOTANOC – [DOTA0-1-Na3]octreotide
DOTATATE – [DOTA0,Tyr3]octreotate
DOTATOC – [DOTA0,Tyr3]octreotide
DOTMP – 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetramethylene phosphonic acid
DRR – disease response rate
EDTMP – ethylenediaminetetramethylene phosphonic acid
eV – electronvolt
FDG-PET – fluorodeoxyglucose positron emission tomography
GEP-NET – gastroenteropancreatic neuroendocrine tumour
Gy – Gray
h – hour(s)
mCRPC – metastatic castration-resistant prostate cancer
MDS - myelodysplastic syndrome
MIBG – iobenguane
MR – minor response
MTD – maximum tolerated dose
NET – neuroendocrine tumour
NHL – non-Hodgkin lymphoma
NTSR – neurotensin receptors
ORR – objective response rate
OS – overall survival
PET/CT – positron emission tomography/computed tomography
PFS – progression-free survival
PR – partial response
PRRT –peptide receptor radionuclide therapy
PSA – prostate-specific antigen
PSMA – prostate-specific membrane antigen
RECIST –Response Evaluation Criteria in Solid Tumours
RLT – radioligand therapy
SD – stable disease
SSTR – somatostatin receptors
SWOG – Southwest Oncology Group (response evaluation criteria)
WBC – white blood cell

Introduction

Nuclear medicine therapy (radionuclide therapy) uses radioactive preparations for the selective delivery of radiation to target organs or tumours. The therapeutic use of radioisotopes was developed in the mid-20th century following the discovery of methods of artificial radionuclide production. In that respect, ^{131}I iodine has been used for the treatment of differentiated thyroid carcinoma and ^{32}P phosphorus (as orthophosphate) for the treatment of polycythaemia vera. Potential new applications of radionuclide therapy (particularly in the field of oncology) reflect advances in antibody engineering (radioimmunotherapy), the identification of tumour antigen targets or the synthesis of peptide analogues (peptide radionuclide therapy). These compounds are subsequently complexed with β -emitting (or α -emitting) radionuclides to achieve an appropriate treatment through the delivery of cytotoxic absorbed radiation dose to the desired target and prevent or minimise the toxicity for normal tissues.

The goal of radionuclide targeted therapy is to effectively deliver curative doses of radioactivity to the tumour cells while sparing the normal tissue. In recent years, the rapid expansion in the use of radionuclides for therapeutic purposes has been observed involving various biologically active molecules as carriers. The potential usefulness of a particular radioisotope depends on many factors including its physical characteristics (half-life, type of emissions, energy of the radiation(s), daughter product(s), method of production, and radionuclide purity) and biochemical aspects, related mainly to a radionuclide carrier molecule, which include tissue targeting, retention of radioactivity in the tumour, *in vivo* stability, and toxicity.

The most important factor to be considered when choosing a radionuclide for therapy is the physical half-life time, most suitable in the range between six hours and seven days. A very short physical half-life limits the delivery flexibility and is very impractical, while a long half-life means long retention of radioactivity in the patient's body and prolonged exposure of the patient's environment to radiation. Thus, when the physical half-life is too long, patients need to be admitted and isolated for a longer period, hence increasing the treatment costs. On the other hand, a tracer should have sufficient retention so that radiation can be delivered to the target efficiently. If the uptake is slow, a radionuclide with a relatively long physical half-life should be used so that the radionuclide will not decay completely before it reaches the targeted tumour. Therefore, for an efficient radiation delivery, a balanced optimal biological and physical half-life should be chosen, which results in an optimal effective half-life.

For therapeutic purposes, radiations with high-linear energy transfer, such as α - and β -particles, are preferable. These types of radiations allow very high ionization per length of path. Therefore, they are fully deposited within a small range of tissue (usually mm). This also reduces the need for additional radiation protection of the environment. However, some β -emitting radionuclides also decay with γ -radiation. This associated γ -radiation could be advantageous if its energy and intensity are within the diagnostic range, as it provides the ability to visualize the distribution of the radiopharmaceutical within the patient's body using scintigraphic methods.

Table 1. Characteristics of the selected, most important current (^{131}I , ^{90}Y , ^{177}Lu) and emerging (^{161}Tb , ^{225}Ac) radionuclides for therapy. Modified from (Basu et al., 2020)

Radionuclide	Half-life	Emissions	Maximum energy of particulate emission	Mean (maximum) soft tissue penetration range	Source
^{131}I	8.02 d	β^- , γ	606 keV	0.4 (2.4) mm	reactor
^{90}Y	64.1 h	β^-	2284 keV	3.6 (11) mm	$^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ generator
^{177}Lu	6.65 d	β^- , γ	497 keV	0.28 (1.7) mm	reactor
^{161}Tb	6.88 d	β^- , Auger e, γ	593 keV (β^-)	3 mm	reactor
^{225}Ac	10.0 d	α , β^- , γ	5792 keV (α)	<10 μm	separation from ^{229}Th , decay product of ^{233}U

Historically, ^{177}Lu was first implemented for medical use around 50 years ago for the selective irradiation of sentinel nodes (Kyker et al., 1956), but its use as a therapeutic nuclide has only recently increased with the advent of modern radiopharmaceuticals.

The physical properties of ^{177}Lu allow the construction of tailor-made therapeutic radiopharmaceuticals choosing from a variety of ligands. Lutetium-177 is the β^- emitting radionuclide having physical characteristics suitable for therapy: a half-life of 6.65 days with emission of β^- particles with maximum energy of 497 keV, maximal tissue penetration of 1.7 mm and linear energy transfer of around 0.2 keV/mm. It also emits γ photons, the most prominent: 208 keV (10.4%) and 113 keV (6.2%), which allow scintigraphy and subsequent internal dosimetry with the same therapeutic compound. Lutetium-177 can be produced in a nuclear reactor by neutron irradiation of natural or enriched ^{176}Lu target. Alternatively, it can be obtained as a carrier free radionuclide ^{177}Lu after the decay of ^{177}Yb produced by neutron bombardment of ^{176}Yb followed by a chemical separation of ^{177}Lu . Thus, apart from the clinical advantages, another important aspect is the large-scale commercial availability of ^{177}Lu with very high radionuclide purity and desired specific activity at an affordable cost. This is one aspect where ^{177}Lu has a distinct advantage over other radionuclides which have either been used or proposed for radioisotope therapy. The European Pharmacopoeia monograph for ^{177}Lu for radiolabelling (lutetium [^{177}Lu] solution for radiolabelling — Ph. Eur. 07/2017:2798) covers both production routes and the quality aspects of solutions for radiolabelling with different impurity profiles and different specific radioactivity. Lutetium-177 produced by both production routes has been granted marketing authorization in Europe (LuMark (EU/1/15/1013/001), EndolucinBeta® (EU/1/16/1105/001-002), LutaPol (national procedure, Poland 22081).

An overview of the published experience with ^{177}Lu showing therapeutic utility in targeted *in vivo* radiotherapy is presented.

1. Areas of therapeutic applications of ^{177}Lu

1.1. Bone pain palliation

About 50% of patients with breast cancer and around 80% patients with prostate cancer develop bone metastases in the advanced stage of disease, and in nearly half of these patients the metastatic process is accompanied by bone pain. These metastatic lesions in skeleton often lead to excruciating pain and other related symptoms such as lack of mobility, neurological deficits, depression, anxiety, anger, fear of death and others, which adversely affect the quality of life. Though the conventional treatment modalities such as administration of analgesics, hormones and external beam radiotherapy are prevalent practices, their administration is limited due to multiple side effects. Radionuclide therapy employing radiopharmaceuticals labelled with radionuclides emitting β^- /conversion electrons such

as ^{32}P , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{153}Sm , ^{186}Re and ^{177}Lu has been proposed as an effective option for bone pain palliation, which could provide significant improvement in quality of life of patients.

Recently, α radiation emitting radium-223 dichloride (^{223}Ra) has been approved for the treatment of metastatic, castration-resistant prostate cancer (mCRPC) patients with symptomatic bone metastasis and without visceral metastases (Florimonte et al., 2016; Parker et al., 2013).

In designing suitable radiolabelled agents for palliative care of bone pain due to metastatic skeletal lesions, multidentate polyaminophosphonic acids have been found to be the most promising candidates as carrier ligands owing to their high bone affinity, selective localization in skeletal lesions and ability to form metal chelates with high *in-vivo* stability.

Several ^{177}Lu -labelled radiopharmaceuticals were reported for bone pain palliation in clinical (lutetium-177 labelled EDTMP (ethylenediaminetetramethylene phosphonic acid)) or preclinical (1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetramethylene phosphonic acid (DOTMP) and BPAMD) studies (Ando et al., 1998; Solá et al., 2009; Chakraborty et al., 2002; Meckel et al., 2015).

1.2. Radiolabelled antitumour antibodies

Initially, radiolabelled antibodies were studied for tumour detection by single-photon imaging, but fast development of FDG-PET stopped this approach. In the meantime, radiolabelled antibodies were shown to be effective in the treatment of lymphoma, whereas in solid tumours, more resistant to radiations and less accessible to large molecules such as antibodies, their clinical efficacy remains limited. However, radiolabelled antibodies used in minimal or small-size metastatic disease have shown promising clinical efficacy. With the development of new technologies, especially recombinant antibodies and pre-targeting approaches, the potential utility of therapeutic radiolabelled antibodies may further increase (Barbet et al., 2012).

Several ^{177}Lu -labelled monoclonal antibodies or their fragments, for which clinical trials have been reported, include CC49, a high-affinity murine antibody against tumour-associated glycoprotein TAG-72 which is expressed by most common epithelial tumours. ^{177}Lu -CC49 was used for intraperitoneal radioimmunotherapy of metastatic ovarian cancer confined to the abdominal cavity (Meredith et al., 1996; Alvarez et al., 1997).

Rituximab is a chimeric antibody with high binding affinity for the CD-20 antigen, which is expressed on the surface of normal and malignant B-lymphocytes but not on stem cells or healthy tissues. Rituximab kills CD-20 positive B-lymphocytes *via* a mechanism involving antibody-dependent cytotoxicity. Labelled with ^{177}Lu , it has been used for radioimmunotherapy combining the cytotoxic effect of antibody itself and radiation emitted by the attached radionuclide in patients with relapsing follicular, mantle cell and other indolent B-cell lymphomas (Forrer et al., 2013).

Other carrier antibodies labelled with ^{177}Lu and directed against other non-Hodgkin lymphoma cell antigens (lilotomab satetraxetan against CD-37) are under study for similar indications (Blakkisrud et al., 2017a; Blakkisrud et al., 2017b).

J591 is a deimmunized murine monoclonal antibody that has affinity to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen (PSMA) and has the property of internalization once bound to PSMA. PSMA is upregulated in prostate cancer and has become one of the most recognizable targets for management of castration-resistant prostate cancer (CRPC). In a recent review Niaz et al. (2020) collected the published results of clinical trials on ^{177}Lu -J591 in the treatment of CRPC, documenting that ^{177}Lu -J591 application has shown promising results. The agent targeted tumour accurately, gave a biochemical and radiographical response, and increased overall survival among CRPC patients. Authors indicated that ongoing studies of ^{177}Lu -J591 focus on improving the therapeutic index because of myelosuppression due to ^{177}Lu -J591 application.

1.3. Radionuclide therapy of prostate cancer

Castration-resistant prostate cancer, defined as disease progression despite medical or surgical castration, develops in 10%–20% of prostate cancer patients (Kirby et al., 2011).

Most CRPC patients have metastases at diagnosis or develop widespread disease during the first 2 years of follow-up. First-line chemotherapeutic agents, such as docetaxel and second-line chemotherapy with cabazitaxel, are often toxic and prolong life by only a few months (Basch et al., 2014).

Postchemotherapy androgen deprivation therapy with abiraterone acetate and enzalutamide has been shown to prolong overall survival by only 3.9 and 4.8 months, respectively, compared with placebo. Likewise, the overall survival benefit is only 3.6 months (as compared with placebo) for ²²³Ra-chloride which targets only osteoblastic lesions and does not treat nodal or visceral metastases (de Bono et al., 2011; Scher et al., 2012; Parker et al., 2013).

Prostate-specific membrane antigen (PSMA)-targeted radioligand therapy involves selective binding of a radioligand to PSMA overexpressed on CRPC cells, which increases the tumour dose and spares normal tissue (Kwekkeboom, 2016).

Although several molecules targeting PSMA have been reported, currently, TUM1 derivatives developed by Weineisen et al. and named *PSMA I&T* (2015) and the small molecule PSMA-617 are most commonly studied (Ahmadzadehfar et al., 2016; Kratochwil et al., 2016; Rahbar et al., 2016a).

Both radioligands are internalised and retained within the tumour cells, which is essential for the cell-killing effect of radioligand therapy (RLT). They are safe for therapy, have a low toxicity profile and show a potential to prolong progression-free and overall survival.

Patients with metastatic castration-resistant prostate cancers (mCRPC) who have exhausted or are ineligible for approved alternative options and with adequate uptake of PSMA-ligands on the basis of a pre-therapy imaging study can be considered for treatment (Kratochwil et al., 2019).

1.4. Peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) of neuroendocrine tumours (NETs) and other tumours

Patients with NETs may present with local tumours, with or without regional or distant metastases. The common site of metastasis is the liver. These tumours may remain clinically silent until a significant liver tumour burden is present.

First-line systemic therapy in patients with advanced NETs usually consists of a somatostatin analogue for control of both hormonal secretion and tumour growth (Kvols et al., 1986; Rinke et al., 2009; Caplin et al., 2014).

Patients with NETs who have had disease progression during first-line somatostatin analogue therapy have still several therapeutic options including surgery, interferon, chemotherapy, molecular therapy, locoregional therapies and PRRT. However, with the exception of everolimus for the treatment of non-functional NETs, no standard second-line systemic treatment options currently exist (Yao et al., 2016; Kulke et al., 2011).

Peptide receptor radionuclide therapy is a systemic administration of a synthetic peptide, labelled with a suitable radionuclide, able to irradiate primary and secondary tumours, via direct binding to a specific receptor, expressed on the cell membrane; in the case of neuroendocrine tumours, these are somatostatin receptors (SSTR) family as the majority of these slow-growing malignancies overexpress somatostatin receptors. Currently, the most common chelator in PRRT is DOTA (1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetra-acetic acid). This compound is used for coupling the radionuclide and the somatostatin analogue. DOTA chelated peptide can be easily labelled with radiometals, such as ¹⁷⁷Lu. There are few different somatostatin analogues, such as [DOTA⁰,Tyr³]octreotide (DOTATOC), [DOTA⁰,Tyr³]octreotate (DOTATATE) and [DOTA⁰-1-Nal³]octreotide (DOTANOC) (De Jong et al., 2002; Kwekkeboom et al., 2008; Garkavij et al., 2010; Kwekkeboom et al., 2005; Valkema et al., 2005).

Neuroendocrine tumours have proven to be ideal neoplasms for PRRT - appropriate candidates are patients presenting with well-differentiated or moderately differentiated tumours, defined as NETs grade 1 or 2 according to the WHO classification of 2017.

Recently, ^{177}Lu -DOTATATE has been demonstrated to markedly prolong progression-free survival and was associated with limited acute toxic effects in patients with advanced, progressive, somatostatin-receptor-positive midgut neuroendocrine tumours (Strosberg et al., 2017b).

While treatment of gastroenteropancreatic NETs (GEP-NET) is the major and classical indication for PRRT, there are other areas where this therapy has been applied. A fair amount of clinical experience in these 'beyond GEP-NET' applications exist for:

- metastatic/inoperable bronchopulmonary and mediastinal/thymic NETs (Parghane et al., 2017; Adnan et al., 2019),
- metastatic/inoperable medullary thyroid carcinoma (Parghane et al., 2020),
- non- ^{131}I -MIBG (iobenguane) concentrating metastatic paraganglioma & pheochromocytoma (Puranik et al., 2015),
- non- ^{131}I -avid metastatic differentiated thyroid carcinoma (Jois et al., 2014),
- other tumours with NET differentiation/characterization like metastatic Merkel cell carcinoma, meningioma, recurrent/inoperable phosphaturic mesenchymal tumour (Basu and Ranade, 2016; Parghane et al., 2019; Basu and Fargose, 2016).

2. Overview of clinical pharmacology of ^{177}Lu -labeled radiopharmaceuticals

The biodistribution of ^{177}Lu will be specific for the carrier to be radiolabelled. The *in vivo* presence of nonconjugated lutetium (^{177}Lu) may be observed due to poor chelation, degradation of the ^{177}Lu -labelled protein, peptide or phosphonate or other ligand, and digestion or damage releasing unconjugated lutetium. Clinical pharmacology of different ^{177}Lu -labelled products is available in the literature - publications referred to studies conducted with radiolabelled bisphosphonates (Ando et al., 1998; Solá et al., 2009; Yousefnia et al., 2016), radiolabelled antibodies (Meredith et al., 1996; Alvarez et al., 1997; Forrer et al., 2009a; Vallabhajosula et al., 2005), radiolabelled peptides (De Jong et al., 2002; Kwekkeboom et al., 2008; Schuchardt et al., 2013) and radiolabelled small molecules (Weineisen et al., 2015; Rahbar et al., 2016a).

The pharmacodynamics of ^{177}Lu -labelled ligand will be specific to the carrier molecule.

The mechanism of uptake of ^{177}Lu -labelled ligand will be specific to the carrier molecule and is described in corresponding paragraphs.

3. Overview of therapeutic efficacy of lutetium (^{177}Lu) labelled radiopharmaceuticals

3.1. Clinical utility of ^{177}Lu -labelled radiopharmaceuticals for bone pain palliation

Ethylendiaminetetramethylene phosphonic acid (EDTMP) belongs to the group of bisphosphonates, the pharmaceutical active substances which are well established in the treatment of bone metastases. EDTMP forms stable complexes with various radiometals, particularly lanthanides. In preclinical studies, biodistribution of ^{177}Lu -EDTMP was favourable, the complex was rapidly cleared from the blood and selectively taken up by bones, especially in the metastatic lesions in the bones (Ando et al., 1998; Solá et al., 2009).

In a prospective study, Thapa et al. (2015) compared ^{177}Lu -EDTMP with ^{153}Sm -EDTMP for painful skeletal metastases in 32 patients. They found no differences between groups for either non-serious or serious toxicity. Similarly, ^{177}Lu -EDTMP had pain response efficacy similar to that of ^{153}Sm -EDTMP.

The macrocyclic analogue of EDTMP, 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetramethylene phosphonic acid (DOTMP), yet another tetramethylene phosphonic acid, could be chosen as another efficacious carrier ligand in developing bone pain palliation agents using radiolanthanides. When radiolabelled with radiolanthanides, DOTMP complex has shown excellent pharmacokinetic properties as well as clinical efficacy in the treatment of patients suffering from multiple myeloma (Chakraborty et al., 2002).

¹⁷⁷Lu-BPAMD ((4-{bis-(phosphonomethyl)carbamoyl}methyl)-7,10-bis(carbamoxymethyl)1,4,7,10-tetraazacyclo-dodec-1-yl acetic acid) is a new treatment option for skeletal metastases in prostate cancer in patients with widespread, painful skeletal metastases, presenting with progressive disease and refractory to conventional treatment. Its kinetics in normal organs and tumours was determined and the mean absorbed dose to normal organs and tumour lesions was estimated. (Schuchardt et al., 2013; Yousefnia et al., 2016) A fast clearance of ¹⁷⁷Lu-BPAMD from the whole body normal organs as well as from the blood was found. In contrast, skeletal lesions showed a very long retention/half-life (> 80 hours) of the radiopharmaceutical, which resulted in high tumour doses delivered (ranging from 2.4 – 209 mGy/MBq – a wide range due to the different size of the lesions). An excellent pain palliation could be achieved, corresponding with a significant reduction in osteoblastic activity of the bone metastases as seen on the follow up using ⁶⁸Ga-BPAMD or ¹⁸F sodium fluoride PET/CT. The treatment was very well tolerated by all patients without any significant adverse effects. There were only mild to moderate changes in blood cell counts, and no significant alterations in serum creatinine or other lab parameters were observed.

3.2. Clinical utility of ¹⁷⁷Lu labelled antibodies

A number of lutetium (¹⁷⁷Lu) labelled monoclonal antibodies or their fragments, for which clinical trials have been reported, include, among others, the monoclonal antibody against tumour-associated glycoprotein TAG-72, (Meredith et al., 1996; Alvarez et al., 1997) which was also investigated in conjunction with chemotherapy, (Meredith et al., 2001) the chimeric antibody with high binding affinity to the CD20 antigen, which is expressed on the surface of normal and malignant B-lymphocytes in patients with relapsing follicular, mantle cell, and other indolent B-cell lymphomas (Forrer et al., 2013), and the deimmunized monoclonal antibody with specificity for the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen (Vallabhajosula et al., 2005).

The clinical efficacy of intraperitoneal radioimmunotherapy of ovarian cancer with ¹⁷⁷Lu-CC49 was studied (Meredith et al., 1996; Meredith et al., 2001; Alvarez et al., 1997). Twelve patients with adenocarcinoma were treated, three patients per dose level at dose levels of 10, 18, 25 and 30 mCi/m². The peak concentration reaching the blood occurred at approximately 48 h after administration. The pharmacokinetics of radioactivity in peritoneal fluid samples was more variable than that in the blood, as would be expected for non-uniform distribution and variance in the intra-abdominal area of sampling. About 25% of activity was excreted with the urine in the first 24 h, with a subsequent decline to about 5% per day. No bone marrow uptake was evident. There was mild bone marrow suppression with calculated red marrow radiation doses of 11-54 cGy. Administration of ¹⁷⁷Lu-labelled antibody was easily accomplished with less radiation precautions necessary than with ¹³¹I. Although designed as the dose-escalation trial, evidence of anti-tumour effects was noted with a partial response in a patient with measurable disease. It was also encouraging that three fourths of patients with microscopic or occult disease remained disease-free for > 18 months.

Meredith et al. (2001) subsequently tested the feasibility and efficacy of the combination of intraperitoneal radioimmunotherapy using ¹⁷⁷Lu-CC49 and intraperitoneal paclitaxel in 34 patients with ovarian cancer. The maximum tolerated dose of ¹⁷⁷Lu-CC49 within the combination regimen was reached at 1480 MBq/m², above which dose-limiting bone marrow toxicity occurred. Four out of 27 patients with non-measurable disease experienced progression-free time intervals of > 18 months.

The *in vitro* characterization of ¹⁷⁷Lu-radiolabelled chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (Rituximab) and a preliminary dosimetry study were performed by Forrer et al. (Forrer et al., 2009a) The whole-body activity was evaluated in patients after the administration of 740 MBq/m² of ¹⁷⁷Lu-DOTA-rituximab. The injections were well tolerated by patients. The effective half-lives were at the level of 136 h. This resulted in a whole body dose of 0.24 mGy/MBq. The dose to red marrow was at the level of 0.37 mGy/MBq.

In 2013, Forrer et al. (2013) published results of a phase I/II study on ¹⁷⁷Lu-DOTA-rituximab in 31 patients with relapsing follicular, mantle cell, and other indolent B-cell lymphomas. The aim of this study was to determine the maximum tolerated dose (MTD) and to explore the clinical response

to ¹⁷⁷Lu-DOTA-rituximab in the treatment of patients with relapsed follicular, mantle cell, or other indolent lymphomas such as marginal zone lymphoma. The dosage of the radiopharmaceutical was adjusted according to body surface area (BSA). The MTD using ¹⁷⁷Lu-DOTA-rituximab was 1,665 MBq/m² of BSA. Thrombocytopenia and leukopenia were the dose-limiting toxicities. Significant anaemia occurred only at a dose level of 1,850 MBq/m² of BSA. The nadir of platelets was observed after a median of 36 days from the treatment and the nadir of granulocytes after a median of 50 days. Median time to recovery to the next lower grade of toxicity was seven days. Non-hematologic toxicity was negligible. Clinical responses at all dose levels and for all lymphoma entities were observed. Some of the responses were durable with the longest follow-up of over eight years. Obtained results demonstrated safety and feasibility of ¹⁷⁷Lu-DOTA-rituximab treatment for the lymphoma entities tested in this study.

Patients with non-Hodgkin lymphoma (NHL), who are treated with rituximab, may develop resistant disease, often associated with changes in the expression of CD20. The next-generation β-particle-emitting radioimmunoconjugate ¹⁷⁷Lu-lilotomab-satetraxetan targeting the CD37 antigen was shown to up-regulate CD20 expression in different rituximab-sensitive NHL cell lines and to act synergistically with rituximab in a rituximab-sensitive NHL animal model. (Malenge et al., 2020) This observation was explored in humans in-phase I/II study for relapsed NHL patients treated with ¹⁷⁷Lu-lilotomab satetraxetan. A lesion response was evaluated by PET and some decreases in PET parameters were found from baseline to three months. (Løndalen et al., 2020)

Other studies with ¹⁷⁷Lu-labelled antibodies refer to J591, a deimmunized monoclonal antibody with specificity for the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen (PSMA) (Vallabhajosula et al., 2005; Bander et al., 2005). A phase II trial of ¹⁷⁷Lu-radiolabeled anti-PSMA monoclonal antibody J591 (¹⁷⁷Lu-J591) in patients with metastatic castrate-resistant prostate cancer (mCRPC) was published in 2013. (Tagawa et al., 2013) Excellent targeting of known sites of prostate cancer metastases was seen in 29 of 30 (97%) patients, and in 12 patients with measurable disease, one (8.3%) demonstrated a radiographic partial response while eight (66.6%) showed stable disease. However, myelosuppression was the significant toxicity in 22 (47%) patients developing grade 4 thrombocytopenia without haemorrhage with a nadir at four weeks. Although nearly all patients (97.9%) demonstrated a complete recovery in platelet count; 30% of them required platelet transfusions. Twelve (25.5%) patients developed grade 4 neutropenia with a median duration of five days (range 2–17 days).

In recent studies of the hyperfractionated dosing of ¹⁷⁷Lu-J591 to avoid myelosuppression per similar cumulative dose, the investigators concluded that the hyperfractionation of ¹⁷⁷Lu-J591 was feasible but failed to demonstrate any significant advantage over the two-dose fractionation regimen (Tagawa et al., 2019; Niaz et al., 2020). The authors concluded that although radioimmunotherapy using ¹⁷⁷Lu-J591 has shown considerable therapeutic efficacy in patients with mCRPC treatment, myelosuppression, though tolerable and reversible, was consistently its most evident toxicity.

3.3. Clinical utility of ¹⁷⁷Lu in prostate cancer

Despite encouraging results of therapy with radiolabelled monoclonal antibodies, the current research on radionuclide treatment in mCRPC patients focuses on radiolabelled small molecules. Although several molecules have been reported, currently, TUM1 derivatives (PSMA I&T) and PSMA-617 are most commonly studied.

Efficacy of ¹⁷⁷Lu-PSMA radioligand therapy (RLT) in patients with prostate cancer was assessed by several meta-analyses and observational trials as presented in Table 2.

Table 2. Efficacy of ¹⁷⁷Lu-PSMA RLT in prostate cancer patients.

Author and study reference	Type of the tumours	No. of pts	Overall response rate (PSA, biochemical response)	OS median & range (months)
Kratochwil et al., 2016	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	30	21/30 (any PSA decline) 13/30 (PSA decline > 50%)	
Rahbar et al., 2016b	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	74	47/74 (any PSA decline) 23/74 (PSA decline > 50%) 17/74 (PSA increased)	
Ahmadzadehfar et al., 2016	Prostate cancer, hormone and/or chemorefractory, metastatic	24	18/24 PSA decline at 8 weeks	
Heck et al., 2016	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	19	56% (PSA decline > 30%) 33% (PSA decline > 50%) 11% (PSA decline > 90%)	
Yadav et al., 2017	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	31	2/31 PSA complete response 20/31 PSA partial response 3/31 PSA stable disease 6/31 PSA progressive disease	
Rahbar et al., 2017	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	145	45% (PSA decline ≥ 50%)	
Kambiz Rahbar et al., 2018	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	71	47/71 (any PSA decline) 40/71 (PSA decline > 50%)	
K. Rahbar et al., 2018	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	104	70/104 (any PSA decline) 34/104 (PSA decline > 50%)	56 (50.5–61.5)
Kim and Kim, 2018	Metastatic, castration resistant, prostate cancer	455 (meta-analysis)	68% (any PSA decline) 34,45% (PSA decline > 50%)	

Biochemical response after repeated RLT, as defined by PSA decline ≥ 50%, is expected in more than half of patients, and partial response by imaging is expected in more than one-third of patients. In a recent phase 2 trial, 57% of patients achieved a PSA decline of 50% or more. (Hofman et al., 2018) Objective response by imaging in nodal or visceral disease was reported in 82% of patients with measurable disease.

Available data do not indicate differences in efficacy between ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 and ¹⁷⁷Lu-PSMA I&T. The presence of visceral metastases and serum alkaline phosphatase ≥ 220 U/L was associated with poor outcome. (Rahbar et al., 2017) Pain was reduced and quality of life improved significantly in more than one half of patients within smaller observational trials (Fendler et al., 2017; Baum et al., 2016; Heck Matthias M. et al., 2016; Yadav et al., 2017).

There is a controversy as to the relative efficacy of ¹⁷⁷Lu-PSMA RLT and third-line treatment for patients with mCRPC. Von Eyben et al. (2018) reviewed twelve studies including 669 patients treated with ¹⁷⁷Lu-PSMA and sixteen studies including 1338 patients given third-line treatment to compare efficiency of ¹⁷⁷Lu-PSMA RLT and third-line treatment. ¹⁷⁷Lu-PSMA RLT gave a best PSA decline $\geq 50\%$ more often than third-line treatment (mean: 44% versus 22%). ¹⁷⁷Lu-PSMA RLT resulted in objective remission more often than third-line treatment (overall 31 of 109 patients versus 43 of 275 patients). Median survival was longer after ¹⁷⁷Lu-PSMA RLT than after third-line treatment, but the difference was not statistically significant (mean 14 months vs 12 months).

Hofman et al. (2018) compared ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 and cabazitaxel in a randomised, open-label, phase 2 trial. In 183 patients with mCRPC randomly assigned to one of the treatment options, ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 led to a higher PSA response and fewer grade 3 or 4 adverse events than cabazitaxel.

Despite a lack of marketed radiopharmaceuticals so far, the European Association of Nuclear Medicine has acknowledged PSMA-based radioligand therapy as a promising therapeutic option for prostate cancer and published the procedure guidelines for the safe clinical practice of ¹⁷⁷Lu-labelled PSMA RLT (Kratochwil et al., 2019).

3.4. Clinical utility of ¹⁷⁷Lu in peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) of neuroendocrine tumours

Currently, besides phosphonates and antibodies, the most common clinical applications of ¹⁷⁷Lu use peptides as ligands. Over 15 years, PRRT with radiolabelled somatostatin analogues has proven to be efficient therapeutic modality bringing on tumour responses, symptom relief and improvement in quality of life, biomarker reduction and, ultimately, an impact on survival (Khan et al., 2011; van Essen et al., 2010; Strosberg et al., 2017b).

In biodistribution studies, several-fold higher uptake of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE was demonstrated in tumours than in healthy tissues (Kwekkeboom et al., 2001).

In other studies, characteristics of several ¹⁷⁷Lu labelled somatostatin analogues were compared. The residence times in tumours were in favour of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in comparison with ¹⁷⁷Lu-DOTATOC by a factor of 2.1 (Esser et al., 2006). Therefore, ¹⁷⁷Lu-DOTATATE has a potential advantage because of the higher absorbed doses that can be achieved in most tumours without increasing the doses to potentially dose-limiting organs.

Wehrmann et al. (2007) compared the biodistribution of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE and ¹⁷⁷Lu-DOTANOC in patients, and concluded that tumour uptake and absorbed doses were comparable for the two radioligands, whereas the whole-body retention was lower for ¹⁷⁷Lu-DOTATATE, and therefore they advocated the therapeutic use of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE, because a lower whole-body retention potentially implies a lower bone marrow toxicity. The study group comprised eight patients with metastatic NET who received therapy initially with ¹⁷⁷Lu-DOTANOC but continued the therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in three patients, as well as 61 patients who had one to four cycles of solely ¹⁷⁷Lu-DOTATATE.

Kwekkeboom et al. (2008) analysed responses to ¹⁷⁷Lu-DOTATATE treatment according to tumour type at three months after the last therapy cycle in 310 patients. Patients were treated up to an intended cumulative activity of 22.2–29.6 GBq (600–800 mCi). The overall objective tumour response rate including complete remission, partial remission and minor response was 46%. Prognostic factors for predicting any tumour remission as the treatment outcome were: high uptake on diagnostic somatostatin receptor scintigraphy and a Karnofsky performance score of >70 . A small percentage of patients who had either stable disease or minor response at their first two evaluations after therapy, i.e. six and 12 weeks after the last treatment cycle, had a further improvement in tumour response at six months and 12 months. Three of four patients with clinically non-functioning NETs that were

judged inoperable before treatment with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE, and who had a partial remission, were successfully operated on 6–12 months after their last treatment.

In a small group of 21 patients treated with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE, 12 were evaluated for objective response using RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) criteria (Garkavij et al., 2010). Partial remission was found in two patients, minor response in three and stable disease in five.

Analytical models showed that ¹⁷⁷Lu is better in small tumours, with an optimal diameter of 2 mm, whilst ⁹⁰Y is better in larger ones, with an optimal diameter of 34 mm (O'Donoghue et al., 1995). Yttrium-90 seems therefore less suitable for PRRT of small tumours, because very small masses will not be able to absorb all the β energy released in the tumour cells. Lutetium-177, instead, appears less suitable for larger tumours, due to the lack of uniformity of activity distribution over the tumour mass. Finally, differences in dose rate must be taken into account: the longer physical half-life of ¹⁷⁷Lu means a longer period needed to deliver the same dose as ⁹⁰Y. This may allow more time for tumour repopulation. On the other hand, Sparks et al. (2002) showed that when absorbed doses to tumours are high, an absorbed dose to adjacent tissues can also be high, potentially causing toxicities. Doses to adjacent tissues vary with tumour size and the energy of the radionuclide. A combination therapy with ⁹⁰Y and ¹⁷⁷Lu, either simultaneously or in distinct settings, has been therefore suggested to overcome the difficulties in the real clinical situation of different-sized lesions (de Jong et al., 2005).

Protocols combining ¹⁷⁷Lu- and ⁹⁰Y-labelled peptides have been recently considered, in order to benefit from different physical properties of the radionuclides, although ¹⁷⁷Lu and ⁹⁰Y activities have been designed empirically and not based on dosimetric values. Some new algorithms are applied like sequential use of ⁹⁰Y and ¹⁷⁷Lu DOTATATE (duo) and mix of both radioisotopes (tandem) (Baum and Kulkarni, 2012; Schuchardt et al., 2013; Kunikowska et al., 2011). The studies indicated that tandem PRRT (with ⁹⁰Y/¹⁷⁷Lu DOTATATE) provided longer overall survival than with a single radioisotope (⁹⁰Y DOTATATE).

Another option for more efficient therapy using PRRT is the combination of radioisotopes and chemotherapy. In their initial study, Claringbold et al. (2011) used ¹⁷⁷Lu-DOTATATE together with capecitabine in cases of progressive disseminated NETs. The resulting ORRs were as follows: 24% partial response, 70% stable disease and 6% progressive disease. The median progression-free survival (PFS) and median overall survival (OS) were not reached during a median follow-up period of 16 months (range 5–33 months). Survival at one and two years was 91% and 88%, respectively. In the study using the combination of standard activity and protocol including mean four-time administration of ¹⁷⁷Lu DOTATATE (7.8 GBq each dose) and chemotherapy using capecitabine and temozolomide in treating advanced low-grade NETs even better results were obtained (Claringbold et al., 2012). Overall, a complete response was achieved in 15%; partial response in 38%; stable disease in 38%; and three patients failed to respond to treatment. Median PFS was 31 months, and median OS has not been reached with 90% surviving at 24-month follow-up (range 21–30). Overall objective response rate in patients with GEP-NETs showed a complete response in 16%, partial response in 41%, stable disease in 37%, and progressive disease in 6% of patients. Response rates were higher in patients with gastropancreatic NETs than in those with bowel primaries: complete response 18% versus 13%, partial response 64% versus 13%, and stable disease 12% versus 67%.

Summarized data of clinical efficacy of PRRT using ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in selected reports, including ORR based on RECIST, OS and PFS, are presented in Table 3.

Table 3. Summarised data on clinical efficacy of PRRT with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE, ¹⁷⁷Lu-DOTATATE combined with ⁹⁰Y-DOTATATE, and ¹⁷⁷Lu-DOTATATE combined with chemotherapy.

Author and study reference	Type of the tumour	No. of pts	Overall response rate	OS median & range (months)	PFS median & range (months)
Kwekkeboom et al., 2008	GEP-NET, CS IV	310	46% all 40% carcinoid CR, PR & MR	46 m	33 m
van Essen et al., 2010	Various NETs, CS IV	33	24% CR, PR & MR	15 m	N.R.
Bodei et al., 2011	GEP-NET	51	55% CR, PR & MR	36 m (68%)	36 m
Kunikowska et al., 2011	NET, WHO group 2	50 (25 ⁹⁰ Y) (25 mix)	16 % PR 20 % PR 12 % PR	N.R. 26.2 m 24 m (89%)	N.R. 21.4 m 29.4 m
Claringbold et al., 2012	NET low grade G1 or G2	35 + capecitabine& temozolamide	15% CR 38% PR 38% SD	24 m (21-30) (90%)	31 m
Strosberg et al., 2017a	NET, midgut, well-differentiated, metastatic	116	At 20 m 18% response rate		At 20 m 65.2% (95% CI, 50.0-76.8)
Brabander et al., 2017	NET, bronchial or GEP	443	39% objective response rate, 43% stable disease	63 m (95% CI- 55-72).	29 m (95% CI 26-33)
van der Zwan et al., 2019	NET, bronchial or GEP, progressive, salvage treatment	168	re-PRRT: 15.5% objective response rate 59.5% stable disease; re-re-PRRT: 38.5% objective response rate, 53.8% stable disease	80.8 m combined OS after initial PRRT plus re-PRRT and re-re- PRRT	14.6 m median following rePRRT; 14.2 M median following re- re-PRRT.

CR– complete response, PR – partial response, MR – minor response, SD – stable disease

Brabander et al. (2017) reported the results of treatment of 443 patients in bronchial and gastroenteropancreatic NETs by means of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE. The ORR (objective response rate) was 39%. Stable disease was reached in 43% of patients, whereas PFS (progression-free survival) and OS (overall survival) were 29 months (26-33 months) and 63 months (55-72 months), respectively.

Strosberg et al. (2017a) carried out a randomized, controlled trial evaluating the efficacy and safety of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in patients with advanced, progressive, somatostatin-receptor–positive midgut NETs. In their study, 229 patients with well-differentiated, metastatic midgut NETs were randomly assigned to receive either ¹⁷⁷Lu-DOTATATE (116 patients) at a dose of 7.4 GBq every eight weeks (four intravenous infusions, plus best supportive care including long-acting octreotide) or octreotide LAR alone (113 patients) as a control. At the data cutoff time for the primary analysis (month 20), the estimated rate of PFS was 65.2% in the ¹⁷⁷Lu-DOTATATE group, significantly higher than 10.8% in the control group. The response rate was 18% in the ¹⁷⁷Lu-DOTATATE group versus 3% in the control group (P<0.001). In the planned interim analysis of OS, 14 deaths occurred in the ¹⁷⁷Lu-DOTATATE group and 26 in the control group (P=0.004). The preliminary data showed that the treatment with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE resulted in markedly longer PFS and a significantly higher response rate than high-dose octreotide LAR among patients with advanced midgut NETs.

Recently, Wang et al. (2020) presented a meta-analysis of 22 high-quality published articles containing 1758 inoperable or metastatic NETs patients who adopted ¹⁷⁷Lu-labelled PRRT. The

evaluation of treatment efficacy was performed by RECIST or RECIST 1.1 or SWOG (Southwest Oncology Group). The results showed that the pooled effects of durable response rates (DRRs) were 33.0% (95% CI: 25.0%-42.0%) by RECIST, 35.0% (95% CI: 26.0%-45.0%) by RECIST 1.1 and 25.0% (95% CI: 14.0%-36.0%) by SWOG, while the disease control rates (DCRs) were 79.0% (95% CI: 75.0%-83.0%) by RECIST, 83.0% (95% CI: 78.0%-88.0%) by RECIST 1.1 and 82.0% (95% CI: 75.0%-89.0%) by SWOG.

In another recent meta-analysis of 15 studies, Zhang et al. (2020) evaluated the efficacy of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE therapy in patients with inoperable or metastatic NETs. The pooled effect in the RECIST group (13 studies) was 27.58% (95% confidence interval (CI) 21.03–35.27%) for the DRR and 79.14% (95% CI 75.83–82.1%) for the DCR. In the SWOG criteria group (7 studies), the pooled effect was 20.59% (95% CI 10.89–35.51%) for the DRR and 78.28% (95% CI 74.39–81.72%) for the DCR. The authors concluded that ¹⁷⁷Lu-DOTATATE treatment has excellent efficacy with a control rate of approximately 78–79%. Moreover, adverse effects of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE were minimal, including fatigue, nausea, vomiting and hormonal disorders.

Van der Zwan et al. (2019) investigated the efficacy of salvage treatment with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in 168 patients with progressive bronchial NET or GEP-NET, who were selected for re-(re)treatment if they had benefited from initial PRRT with a minimal PFS of 18 months. Overall median follow-up was 88.6 months and median cumulative doses were 44.7 GBq (range 26.3–46.4 GBq) during re-PRRT (168 patients) and 59.7 GBq (range 55.2–≤60.5 GBq) during re-re-PRRT (13 patients). Objective response and stable disease, as best response, were observed in 15.5% of patients and in 59.5% of patients following re-PRRT, and in 38.5% of patients and 53.8% of patients following re-re-PRRT, respectively. Median PFS was 14.6 months following re-PRRT and 14.2 months following re-re-PRRT. Combined OS after initial PRRT plus re-PRRT and re-re-PRRT was 80.8 months. The authors concluded that a cumulative dose of up to 60.5 GBq salvage PRRT with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE is effective in patients with relapsing, progressive disease following four cycles of PRRT with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE.

In a smaller group of 35 patient with progressive, metastasized NET (23 small intestinal, five lung, four CUP, one rectal, one gastric and one paraganglioma), Rudisile et al. (2019) studied the results of repeated cycles of therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE. They concluded that salvage therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE is safe and effective even in patients with extensive previous multimodal therapies during disease progression and represents a feasible and valuable therapy option for progressive NET.

In a recent meta-analysis, Strosberg et al. (2021) analysed PRRT re-treatment safety in patients with advanced NETs. Median PFS (N = 7 studies [414 patients]) was 12.52 months (95% CI 9.82–15.22), median OS (N = 2 [194 patients]) was 26.78 months (95% CI 18.73–34.83), grade 3/4 adverse events occurred in 5% (95% CI 2–8) of patients receiving ¹⁷⁷Lu-PRRT re-treatment (N = 5 [271 patients]) with few grade 3/4 renal toxicities (0% [95% CI 0–1]). Pooled myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML) incidence was 0% (95% CI 0–2). The authors concluded that re-treatment with ¹⁷⁷Lu-PRRT provided encouraging median PFS in patients with NETs with a safety profile similar to initial PRRT.

PRRT has been applied with some success also for other indications beyond NETs.

Parghane et al. (2017) reported a response to ¹⁷⁷Lu-DOTATATE therapy in 12 patients (63%) with pulmonary NETs. All 7 nonresponders had moderate to intense ¹⁸F-DG-avid primary lung lesion. A similar response rate was described by Adnan et al. (2019)

Parghane *et al.* (2020) demonstrated that ¹⁷⁷Lu-DOTATATE is a potentially efficacious and safe therapeutic option in SSTR avid metastatic/inoperable medullary thyroid carcinoma patients.

Puranik et al. (2015) reported favourable results of PRRT using ⁹⁰Y/¹⁷⁷Lu-labelled DOTATOC/DOTATATE in nine patients with inoperable, non-¹³¹I-MIBG concentrating metastatic paraganglioma & pheochromocytoma. All patients received two to four courses of PRRT, resulting in no disease worsening, either in the form of neurological symptoms or distant spread during six-month follow-up.

Therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE was reported in single cases of non-¹³¹I-avid metastatic differentiated thyroid carcinoma, metastatic Merkel cell carcinoma, meningioma, phosphaturic mesenchymal tumour, but definite conclusions regarding efficacy of PRRT in these cases are difficult

due to limited number of cases. (Jois et al., 2014; Basu and Ranade, 2016; Parghane et al., 2019; Basu and Fargose, 2016)

4. Overview of safety of ^{177}Lu -labelled radiopharmaceuticals

4.1. Clinical safety of ^{177}Lu

The risk resulting from a radiopharmaceutical concerns mainly its radioactivity which may lead to the toxicity in the cumulating organs.

The *in vivo* presence of unconjugated ^{177}Lu may be observed due to poor chelation or protein or peptide digestion releasing unconjugated ^{177}Lu . Unconjugated ^{177}Lu accumulates in bones and radiation-induced myelo-suppression is likely to be the most important toxicity (and dose limiting factor) to be observed in the clinical situation. As for all the radioactive products, the radiation dose resulting from therapeutic exposure may result in higher incidence of cancer and mutations. In all cases, it is necessary to ensure that the risks of the radiation are less than from the disease itself.

The conclusions regarding safety of ^{177}Lu -labelled bisphosphonates and antibodies were already mentioned in respective paragraphs. The safety of RLT and PRRT with ^{177}Lu -labelled radiopharmaceuticals is discussed below.

4.2. Safety of ^{177}Lu -PSMA radioligand therapy

Safety of ^{177}Lu -PSMA RLT was assessed as part of several observational trials with overlapping recruitment. (Ahmadzadehfar et al., 2016; Kratochwil et al., 2016; Rahbar et al., 2016b; Heck Matthias M. et al., 2016; Yadav et al., 2017; Rahbar et al., 2017; Fendler et al., 2017; Baum et al., 2016) In these collectives, grades 3-4 haematotoxicity occurred in less than 10% of patients, whilst the first prospective phase II trial published recently reported slightly higher values (see below). (Hofman et al., 2018) Low blood count levels at baseline and diffuse bone marrow involvement were linked to serious haematotoxicity in individual patients (Kratochwil et al., 2016; Rahbar et al., 2017; Delker et al., 2016). The rate of grade 3-4 events was low for all other categories (less than 5%), including salivary gland function. A recent phase II trial (30 patients treated with ^{177}Lu -PSMA-617) has reported grade 1 dry mouth in 87% of patients, grade 1 or 2 transient nausea in 50%, and grade 1 or 2 fatigue in 50% of patients (Hofman et al., 2018). The most common toxic effects possibly related to ^{177}Lu -PSMA-617 were grade 3 lymphocytopenia in eleven (37%), grade 3 anaemia in four (13%), and grade 3 or 4 thrombocytopenia in four (13%) patients.

In a retrospective multicentre data analysis of ^{177}Lu -PSMA-617 safety in 145 patients (median age: 73 years; range 43–88 years) with mCRPC, grade 3-4 haematotoxicity occurred in 18 patients: 10%, 4%, and 3% of the patients experienced anaemia, thrombocytopenia, and leukopenia, respectively. Xerostomia occurred in 8% (Rahbar et al., 2017).

In a review comparing the efficiency and adverse effects of ^{177}Lu -PSMA RLT and third-line treatment, von Eyben et al. (2018) found that the treatment with ^{177}Lu -PSMA-617 and ^{177}Lu -PSMA for imaging and therapy (I&T) had mainly transient adverse events. After the third-line treatment with enzalutamide and cabazitaxel, adverse effects caused discontinuation of treatment for 10% to 23% of the patients. Adverse events caused discontinuation of treatment more often for the third-line treatment than for ^{177}Lu -PSMA RLT (22 of 66 patients vs 0 of 469 patients, respectively).

4.2. Safety of PRRT with ^{177}Lu -labelled peptides

PRRT with ^{177}Lu -labelled peptides is generally well tolerated, as has been mentioned in many reports published over 20 years of its clinical use. Acute side effects are usually mild, such as nausea and vomiting, and most of them are related to the co-administration of amino acids. Others are related to the radioisotopes conjugated with peptide, such as fatigue or the exacerbation of an endocrine syndrome, which occurs very rarely, especially in functioning tumours. Chronic and permanent effects on target organs, particularly the kidneys and the bone marrow, are generally mild if the necessary

precautions are taken. Due to their marked radiosensitivity, the kidneys represent the critical organs after the administration of ^{177}Lu -DOTA-peptides at the doses that are normally used for PRRT. Renal irradiation arises from the proximal tubular reabsorption of the radiopeptide and the resulting retention in the renal parenchyma. According to external radiotherapy studies, the renal tolerance dose is conventionally considered to be in the range of 23–27 Gy (Rolleman et al., 2003).

The potential risk to kidney and red marrow limits the amount of radioactivity that may be administered (Kam et al., 2012).

Consistent with two earlier reports (Kwekkeboom et al., 2005; Kwekkeboom et al., 2003), the side effects of a maximum injected activity of 7,400 MBq per cycle of ^{177}Lu -DOTATATE were analysed in 504 patients with GEP-NETs (Kwekkeboom et al., 2008). Acute side effects occurring within 24 h after the administration of the radiopharmaceutical were nausea after 25% of administrations, vomiting after 10%, and abdominal discomfort or pain after 10%. Subacute haematological toxicity (grade 3 or 4) occurred four–eight weeks after 3.6% of administrations or, expressed on a per-patient basis, after at least one of several treatments in 9.5% of patients. Factors associated with a higher frequency of haematological toxicity grade 3 or 4 were: age over 70 years at treatment start, previous chemotherapy, creatinine clearance ≤ 60 ml/min, and the presence of bone metastases. When these factors were tested together in multivariate logistic regression, low creatinine clearance was a significant factor both for grade 3-4 thrombocytopenia ($p < 0.001$) and any haematological grade 3-4 toxicity ($p < 0.001$), whereas previous chemotherapy was less significant in predicting thrombocytopenia ($p < 0.05$). Creatinine clearance ≤ 60 ml/min was significantly more frequent in patients aged 70 years or more ($p < 0.001$). Temporary hair loss (low grade) occurred in 62% of patients. Serious delayed toxicities were observed in nine of the 504 patients. There were two patients with renal insufficiency, which was probably unrelated to treatment with ^{177}Lu -DOTATATE in both. In three patients, serious liver toxicity developed, which was also probably unrelated to the treatment in two of them. Lastly, there were four patients with myelodysplastic syndrome, which was potentially treatment-related in three. In six patients with a hormonally active NET, a hormone-related crisis occurred after the administration due to massive release of bioactive substances (de Keizer et al., 2008). Bodei et al. (2011) found no major acute or delayed renal or haematological toxicity (one grade 3 leukopenia and thrombocytopenia) in their cohort of 51 patients.

In a randomized, controlled trial, Strosberg et al. (2017a) evaluated the safety of ^{177}Lu -DOTATATE in patients with advanced, progressive, somatostatin-receptor-positive midgut neuroendocrine tumours. In their study, 116 patients received ^{177}Lu -DOTATATE at a dose of 7.4 GBq every eight weeks and its safety was assessed based on clinical and laboratory examinations. In total, 95% of patients treated with ^{177}Lu -DOTATATE had at least one adverse event during the trial, in 95 patients (86%), the adverse events were considered to be related to the treatment and in seven patients (6%) led to premature withdrawal from the trial. The most common adverse events were nausea (65 patients [59%]) and vomiting (52 patients [47%]). The majority of these cases (in 42 of the 65 patients [65%] and in 38 of the 52 patients [73%], respectively) were attributable to amino acid infusions that were performed concurrently with the administration of ^{177}Lu -DOTATATE, and the events resolved once the infusions were completed. Other common adverse events included fatigue or asthenia, abdominal pain, and diarrhoea; however, the majority of the patients in whom these events were reported ($\geq 97\%$) had events grade 1 or 2. Transient grade 3 or 4 neutropenia, thrombocytopenia, and lymphopenia were reported in 1%, 2%, and 9% of patients, respectively. No evidence of renal toxic effects was seen among patients in the ^{177}Lu -DOTATATE group during the observed time frame (median duration of follow-up - 14 months). One patient (0.9%) in the study group developed MDS (myelodysplastic syndrome) after ^{177}Lu -DOTATATE, which was considered by the investigators to be only possibly related to the investigational therapy as the patient had earlier haematological disorder.

Similar findings were reported by Wehrman et al. (2007), who determined the annual decrease in creatinine clearance in 209 patients and the incidence of grade 3 or 4 renal toxicity (according to CTCAE v. 4.03) in 323 patients. The mean absorbed kidney dose in 228 patients was 20.1 ± 4.9 Gy. The estimated average annual decrease in creatinine clearance was $3.4 \pm 0.4\%$. None of the risk factors (hypertension, diabetes, high cumulative injected activity, radiation dose to the kidneys and CTCAE

grade) at baseline had a significant effect on renal function over time. Of the 323 patients, 3 (1%) developed subacute renal toxicity grade 2 (increase in serum creatinine > 1.5–3.0 times baseline or upper limit of normal). No subacute grade 3 or 4 nephrotoxicity was observed.

In a Brabander et al. (2017) study (610 patients treated with a cumulative dose of at least 3.7 GBq ¹⁷⁷Lu-DOTATATE), long-term toxicity including AML was found in four patients (0.7%) and MDS in nine patients (1.5%). No therapy-related long-term renal or hepatic failure was observed.

Bodei et al. (2015) evaluated long-term renal and haematological toxicity (MDS and AML) in 793 patients treated with ¹⁷⁷Lu, ⁹⁰Y or ¹⁷⁷Lu and ⁹⁰Y combined during 30 months (1–180 months) of a follow-up. Treatment with ⁹⁰Y and ⁹⁰Y + ¹⁷⁷Lu was more likely to result in nephrotoxicity than treatment with ¹⁷⁷Lu alone (33.6%, 25.5% and 13.4% of patients, respectively; $p < 0.0001$). Severe (grade 3 + 4) nephrotoxicity occurred in only 1.5% of patients, myelodysplastic syndrome in 2.35% and acute leukaemia in 1.1% of patients.

Sabet et al. (2013) investigated the incidence, severity, and reversibility of long-term haematotoxicity in a cohort of 203 patients who underwent 632 courses of PRRT with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE for metastatic NETs. A mean activity of 7.9 GBq of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE was administered per treatment cycle, with a goal of four courses at standard intervals of three months. Myelodysplastic syndrome as a delayed adverse event was documented in three patients (1.4%). Relevant but reversible haematotoxicity (grade 3 or 4) occurred in 23 patients (11.3%) and 29 administrations (4.6%), with leukopenia in 2.7% and thrombocytopenia in 1.7% of patients. The mean time to blood count recovery was 12 months after the termination of PRRT (range, 3–22 months).

Bergsma et al. (2016; 2018) published their observations of subacute and persistent haematological toxicity of PRRT with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in two reports. Acute haematological toxicity (grade 3 or 4) occurred in 34 (11%) of 320 patients. In 15 of the 34 patients, this lasted more than 6 months or blood transfusions were required. Risk factors significantly associated with haematological toxicity were: poor renal function, white blood cell (WBC) count $< 4.0 \times 10^9/l$, age over 70 years, extensive tumour mass and high tumour uptake on the somatostatin receptor scintigraphy. Previous chemotherapy was not associated. The mean bone marrow dose per administered activity in 23 evaluable patients was 67 ± 7 mGy/GBq, resulting in a mean bone marrow dose of 2 Gy in patients who received four cycles of 7.4 GBq ¹⁷⁷Lu-DOTATATE. Significant correlations between the (cumulative) bone marrow dose and platelet and WBCs were found in a selected group of patients. (Bergsma et al., 2016) Out of 274 GEP-NET patients included in the chronic haematological toxicity study, eight patients (2.9%) developed a haematopoietic neoplasm (four myelodysplastic syndromes, one acute myeloid leukaemia, one myeloproliferative neoplasm, and two myelodysplastic syndromes/ myeloproliferative neoplasms) and three patients (1.1%) developed bone marrow failure characterized by cytopenia and bone marrow aplasia or otherwise unexplained cytopenia (for >6 months with median latency of 41 months after the first PRRT cycle. The relative risk for developing a haematopoietic neoplasm was 2.7. No risk factors were found for the development of chronic haematological toxicity in GEP-NET patients (Bergsma et al., 2018).

Van der Zwan et al. (2019) assessed the safety of salvage treatment with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in patients with progressive bronchial NET or GEP-NET. Patients received an additional cumulative dose of 14.8 GBq of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE over two cycles per retreatment or re-retreatment with PRRT. Median cumulative doses were 44.7 GBq (range 26.3–46.4 GBq) during re-PRRT (168 patients) and 59.7 GBq (range 55.2–60.5 GBq) during re-re-PRRT (13 patients). Grade 3 or 4 bone marrow toxicity occurred in 6.6% and 7.7% of patients after re-PRRT and re-re-PRRT, respectively. The total incidence of AML and MDS was 2.2%. No PRRT-related grade 3 or 4 nephrotoxicity was observed.

Arterial hypertension and diabetes were found to be risk factors for the development of kidney function loss after PRRT in the studies by Valkema et al. (2005) and Bodei et al. (2015).

There have been reports of carcinoid crisis and other syndromes associated with the release of hormones from functional NETs following lutetium ¹⁷⁷Lu-PRRT, which may be related to irradiation of tumour cells. Although infrequent, carcinoid crises can occur during even a few days after the administration of PRRT. The true rate of carcinoid “flare” and acute haemodynamic instability crises after PRRT is not accurately known but based on the available literature would be considered to be

<10%. De Keizer et al. (2008) reported a much lower incidence of carcinoid crises in association with PRRT: only six out of 479 patients (1%) of the metastatic NET and pheochromocytomas treated with ¹⁷⁷Lu-octreotate in their series developed carcinoid crises. PRRT-induced carcinoid crisis was reported in 3.2% and 3.5% among the NET patients treated at two tertiary care hospitals in Australia (Tapia Rico et al., 2018).

Physical characteristics of ¹⁷⁷Lu emitting low-energy γ -rays at 208 and 113 keV concomitantly with the therapeutic β -radiation can be exploited for high quality post-therapeutic imaging with internal dosimetry. Based on the absorbed radiation doses to dose-limiting organs such as the kidneys and bone marrow, the cumulative activity to be administered can be calculated to better tailor PRRT to the individual patient.

Huge differences were observed amongst patients as to the radiopeptide uptake in normal organs and tumour tissues. This is possibly related to varying somatostatin receptors (SSTR) densities on tumour cells as well as to factors such as tumour volume, interstitial pressure and viability (Frilling et al., 2006).

Because of these differences between patients, individual dosimetry for the absorbed doses to both the bone marrow and the kidneys is desirable, and with tumours dosimetry can be a preliminary step for patient selection and therapy planning. (Forrer et al., 2009b; Claringbold et al., 2011; Baum and Kulkarni, 2012) Feasibility of this approach was demonstrated in a number of studies (Table 4) (Garkavij et al., 2010; Valkema et al., 2005; Wehrmann et al., 2007; Bodei et al., 2011; Kam et al., 2012; Forrer et al., 2009b; Swärd et al., 2010; Konijnenberg et al., 2007) .

Table 4. Internal dosimetry - selected papers including the cumulative dose of ¹⁷⁷Lu DOTATATE with the kidney and bone marrow absorbed dose.

Author (reference)	No. of patients	Cumulative dose of ¹⁷⁷ Lu	Kidney absorbed dose, median and (range)	Bone marrow absorbed dose, mean (range)
Kwekkeboom et al., 2001	6	29.6 GBq	N.D.	0.07mGy/MBq (0.05–0.08)
Wehrmann et al., 2007	95	29.6 GBq	N.D.	0.04mGy/MBq (0.02–0.08)
Forrer et al., 2009b	15	29.6 GBq	N.D.	0.03mGy/MBq (N.D.)
Bodei et al., 2011	12/51	26.4 GBq Group 1 (N=6) 25.2 GBq Group 2 (N=6)	21 Gy (16-41) Group 1 16.5 Gy (9-38) Group 2	0.05mGy/MBq Group 1 0.02mGy/MBq Group 2
Garkavij et al., 2010	16	N.D.	26 Gy planar (17-45); 21Gy SPECT (14-32) 1.15 planar; 0.81 SPECT mGy/MBq*	N.D.
Claringbold et al., 2011	33	29.6 GBq	9.6 Gy (4.5-14.6)	N.R.

N.D. – no data

In two studies with ¹⁷⁷Lu-DOTATOC, no serious side effects, including kidney toxicity, were reported. However, in these studies a maximum of 14.8 GBq ¹⁷⁷Lu-DOTATOC was used in patients who had relapsed after earlier treatment with ⁹⁰Y- DOTATOC. (Frilling et al., 2006; Forrer et al., 2005) Currently, there are no reports on the side effects using ¹⁷⁷Lu-DOTANOC.

5. Current status of radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-labelled radiopharmaceuticals and prospects for future developments

The evolving field of personalised medicine plays an increasingly important role in cancer prevention, diagnosis, prognosis and therapy. Its importance in clinical management is demonstrated by the recent introduction, into routine clinical practice, of various individualised, molecularly targeted therapeutic approaches with increased efficacy and/or reduced toxicity.

Molecular alterations in malignant disease result in the expression or upregulations of various targets that can be used for imaging and treatment with radiopharmaceuticals. The possibility to perform diagnostic imaging and subsequently administer therapies by means of the same molecule is called "theranostics" (or "theragnostics").

So far, at least two theranostic approaches have unequivocally demonstrated that radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu has not only a palliative effect but can prolong progression-free and overall survival.

The efficacy of the therapy of NETs with radiolabelled analogues of somatostatin has been proven in the NETTER-1 trial. (Strosberg et al., 2017a) This study led to the approval of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in the United States and later in Europe.

More recently, the PSMA has been established as a theranostic target in prostate cancer patients. Currently, a randomized phase III registration trial is recruiting patients to prove the superiority of ¹⁷⁷Lu-labeled PSMA-617 for treatment of mCRPC compared with the standard of care (VISION trial).

In other early phase trials, ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 is compared either with the second-line chemotherapy agents (TheraP study) or combined with other treatments (LuPARP study, PRINCE trial) in patients with mCRPC.

CA19-9HuMab-5B1 is a human IgG1 antibody that binds with a high affinity and specificity to CA19-9, a well-established tumour marker for pancreatic carcinoma and is internalized by tumour cells. A phase I study on ¹⁷⁷Lu-CA19-9HuMab-5B1 therapy was initiated and is currently recruiting patients with the aim to determine the maximum tolerated dose, as well as the pharmacokinetics and dosimetry of the radiopharmaceutical (O'Reilly et al., 2018).

Neurotensin receptors (NTSR) are expressed in various tissues during embryogenesis, and their expression is reactivated in several malignancies, such as small cell and non-small cell bronchial carcinomas, colorectal carcinomas, breast carcinomas, and pancreatic carcinomas. (Osadchii, 2015) According to autoradiographic studies, the density of NTSR type 1 on pancreatic adenocarcinoma can be as high as the expression of type 2 somatostatin receptors in NETs, and radiolabelled NTSR1 ligands represent an interesting option for RTL of pancreatic carcinomas. (Körner et al., 2015) ¹⁷⁷Lu-3BP-227 is a highly affine non-peptide NTSR1 antagonist which accumulates in NTSR1-positive tumours with a high target-to-organ ratio compared with the kidneys, liver, gastrointestinal tract, and lung and currently, a phase I/II study is being conducted to treat advanced NTSR1-positive tumours with ¹⁷⁷Lu-3BP-227 (Schulz et al., 2016; Schulz et al., 2017).

With these new radiopharmaceuticals, ¹⁷⁷Lu plays a main role as a therapeutic radionuclide. Its β emission is suitable for radionuclide therapy and γ emission of photons with low to medium energies allows scintigraphy and subsequent internal dosimetry with the same therapeutic compound. Other issues regarding biochemistry of the therapeutic radiopharmaceuticals have been also resolved for ¹⁷⁷Lu - stable labelling methods are currently available (kits for labelling are under development – personal communication), producing radiopharmaceuticals of high specific activity resistant to radiolysis. Finally, apart from the clinical advantages, ¹⁷⁷Lu is widely available commercially at a reasonable cost and regulatory issues, impeding the efficient entry of potential radiopharmaceutical compounds into clinical practice, have been resolved with several ¹⁷⁷Lu-chloride preparations of very high radionuclidic purity authorised in the European Union.

References

- Adnan A., Kudachi S., Ramesh S., Prabhash K., Basu S. 2019. Metastatic or locally advanced mediastinal neuroendocrine tumours: outcome with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE-based peptide receptor radionuclide therapy and assessment of prognostic factors. *Nuclear Medicine Communications* 40, pp. 947–957. DOI: [10.1097/MNM.0000000000001054](https://doi.org/10.1097/MNM.0000000000001054).
- Ahmadzadehfar H., Eppard E., Kürpig S., Fimmers R., Yordanova A., Schlenkhoff C.D., Gärtner F., Rogenhofer S., Essler M. 2016. Therapeutic response and side effects of repeated radioligand therapy with ¹⁷⁷Lu-PSMA-DKFZ-617 of castrate-resistant metastatic prostate cancer. *Oncotarget* 7, pp. 12477–12488. DOI: [10.18632/oncotarget.7245](https://doi.org/10.18632/oncotarget.7245).
- Alvarez R.D., Partridge E.E., Khazaeli M.B., Plott G., Austin M., Kilgore L., Russell C.D., Liu T., Grizzle W.E., Schlom J., LoBuglio A.F., Meredith R.F. 1997. Intraperitoneal radioimmunotherapy of ovarian cancer with ¹⁷⁷Lu-CC49: a phase I/II study. *Gynecologic Oncology* 65, pp. 94–101. DOI: [10.1006/gyno.1996.4577](https://doi.org/10.1006/gyno.1996.4577).
- Ando A., Ando I., Tonami N., Kinuya S., Kazuma K., Kataiwa A., Nakagawa M., Fujita N., 1998. ¹⁷⁷Lu-EDTMP: a potential therapeutic bone agent. *Nuclear Medicine Communications* 19, pp. 587–591.
- Bander N.H., Milowsky M.I., Nanus D.M., Kostakoglu L., Vallabhajosula S., Goldsmith S.J. 2005. Phase I trial of ¹⁷⁷lutetium-labeled J591, a monoclonal antibody to prostate-specific membrane antigen, in patients with androgen-independent prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology* 23, pp. 4591–4601. DOI: [10.1200/JCO.2005.05.160](https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.160).
- Barbet J., Bardiès M., Bourgeois M., Chatal J.-F., Chérel M., Davodeau F., Faivre-Chauvet A., Gestin J.-F., Kraeber-Bodéré F. 2012. Radiolabeled antibodies for cancer imaging and therapy. *Methods in Molecular Biology Clifton NJ* 907, pp. 681–697. DOI: [10.1007/978-1-61779-974-7_38](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-974-7_38).
- Basch E., Loblaw D.A., Oliver T.K., Carducci M., Chen R.C., Frame J.N., Garrels K., Hotte S., Kattan M.W., Raghavan D., Saad F., Taplin M.-E., Walker-Dilks C., Williams J., Winquist E., Bennett C.L., Wootton T., Rumble R.B., Dusetzina S.B., Virgo K.S. 2014. Systemic therapy in men with metastatic castration-resistant prostate cancer: American Society of Clinical Oncology and Cancer Care Ontario clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology* 32, pp. 3436–3448. DOI: [10.1200/JCO.2013.54.8404](https://doi.org/10.1200/JCO.2013.54.8404).
- Basu S., Fargose P. 2016. ¹⁷⁷Lu-DOTATATE PRRT in Recurrent Skull-Base Phosphaturic Mesenchymal Tumor Causing Osteomalacia: A Potential Application of PRRT Beyond Neuroendocrine Tumors. *Journal of Nuclear Medicine Technology* 44, pp. 248–250. DOI: [10.2967/jnmt.116.177873](https://doi.org/10.2967/jnmt.116.177873).
- Basu S., Parghane R.V., Kamaldeep Chakrabarty S. 2020. Peptide Receptor Radionuclide Therapy of Neuroendocrine Tumors. *Seminars in Nuclear Medicine* 50, pp. 447–464. DOI: [10.1053/j.semnuclmed.2020.05.004](https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2020.05.004).
- Basu S., Ranade R. 2016. Favorable Response of Metastatic Merkel Cell Carcinoma to Targeted ¹⁷⁷Lu-DOTATATE Therapy: Will PRRT Evolve to Become an Important Approach in Receptor-Positive Cases? *Journal of Nuclear Medicine Technology* 44, pp. 85–87. DOI: [10.2967/jnmt.115.163527](https://doi.org/10.2967/jnmt.115.163527).
- Baum R.P., Kulkarni H.R., 2012. THERANOSTICS: From Molecular Imaging Using Ga-68 Labeled Tracers and PET/CT to Personalized Radionuclide Therapy – The Bad Berka Experience. *Theranostics* 2, pp. 437–447. DOI: [10.7150/thno.3645](https://doi.org/10.7150/thno.3645).
- Baum R.P., Kulkarni H.R., Schuchardt C., Singh A., Wirtz M., Wiessalla S., Schottelius M., Mueller D., Klette I., Wester H.-J. 2016. ¹⁷⁷Lu-Labeled Prostate-Specific Membrane Antigen Radioligand Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Safety and Efficacy. *Journal of Nuclear Medicine* 57, pp. 1006–1013. DOI: [10.2967/jnumed.115.168443](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.168443).
- Bergsma H., Konijnenber, M.W., Ka, B.L.R., Teunisse, J.J.M., Kooi, P.P., de Herde, W.W., Fransse, G.J.H., van Eijc, C.H.J., Krenning, E.P., Kwekkeboom, D.J., 2016. Subacute haematotoxicity after PRRT with (¹⁷⁷)Lu-DOTA-octreotate: prognostic factors, incidence and course. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 43, pp. 453–463. DOI: [10.1007/s00259-015-3193-4](https://doi.org/10.1007/s00259-015-3193-4).
- Bergsm, H., van Lo, K., Raaijmaker, M.H.G.P., Konijnenber, M., Ka, B.L.B.L.R., Teunisse, J.J.M., de Herde, W.W., Krenning E.P., Kwekkeboom D.J. 2018. Persistent Hematologic Dysfunction after Peptide Receptor Radionuclide Therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE: Incidence, Course, and Predicting Factors in Patients with Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *Journal of Nuclear Medicine* 59, pp. 452–458. DOI: [10.2967/jnumed.117.189712](https://doi.org/10.2967/jnumed.117.189712).

- Blakkisrud J., Løndalen A., Dahle J., Turner S., Holte H., Kolstad A., Stokke C. 2017a. Red Marrow-Absorbed Dose for Non-Hodgkin Lymphoma Patients Treated with ¹⁷⁷Lu-Lilotomab Satetraxetan, a Novel Anti-CD37 Antibody-Radionuclide Conjugate. *Journal of Nuclear Medicine* 58, pp. 55–61. DOI: [10.2967/jnumed.116.180471](https://doi.org/10.2967/jnumed.116.180471).
- Blakkisrud J., Løndalen A., Martinsen A.C.T., Dahle J., Holtedahl J.E., Bach-Gansmo T., Holte H., Kolstad A., Stokke C. 2017b. Tumor-Absorbed Dose for Non-Hodgkin Lymphoma Patients Treated with the Anti-CD37 Antibody Radionuclide Conjugate ¹⁷⁷Lu-Lilotomab Satetraxetan. *Journal of Nuclear Medicine* 58, pp. 48–54. DOI: [10.2967/jnumed.116.173922](https://doi.org/10.2967/jnumed.116.173922).
- Bodei L., Cremonesi M., Grana C.M., Fazio N., Iodice S., Baio S.M., Bartolomei M., Lombardo D., Ferrari M.E., Sansovini M., Chino, M., Paganelli G. 2011. Peptide receptor radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE: the IEO phase I-II study. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 38, pp. 2125–2135. DOI: [10.1007/s00259-011-1902-1](https://doi.org/10.1007/s00259-011-1902-1).
- Bodei, L., Kidd, M., Paganelli, G., Grana, C.M., Drozdov, I., Cremonesi, M., Lepensky, C., Kwekkeboom, D.J., Baum, R.P., Krenning, E.P., Modlin, I.M., 2015. Long-term tolerability of PRRT in 807 patients with neuroendocrine tumours: the value and limitations of clinical factors. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 42, pp. 5–19. DOI: [10.1007/s00259-014-2893-5](https://doi.org/10.1007/s00259-014-2893-5).
- Brabander T., van der Zwan W.A., Teunissen J.J.M., Kam B.L.R., Feelders R.A., de Herder W.W., van Eijck C.H.J., Franssen G.J.H., Krenning E.P., Kwekkeboom D.J. 2017. Long-Term Efficacy, Survival, and Safety of [¹⁷⁷Lu-DOTA₀Tyr₃]octreotate in Patients with Gastroenteropancreatic and Bronchial Neuroendocrine Tumors. *Clinical Cancer Research* 23, pp. 4617–4624. DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-16-2743](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2743).
- Caplin M.E., Pavel M., Ćwikła J.B., Phan A.T., Raderer M., Sedláčková E., Cadiot G., Wolin E.M., Capdevila J., Wall L., Rindi G., Langley A., Martinez S., Blumberg J., Ruzsniwski P., CLARINET Investigators. 2014. Lanreotide in metastatic enteropancreatic neuroendocrine tumors. *The New England Journal of Medicine* 371, pp. 224–233. DOI: [10.1056/NEJMoa1316158](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1316158).
- Chakraborty S., Das T., Unni P.R., Sarma H.D., Samuel G., Banerjee S., Venkatesh M., Ramamoorthy N., Pillai M.R.A. 2002. ¹⁷⁷Lu labelled polyaminophosphonates as potential agents for bone pain palliation. *Nuclear Medicine Communications* 23, pp. 67–74. DOI: [10.1097/00006231-200201000-00011](https://doi.org/10.1097/00006231-200201000-00011).
- Claringbold P.G., Brayshaw P.A., Price R.A., Turner J.H. 2011. Phase II study of radiopeptide ¹⁷⁷Lu-octreotate and capecitabine therapy of progressive disseminated neuroendocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 38, pp. 302–311. DOI: [10.1007/s00259-010-1631-x](https://doi.org/10.1007/s00259-010-1631-x)
- Claringbold P.G., Price R.A., Turner J.H. 2012. Phase I-II study of radiopeptide ¹⁷⁷Lu-octreotate in combination with capecitabine and temozolomide in advanced low-grade neuroendocrine tumors. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* 27, pp. 561–569. DOI: [10.1089/cbr.2012.1276](https://doi.org/10.1089/cbr.2012.1276).
- de Bono J.S., Logothetis C.J., Molina A., Fizazi K., North S., Chu L., Chi K.N., Jones R.J., Goodman O.B., Saad F., Staffurth J.N., Mainwaring P., Harland S., Flaig T.W., Hutson T.E., Cheng T., Patterson H., Hainsworth J.D., Ryan C.J., Sternberg C.N., Ellard S.L., Fléchon A., Saleh M., Scholz M., Efstathiou E., Zivi A., Bianchini D., Loriot Y., Chieffo N., Kheoh T., Haqq C.M., Scher H.I. COU-AA-301 Investigators, 2011. Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *The New England Journal of Medicine* 364, pp. 1995–2005. DOI: [10.1056/NEJMoa1014618](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1014618).
- de Jong M., Breeman W.A.P., Valkema R., Bernard B.F., Krenning E.P. 2005. Combination radionuclide therapy using ¹⁷⁷Lu- and ⁹⁰Y-labeled somatostatin analogs. *Journal of Nuclear Medicine*. 46 Suppl 1, pp. 13S–7S.
- De Jong M., Valkema R., Jamar F., Kvols L.K., Kwekkeboom D.J., Breeman W.A.P., Bakker W.H., Smith C., Pauwels S., Krenning E.P., 2002. Somatostatin receptor-targeted radionuclide therapy of tumors: preclinical and clinical findings. *Seminars in Nuclear Medicine* 32, pp. 133–140. DOI: [10.1053/snuc.2002.31027](https://doi.org/10.1053/snuc.2002.31027).
- de Keizer B., van Aken M.O., Feelders R.A., de Herder W.W., Kam B.L.R., van Essen M., Krenning E.P., Kwekkeboom D.J. 2008. Hormonal crises following receptor radionuclide therapy with the radiolabeled somatostatin analogue [¹⁷⁷Lu-DOTA₀Tyr₃]octreotate. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 35, pp. 749–755. DOI: [10.1007/s00259-007-0691-z](https://doi.org/10.1007/s00259-007-0691-z).
- Delker A., Fendler W.P., Kratochwil C., Brungraf A., Gosewisch A., Gildehaus F.J., Tritschler S., Stief C.G., Kopka K., Haberkorn U., Bartenstein P., Böning G. 2016. Dosimetry for (¹⁷⁷)Lu-DKFZ-PSMA-617: a new radiopharmaceutical for the treatment of metastatic prostate cancer. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 43, pp. 42–51. DOI: [10.1007/s00259-015-3174-7](https://doi.org/10.1007/s00259-015-3174-7).

- Esser J.P., Krenning E.P., Teunissen J.J.M., Kooij P.P.M., van Gameren A.L.H., Bakker W.H., Kwekkeboom D.J. 2006. Comparison of [(177)Lu-DOTA(0),Tyr(3)]octreotate and [(177)Lu-DOTA(0),Tyr(3)]octreotide: which peptide is preferable for PRRT? *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 33, pp. 1346–1351. DOI: [10.1007/s00259-006-0172-9](https://doi.org/10.1007/s00259-006-0172-9).
- Fendler W.P., Reinhardt S., Ilhan H., Delker A., Böning G., Gildehaus F.J., Stief C., Bartenstein P., Gratzke C., Lehner S., Rominger A. 2017. Preliminary experience with dosimetry, response and patient reported outcome after 177Lu-PSMA-617 therapy for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Oncotarget* 8, pp. 3581–3590. DOI: [10.18632/oncotarget.12240](https://doi.org/10.18632/oncotarget.12240).
- Florimonte L., Dellavedova L., Maffioli L.S. 2016. Radium-223 dichloride in clinical practice: a review. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 43, pp. 1896–1909. DOI: [10.1007/s00259-016-3386-5](https://doi.org/10.1007/s00259-016-3386-5).
- Forrer F., Chen J., Fani M., Powell P., Lohri A., Müller-Brand J., Moldenhauer G., Maecke H.R. 2009a. In vitro characterization of (177)Lu-radiolabelled chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and a preliminary dosimetry study. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 36, pp. 1443–1452. DOI: [10.1007/s00259-009-1120-2](https://doi.org/10.1007/s00259-009-1120-2).
- Forrer F., Krenning E.P., Kooij P.P., Bernard B.F., Konijnenberg M., Bakker W.H., Teunissen J.J.M., de Jong M., van Lom K., de Herder W.W., Kwekkeboom D.J. 2009b. Bone marrow dosimetry in peptide receptor radionuclide therapy with [177Lu-DOTA(0),Tyr(3)]octreotate. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 36, pp. 1138–1146. DOI: [10.1007/s00259-009-1072-6](https://doi.org/10.1007/s00259-009-1072-6).
- Forrer F., Oechslin-Oberholzer C., Campana B., Herrmann R., Maecke H.R., Mueller-Brand J., Lohri A. 2013. Radioimmunotherapy with 177Lu-DOTA-rituximab: final results of a phase I/II Study in 31 patients with relapsing follicular, mantle cell, and other indolent B-cell lymphomas. *Journal of Nuclear Medicine* 54, pp. 1045–1052. DOI: [10.2967/jnumed.112.115170](https://doi.org/10.2967/jnumed.112.115170).
- Forrer F., Uusijärvi H., Storch D., Maecke H.R., Mueller-Brand J. 2005. Treatment with 177Lu-DOTATOC of patients with relapse of neuroendocrine tumors after treatment with 90Y-DOTATOC. *Journal of Nuclear Medicine* 46, pp. 1310–1316.
- Frilling A., Weber F., Saner F., Bockisch A., Hofmann M., Mueller-Brand J., Broelsch C.E. 2006. Treatment with (90)Y- and (177)Lu-DOTATOC in patients with metastatic neuroendocrine tumors. *Surgery* 140, pp. 968–976; discussion pp. 976–977. DOI: [10.1016/j.surg.2006.07.030](https://doi.org/10.1016/j.surg.2006.07.030).
- Garkavij M., Nickel M., Sjögreen-Gleisner K., Ljungberg M., Ohlsson T., Wingårdh K., Strand S.-E., Tennvall J. 2010. 177Lu-[DOTA0,Tyr3] octreotate therapy in patients with disseminated neuroendocrine tumors: Analysis of dosimetry with impact on future therapeutic strategy. *Cancer* 116, pp. 1084–1092. DOI: [10.1002/cncr.24796](https://doi.org/10.1002/cncr.24796).
- Heck M.M., Retz M., D'Alessandria C., Rauscher I., Scheidhauer K., Maurer T., Storz E., Janssen F., Schottelius M.t., Wester H.-J., Gschwend J.E., Schwaiger M., Tauber R., Eiber M. 2016. Systemic Radioligand Therapy with 177Lu Labeled Prostate Specific Membrane Antigen Ligand for Imaging and Therapy in Patients with Metastatic Castration Resistant Prostate Cancer. *Journal of Urology* 196, pp. 382–391. DOI: [10.1016/j.juro.2016.02.2969](https://doi.org/10.1016/j.juro.2016.02.2969).
- Hofman M.S., Violet J., Hicks R.J., Ferdinandus J., Thang S.P., Akhurst T., Iravani A., Kong G., Ravi Kumar A., Murphy D.G., Eu P., Jackson P., Scalzo M., Williams S.G., Sandhu S. 2018. [177Lu]-PSMA-617 radionuclide treatment in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (LuPSMA trial): a single-centre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncology* 19, pp. 825–833. DOI: [10.1016/S1470-2045\(18\)30198-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30198-0).
- Jois B., Asopa R., Basu S. 2014. Somatostatin receptor imaging in non-(131)I-avid metastatic differentiated thyroid carcinoma for determining the feasibility of peptide receptor radionuclide therapy with (177)Lu-DOTATATE: low fraction of patients suitable for peptide receptor radionuclide therapy and evidence of chromogranin A level-positive neuroendocrine differentiation. *Clinical Nuclear Medicine* 39, pp. 505–510. DOI: [10.1097/RLU.0000000000000429](https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000000429).
- Kam B.L.R., Teunissen J.J.M., Krenning E.P., de Herder W.W., Khan S., van Vliet E.I., Kwekkeboom D.J. 2012. Lutetium-labelled peptides for therapy of neuroendocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 39(Suppl 1), pp. S103–112. DOI: [10.1007/s00259-011-2039-y](https://doi.org/10.1007/s00259-011-2039-y).
- Khan, ., Krenning E.P., van Essen M., Kam B.L., Teunissen J.J., Kwekkeboom, D.J. 2011. Quality of life in 265 patients with gastroenteropancreatic or bronchial neuroendocrine tumors treated with [177Lu-DOTA0,Tyr3]octreotate. *Journal of Nuclear Medicine* 52, pp. 1361–1368. DOI: [10.2967/jnumed.111.087932](https://doi.org/10.2967/jnumed.111.087932).

- Kim Y.J., Kim Y.-I. 2018. Therapeutic Responses and Survival Effects of ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 Radioligand Therapy in Metastatic Castrate-Resistant Prostate Cancer: A Meta-analysis. *Clinical Nuclear Medicine* 43, pp. 728–734. DOI: [10.1097/RLU.0000000000002210](https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000002210).
- Kirby M., Hirst C., Crawford E.D. 2011. Characterising the castration-resistant prostate cancer population: a systematic review. *International Journal of Clinical Practice* 65, pp. 1180–1192. DOI: [10.1111/j.1742-1241.2011.02799.x](https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2011.02799.x).
- Konijnenberg M., Melis M., Valkema R., Krenning E., de Jong M. 2007. Radiation dose distribution in human kidneys by octreotides in peptide receptor radionuclide therapy. *Journal of Nuclear Medicine* 48, pp. 134–142.
- Körner M., Waser B., Strobel O., Büchler M., Reubi J.C. 2015. Neurotensin receptors in pancreatic ductal carcinomas. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging Research* 5, pp. 17. DOI: [10.1186/s13550-015-0094-2](https://doi.org/10.1186/s13550-015-0094-2).
- Kratochwil C., Fendler W.P., Eiber M., Baum R., Bozkurt M.F., Czernin J., Delgado Bolton R.C., Ezziddin S., Forrer F., Hicks R.J., Hope T.A., Kabasakal L., Konijnenberg M., Kopka K., Lassmann M., Mottaghy F.M., Oyen W., Rahbar K., Schöder H., Virgolini I., Wester H.-J., Bodei L., Fanti S., Haberkorn U., Herrmann K. 2019. EANM procedure guidelines for radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-labelled PSMA-ligands (¹⁷⁷Lu-PSMA-RLT). *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 46, pp. 2536–2544. DOI: [10.1007/s00259-019-04485-3](https://doi.org/10.1007/s00259-019-04485-3).
- Kratochwil C., Giesel F.L., Stefanova M., Benešová M., Bronzel M., Afshar-Oromieh A., Mier W., Eder M., Kopka K., Haberkorn U. 2016. PSMA-Targeted Radionuclide Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer with ¹⁷⁷Lu-Labeled PSMA-617. *Journal of Nuclear Medicine* 57, pp. 1170–1176. DOI: [10.2967/jnumed.115.171397](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.171397).
- Kulke M.H., Siu L.L., Tepper J.E., Fisher G., Jaffe D., Haller D.G., Ellis L.M., Benedetti J.K., Bergsland E.K., Hobday T.J., Van Cutsem E., Pingpank J., Oberg K., Cohen S.J., Posner M.C., Yao J.C. 2011. Future directions in the treatment of neuroendocrine tumors: consensus report of the National Cancer Institute Neuroendocrine Tumor clinical trials planning meeting. *Journal of Clinical Oncology* 29, pp. 934–943. DOI: [10.1200/JCO.2010.33.2056](https://doi.org/10.1200/JCO.2010.33.2056).
- Kunikowska J., Królicki L., Hubalewska-Dydejczyk A., Mikołajczak R., Sowa-Staszczak A., Pawlak D. 2011. Clinical results of radionuclide therapy of neuroendocrine tumours with ⁹⁰Y-DOTATATE and tandem ⁹⁰Y/¹⁷⁷Lu-DOTATATE: which is a better therapy option? *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 38, pp. 1788–1797. DOI: [10.1007/s00259-011-1833-x](https://doi.org/10.1007/s00259-011-1833-x).
- Kvols L.K., Moertel C.G., O'Connell M.J., Schutt A.J., Rubin J., Hahn R.G. 1986. Treatment of the malignant carcinoid syndrome. Evaluation of a long-acting somatostatin analogue. *The New England Journal of Medicine* 315, pp. 663–666. DOI: [10.1056/NEJM198609113151102](https://doi.org/10.1056/NEJM198609113151102).
- Kwekkeboom D. 2016. Perspective on ¹⁷⁷Lu-PSMA Therapy for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *Journal of Nuclear Medicine* 57, pp. 1002–1003. DOI: [10.2967/jnumed.115.171363](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.171363)
- Kwekkeboom D.J., Bakker W.H., Kam B.L., Teunissen J.J.M., Kooij P.P.M., de Herder W.W., Feelders R.A., van Eijck C.H.J., de Jong M., Srinivasan A., Erion J.L., Krenning E.P. 2003. Treatment of patients with gastro-entero-pancreatic (GEP) tumours with the novel radiolabelled somatostatin analogue [¹⁷⁷Lu-DOTA(0),Tyr3]octreotate. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 30, pp. 417–422. DOI: [10.1007/s00259-002-1050-8](https://doi.org/10.1007/s00259-002-1050-8).
- Kwekkeboom D.J., Bakker W.H., Kooij P.P., Konijnenberg M.W., Srinivasan A., Erion J.L., Schmidt M.A., Bugaj J.L., de Jong M., Krenning E.P. 2001. [¹⁷⁷Lu-DOTAOTyr3]octreotate: comparison with [¹¹¹In-DTPA]octreotide in patients. *European Journal of Nuclear Medicine* 28, pp. 1319–1325. DOI: [10.1007/s002590100574](https://doi.org/10.1007/s002590100574).
- Kwekkeboom D.J., de Herder W.W., Kam B.L., van Eijck C.H., van Essen M., Kooij P.P., Feelders R.A., van Aken M.O., Krenning E.P. 2008. Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [¹⁷⁷Lu-DOTA 0,Tyr3]octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *Journal of Clinical Oncology* 26, pp. 2124–2130. DOI: [10.1200/JCO.2007.15.2553](https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.2553).
- Kwekkeboom D.J., Mueller-Brand J., Paganelli G., Anthony L.B., Pauwels S., Kvols L.K., O'dorisio T.M., Valkema R., Bodei L., Chinol M., Maecke H.R., Krenning E.P. 2005. Overview of results of peptide receptor radionuclide therapy with 3 radiolabeled somatostatin analogs. *Journal of Nuclear Medicine* 46(Suppl 1), pp. 62S–65S.

- Kyker, G.C., Christopherson, W.M., Berg, H.F., Brucer, M., 1956. Selective irradiation of lymph nodes by radiolutecium (Lu 177). *Cancer* 9, 489–498.
DOI: [10.1002/1097-0142\(195605/06\)9:3<489::aid-cnrcr2820090310>3.0.co;2-5](https://doi.org/10.1002/1097-0142(195605/06)9:3<489::aid-cnrcr2820090310>3.0.co;2-5).
- Langbein T., Weber W.A., Eiber M. 2019. Future of Theranostics: An Outlook on Precision Oncology in Nuclear Medicine. *Journal of Nuclear Medicine* 60, pp. 13S–19S. DOI: [10.2967/jnumed.118.220566](https://doi.org/10.2967/jnumed.118.220566).
- Løndalen A., Blakkisrud J., Revheim M.-E., Madsbu U.E., Dahle J., Kolstad A., Stokke C. 2020. FDG PET/CT parameters and correlations with tumor-absorbed doses in a phase 1 trial of ¹⁷⁷Lu-lilotomab satetraxetan for treatment of relapsed non-Hodgkin lymphoma. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 48, pp. 1902–1914. DOI: [10.1007/s00259-020-05098-x](https://doi.org/10.1007/s00259-020-05098-x).
- Malenge M.M., Patzke S., Ree A.H., Stokke T., Ceuppens P., Middleton B., Dahle J., Repetto-Llamazares A.H.V. 2020. ¹⁷⁷Lu-Lilotomab Satetraxetan Has the Potential to Counteract Resistance to Rituximab in Non-Hodgkin Lymphoma. *Journal of Nuclear Medicine* 61, pp. 1468–1475. DOI: [10.2967/jnumed.119.237230](https://doi.org/10.2967/jnumed.119.237230).
- Meckel M., Nauth A., Timpe J., Zhernosekov K., Puranik A.D., Baum R.P., Rösch F. 2015. Development of a [¹⁷⁷Lu]BPAMD labeling kit and an automated synthesis module for routine bone targeted endoradiotherapy. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* 30, pp. 94–99. DOI: [10.1089/cbr.2014.1720](https://doi.org/10.1089/cbr.2014.1720).
- Meredith R.F., Alvarez R.D., Partridge E.E., Khazaeli M.B., Lin C.Y., Macey D.J., Austin J.M., Kilgore L.C., Grizzle W.E., Schlom J., LoBuglio A.F. 2001. Intraperitoneal radioimmunotherapy of ovarian cancer: a phase I study. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* 16, pp. 305–315. DOI: [10.1089/108497801753131381](https://doi.org/10.1089/108497801753131381).
- Meredith R.F., Partridge E.E., Alvarez R.D., Khazaeli M.B., Plott G., Russell C.D., Wheeler R.H., Liu T., Grizzle W.E., Schlom J., LoBuglio A.F., 1996. Intraperitoneal radioimmunotherapy of ovarian cancer with lutetium-177-CC49. *Journal of Nuclear Medicine* 37, pp. 1491–1496.
- Niaz M.J., Batra J.S., Walsh R.D., Ramirez-Fort M.K., Vallabhajosula S., Jhanwar Y.S., Molina A.M., Nanus D.M., Osborne J.R., Bander N.H., Tagawa S.T. 2020. Pilot Study of Hyperfractionated Dosing of Lutetium-177–Labeled Antiprostate-Specific Membrane Antigen Monoclonal Antibody J591 (¹⁷⁷Lu-J591) for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *The Oncologist* 25, pp. 477–e895. DOI: [10.1634/theoncologist.2020-0028](https://doi.org/10.1634/theoncologist.2020-0028).
- Niaz M.O., Sun M., Ramirez-Fort M.K., Niaz M.J. 2020. Review of Lutetium-177-labeled Anti-prostate-specific Membrane Antigen Monoclonal Antibody J591 for the Treatment of Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Cureus* 12, pp. e7107. DOI: [10.7759/cureus.7107](https://doi.org/10.7759/cureus.7107).
- O'Donoghue J.A., Bardiès M., Wheldon T.E. 1995. Relationships between Tumor Size and Curability for Uniformly Targeted Therapy with Beta-Emitting Radionuclides. *Journal of Nuclear Medicine* 36, pp. 1902–1909.
- O'Reilly E.A., Lohrmann C., O'Donoghue J.A., Borazanci E., Estrella H., Teng R., Melink T., Dorr K., Kearns C., Peterson M., Ostrowski J., Gutheil J., Maffuid P.W., Lewis J.S., Weber W. 2018. Abstract CT140: Phase I dose escalation study of ¹⁷⁷Lu-HuMab-5B1 (MVT-1075) in combination with MVT-5873 as radioimmunotherapy (RIT) in subjects with relapsed / refractory pancreatic cancer or other CA19-9+ malignancies. *Cancer Research* 78, pp. CT140–CT140. DOI: [10.1158/1538-7445.AM2018-CT140](https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2018-CT140).
- Osadchii O.E. 2015. Emerging role of neurotensin in regulation of the cardiovascular system. *European Journal of Pharmacology* 762, pp. 184–192. DOI: [10.1016/j.ejphar.2015.05.025](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.025).
- Parghane R.V., Naik C., Talole S., Desmukh A., Chaukar D., Banerjee S., Basu S. 2020. Clinical utility of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE PRRT in somatostatin receptor-positive metastatic medullary carcinoma of thyroid patients with assessment of efficacy, survival analysis, prognostic variables, and toxicity. *Head Neck* 42, pp. 401–416. DOI: [10.1002/hed.26024](https://doi.org/10.1002/hed.26024).
- Parghane R.V., Talole S., Basu S. 2019. Prevalence of hitherto unknown brain meningioma detected on ⁶⁸Ga-DOTATATE positron-emission tomography/computed tomography in patients with metastatic neuroendocrine tumor and exploring potential of ¹⁷⁷Lu-DOTATATE peptide receptor radionuclide therapy as single-shot treatment approach targeting both tumors. *World Journal of Nuclear Medicine* 18, pp. 160–170. DOI: [10.4103/wjnm.WJNM_39_18](https://doi.org/10.4103/wjnm.WJNM_39_18).
- Parghane R.V., Talole S., Prabhaskar K., Basu S. 2017. Clinical Response Profile of Metastatic/Advanced Pulmonary Neuroendocrine Tumors to Peptide Receptor Radionuclide Therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE. *Clinical. Nuclear Medicine* 42, pp. 428–435. DOI: [10.1097/RLU.0000000000001639](https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000001639).

- Parker C., Nilsson S., Heinrich D., Helle S.I., O'Sullivan J.M., Fosså S.D., Chodacki A., Wiechno P., Logue J., Seke M., Widmark A., Johannessen D.C., Hoskin P., Bottomley D., James N.D., Solberg A., Syndikus I., Kliment J., Wedel S., Boehmer S., Dall'Oglio M., Franzén L., Coleman R., Vogelzang N.J., O'Bryan-Tear C.G., Staudacher K., Garcia-Vargas J., Shan M., Bruland Ø.S., Sartor O. ALSYMPCA Investigators. 2013. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *The New England Journal of Medicine* 369, pp. 213–223. DOI: [10.1056/NEJMoa1213755](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1213755).
- Puranik A.D., Kulkarni H.R., Singh A., Baum R.P. 2015. Peptide receptor radionuclide therapy with ⁹⁰Y/ ¹⁷⁷Lu-labelled peptides for inoperable head and neck paragangliomas (glomus tumours). *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 42, pp. 1223–1230. DOI: [10.1007/s00259-015-3029-2](https://doi.org/10.1007/s00259-015-3029-2).
- Rahbar K., Ahmadzadehfar H., Kratochwil C., Haberkorn U., Schäfers M., Essler M., Baum R.P., Kulkarni H.R., Schmidt M., Drzezga A., Bartenstein P., Pfestroff A., Luster M., Lützen U., Marx M., Prasad V., Brenner W., Heinzel A., Mottaghy F.M., Ruf J., Meyer P.T., Heuschkel M., Eveslage M., Bögemann M., Fendler W.P., Krause B.J. 2017. German Multicenter Study Investigating ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 Radioligand Therapy in Advanced Prostate Cancer Patients. *Journal of Nuclear Medicine* 58, pp. 85–90. DOI: [10.2967/jnumed.116.183194](https://doi.org/10.2967/jnumed.116.183194).
- Rahbar K., Bode A., Weckesser M., Avramovic N., Claesener M., Stegger L., Bögemann, M. 2016a. Radioligand Therapy With ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 as A Novel Therapeutic Option in Patients With Metastatic Castration Resistant Prostate Cancer. *Clinical Nuclear Medicine* 41, pp. 522–528. DOI: [10.1097/RLU.0000000000001240](https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000001240).
- Rahbar K., Boegemann M., Yordanova A., Eveslage M., Schäfers M., Essler M., Ahmadzadehfar H. 2018. PSMA targeted radioligandtherapy in metastatic castration resistant prostate cancer after chemotherapy, abiraterone and/or enzalutamide. A retrospective analysis of overall survival. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 45, pp. 12–19. DOI: [10.1007/s00259-017-3848-4](https://doi.org/10.1007/s00259-017-3848-4).
- Rahbar K., Bögeman M., Yordanova A., Eveslage M., Schäfers M., Essler M., Ahmadzadehfar H. 2018. Delayed response after repeated ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 radioligand therapy in patients with metastatic castration resistant prostate cancer. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 45, pp. 243–246. DOI: [10.1007/s00259-017-3877-z](https://doi.org/10.1007/s00259-017-3877-z).
- Rahbar K., Schmidt M., Heinzel A., Eppard E., Bode A., Yordanova A., Claesener M., Ahmadzadehfar H. 2016b. Response and Tolerability of a Single Dose of ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 in Patients with Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: A Multicenter Retrospective Analysis. *Journal of Nuclear Medicine* 57, pp. 1334–1338. DOI: [10.2967/jnumed.116.173757](https://doi.org/10.2967/jnumed.116.173757).
- Rinke A., Müller H.-H., Schade-Brittinger C., Klose K.-J., Barth P., Wied M., Mayer C., Aminossadati B., Pape U.-F., Bläker M., Harder J., Arnold C., Gress T., Arnold R. PROMID Study Group., 2009. Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine midgut tumors: a report from the PROMID Study Group. *Journal of Clinical Oncology* 27, pp. 4656–4663. DOI: [10.1200/JCO.2009.22.8510](https://doi.org/10.1200/JCO.2009.22.8510).
- Rolleman E.J., Valkema R., de Jong M., Kooij P.P.M., Krenning E.P. 2003. Safe and effective inhibition of renal uptake of radiolabelled octreotide by a combination of lysine and arginine. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 30, pp. 9–15. DOI: [10.1007/s00259-002-0982-3](https://doi.org/10.1007/s00259-002-0982-3).
- Rudisile S., Gosewisch A., Wenter V., Unterrainer M., Böning G., Gildehaus F.J., Fendler W.P., Auernhammer C.J., Spitzweg C., Bartenstein P., Todica A., Ilhan H. 2019. Salvage PRRT with ¹⁷⁷Lu-DOTA-octreotate in extensively pretreated patients with metastatic neuroendocrine tumor (NET): dosimetry, toxicity, efficacy, and survival. *BMC Cancer* 19, pp. 788. DOI: [10.1186/s12885-019-6000-y](https://doi.org/10.1186/s12885-019-6000-y).
- Sabet A., Ezziddin K., Pape U.-F., Ahmadzadehfar H., Mayer K., Pöppel T., Gohlke S., Biersack H.-J., Ezziddin S. 2013. Long-term hematotoxicity after peptide receptor radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-octreotate. *Journal of Nuclear Medicine* 54, pp. 1857–1861. DOI: [10.2967/jnumed.112.119347](https://doi.org/10.2967/jnumed.112.119347).
- Scher H.I., Fizazi K., Saad F., Taplin M.-E., Sternberg C.N., Miller K., de Wit R., Mulders P., Chi K.N., Shore N.D., Armstrong A.J., Flaig T.W., Fléchon A., Mainwaring P., Fleming M., Hainsworth J.D., Hirmand M., Selby B., Seely L., de Bono J.S. AFFIRM Investigators, 2012. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *The New England Journal of Medicine* 367, pp. 1187–1197. DOI: [10.1056/NEJMoa1207506](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1207506).

- Schuchardt C., Kulkarni H., Zachert C., Baum R.P. 2013. Dosimetry in Targeted Radionuclide Therapy: The Bad Berka Dose Protocol—Practical Experience. *Journal of Postgraduate Medicine, Education and Research* 47, pp. 65–73. DOI: [10.5005/jp-journals-10028-1058](https://doi.org/10.5005/jp-journals-10028-1058).
- Schulz J., Rohracker M., Stiebler M., Goldschmidt J., Grosser O.S., Osterkamp F., Pethe A., Reineke U., Smerling C., Amthauer H. 2016. Comparative Evaluation of the Biodistribution Profiles of a Series of Nonpeptidic Neurotensin Receptor-1 Antagonists Reveals a Promising Candidate for Theranostic Applications. *Journal of Nuclear Medicine* 57, pp. 1120–1123. DOI: [10.2967/jnumed.115.170530](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.170530).
- Schulz J., Rohracker M., Stiebler M., Goldschmidt J., Stöber F., Noriega M., Pethe A., Lukas M., Osterkamp F., Reineke U., Höhne A., Smerling C., Amthauer H. 2017. Proof of Therapeutic Efficacy of a ¹⁷⁷Lu-Labeled Neurotensin Receptor 1 Antagonist in a Colon Carcinoma Xenograft Model. *Journal of Nuclear Medicine* 58, pp. 936–941. DOI: [10.2967/jnumed.116.185140](https://doi.org/10.2967/jnumed.116.185140).
- Solá G.A.R., Argüelles M.G., Bottazzini D.L., Furnari J.C., Parada I.G., Rojo A., Ruiz H.V. 2009. Lutetium-177-EDTMP for bone pain palliation. Preparation, biodistribution and pre-clinical studies. *Radiochimica Acta* 88, pp. 157–162. DOI: [10.1524/ract.2000.88.3-4.157](https://doi.org/10.1524/ract.2000.88.3-4.157).
- Sparks R.B., Crowe E.A., Wong F.C., Toohey R.E., Siegel J.A. 2002. Radiation Dose Distributions in Normal Tissue Adjacent to Tumors Containing ¹³¹I or ⁹⁰Y: The Potential for Toxicity. *Journal of Nuclear Medicine* 43, pp. 1110–1114.
- Strosberg J., El-Haddad G., Wolin E., Hendifar A., Yao J., Chasen B., Mittra E., Kunz P.L., Kulke M.H., Jacene H., Bushnell D., O’Dorisio T.M., Baum R.P., Kulkarni H.R., Caplin M., Lebtahi R., Hobday T., Delpassand E., Van Cutsem E., Benson A., Srirajaskanthan R., Pavel M., Mora J., Berlin J., Grande E., Reed N., Seregni E., Öber, K., Lopera Sierra M., Santoro P., Thevenet T., Erion J.L., Ruzsiewicz P., Kwekkeboom D., Krenning E. 2017a. Phase 3 Trial of ¹⁷⁷Lu-Dotatate for Midgut Neuroendocrine Tumors. *The New England Journal of Medicine* 376, pp. 125–135. DOI: [10.1056/NEJMoa1607427](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1607427).
- Strosberg J., El-Haddad G., Wolin E., Hendifar A., Yao J., Chasen B., Mittra E., Kunz P.L., Kulke M.H., Jacene H., Bushnell D., O’Dorisio T.M., Baum R.P., Kulkarni H.R., Caplin M., Lebtahi R., Hobday T., Delpassand E., Van Cutsem E., Benson A., Srirajaskanthan R., Pavel M., Mora J., Berlin J., Grande E., Reed N., Seregni E., Öberg K., Lopera Sierra M., Santoro P., Thevenet T., Erion J.L., Ruzsiewicz P., Kwekkeboom D., Krenning E., NETTER-1 Trial Investigators. 2017b. Phase 3 Trial of ¹⁷⁷Lu-Dotatate for Midgut Neuroendocrine Tumors. *The New England Journal of Medicine* 376, pp. 125–135. DOI: [10.1056/NEJMoa1607427](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1607427).
- Strosberg J., Leeuwenkamp, O., Siddiqui, M.K., 2021. Peptide receptor radiotherapy re-treatment in patients with progressive neuroendocrine tumors: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treatment Reviews* pp. 93. DOI: [10.1016/j.ctrv.2020.102141](https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102141).
- Swärd C., Bernhardt P., Ahlman H., Wängberg B., Forssell-Aronsson E., Larsson M., Svensson J., Rossi-Norrlund R., Kölby L. 2010. [¹⁷⁷Lu-DOTA 0-Tyr 3]-octreotate treatment in patients with disseminated gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: the value of measuring absorbed dose to the kidney. *World Journal of Surgery* 34, pp. 1368–1372. DOI: [10.1007/s00268-009-0387-6](https://doi.org/10.1007/s00268-009-0387-6).
- Tagaw, S.T., Milowsky M.I., Morris M., Vallabhajosula S., Christos P., Akhtar N.H., Osborne J., Goldsmith S.J., Larson S., Taskar N.P., Scher H.I., Bander N.H., Nanus D.M. 2013. Phase II study of Lutetium-177-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clinical Cancer Research* 19, pp. 5182–5191. DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-13-0231](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0231).
- Tagawa S.T., Vallabhajosula S., Christos P.J., Jhanwar Y.S., Batra J.S., Lam L., Osborne J., Beltran H., Molina A.M., Goldsmith S.J., Bander N.H., Nanus D.M. 2019. Phase 1/2 study of fractionated dose lutetium-177-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 (¹⁷⁷Lu-J591) for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Cancer* 125, pp. 2561–2569. DOI: [10.1002/cncr.32072](https://doi.org/10.1002/cncr.32072).
- Tapia Rico G., Li M., Pavlakis N., Cehic G., Price T.J. 2018. Prevention and management of carcinoid crises in patients with high-risk neuroendocrine tumours undergoing peptide receptor radionuclide therapy (PRRT): Literature review and case series from two Australian tertiary medical institutions. *Cancer Treatment Reviews* 66, pp. 1–6. DOI: [10.1016/j.ctrv.2018.03.002](https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.03.002).
- Thapa P., Nikam D., Das T., Sonawane G., Agarwal J.P., Basu S. 2015. Clinical Efficacy and Safety Comparison of ¹⁷⁷Lu-EDTMP with ¹⁵³Sm-EDTMP on an Equidose Basis in Patients with Painful Skeletal Metastases. *Journal of Nuclear Medicine* 56, pp. 1513–1519. DOI: [10.2967/jnumed.115.155762](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.155762).
- Valkema R., Pauwels S.A., Kvols L.K., Kwekkeboom D.J., Jamar F., de Jong M., Barone R., Walrand S., Kooij, P.P.M., Bakker W.H., Lasher J., Krenning E.P. 2005. Long-term follow-up of renal function after peptide receptor

- radiation therapy with (90)Y-DOTA(0),Tyr(3)-octreotide and (177)Lu-DOTA(0), Tyr(3)-octreotate. *Journal of Nuclear Medicine* 46(Suppl 1), pp. 83S–91S.
- Vallabhajosula S., Kuji I., Hamacher K.A., Konishi S., Kostakoglu L., Kothari P.A., Milowski M.I., Nanus D.M., Bander N.H., Goldsmith S.J. 2005. Pharmacokinetics and biodistribution of 111In- and 177Lu-labeled J591 antibody specific for prostate-specific membrane antigen: prediction of 90Y-J591 radiation dosimetry based on 111In or 177Lu? *Journal of Nuclear Medicine* 46, 634–641.
- van der Zwan W.A., Brabander T., Kam B.L.R., Teunissen J.J.M., Feelders R.A., Hofland J., Krenning E.P., d Herder W.W.,2019. Salvage peptide receptor radionuclide therapy with [177Lu-DOTA,Tyr3]octreotate in patients with bronchial and gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 46, pp. 704–717. DOI: [10.1007/s00259-018-4158-1](https://doi.org/10.1007/s00259-018-4158-1).
- van Essen M., Krenning E.P., Kam B.L.R., de Herder W.W., Feelders R.A., Kwekkeboom D.J. 2010. Salvage therapy with (177)Lu-octreotate in patients with bronchial and gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Journal of Nuclear Medicine* 51, pp. 383–390. DOI: [10.2967/jnumed.109.068957](https://doi.org/10.2967/jnumed.109.068957).
- von Eyben F.E., Roviello G., Kiljunen T., Uprimny C., Virgolini I., Kairemo K., Joensuu T., 2018. Third-line treatment and 177Lu-PSMA radioligand therapy of metastatic castration-resistant prostate cancer: a systematic review. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 45, pp. 496–508. DOI: [10.1007/s00259-017-3895-x](https://doi.org/10.1007/s00259-017-3895-x).
- Wang L-F., Lin L., Wang M.-J., Li Y. 2020. The therapeutic efficacy of 177Lu-DOTATATE/DOTATOC in advanced neuroendocrine tumors: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 99, pp. e19304. DOI: [10.1097/MD.00000000000019304](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000019304).
- Wehrmann C., Senftleben S., Zachert C., Müller D., Baum R.P. 2007. Results of individual patient dosimetry in peptide receptor radionuclide therapy with 177Lu DOTA-TATE and 177Lu DOTA-NOC. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* 22, pp. 406–416. DOI: [10.1089/cbr.2006.325](https://doi.org/10.1089/cbr.2006.325).
- Weinisen M., Schottelius M., Simecek J., Baum R.P., Yildiz A., Beykan S., Kulkarni H.R., Lassmann M., Klette I., Eiber M., Schwaiger M., Wester H.-J. 2015. 68Ga- and 177Lu-Labeled PSMA I&T: Optimization of a PSMA-Targeted Theranostic Concept and First Proof-of-Concept Human Studies. *Journal of Nuclear Medicine* 56, pp. 1169–1176. DOI: [10.2967/jnumed.115.158550](https://doi.org/10.2967/jnumed.115.158550).
- Yadav M.P., Ballal S., Tripathi M., Damle N.A., Sahoo R.K., Seth A., Bal C. 2017. 177Lu-DKFZ-PSMA-617 therapy in metastatic castration resistant prostate cancer: safety, efficacy, and quality of life assessment. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 44, pp. 81–91. DOI: [10.1007/s00259-016-3481-7](https://doi.org/10.1007/s00259-016-3481-7).
- Yao J.C., Fazio N., Singh S., Buzzoni R., Carnaghi C., Wolin E., Tomasek J., Raderer M., Lahner H., Voi M., Pacaud L.B., Rouyrre N., Sachs C., Valle J.W., Fave G.D., Van Cutsem E., Tesselaar M., Shimada Y., Oh D.-Y., Strosberg, J., Kulke M.H., Pavel M.E. RAD001 in Advanced Neuroendocrine Tumours, Fourth Trial (RADIANT-4) Study Group. 2016. Everolimus for the treatment of advanced, non-functional neuroendocrine tumours of the lung or gastrointestinal tract (RADIANT-4): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet London England* 387, pp. 968–977. DOI: [10.1016/S0140-6736\(15\)00817-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00817-X).
- Yousefnia H., Zolghadri S., Sadeghi H.R., Naderi M., Jalilian A.R., Shanehsazzadeh S. 2016. Preparation and biological assessment of 177Lu-BPAMD as a high potential agent for bone pain palliation therapy: comparison with 177Lu-EDTMP. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 307, pp. 1243–1251. DOI: [10.1007/s10967-015-4225-z](https://doi.org/10.1007/s10967-015-4225-z)
- Zhang J., Song Q., Cai L., Xie Y., Chen Y. 2020. The efficacy of 177Lu-DOTATATE peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) in patients with metastatic neuroendocrine tumours: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 146, pp. 1533–1543. DOI: [10.1007/s00432-020-03181-2](https://doi.org/10.1007/s00432-020-03181-2).

ORCID

Beda-Maluga Karolina	0000-0003-3049-0285
Bojanowska Ewa	0000-0001-9893-882X
Czarnecki Jan	0000-0001-5974-6446
Drobnik Jacek	0000-0002-7329-7613
Jarosz Sylwia	0000-0002-6358-5726
Kaźmierski Jakub	0000-0001-6002-7123
Kostyła Magdalena	0000-0001-7489-2361
Kozłowska Magdalena	0000-0002-8624-3948
Krzywińska Anna	0000-0002-3698-2208
Makarewicz Jacek	0000-0003-2557-2817
Morawska-Jóźwiak Beata	0000-0002-5900-2751
Pietrzak Anna	0000-0002-3848-8836
Rakoczy Jarosław	0000-0002-2170-1143
Rurarz Beata	0000-0001-6635-9508
Tarkowski Bartłomiej	0000-0003-1263-9920
Turkiewicz Szymon	0000-0001-6399-8742
Winczyk Katarzyna	0000-0001-6836-8889
Wolak Monika	0000-0002-5331-798X
Wrześcińska Angelika	0000-0003-0434-0638
Zalewska-Janowska Anna	0000-0001-9900-7680

