

ROK XIX

2019 nr 4



e-ISSN 2451-0858

ISSN 1643-8299

---

# Państwo i Społeczeństwo

---

MEDYCyna I ZDROWIE PUBLICZNE

POD REDAKCJĄ  
PIOTRA KOPÍŃSKIEGO I MAŁGORZATY KALEMBY-DROŹDŹ

Kraków  
2019

**„Państwo i Społeczeństwo” – czasopismo Krakowskiej Akademii  
im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego**  
[panstwoispoleczenstwo.pl](http://panstwoispoleczenstwo.pl)

**Czasopismo punktowane w rankingu  
Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego i Index Copernicus International**

**Rada Wydawnicza Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego:**  
*Klemens Budzowski, Maria Kapiszewska, Zbigniew Maciąg, Jacek M. Majchrowski*

**Rada Naukowa:** *Maria Kapiszewska, J. Krzysztof Lenartowicz, Zbigniew Maciąg,  
Grzegorz Zieliński*

**Redaktor naczelny:** *Jacek M. Majchrowski*

**Redaktorzy tematyczni:** *Katarzyna Banasik-Petri, Dariusz Baran, Joanna Konarska,  
Piotr Kopiński, Katarzyna Pokorna-Ignatowicz*

**Redaktor statystyczny:** *Piotr Stefanów*

**Sekretarz redakcji:** *Halina Baszak-Jaroń*

**Sekretarz redakcji numerów „Państwo i Społeczeństwo – Medycyna  
i Zdrowie Publiczne”:** *Małgorzata Kalembe-Drożdż*



**Adres redakcji:**  
**ul. Gustawa Herlinga-Grudzińskiego 1**  
**30-705 Kraków**  
**tel. (12) 25 24 665, 25 24 666**  
**e-mail: [wydawnictwo@kte.pl](mailto:wydawnictwo@kte.pl)**

Redakcja nie zwraca materiałów niezamówionych. Decyzja o opublikowaniu tekstu uzależniona jest od opinii recenzentów. Redakcja zastrzega sobie prawo skracania tekstów przeznaczonych do druku. Wersją pierwotną czasopisma jest wydanie elektroniczne.

© Copyright by Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, 2019

e-ISSN 2451-0858

ISSN 1643-8299

Redakcja językowa: *Carmen Stachowicz, Agnieszka Boniatowska*

Skład i łamanie oraz opracowanie materiału ilustracyjnego: *Oleg Aleksejczuk*

Wszystkie numery kwartalnika „Państwo i Społeczeństwo” są dostępne w open access.

**Wydawca:**



Oficyna Wydawnicza AFM Krakowskiej Akademii  
im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego  
ul. G. Herlinga-Grudzińskiego 1, bud. A, pok. 219  
30-705 Kraków, e-mail: [biuro@kte.pl](mailto:biuro@kte.pl)

Sprzedaż i prenumerata: [ksiegarnia@kte.pl](mailto:ksiegarnia@kte.pl)

---

# Państwo i Społeczeństwo

---

ROK XIX

2019 nr 4

**Małgorzata Kalemba-Drożdż, Piotr Kopiński:** Wprowadzenie .....5

## PRACE ORYGINALNE

- Marta Pilaczyńska-Cemel, Ryszard Gołda, Anita Dąbrowska, Grzegorz Przybylski:** Analiza poziomu wybranych parametrów stanu zapalnego, krążących kompleksów immunologicznych oraz związanych z nimi wskaźników (neutrofil/limfocyt, płytki/limfocyt, CRP/KKI) w raku płuc.....9
- Wojciech Kuncman, Magdalena Orzechowska, Katarzyna Taran, Radziśław Kordek:** Ekspresja genu kodującego gross cystic disease fluid protein 15 (GCDFFP-15) w pierwotnych i przerzutowych ogniskach raka piersi .....27
- Wojciech Kuncman, Magdalena Orzechowska, Katarzyna Taran, Radziśław Kordek:** Ewaluacja ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 (protein tyrosine phosphatase 4A3, PRL-3) – nieznane aspekty heterogenności pierwotnych ognisk raka piersi .....41
- Małgorzata Kalemba-Drożdż:** Czy rodzaj stosowanej diety: wegańska i wegetariańska lub tradycyjna, niewykluczająca mięsa, wpływa na zawartość metali ciężkich, dioksyn i polichlorowanych bifenyli w mleku kobiecym? Badanie wstępne .....57
- Justyna Filipowicz-Cieplý, Monika Przybytek:** Ocena efektów fizjoterapii zawodowych zaburzeń głosu – badania pilotażowe .....79
- Renata Bajcarczyk, Renta Florek, Dorota Kozieł:** Wiedza nastolatków i ich matek na temat profilaktyki raka szyjki macicy oraz szczepionek przeciwko wirusowi HPV .....97

## PRACE POGLĄDOWE

- Magdalena Nieckula, Kinga Fecko-Gałowicz, Justyna Adamczuk, Joanna Girzelska:** Opatrunki specjalistyczne stosowane w leczeniu owrzodzeń żylnych podudzi.....115
- Tomasz Senderek, Magdalena Macko, Piotr Kopiński:** Patofizjologiczne mechanizmy migotania przedsionków (AF) jako podstawa skutecznego leczenia w dążeniu do polepszenia jakości życia chorych w świetle aktualnych wytycznych ESC (European Society of Cardiology) .....129

## OPIS PRZYPADKU

|                                                                                                       |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Helena Kadučáková, Barbora Tretinová: Needs of a Child with Neonatal Abstinence Syndrome .....</b> | <b>143</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|

## SPRAWOZDANIA

|                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Grzywacz-Kisielewska Agata, Szczypa Anna: „Rodzina – Zdrowie – Choroba”.</b>      |     |
| Sprawozdanie z międzynarodowej konferencji naukowej .....                            | 153 |
| <b>Danuta Żbikowska, Agnieszka Cierniak: Koło Naukowe Studentów Dietetyki.</b>       |     |
| Sprawozdanie z działalności w roku akademickim 2018/2019 .....                       | 159 |
| <br>Instrukcja przygotowania artykułów z zakresu medycyny i zdrowia publicznego..... | 165 |
| <br>Zasady recenzowania publikacji w czasopismach .....                              | 169 |
| <br>Lista recenzentów za rok 2019 .....                                              | 171 |

**Małgorzata Kalemba-Drożdż** [ORCID: 0000-0002-7017-3279]

Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Zakład Biochemii

**Piotr Kopiński** [ORCID: 0000-0002-7532-1226]

Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii i Patofizjologii

## **WPROWADZENIE**

Prezentujemy Państwu kolejny numer „Państwa i Społeczeństwa” poświęcony zagadnieniom medycyny i zdrowia publicznego, który zawiera sześć prac oryginalnych, dwie prace poglądowe i jeden opis przypadku. To drugi zeszyt medyczny wydany w tym roku.

Zestawienie prac oryginalnych otwiera artykuł, w którym zespół Marty Pilaczyńskiej-Cemel i wsp. analizuje parametry stanu zapalnego oraz osoczowe stężenie kompleksów immunologicznych, a następnie stawia wniosek o przebiegu humoralnej odpowiedzi swoistej w zaawansowanym stadium raka płuca. W kolejnych dwóch pracach – których pierwszym autorem jest Wojciech Kuncman – zreferowano wyniki badań histoimmunologicznych nad ekspresją genów kodujących dwa białka, tj. GCDFP-15 oraz fosfatazę tyrozynową 4A3 w raku piersi, które zostały wykonane przez zespół z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Wstępne wnioski podkreślają istotne znaczenie badania ekspresji obu genów. Małgorzata Kalemba-Drożdż zaproponowała badania nad wpływem

rodzaju diety: wegańskiej/wegetariańskiej i niewykluczającej mięsa na stężenie metali ciężkich i dioksyn w mleku kobiet. Uzyskane pilotażowe wyniki wskazują na inne czynniki niż dieta, które mogą wywierać wpływ na poziom toksyn w mleku kobiecym. Często obserwowanym problemem zdrowotnym wśród osób pracujących głosem jest zawodowa niewydolność głosu. W tym numerze Justyna Filipowicz-Cieplą i Monika Przybytek przedstawiają efekty fizjoterapii tego typu zaburzeń. Dział prac oryginalnych zamyka tekst Renaty Bajcarczyk i wsp. poruszający ważny społecznie problem, jakim jest profilaktyka raka szyjki macicy i szczepienia przeciwko wirusowi HPV.

Część poglądowa zeszytu zawiera dogłębną analizę opatrunków specjalistycznych stosowanych w leczeniu owrzodzeń żylnych podudzi. Zespół Magdaleny Nieckuły i wsp. podkreśla przy tym, że opieka pielęgniarska nad chorym z owrzodzeniem żylnym obejmuje nie tylko opiekę nad raną, ale także szereg wielokierunkowych działań wpływających na poprawę jakości życia chorego.

Nawiązując do pracy opublikowanej w poprzednim zeszycie („Państwo i Społeczeństwo. Medycyna i Zdrowie Publiczne” 2019, nr 1), której celem była ocena jakości życia i stopnia akceptacji choroby u pacjentów z przetrwałym migotaniem przedsionków, Tomasz Senderek i wsp. wskazują, że zintegrowane podejście do leczenia migotania przedsionków zgodne z wytycznymi European Society of Cardiology pozwala na poprawę klinicznych wyników leczenia arytmii.

Czytelnikom polecamy także interesujący opis trzech przypadków noworodków z zespołem odstawiennym (NAS). Helena Kadučáková i Barbora Tretinová z Katolickiego Uniwersytetu w Ružomberku podkreślają potrzebę ponownego rozważenia standardów opieki pielęgniarskiej nad niemowlętami z NAS.

We wrześniu br. odbyła się Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Rodzina – Zdrowie – Choroba”. To wydarzenie o wieloletniej tradycji integruje ośrodki naukowe z trzech krajów: Krakowską Akademię im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego w Krakowie, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Uniwersytet Katolicki w Ružomberku oraz Uniwersytet Tomasza Bata w Zlinie. W tym roku gospodarzem konferencji była KAAFM, a sprawozdanie z jej przebiegu przygotowały członkinie komitetu organizacyjnego: Agata Grzywacz-Kisiełewska i Anna Szczypka.

Zeszyt zamyka sprawozdanie z intensywnej działalności Koła Naukowego Studentów Dietetyki w roku akademickim 2018/2019 przygotowane przez Danutę Żbikowską, przewodniczącą koła. Studenci dietetyki w Krakowskiej Akademii nie ustają w pozaprogramowym poszerzaniu swojej wiedzy.

W imieniu redakcji dziękujemy autorom nadesłanych tekstów i zapraszamy do dalszej współpracy nad kolejnymi wydaniem zeszytów „Państwo i Społeczeństwo. Medycyna i Zdrowie Publiczne”.

---

**PRACE ORYGINALNE**

---



Marta Pilaczyńska-Cemel<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0001-9138-422X]

Ryszard Gołda<sup>2</sup> [ORCID: 0000-0003-4671-2153]

Anita Dąbrowska<sup>3</sup> [ORCID: 0000-0001-8156-9677]

Grzegorz Przybylski<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0002-8324-163X]

1. Klinika Chorób Płuc, Nowotworów i Gruźlicy, Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
2. Zakład Immunobiologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy
3. Katedra Podstaw Teoretycznych Nauk Biomedycznych i Informatyki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

## **ANALIZA POZIOMU WYBRANYCH PARAMETRÓW STANU ZAPALNEGO, KRAŻĄCYCH KOMPLEKSÓW IMMUNOLOGICZNYCH ORAZ ZWIĄZANYCH Z NIMI WSKAŹNIKÓW (NEUTROFIL/LIMFOCYT, PŁYTKI/LIMFOCYT, CRP/KKI) W RAKU PŁUC\***

Adres korespondencyjny:

Marta Pilaczyńska-Cemel, Klinika Chorób Płuc, Nowotworów i Gruźlicy, Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,  
ul. Seminaryjna 1, 85-326 Bydgoszcz, e-mail: mpilaczynska@wp.pl

---

\* Przeprowadzone badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy o numerze: KB 3354/2017. Autor deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.

## Streszczenie

**Wprowadzenie:** Rak płuca jest najczęstszym nowotworem w Polsce i pierwszą przyczyną zgonów w onkologii. Celem pracy jest analiza wybranych parametrów stanu zapalnego w raku płuca.

**Materiał i metody:** Grupę badaną stanowiło 48 chorych z rakiem płuca oraz 30 przypadków grupy kontrolnej. Chorych podzielono wg stopnia zaawansowania – 19 z niskim/umiarkowanym stopniem zaawansowania (I-IIIa), 29 z wysokim (IIIB i IV), a także wg typu histopatologicznego – 9 z rakiem drobnokomórkowym, 39 z niedrobnokomórkowym (w tym 18 z gruczolakorakiem i 21 z rakiem płaskonabłonkowym). Zbadano stężenia krążących kompleksów immunologicznych (KKI), białka C-reaktywnego (ang. *C-reactive protein*, CRP), neutrofilów, limfocytów oraz związanych z nimi wskaźników: CRP/KKI, neutrofil/limfocyt (ang. *neutrophil/lymphocyte ratio*, NLR), płytki krwi/limfocyt (ang. *platelet/lymphocyte ratio*, PLR).

**Wyniki:** Średnie wartości badanych parametrów były istotnie wyższe wśród osób z rakiem płuca. Mediana wartości KKI była istotnie wyższa w grupie z zaawansowanym nowotworem (0,30 vs 0,23,  $p < 0,01$  w porównaniu ze stopniem I-IIIa). Mediany wskaźnika PLR oraz liczby płytek krwi wśród osób z rakiem płaskonabłonkowym były istotnie wyższe porównując do gruczolakoraka (215 vs 138,5,  $p = 0,037$ ; 388,0 tys/ul vs 277,5 tys/ul,  $p = 0,034$ ).

**Wnioski:** Na podstawie wyników pracy zasugerowaliśmy dominację swoistej odpowiedzi humoralnej w bardziej zaawansowanym stadium kancerogenezy płuca. Proces kancerogenezy związany jest z różną aktywnością neutrofilów i limfocytów.

**Słowa kluczowe:** krążące kompleksy immunologiczne, wskaźnik neutrofil/limfocyt, wskaźnik płytki krwi/limfocyt, rak płuca

## Wprowadzenie

Rak płuca odpowiada za największą liczbę zgonów pacjentów onkologicznych w państwach wysokorozwiniętych [1]. W 2012 roku na całym świecie zdiagnozowano ok. 1,8 mln nowych przypadków raka płuc – stanowi to 12,9% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe [2]. Rak płuca jest współcześnie najczęstszym nowotworem złośliwym w Polsce i stanowi pierwszą przyczynę zgonów w onkologii. Rocznie z jego powodu umiera ponad 20 tys. osób. Z danych Krajowego Rejestru Nowotworów za 2013 rok wynika, że zachorowania na raka płuca stanowiły 14% spośród wszystkich 156,5 tys. przypadków nowotworów złośliwych wśród polskich pacjentów [3]. Co istotne, od kilku lat rak płuca jest również pierwszą przyczyną zgonów nowotworowych wśród kobiet [3], a także obserwuje się zwiększenie zachorowań u osób niepalących. Trzeba podkreślić, że od niedawna w ciągu roku więcej kobiet umiera z powodu raka płuca (13%) niż z powodu raka piersi (12,5%).

Najważniejszym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka płuca jest aktywne palenie tytoniu. Dym tytoniowy zawiera kilka tysięcy związków chemicz-

nych, spośród których kilkadziesiąt to substancje o udowodnionym silnym działaniu rakotwórczym [3]. Ryzyko zachorowania na raka płuca jest proporcjonalne do okresu palenia tytoniu, liczby wypalanych papierosów i wieku rozpoczęcia palenia. Inne czynniki odpowiedzialne za zachorowanie na raka płuca to: narażenie na radon i azbest, metale ciężkie, niektóre substancje chemiczne i przemysłowe zanieczyszczenia powietrza oraz predyspozycje genetyczne [4].

Rak nie jest tylko chorobą genów, ale także chorobą odporności. Rolą układu odpornościowego (immunologicznego) jest przeszukiwanie organizmu, identyfikacja przednowotworowych komórek oraz ich eliminacja. Jeśli jednak obrona odpornościowa jest osłabiona, stransformowane komórki wymykają się spod kontroli układu immunologicznego, mogą bezkarnie mnożyć się i formować tkankę guza [5].

Ważnym elementem charakterystyki raka płuc jest właściwa ocena mechanizmów odpornościowych biorących udział w odpowiedzi nieswoistej i swoistej uczestniczącej w stanie zapalnym toczącym się w mikrośrodkowisku nowotworu. Podwyższony poziom krążących kompleksów immunologicznych (KKI) może wiązać się z przewlekłym stanem zapalnym, procesem nowotworowym, autoimmunologicznym, jak i w odpowiedzi na reakcję alergiczną organizmu [6,7], czyli może odzwierciedlać swoistą realizację humoralną układu odpornościowego. Poziom KKI u pacjentów z rakiem może być wykorzystywany do diagnostyki wczesnego stadium choroby, rozsiewu, szybkości wzrostu guza, stopnia agresywności, odpowiedzi terapeutycznej, a także rokowania [8,9]. W większości nowotworów wykazano, że komponenta antygenowa krążących kompleksów immunologicznych pochodzi z tkanki dotkniętej chorobą. W miarę postępu choroby wzrastają podziały antygeny w zmienionych nowotworowo tkankach, a to wpływa na wzrost poziomu KKI [9,10].

Innym humoralnym wskaźnikiem zapalenia, który charakteryzuje się z kolei małą swoistością do czynników etiologicznych są białka ostrej fazy. Białka te są zwykle syntetyzowane w wątrobie i są uznanym wczesnym markerem stanu zapalnego. Podwyższone poziomy białka C-reaktywnego (CRP) jako ogólnoustrojowego markera przewlekłego zapalenia, są związane ze zwiększonym ryzykiem raka płuca [11].

Z kolei liczba białych krwinek (ang. *white blood cells*, WBC) i ich populacje są również dobrze znanymi ogólnoustrojowymi nieswoistymi komórkowymi markerami zapalenia. Stosunek neutrofilów do limfocytów (ang. *neutrophil/lymphocyte ratio*, NLR) krwi obwodowej, obliczany wg bezwzględnej liczb tych krwinek, jest niedrogim, powszechnie dostępnym ogólnokomórkowym markerem zapalenia. Przydatność NLR wykazano w ocenie ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, wielu rodzajów guzów litych, sepsy i stanów zakaźnych [12–14]. Stosunek bezwzględnej liczby płytek krwi do bezwzględnej liczby limfocytów określany mianem wskaźnika PLR (ang. *platelet/lymphocyte*

*ratio*, PLR) wykorzystywany jest do oceny nie tylko odpowiedzi humoralnej, ale i procesów krzepnięcia. Jest więc przydatnym parametrem w ocenie całościowej odpowiedzi na stan zapalny, a także w nowotworach [15].

Mimo intensywnych wielokierunkowych badań nad patogenezą i przebiegiem naturalnym raka płuc, nie określono przydatnych w praktyce klinicznej optymalnych narzędzi laboratoryjnych, które służyłyby do wykrywania raka płuca, oceny stanu zaawansowania, oceny przebiegu i prognozowania choroby oraz monitorowania skuteczności leczenia.

### **Celem podjętych badań była:**

1. Ocena wybranych parametrów zapalnych (humoralnych oraz komórkowych) u chorych na raka płuc.
2. Ocena wartości prognostycznej wskaźników NLR i PLR wyliczanych na podstawie bezwzględnej liczby neutrofili, limfocytów i płytek krwi u chorych na raka płuc.
3. Próba zastosowania przydatności wskaźnika CRP/KKI jako humoralnego parametru prognostycznego w raku płuc.

### **Material i metody**

Grupę badaną stanowiło 48 pacjentów z rakiem płuca hospitalizowanych w Oddziale Klinicznym w Kujawsko-Pomorskim Centrum Pulmonologii w Bydgoszczy. Wśród badanych u 9 chorych rozpoznano raka drobnokomórkowego, zaś u 39 raka niedrobnokomórkowego (w tym 18 osób z gruczolakorakiem i 21 osób z rakiem płaskonabłonkowym). Raka płuca rozpoznano na podstawie wywiadu i objawów klinicznych, badań radiologicznych (Rtg klatki piersiowej P-A i boczno, tomografia komputerowej klatki piersiowej, USG jam opłucnowych) oraz badań inwazyjnych (biopsja cienkoigłowa przezklatkowa, bronchoskopia, przezoskrzelowa biopsja węzłów chłonnych pod kontrolą ultrasonografii [ang. *endo-bronchial ultrasound*, EBUS]). Po przeprowadzeniu diagnostyki ustalono rozpoznanie histopatologiczne nowotworów płuca: rak drobnokomórkowy (DRP), który stanowił 18% grupy badanej i rak niedrobnokomórkowy (NDRP), którego dzieli się na gruczolakoraka – 38% i raka płaskonabłonkowego – 44%. Taką częstotliwość występowania poszczególnych typów histopatologicznych jest zgodna z wynikami polskich badań epidemiologicznych [3]. Badaną grupę chorych z rakiem płuca podzielono na 2 podgrupy uwzględniając stopień zaawansowania choroby wg klasyfikacji nowotworów złośliwych TNM – tumor; nodule, metastases [16,17]. Do pierwszej podgrupy zakwalifikowano 19 chorych z niskim i umiarkowanym stopniem zaawansowania (stopnie I-IIIa), zaś do drugiej podgrupy 29 pacjentów z wysokim stopniem zaawansowania (stopnia IIIB i IV).

Osoby palące stanowiły 92% a niepalący (w tym osoby, które zaprzestały palenia papierosów 20 lat temu i więcej) – 8%.

Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych osób w wieku od 19 do 69 lat. Nie różniła się ona istotnie pod względem rozkładu płci (kobiety stanowiły 55%, a mężczyźni 45%), miejsca zamieszkania (dominowało zamieszkanie w mieście – 64 vs 36%) oraz pod względem stanu cywilnego – zameężni/żonaci – 78%; rozwiedzeni – 6% i stanu wolnego – 16%.

Analizowanym materiałem była surowica otrzymana z krwi żyłnej. Oznaczano poziom kompleksów immunologicznych uznaną metodą Haskowej i wsp. [18]. Do 0,15 ml badanej surowicy dodawano 0,3 ml 0,1 molowego buforu boranowego o pH 8,4 oraz 4,05 ml 4,17% roztworu PEG 6000 w tym samym buforze. Wartość ekstynkcji roztworów badano przy długości fali 450 nm. Odczyt prowadzono po godzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej. Próbę odniesienia stanowiła mieszanina PEG z buforem boranowym. Stężenie poziomu białka C-reaktywnego w surowicy określano standardową metodą immunoturbidymetryczną. Oznaczenia morfologii krwi, w tym skład procentowy wykonywano przy użyciu analizatora Sysmex XT1800i. Z wartości odsetkowej neutrocytów i limfocytów oraz liczby leukocytów (WBC) wyliczano bezwzględne liczby tych frakcji. U wszystkich badanych wyliczono wskaźnik NLR (neutrofil/limfocyt) jako stosunek bezwzględnej liczby neutrofilii do bezwzględnej liczby limfocytów oraz wskaźnik PLR (płytki krwi/limfocyt) jako stosunek bezwzględnej liczby płytek krwi do bezwzględnej liczby limfocytów.

Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica PL w wersji 12.0. Wyniki uznawano za statystycznie istotne dla wartości  $p$  mniejszej od  $\alpha = 0,05$ . Zmienne jakościowe porównano za pomocą testu niezależności chi-kwadrat. Do analizy zmiennych ciągłych, ze względu na brak rozkładów normalnych, użyto testów nieparametrycznych. Rozkłady dwóch zmiennych porównywano za pomocą testu U Manna-Witneya, do porównania trzech zmiennych użyto testu Kruskala-Wallisa wraz z testami post hoc. Do badania związków między zmiennymi wykorzystano współczynnik korelacji rangowej Spearmana. W tabelach podano wartości median oraz przedziały międzykwartyłowe (w związku z nieparametrycznym rozkładem zmiennych). Wartości  $p$  wyznaczono dla testów dwustronnych. Ze względu na małą liczbę osób niepalących w grupie badanej, niemożliwe było wykonanie testów porównujących grupy palących i niepalących. Dla obu grup podano jednak wartości statystyk opisowych.

## Wyniki

Grupę badaną stanowiło 48 chorych z rozpoznanym rakiem płuca. Poszczególne podgrupy chorych nie różniły się między sobą wiekiem, rozkładem płci, obciążeniem paleniem papierosów oraz stopniem zaawansowania nowotworu (tabela 1).

Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy

| Zmienna                       | Rak<br>drobnokomórkowy | Rak<br>płaskonabłonkowy | Rak gruczolowy    | p    |
|-------------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|------|
| Liczba                        | 9                      | 21                      | 18                |      |
| Wiek [lata]                   |                        |                         |                   |      |
| (mediana, przedział kwartyli) | 66,0 (61,0; 69,0)      | 68,0 (59,0; 72,0)       | 62,5 (60,0; 69,0) | 0,73 |
| płeć                          |                        |                         |                   |      |
| kobiety (n)                   | 5 (31,2%)              | 5 (31,2%)               | 6 (37,5%)         | 0,24 |
| mężczyźni (n)                 | 4 (12,5%)              | 16 (50,0%)              | 12 (37,5%)        |      |
| palenie                       |                        |                         |                   |      |
| palący (n)                    | 8 (18,2%)              | 19 (43,2%)              | 17 (38,6%)        |      |
| niepalący (n)                 | 1 (25,0%)              | 2 (50,0%)               | 1 (25,0%)         |      |
| Zaawansowanie wg TNM          |                        |                         |                   |      |
| I-IIIa                        | 4 (21,0%)              | 9 (47,4%)               | 6 (31,6%)         | 0,79 |
| IIIB-IV                       | 5 (17,2%)              | 12 (41,4%)              | 12 (41,4%)        |      |

Grupę badaną podzielono ze względu na: wiek (do 65 lat włącznie i powyżej 65 lat), płeć, palenie papierosów, typ histopatologiczny oraz stopień zaawansowania nowotworu wg TNM.

Mediany badanych czynników zapalnych i immunologicznych (neutrofile bezwzględne, płytki krwi, wskaźniki NLR i PLR, CRP, KKI oraz wskaźnik CRP/KKI) okazały się być istotnie wyższe u chorych z rakiem płuca w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej (tabela 2).

Tabela 2. Analiza i porównanie badanych parametrów pomiędzy grupą chorych z rakiem płuca i grupą kontrolną

| Zmienna                          | Rak płuca<br>(N=48) | Grupa kontrolna (N=30) | p      |
|----------------------------------|---------------------|------------------------|--------|
| Neutrofile bezwzględne [tys./ul] | 6,7 (5,5; 9,2)      | 2,9 (2,3; 3,8)         | <0,001 |
| Limfocyt bezwzględny [tys./ul]   | 1,7 (1,3; 2,2)      | 1,9 (1,5; 2,2)         | 0,45   |
| Płytki krwi [tys./ul]            | 315 (240; 426)      | 119 (99; 144)          | <0,001 |
| Neutrofil/limfocyt               | 3,8 (2,8; 6,0)      | 1,8 (1,1; 2,1)         | <0,001 |
| Płytki/limfocyt                  | 191 (131; 246)      | 62,6 (55; 93)          | <0,001 |
| CRP [mg/l]                       | 30,5 (12,3; 93,0)   | 0,7 (0,2; 1,3)         | <0,001 |
| KKI [450 nm]                     | 0,28 (0,23; 0,31)   | 0,14 (0,11; 0,17)      | <0,001 |
| CRP/KKI                          | 128,7 (39,2; 302,2) | 6,0 (1,0; 13,0)        | <0,001 |

Sprawdzono, że wartości median neutrofilii bezwzględnych, limfocytów bezwzględnych, wskaźnika neutrofil/limfocyt nie były istotnie różne w grupach

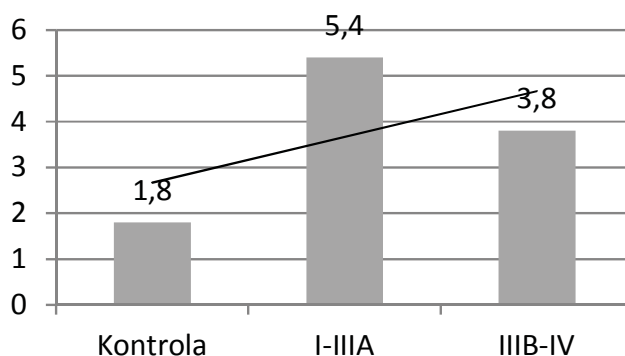
wiekowych, w podziale ze względu na płeć, typ nowotworu oraz stopień zaawansowania choroby.

Mediana wskaźnika CRP/KKI był istotnie wyższa u chorych starszych – >65 roku życia niż u osób młodszych (61,50 vs 240,50;  $p<0,01$ ).

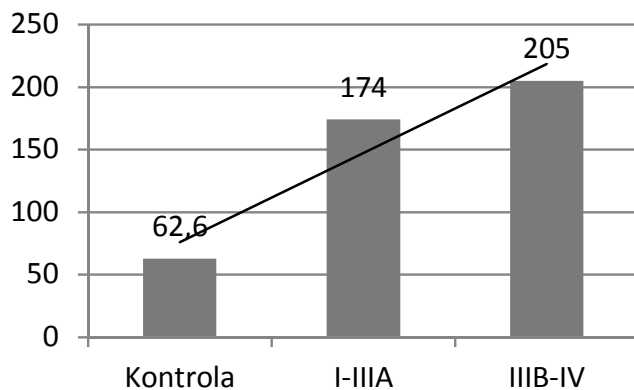
Dokonano analizy badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem płuca uwzględniając stopień zaawansowania choroby (podział na stadium I-IIIa i IIIB-IV wg TNM). Mediana wartości KKI okazała się istotnie wyższa w grupie z zaawansowanym nowotworem – IIIB-IV w porównaniu z medianą w grupie z niskim i średnim stopniem zaawansowania – I-IIIa (0,30 vs 0,23,  $p<0,01$ ) (rycina 4). Pozostałe parametry w obu porównywanych grupach nie różniły się statystycznie (tabela 3).

Tabela 3. Analiza i porównanie badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem podzielonych wg stopnia zaawansowania

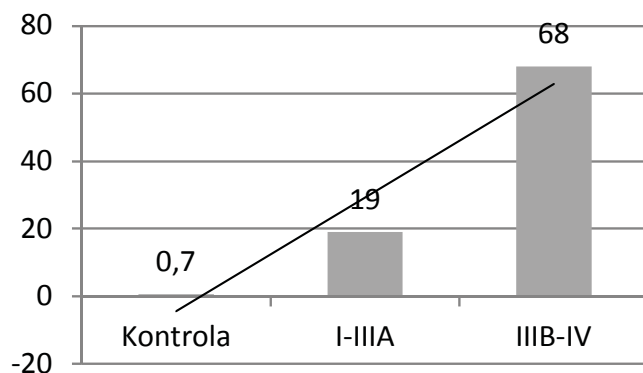
| Zmienna                          | Stadium wczesne raka    | Stadium późne raka I     | p      |
|----------------------------------|-------------------------|--------------------------|--------|
|                                  | I-IIIa wg TNM<br>(N=19) | IIIB-IV wg TNM<br>(N=29) |        |
| Neutrofile bezwzględne [tys./ul] | 7,0 (5,7; 11,2)         | 5,9 (5,5; 8,7)           | 0,34   |
| Limfocyt bezwzględny [tys./ul]   | 1,7 (1,3; 2,6)          | 1,6 (1,5; 2,0)           | 0,47   |
| Płytki krwi [tys./ul]            | 296 (238; 399)          | 321 (250; 443)           | 0,37   |
| Neutrofil/limfocyt               | 5,4 (2,0; 6,6)          | 3,8 (2,9; 5,1)           | 0,67   |
| Płytki/limfocyt                  | 174 (114; 227)          | 205 (139; 263)           | 0,13   |
| CRP [mg/l]                       | 19,0 (5,0; 91,0)        | 68,0 (15,0; 101,0)       | 0,11   |
| KKI [450 nm]                     | 0,23 (0,20; 0,27)       | 0,30 (0,27; 0,32)        | <0,001 |
| CRP/KKI                          | 79,3 (23,7; 351,9)      | 206,3 (55,1; 267,7)      | 0,19   |



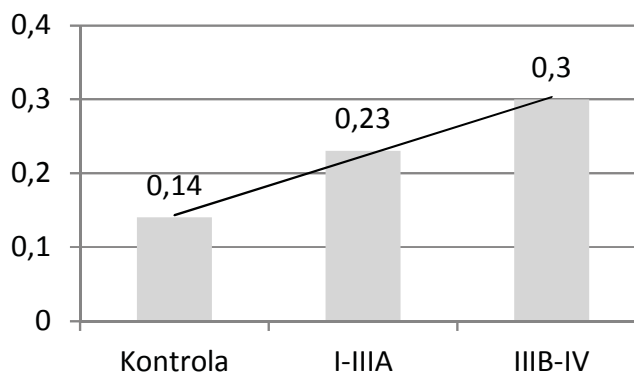
Rycina 1. Ocena zależności wskaźnika NLR od stopnia zaawansowania raka płuca [NLR – liczba bezwzględna]



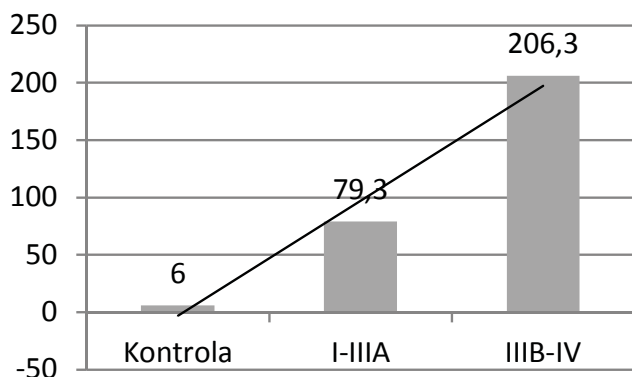
Rycina 2. Ocena zależności wskaźnika PLR od stopnia zaawansowania raka płuca [PLR – liczba bezwzględna]



Rycina 3. Ocena zależności CRP od stopnia zaawansowania raka płuca [CRP – mg/l]



Rycina 4. Ocena zależności KKI od stopnia zaawansowania raka płuca [KKI – nm]



Rycina 5. Ocena zależności wskaźnika CRP/KKI od stopnia zaawansowania raka płuca [CRP/KKI – liczba bezwzględna]

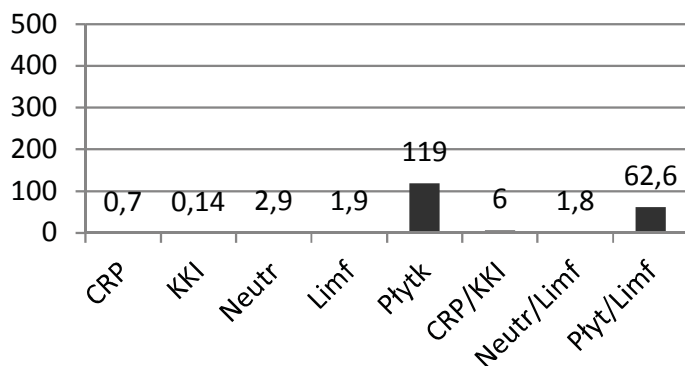
Ponadto dokonano analizy badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem płuca uwzględniając typ histopatologiczny. Posługując się porównaniami wielokrotnymi, sprawdzono, że mediana wskaźnika płytki krwi/limfocyt oraz mediana liczby płytek krwi w grupie osób z rakiem płaskonabłonkowym były istotnie wyższe od median tego wskaźnika i płytek wśród chorych z gruczolakorakiem (215 vs 138,5,  $p = 0,037$ ; 388,0 tys/ul vs 277,5 tys/ul,  $p = 0,034$ ). Dla pozostałych porównywanych par wyników w zakresie wskaźnika płytki krwi/limfocyt i liczby płytek krwi różnice nie były istotne statystycznie (tabela 4; ryciny 6–10).

Mediany wartości CRP w grupach o odmiennym typie nowotworu okazały się istotnie różne ( $p < 0,01$ ;  $p = 0,04$ ) (tabela 4, ryciny 8–10).

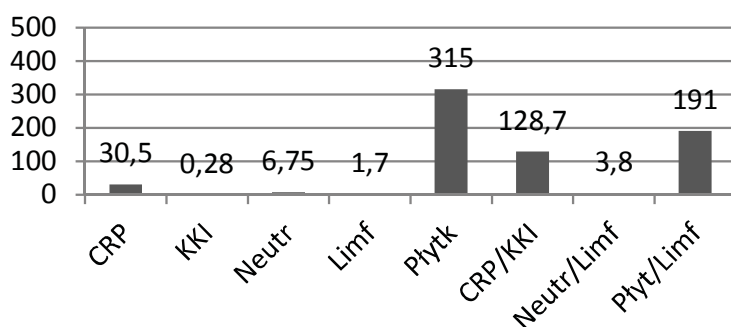
Pozostałe parametry w obu porównywanych grupach nie różniły się statystycznie (tabela 4).

Tabela 4. Analiza i porównanie badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem podzielonych wg typu histopatologicznego nowotworu

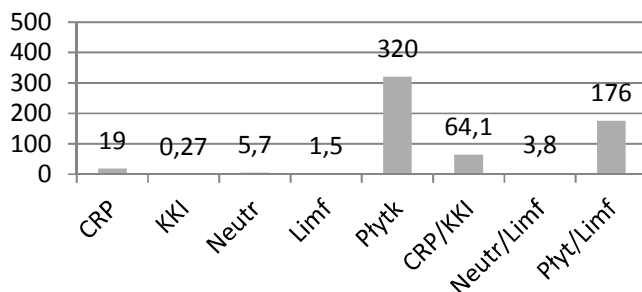
| Zmienna                             | Rak drobnokomórkowy<br>(N=9) | Rak płaskonabłonkowy<br>(N=21) | Rak gruczolowy<br>(N=18) | p    |
|-------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------|------|
| Neutrofile<br>bezwzględne [tys./ul] | 5,7 (5,0; 6,8)               | 7,9 (6,3; 11,1)                | 5,9 (5,4; 7,9)           | 0,07 |
| Limfocyt<br>bezwzględny [tys./ul]   | 1,5 (1,3; 1,6)               | 1,9 (1,4; 2,3)                 | 1,7 (1,5; 2,1)           | 0,47 |
| Płytki krwi [tys./ul]               | 320 (221; 443)               | 388 (288; 473)                 | 277,5 (238; 316)         | 0,03 |
| Neutrofil/limfocyt                  | 3,8 (3,7; 5,8)               | 4,4 (2,9; 6,6)                 | 3,4 (2,3; 5,4)           | 0,51 |
| Płytki/limfocyt                     | 176 (138; 295)               | 215 (188; 305)                 | 138,5 (122; 209)         | 0,04 |
| CRP [mg/l]                          | 19,0 (7,0; 73,0)             | 68,0 (27,0; 125,0)             | 16,0 (8,0; 82,0)         | 0,04 |
| KKI [450 nm]                        | 0,27 (0,25; 0,30)            | 0,26 (0,23; 0,31)              | 0,28 (0,22; 0,31)        | 0,98 |
| CRP/KKI                             | 64,1 (24,2; 206,3)           | 232,0 (96,8; 447,7)            | 58,9 (34,5; 266,7)       | 0,06 |



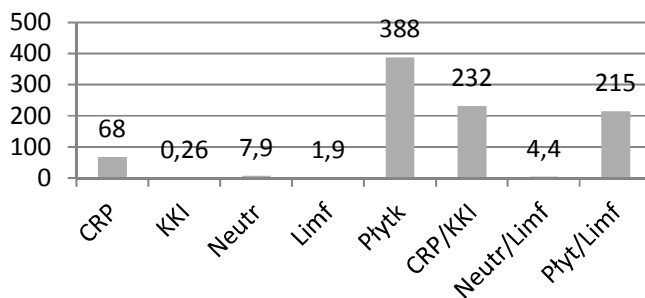
Rycina 6. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie kontrolnej [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



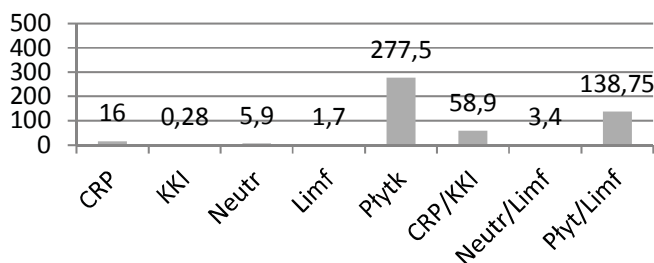
Rycina 7. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak płuca [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



Rycina 8. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak drobnokomórkowy [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



Rycina 9. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak płaskonabłonkowy [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



Rycina 10. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak gruczołowy [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]

## Dyskusja

Obecność komórek nowotworowych na różnych etapach kancerogenezy powoduje odmienne reakcje układu odpornościowego. Konsekwencją tych reakcji może być obecność immunogennych atypowych białek związanych z nowotworem. W wyniku tych korelacji może powstać zwiększona ilość złożonych struktur białkowych o charakterze krążących kompleksów immunologicznych. Wyniki przedstawionych przez nas badań wskazują na występowanie podwyższonych poziomów krążących kompleksów immunologicznych u chorych na raka płuca, co jest zgodne z doniesieniami innych autorów [19,20].

Wykazaliśmy tendencję ( $p < 0,001$ ) związaną z poziomem KKI a stopniem zaawansowania nowotworu. W bardziej zaawansowanym stadium raka płuc (IIIB-IV) obserwowano wyższe wartości poziomu KKI. Do podobnych wniosków doszli autorzy Fekete B i wsp. [19]. Sugeruje to związek z dominacją odpowiedzi humoralnej swoistej w bardziej zaawansowanym stadium kancerogenezy.

W wielu typach nowotworów obserwuje się realizację stanów zapalnych o różnym stopniu nasilenia. U podłoża ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (ang. *systemic of inflammatory reaction syndrome*, SIRS) związanej z rakiem leży niestabilność genetyczna komórek nowotworowych. Ważną rolę w rozwoju nowotworu (prolifracja komórek złośliwych, angiogeneza, przerzuty, oporność na środki chemioterapeutyczne) odgrywa systemowe zapalenie. Takie wskaźniki jak: NLR, PLR i CRP/albuminy mają zastosowanie w prognozowaniu kilku rodzajów nowotworów, w tym raka piersi, płuca i żołądka [21–23]. W naszych badaniach obserwowaliśmy istotnie wyższe wartości CRP oraz wskaźników NLR i PLR u chorych z rakiem płuca w porównaniu z osobami zdrowymi. Ponadto wyższe wartości CRP oznaczone były w podgrupie z bardziej zaawansowaną postacią raka oraz w raku płaskonabłonkowym. Otrzymane przez nas wyniki są zgodne z danymi uzyskanymi przez innych autorów [24–28].

Proces kancerogenezy związany jest z różną aktywnością neutrofilów i limfocytów. Zaburzona równowaga między neutrofilami a limfocytami spowodowana może być niedotlenieniem i martwicą wywołaną przez komórki nowotworowe. Na różnym etapie kancerogenezy zmienia się immunogenność komórek nowotworowych. A to może mieć wpływ na różne reakcje humoralne i komórkowe w środowisku nowotworu.

Teoria immunoedycji nowotworu wyjaśnia interakcje zachodzące pomiędzy układem immunologicznym a tworzącymi się komórkami nowotworowymi w kontekście czasu ich rozwoju. Immunoedycję nowotworu można podzielić na trzy następujące po sobie fazy: eliminacji, równowagi i ucieczki. Na początku komórki rakowe ze względu na swoją znaczną immunogenność łatwo ulegają eliminacji, w późniejszej fazie choroby powstają klony coraz mniej immunogenne, odporne na działanie limfocytów efektorowych i zdolne do hamowania

odpowiedzi immunologicznej gospodarza (faza równowagi). Wraz z progresją nowotworu, w jego mikrośrodowisku zachodzą zmiany osłabiające odpowiedź immunologiczną [31–33]. Zaczyna przeważać odpowiedź humoralna nad komórkową. Zjawisko to jest niekorzystne dla chorego, może wiązać się z progresją regionalną nowotworu oraz może generować powstawanie przerzutów odległych. Wyniki naszej pracy – podwyższone wartości KKI i wskaźnika CRP/KKI potwierdzają dominację odpowiedzi humoralnej w zaawansowanym stadium raka płuc. To praktycznie może dowodzić zmian immunogenności komórek nowotworowych, co jest zgodne z teorią immunoedycji.

Mechanizmy te mogą wpływać na obraz parametrów diagnostycznych w terapii nowotworów.

Zwraca uwagę fakt podwyższonych wartości liczby płytek krwi w osoczu chorych, co wyraźnie wpływa na wartość wskaźnika PLR. Zwiększona produkcja płytek krwi może mieć związek ze wzrostem guza [29]. W naszej pracy wykazaliśmy, że mediany PLR i płytek krwi wśród osób z rakiem płaskonabłonkowym były istotnie wyższe od median tych parametrów u chorych z gruczolakorakiem. Nikolić i wsp. wykazali, iż wskaźnik PLR jest istotnie wyższy u chorych na raka płuca, jednak nie można na jego podstawie różnicować podtypów tego nowotworu [30]. Na podstawie naszych doniesień można pokusić się o następujące stwierdzenie, że w raku płaskonabłonkowym mogą zachodzić procesy naprawcze, które charakteryzują się zwiększonym dynamizmem. Może mieć to związek z miejscem powstawania danego typu nowotworu, czyli poziomem drzewa oskrzelowego, w nabłonku którego zachodzi karcynogeneza.

W piśmiennictwie nie znaleźliśmy przykładu zastosowania wskaźnika CRP/KKI w analizie diagnostycznej raka płuca – dlatego podjęliśmy ten temat. Z jednej strony wykazaliśmy podwyższone wartości CRP w raku płaskonabłonkowym, z drugiej zaś strony stwierdziliśmy podwyższone wartości KKI w zaawansowanej postaci raka. Wskaźnik CRP/KKI może być przydatny jako prognostyczny parametr humoralny różnicujący stadium zaawansowania w danym typie nowotworu.

## Wnioski

1. Wartości analizowanych parametrów immunologicznych (humoralnych oraz komórkowych) były istotnie wyższe u chorych na raka płuc w porównaniu z osobami zdrowymi.
2. Wartości CRP oraz płytek krwi i wskaźnika PLR istotnie różniły się pomiędzy histopatologicznymi typami raka płuc.
3. Istotnie podwyższone wartości KKI w zaawansowanym stadium raka płuc może świadczyć o dominacji swoistej odpowiedzi humoralnej w późnym etapie karcynogenezy.

4. Wskaźnik CRP/KKI może być przydatny jako prognostyczny parametr humoralny różnicujący stadium zaawansowania w danym typie nowotworu.

## Bibliografia

1. World Health Organization. *Global Status Report on Noncommunicable Diseases*. WHO, Geneva 2014.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. *Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. Globocan, 2016, [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx?cancer=lung](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx?cancer=lung) [dostęp: 12.07.2019].
3. Wojciechowska U, Didkowska J. *Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce w 2015 roku*. Krajowy Rejestr Nowotworów. Warszawa 2015, <http://onkologia.org.pl/raporty/> [dostęp: 17.07.2019].
4. Jassem J, Wysocki W. *Pierwotne nowotwory płuca*. Medycyna Praktyczna, <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.3.14.1> [dostęp: 12.08.2019].
5. Ezeani MCh, Onyenekwe Ch, Meludu Sch. *Persistent Circulating Immune Complexes: Potential Source of Epimutation and Cancer Poor Prognosis*. International Journal of Genetics and Genomics. 2017; 5 (1): 1–13. doi: 10.11648/j.ijgg.20170501.11.
6. Gołda R, Przybylski G, Józwicki W, Wyszomirska M. *Krążące kompleksy immunologiczne, białko szoku cieplnego w surowicach osób z alergią palących tytoń – badania wstępne*. Przegl Lek. 2012; 69 (10): 737–739.
7. Gołda R, Przybylski G, Dokładna W, Pyskir M, Pyskir J. *Analiza występowania atypowych białek w surowicy u chorych na raka płuc palących i niepalących papierosy*. Przegl Lek. 2013; 70 (10): 784–786.
8. Cynthia J, Nerurkar AV, Karjodkar FR. *Circulating Immune Complexes (CIC) As Marker For Disease Progress In Oral Cancer*. Indian J Clini Biochem. 2007; 22 (2): 114–117. doi: 10.1007/BF02913327.
9. Kelley MC, Jones RC, Gupta RK, Yee R, Stern S, Wanek LJ, Morton DL. *Tumor Associated Antigen TA-90 Immune Complex Assay Predicts Subclinical Metastasis and Survival for Patients With Early Stage Melanoma*. Cancer. 1998; 83 (7): 1355–1361. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19981001)83:7<1355::aid-cncl12>3.0.co;2-3.
10. Rai S, Mody RN. *Serum Circulating Immune Complexes as Prognostic Indicators in Premalignant and Malignant Lesions of Oral Cavity During and Following Radiotherapy*. J Cancer Res Ther. 2012; 8 (Suppl 1): 116–122. doi: 10.4103/0973-1482.92225.
11. Chaturvedi AK, Caporaso NE, Katki HA, Wong HL, Chatterjee N, Pine SR, Chanock SJ, Goedert JJ, Engels EA. *C-Reactive Protein and Risk of Lung Cancer*. J Clin Oncol. 2010; 28 (16): 2719–2726. doi: 10.1200/JCO.2009.27.0454.
12. Han YC, Yang TH, Kim DI, Jin HY, Chung SR, Seo JS, Jang JS, Kim DK, Kim KH, Seol SH, Kim DS. *Neutrophil to Lymphocyte Ratio Predicts Long-Term Clinical Outcomes in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Un-*

- dergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention*. Korean Circ J. 2013; 43 (2): 93–99. doi: 10.4070/kcj.2013.43.2.93.
13. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, Leibowitz-Amit R, Sonpavde G, Knox JJ, Tran B, Tannock IF, Amir E. *Prognostic Role of Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio in Solid Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis*. J Natl Cancer Inst. 2014; 106 (6): dju124. doi: 10.1093/jnci/dju124.
14. Yoon NB, Son C, Um SJ. *Role of the Neutrophil-Lymphocyte Count Ratio In the Differential Diagnosis Between Pulmonary Tuberculosis and Bacterial Community-Acquired Pneumonia*. Ann Lab Med. 2013; 33 (2): 105–110. doi: 10.3343/alm.2013.33.2.105.
15. Wójcik E, Stasik Z, Rychlik U, Tarapacz J, Kanty Kulpa J, Brandys K. *Wskaźniki NLR i PLR w ocenie rokowania chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca*. Diagn Lab. 2016; 52 (1): 13–20.
16. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch. *TNM –Klasyfikacja nowotworów złośliwych*. Wyd. 8. Via Medica, Gdańsk 2017.
17. Dylewska M, Mikułowska M, Nowak S, Falkiewicz B. *Rak płuca w Polsce – perspektywa medyczna i społeczna 2016*. Bristol-Myers Squibb, Warszawa 2016.
18. Haskova V, Kaslik J, Riha I, Matl I, Rovensky J. *Simple Method of Circulating Immune Complex Detection in Human Sera by Polyethyleneglycol Precipitation*. Z Immunitätsforsch Immunobiol. 1978; 154 (4): 399–406.
19. Fekete B, Füst G, Pál A, Angyal I, Jakab A, Merétey K, Falus A, Török K, Szegedi G, Kávai M, Puskás E, Csécsi-Nagy M, Szabó T, Lenkey A, Misz M. *Clinical Correlates of Circulating Immune Complex Levels in Advanced Lung Cancer. A Discrimination Analysis*. Oncology. 1983; 40 (2): 106–110.
20. García MS, Barañao RI, Fernández O, Bordenave H, Rumi LS. *Circulating Immune Complexes in Breast and Lung Cancer, Before and After Chemotherapy*. Allergol Immunopathol (Madr). 1987; 15 (1): 15–18.
21. Gu X, Sun S, Gao XS, Xiong W, Qin S, Qi X, Ma M, Li X, Zhou D, Wang W, Yu H. *Prognostic Value of Platelet to Lymphocyte Ratio In Non-Small Cell Lung Cancer: Evidence from 3,430 Patients*. Sci Rep. 2016; 6 (23893): 1–7. doi: 10.1038/srep23893.
22. Koh CH, Bhoo-Pathy N, Ng KL, Jabir RS, Tan GH, See MH, Jamaris S, Taib NA. *Utility of PreTreatment Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Platelet-Lymphocyte Ratio as Prognostic Factors in Breast Cancer*. Br J Cancer. 2015; 113 (1): 150–158. doi: 10.1038/bjc.2015.183.
23. Li Y, Wang C, Xu M, Kong C, Qu A, Zhang M, Zheng Z, Zhang G. *Preoperative NLR for Predicting Survival Rate After Radical Resection Combined With Adjuvant Immunotherapy With CIK and Postoperative Chemotherapy In Gastric Cancer*. J Cancer Res Clin Oncol. 2017; 143 (5): 861–871. doi: 10.1007/s00432-016-2330-1.
24. Zhu J, Lian L, Qin H, Wang WJ, Ren R, Xu MD, Chen K, Duan W, Gong FR, Tao M, Zhi Q, Wu MY, Li W. *Prognostic Evaluation of Patients With Resectable Lung Cancer Using Systemic Inflammatory Response Parameters*. Oncology Letters. 2019; 17 (2): 2244–2256. doi: 10.3892/ol.2018.9858.
25. Peng B, Wang YH, Liu YM, Ma LX. *Prognostic Significance of the Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: a Systemic Review and Meta-Analysis*. Int J ClinExp Med. 2015; 8 (3): 3098–3106.

- 24 M. PILACZYŃSKA-CEMEL, R. GOŁDA, A. DĄBROWSKA, G. PRZYBYLSKI
26. Gu XB, Tian T, Tian XJ, Zhang XJ. *Prognostic Significance of Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis*. Sci Rep. 2015; 5 (12493): 1–9. doi: 10.1038/srep12493.
27. Zhang H, Zhang L, Zhu K, Shi B, Yin Y, Zhu J, Yue D, Zhang B, Wang Ch. *Prognostic Significance of Combination of Preoperative Platelet Count and Neutrophil-Lymphocyte Ratio (COP-NLR) in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: Based on a Large Cohort Study*. PLoS One. 2015; 10 (5): e0126496. doi: 10.1371/journal.pone.0126496.
28. Unal D, Eroglu C, Kurtul N, Oguz A, Tasdemir A. *Are Neutrophil/Lymphocyte and Platelet/Lymphocyte Rates in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer Associated With Treatment Response and Prognosis?* Asian Pac J Cancer Prev. 2013; 14 (9): 5237–5242. doi: 10.7314/APJCP.2013.14.9.5237.
29. Bambace NM, Holmes CE. *The Platelet Contribution to Cancer Progression*. J Thromb Haemost. 2011; 9 (2): 237–249. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.04131.x.
30. Nikolić I, Kukulj S, Samaržija M, Jeleč V, Žarak M, Orehovec B, Taradi I, Romić D, Kolak T, Patrlj L. *Neutrophil-To-Lymphocyte and Platelet-To-Lymphocyte Ratio Help Identify Patients With Lung Cancer, But Do Not Differentiate Between Lung Cancer Subtypes*. Croat Med J. 2016; 57 (3): 287–292.
31. Kopiński P, Giżycka A, Macko M, Chorostowska-Wynimko J. *Immunoterapia raka płuca. Część I: Immunoterapia bierna*. Państwo i Społeczeństwo. 2017; 4: 1–18. doi: 10.31749/pismzp2017/19187.
32. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. *The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoediting*. Immunity. 2004; 21 (2): 137–148. doi: 10.1016/j.immuni.2004.07.017.
33. Arum CJ, Anderssen E, Viset T, Kodama Y, Lundgren S, Chen D, Zhao CM. *Cancer Immunoediting from Immunosurveillance to Tumor Escape in Microvillus-Formed Niche: A Study of Syngeneic Orthotopic Rat Bladder Cancer Model in Comparison with Human Bladder Cancer*. Neoplasia. 2010; 12 (6): 434–442. doi: 10.1593/neo.91824.

## **Analysis of the concentration of selected parameters of inflammation, circulating immune complexes and related indicators (neutrophil/lymphocyte, platelet/lymphocyte, CRP/CIC) in patients with lung cancer**

### **Abstract**

**Introduction:** Lung cancer is the most frequent malignancy in Poland and is the first cause of death in oncology. The aim of the study is to analyze selected parameters of inflammation in lung cancer.

**Material and methods:** 48 patients with lung cancer were included in the study group and 30 persons in the control group. The group was divided according to the level of severity – 19 with low/moderate stage (I-III A), 29 with high (IIIB and IV) and to histopathological type – 9 with small cell carcinomas, 39 with non-small cell carcinomas (therein 18 – adenocarcinomas and 21 squamous carcinomas). The concentrations of circulating immune complexes (CIC), C-reactive protein (CRP), neutrophils, lymphocytes and their

associated indicators were examined: CRP/CIC, NLR (neutrophil/lymphocyte ratio), PLR (platelet/lymphocyte ratio).

Results: The average parameter values were significantly higher among people with lung cancer. The median value of CIC was significantly higher in the group with advanced cancer (0.30 vs 0.23,  $p < 0.01$  compare to stage I-III A). The median PLR and platelet counts among patients with squamous cell carcinoma were significantly higher compared to adenocarcinomas (215 vs 138.5,  $p = 0.037$ , 388.0 thousand/ul vs 277.5 thousand/ul,  $p = 0.034$ ).

Conclusion: Based on the results of our work, we suggested the dominance of a specific humoral response in the more advanced stage of lung cancerogenesis. The process of carcinogenesis is associated with various activities of neutrophils and lymphocytes.

Key words: circulating immune complexes, neutrophil-lymphocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, lung cancer



Wojciech Kuncman<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0003-1117-4463]

Magdalena Orzechowska<sup>2</sup> [ORCID: 0000-0002-8301-8059]

Katarzyna Taran<sup>3</sup> [ORCID: 0000-0002-0598-9079]

Radziśław Kordek<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0003-4724-3627]

1. Zakład Patologii, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
2. Zakład Kancerogenezy Molekularnej, Katedra Medycyny Molekularnej i Biotechnologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
3. Zakład Patomorfologii, Pracownia Frakcjonowania Izotopowego w Procesach Patologicznych, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

## **EKSPRESJA GENU KODUJĄCEGO GROSS CYSTIC DISEASE FLUID PROTEIN 15 (GCDFP-15) W PIERWOTNYCH I PRZERZUTOWYCH OGNISKACH RAKA PIERSI**

Autor korespondencyjny:

Katarzyna Taran, Zakład Patomorfologii, Pracownia Frakcjonowania Izotopowego w Procesach Patologicznych, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź, e-mail: katarzyna.taran@umed.lodz.pl

### **Streszczenie**

Wprowadzenie: Heterogenność jest charakterystyczną cechą biologii raków piersi. Dotychczasowe badania w tym zakresie w większości obejmują uznane czynniki prognostyczne i predykcyjne, jednakże najistotniejsza dla procesu przerzutowania może okazać się ewaluacja ekspresji mniej znanych białek.

Materiały i metody: Immunohistochemiczna ocena ekspresji białka GCDFP-15 i potencjalnej heterogenności guzów pierwotnych i przerzutów w pachowych węzłach chłonnych w raku piersi.

**Wyniki:** Stwierdzono zróżnicowanie ekspresji GCDFP-15 w obrębie ognisk pierwotnych i przerzutowych raka piersi, a ponadto dodatnie korelacje pomiędzy ekspresją badanego białka, a obecnością Ki-67 oraz siłą ekspresji receptorów progesteronowych w przerzutach raka sutka.

**Wnioski:** Heterogenność przerzutowych ognisk raka piersi obejmuje ekspresję GCDFP-15. Ujawnione korelacje pomiędzy ekspresją tego białka a uznanymi czynnikami o znaczeniu rokowniczym przemawiają za ewaluacją zajętych w przebiegu choroby nowotworowej węzłów chłonnych jako cennym uzupełnieniem oceny guza pierwotnego. Rola białka GCDFP-15 w procesie przerzutowania w raku sutka wymaga dalszych badań ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów odpowiedzi immunologicznej.

**Słowa kluczowe:** rak piersi, białko GCDFP-15, przerzutowanie, układ odpornościowy

## Wprowadzenie

Raki piersi wyróżniają się spośród innych nowotworów swoją heterogennością. Cecha ta znajduje odzwierciedlenie w obecnie stosowanej klasyfikacji guzów piersi Światowej Organizacji Zdrowia: wyróżniono tu aż 10 głównych typów morfologicznych raka wywodzącego się z komórek wewnętrznej warstwy przewodów piersiowych (komórek luminalnych) wraz z podtypami, a ponadto typy rzadkie oraz raki mioepitelialne [1].

Wyniki badań ekspresji białek o uznanym znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym są rozbieżne zarówno w przypadku samego guza pierwotnego, jak i pomiędzy ogniskiem pierwotnymi a przerzutowymi. Badania obejmują przede wszystkim uznane czynniki prognostyczne i predykcyjne, w pierwszym rzędzie: receptor estrogenowy – ER, receptor progesteronowy – PR oraz białko HER2. Pomimo różnic metodologicznych większość uzyskanych wyników potwierdza występowanie heterogenności guza pierwotnego i ognisk przerzutowych. Zazwyczaj heterogenność jest największa w przypadku PR (29–53%), pośrednia w przypadku ER (13–54%), a najmniejsze zmiany dotyczą HER2 (0–32%) [2–7]. W przypadku badań heterogenności przerzutów w stosunku do guza pierwotnego zwraca się uwagę na konieczność uwzględnienia lokalizacji zmian oraz ich synchroniczności lub sekwencyjności z uwagi na fakt, że nowotwór zmienia się nie tylko w czasie, lecz wykazuje również charakterystyczne zmiany w zależności od miejsca przerzutowania [8]. Badania innych białek są zdecydowanie rzadsze i obejmują guzy pierwotne (heterogenność wewnętrzna). Podkreśla się jednak, że kluczowe dla poznania biologii raka sutka i najistotniejsze dla procesu przerzutowania mogą okazać się badania różnic ekspresji białek innych niż predykcyjne [9].

Glikoproteina GCDFP-15 (ang. *gross cystic disease fluid protein 15*), znana także jako prolactin-inducible protein (PIP), extra-parotid glycoprotein (EP-GP), gp17 seminal actin-binding protein (SABP) oraz BRST2, to białko

pierwotnie opisane w gruczole piersiowym, lecz występujące w wielu gruczołach typu apokrynowego. Obecność GCDFP-15 wykrywana jest w gruczołach skóry okolicy pachowej i sromowej, powiek, przewodu słuchowego, tkanki podśluzowej oskrzeli, gruczołów ślinowych i łzowych oraz w pęcherzykach nasiennych.

Podstawową funkcją białka GCDFP-15 jest regulacja transportu wody w komórkach poprzez łączenie się z immunoglobulinami IgG, z niektórymi gatunkami bakterii oraz z CD4 [10]. Prawidłowo rozwinięta tkanka gruczolowa piersi wykazuje niską ekspresję GCDFP-15, natomiast znaczna część raków tego gruczołu wykazuje jego nadekspresję. Ekspresja ta jest szczególnie wysoka w rakach gruczolowych z cechami różnicowania apokrynowego [11], natomiast znacznie niższa w przypadku nowotworów o dużym stopniu zaawansowania klinicznego lub raków piersi niskoróżnicowanych [12].

W praktyce klinicznej białko to najczęściej wykorzystywane jest jako element diagnostyki różnicowej w procesie poszukiwania lokalizacji ogniska pierwotnego w przebiegu choroby nowotworowej. Obecność immunohistochemicznej ekspresji GCDFP-15 w połączeniu z morfologią raka gruczolowego sugeruje w pierwszym rzędzie gruczoł piersiowy jako punkt wyjściowy procesu [13], należy jednak mieć na uwadze występowanie GCDFP-15 w rakach gruczołu krokowego, gruczołów potowych lub ślinowych [14,15]. Celem pracy była ewaluacja ekspresji GCDFP-15 w pierwotnych i przerzutowych ogniskach nowotworowych oraz poszukiwanie potencjalnych implikacji klinicznych takich oznaczeń w raku piersi.

## **Materialy i metody**

Na podstawie zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi RNN/12/16/KE grupa badana objęła 67 pacjentek z obecnością pierwotnego raka piersi z przerzutami w węzłach chłonnych pachowych (pN1–N2), klinicznie bez przerzutów odległych (cM0) oraz bez obecności przerzutów w pozapachowych węzłach chłonnych. Materiał tkankowy z gruczołu piersiowego i węzłów chłonnych pachowych, pozyskany w trakcie standardowych procedur chirurgicznych, utrwalano od 24 do 48 godzin w 10-procentowym roztworze zbuforowanej formaliny w temperaturze pokojowej. Podczas rutynowego badania makroskopowego pobrano z materiału pooperacyjnego wycinki do badań. Uzyskane tkanki zostały poddane działaniu substancji chemicznych w procesorze tkankowym Excelsior™ AS ThermoFisher według schematu: 8 godzin w wymienianych roztworach etanolu o rosnącym stężeniu (70–99%), 2 godziny w wymienianym roztworze ksylenu oraz 2 godziny w parafinie histologicznej o temperaturze 58°C, a następnie zatopione w bloczkach parafinowych. Z bloczków tych wykonano skrawki o grubości 4–5 µM, które po

odparafinowaniu zabarwiono w sposób rutynowy hematoksyliną i eozyną oraz wykorzystano do dalszych badań, przewidzianych zarówno standardowymi protokołami w przypadku raka piersi, jak i do immunohistochemicznej ewaluacji ekspresji GCDFP-15. Z zastosowaniem procedury cieplnego odmaskowania epitopu (HIER) przy użyciu aparatu Dako PT Link odsłonięto antygen barwienia immunohistochemicznego zgodnie ze standardową procedurą z wykorzystaniem przeciwciał Dako (*ready to use*) oraz zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta przeciwciała i danymi zawartymi w tabeli 1.

Tabela 1. Szczegóły procedury badań immunohistochemicznych ekspresji białka GCDFP-15

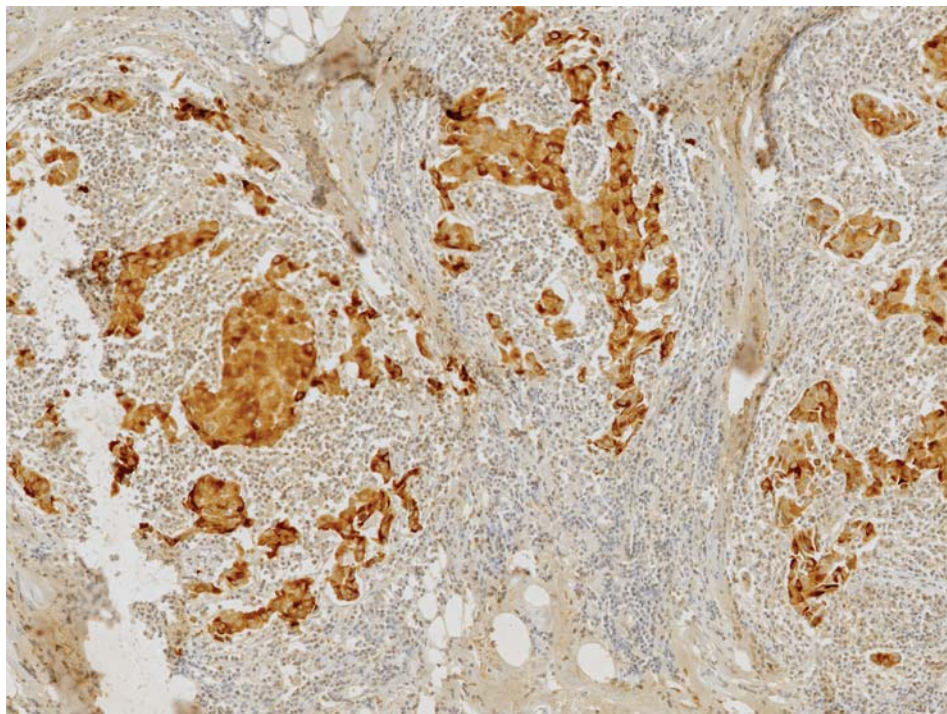
| Nazwa przeciwciała | Producent        | Stężenie        | Czas inkubacji | Sposób odsłonięcia antygeny | Sposób oceny preparatów                    |
|--------------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------------------|--------------------------------------------|
| GCDFP-15           | Dako/<br>Agilent | ready<br>to use | 30'            | PT link<br>pH 8,0<br>20'    | Ocena intensywności<br>(skala: od 0 do +3) |

Dla celów badania intensywność reakcji barwnej w odczynach immunohistochemicznych oceniano przy pomocy umownej skali czterostopniowej (0, +1, +2, +3). Wyniki tej ewaluacji poddano analizie statystycznej. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego STATISTICA 12.5 (StatSoft, Tulsa, OK, USA, [JKKP501E504328AR-F]) z zasobów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W pierwszym etapie przeprowadzono test Shapiro-Wilka, a w kolejnych etapach analizy wykorzystano testy nieparametryczne. Dla oznaczenia istotności różnic statystycznych wykorzystano test Manna-Whitneya-Wilcoxona. Korelacje między parametrami obliczono korzystając ze współczynnika Pearsona ( $r$ ). Poziom istotności ( $p$ ) uznawano za statystycznie znamienne, gdy jego wartość wynosiła  $<0,05$ .

## Wyniki

Wyniki badań ekspresji białka GCDFP15 w guzie pierwotnym i synchronicznych przerzutach do pachowych węzłów chłonnych przedstawiają się następująco:

1. Obecność ekspresji GCDFP15 stwierdzono w 67% guzów pierwotnych oraz 60% przerzutów w węzłach chłonnych pachowych (fot. 1).



Fot. 1. Ekspresja GCDP15 w komórkach raka piersi w materiale tkankowym z przerzutu do węzła chłonnego, ocena: +3 w skali intensywności, chora lat 48, nowotwór sutka o drugim stopniu złośliwości histologicznej (G2) (powiększenie 200x)

2. Wyniki badań intensywności ekspresji GCDP15 w guzach pierwotnych oraz przerzutach do pachowych węzłów chłonnych w grupie badanej przedstawia tabela 2:

Tabela 2. Porównanie intensywności ekspresji GCDP15 w guzach pierwotnych oraz przerzutach do pachowych węzłów chłonnych w raku piersi

| Intensywność barwienia | Guz pierwotny | Przerzut  |
|------------------------|---------------|-----------|
| 0                      | 21 (33%)      | 21 (40%)  |
| +1                     | 23 (36%)      | 18 (35%)  |
| +2                     | 15 (23%)      | 11 (21%)  |
| +3                     | 5 (8%)        | 2 (4%)    |
| Suma:                  | 64 (100%)     | 52 (100%) |

Ekspresję GCDFP-15 w guzie pierwotnym i w synchronicznych przerzutach do węzłów chłonnych pachowych ewaluowano w 50 przypadkach. Różnice pod względem siły ekspresji odnotowano u 24 pacjentów (48%), w większości zmiany wynosiły +1/-1. Jedynie u 3 pacjentów (6%) odnotowano spadek ekspresji w przerzucie o dwa pkt, a u jednej chorej (2%) – wzrost o 3 pkt. Średnia bezwzględna wartość różnicy ekspresji wyniosła 0,58 pkt. Zaobserwowano dwukierunkowy charakter całkowitych zmian ekspresji GCDFP-15. W ośmiu przypadkach (16%) stwierdzono całkowity zanik ekspresji GCDFP-15 w przerzucie, z kolei u 8 chorych (16%) ekspresja pojawiła się w przerzucie *de novo*.

3. Ocena heterogenności guza pierwotnego i synchronicznych przerzutów w węzłach chłonnych pachowych pod względem ekspresji GCDFP-15 oraz analiza statystyczna wyników ewaluacji

W badaniach guzów pierwotnych stwierdzono różnicę ekspresji GCDFP-15 pomiędzy ogniskami pierwotnymi i przerzutowymi, natomiast nie ujawniono związków immunoekspresji badanego białka z uznanymi czynnikami o znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym. Rozkład wartości zmiennej nie okazał się zgodny z rozkładem normalnym. Z tego względu dokonano analizy statystycznej z użyciem testu Manna-Whitneya-Wilcoxa, która nie ujawniła znamienności statystycznej obserwowanych różnic ekspresji badanego białka pomiędzy guzem pierwotnym a przerzutami ( $p = 0,76$ ), jednakże w obrębie samych ognisk przerzutowych badania z wykorzystaniem współczynnika korelacji Pearsona ukazały zarówno dodatnią korelację pomiędzy ekspresją GCDFP-15 a indeksem komórek Ki-67 dodatnich w przerzucie ( $r = 0,34$ ;  $p = 0,026$ ), jak i dodatnią korelację pomiędzy siłami ekspresji GCDFP-15 i receptorów progesteronowych (PR) ( $r = 0,31$ ,  $p = 0,037$ ).

## Dyskusja

Niezadawalające wyniki leczenia raka piersi są przyczyną intensyfikacji badań nad heterogennością tego nowotworu, który w coraz większym stopniu obejmuje białka o gorzej poznanych funkcjach, np.: EGFR, c-myc czy cykliny-D1. W najnowszych pracach badawczych z wykorzystaniem spektrometrii mas, obecnie najnowocześniejszej techniki analitycznej o najwyższej udokumentowanej wiarygodności i precyzji, ujawniono znaczne różnice pomiędzy węzłami chłonnymi a guzem pierwotnym pod względem białek odpowiedzialnych za procesy adhezji komórkowej oraz związanych z przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym; największą heterogenność wykazano w przypadku ATP1F1 and  $\beta$ -tubuliny [16,17–19].

W prezentowanej pracy wykazano zróżnicowanie ekspresji GCDFP-15 w pierwotnych i przerzutowych ogniskach raka piersi; co szczególnie interesują-

ce – w przebiegu choroby nowotworowej może dochodzić do całkowitego zaniku ekspresji w przerzutach lub pojawiania się jej *de novo* pomimo jej braku w guzie pierwotnym. GCDFP-15 cechuje duża swoistość dla komórek raka piersi, co uzasadnia wykorzystanie jego immunohistochemicznej ewaluacji do potwierdzania pochodzenia raków gruczołowych o nieznanym ognisku pierwotnym [20–22]. Białko to częściej występuje w nowotworach wyżej zróżnicowanych i wykazujących cechy różnicowania apokrynowego, natomiast w przypadku nowotworów niskozróżnicowanych nie musi być obecne [11,12]. Udokumentowano także, że ekspresję GCDFP-15 obserwuje się podczas aktywnego wydzielania, będącego typową cechą różnicowania nabłonkowego [23]. W kontekście wyników prezentowanych badań pojawia się pytanie na temat zmian ekspresji GCDFP-15 w przebiegu choroby nowotworowej oraz potencjalnego związku ekspresji tego białka z przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym. Bhargava i wsp. porównywali pod względem ekspresji mammaglobiny oraz GCDFP-15 dwa ogniska (guz pierwotny oraz przerzut) w grupie 29 pacjentów, jako część większego projektu; niestety, wyniki ograniczono do informacji, iż ekspresje te były ze sobą zbieżne, pokazano jednak przypadek, w którym ekspresje odnotowano jedynie w jednej z badanych lokalizacji (przerzut) [24]. Największe i najaktualniejsze badanie ekspresji białek w raku piersi, w którym poddano ocenie także GCDFP-15, dotyczyło 993 pacjentów. You-Bi Ni i wsp. analizowali czułości GCDFP-15 w guzie pierwotnym, w przerzutach odległych oraz w 254 przerzutach do węzłów chłonnych. W guzie pierwotnym ekspresję GCDFP-15 stwierdzono w 237 z 993 przypadków (23,9%), w przerzucie węzłowym w 59 z 254 przypadków (22,2%), a w przerzucie odległym w 13 z 23 przypadków (56,6%). Zbieżność wyników guza pierwotnego z przerzutem węzłowym wynosiła 81,5%, a z przerzutem odległym – 80%. Konwersja nieco częściej dotyczyła pojawienia się białka w przerzucie w przypadku węzła chłonnego (26 vs 22) w porównaniu z przerzutem odległym (2 vs 0). W badaniu nie zostały jednak zawarte analizy statystyczne, np. dla prób sparowanych, przez co nie można w pełni określić znaczenia powyższych obserwacji [20].

W literaturze przedmiotu ekspresja GCDFP-15 w przerzutach i guzach pierwotnych zazwyczaj jest zbliżona i waha się w granicach 32–47%, w jednym z badań uzyskano jednak wynik znacząco różny – 11% [21,22,25,26]. Istnienie rozbieżności można przypisać różnym przeciwciałom wykorzystywanym w pracach badawczych oraz odrębnej metodyce samego badania. Ekspresja GCDFP-15 zwykle nie jest intensywna i ma ogniskowy charakter. W prezentowanych badaniach ekspresja w guzie pierwotnym była wysoka i zbliżona do wartości stwierdzanych w przerzutach, co można tłumaczyć znaczącą liczbą raków przewodowych (NST) wysoko zróżnicowanych w grupie badanej. Heterogenność w obrębie ognisk w większości mieściła się w niewielkich granicach +1/-1, jednak całkowita zmiana ekspresji została odnotowana w zaskakująco dużej – w stosunku do przewidywań – liczbie przypadków. Ze względu

na bardzo małą liczbę dostępnych w literaturze badań oraz zróżnicowaną metodykę trudno dokonać jednoznacznych porównań, niemniej można wnioskować o istnieniu heterogenności i dwukierunkowości obserwowanych zmian ekspresji GCDFP-15.

Stwierdzenie obecności przerzutów wiąże się z najpoważniejszym rokowaniem dla pacjenta [12]. Ponad 90% zgonów osób z chorobą nowotworową wywołanych jest przez przerzuty odległe [27]. Rak piersi w stadium z przerzutami odległymi (M1) zazwyczaj jest nieuleczalny, a konwencjonalna chemioterapia ma jedynie znaczenie paliatywne [28].

Proces przerzutowania jest zjawiskiem długotrwałym i złożonym. Już we wczesnych etapach rozwoju guza pierwotnego obecne są we krwi krążące komórki nowotworowe [29]. Dzisiejszy poziom wiedzy nie pozwala na skuteczne przewidzenie pojawienia się i lokalizacji przerzutów. Ponadto guzy różnią się między sobą drogami rozwoju i zaangażowaniem różnych mechanizmów molekularnych w naturalnym przebiegu choroby nowotworowej [30]. Poszczególne ogniska nowotworowe przez swoją niestabilność są niejednorodne pod względem genetycznym, epigenetycznym oraz biologicznym, a u pojedynczego chorego występują liczne subpopulacje komórkowe o różnej charakterystyce [8,31].

Obecność GCDFP-15 wiązana jest z lepszym przebiegiem choroby nowotworowej [25,32]. Wzrost ekspresji GCDFP-15 jest wywoływany przez aktywność receptorów glikokortykosteroidowych, androgenowych, progesteronowych i prolaktynowych, hormonu wzrostu oraz cytokin (IL-1 $\alpha$ , IL-4, IL-13), obniżenie ekspresji jest natomiast wywoływane przez aktywność receptora estrogenowego oraz IL-6. Głównym mediatorem regulującym ekspresję GCDFP-15 jest szlak powiązany ze STAT5 [23]. Ujawniony w prezentowanych badaniach związek ekspresji GCDFP-15 w guzach przerzutowych z uznanymi czynnikami oznaczeniu prognostycznym i predykcyjnym – Ki-67 oraz PR rzuca nowe światło na złożone mechanizmy przerzutowania w raku piersi.

Ki-67 jest białkiem zlokalizowanym w jądrze komórkowym i występującym we wszystkich fazach podziału komórkowego (G1, S, G2, M), nie występuje natomiast w fazie spoczynku komórki (G0) [33,34]. Stężenie Ki-67 ulega zmianom, osiągając najwyższy poziom podczas mitozy. Białko to bezpośrednio i w sposób uniwersalny powiązane jest z aktywnością podziałów komórkowych oraz agresywnością i przebiegiem wszystkich nowotworów złośliwych [35]. W raku piersi Ki-67 ma kluczowe znaczenie dla podziału raków podobnych do luminalnych na podtypy A i B, a przez to dla planowania terapii systemowej [36]. Dotychczas nie udowodniono istnienia związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy poziomem białka Ki-67 a aktywnością szlaku PR.

Ocena receptora progesteronowego, dokonywana z wykorzystaniem immunohistochemii zgodnie z modelem Allred, służy w praktyce klinicznej odróżnianiu raków podobnych do luminalnych A i B (*luminal-like*). Według

europejskich wytycznych obecność ekspresji PR w więcej niż 20% komórek charakteryzuje podtyp podobny do luminalnego A [12], co przekłada się na istotne korzyści z zastosowania terapii systemowej. Najważniejszymi efektami pobudzenia PR jest zwiększenie potencjału proliferacyjnego oraz mobilności komórek nowotworowych. Mechanizm wiążący PR z czynnikami proproliferacyjnymi nie został do tej pory rozpoznany. Przypuszcza się, że reakcja ta jest złożona i przebiega najprawdopodobniej poprzez regulację zarówno ekspresji ER, jak i białek efektorowych PR. Intrygującą obserwacją jest wyhamowywanie ekspresji ER po pobudzeniu PR w modelach komórkowych. Na jej podstawie została oparta hipoteza stymulującego działania pobudzonego PR. W rakach piersi ER pełni rolę supresyjną w stosunku do większości innych czynników wzrostu (np. EGFR) – pobudzenie aktywności PR, a następnie wyhamowanie ekspresji i aktywności ER umożliwia ujawnienie silniejszych czynników wzrostu, wywołując zwiększenie potencjału proliferacyjnego. W sprzeczności z powyższą hipotezą może jednakże pozostawać fakt rzadkiego występowanie raków o profilu ekspresyjnym ER-, PR+, który powinien być typowy dla raków luminalnych B [37,38].

Najnowsze badania wskazują, że GCDFP-15 wykazuje związek z układem odpornościowym, a w szczególności z mechanizmami nieswoistej odpowiedzi immunologicznej [39]. Wydaje się to niezwykle interesujące w aspekcie prezentowanych wyników i korelacji dotyczących ekspresji GCDFP-15 zaobserwowanych jedynie po uogólnieniu się choroby nowotworowej, w ogniskach przerzutowych raka piersi. Obszar badań układu immunologicznego w ewaluowanym nowotworze dynamicznie rozwija się w ciągu ostatnich lat z powodu zmiany paradygmatu braku immunogenności raka piersi. Obecnie istnieją dowody aktywności adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej, a wyniki najnowszych badań sugerują, że naciek limfocytarny w podścielisku guza jest silnym korzystnym czynnikiem rokowniczym. Rola ekspresji białka GCDFP-15 w tych mechanizmach nie jest jednak rozpoznana.

## Wnioski

Heterogenność pierwotnych i przerzutowych ognisk raka piersi obejmuje ekspresję GCDFP-15. Ujawnione w prezentowanych badaniach korelacje pomiędzy ekspresją tego białka a uznanymi czynnikami o znaczeniu rokowniczym w przerzutach przemawiają za ewaluacją zajętych w przebiegu choroby nowotworowej węzłów chłonnych jako cennym uzupełnieniem badań guza pierwotnego. Rola białka GCDFP-15 w procesie przerzutowania w raku sutka wymaga dalszych badań ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów odpowiedzi immunologicznej.

## Bibliografia

1. Sinn H-P, Kreipe H. *A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition*. Breast Care. 2013; 8 (2): 149–154.
2. Amir E, Miller N, Geddie W, Freedman O, Kassam F, Simmons C, Oldfield M, Dranitsaris G, Tomlinson G, Laupacis A, Tannock IF, Clemons M. *Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer*. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2012; 30 (6): 587–592.
3. Liu J, Deng H, Jia W, Zeng Y, Rao N, Li S, Jin L, Wu J, Song E, Su F. *Comparison of ER/PR and HER2 statuses in primary and paired liver metastatic sites of breast carcinoma in patients with or without treatment*. J Cancer Res Clin Oncol. 2012; 138 (5): 837–842.
4. Curtit E, Nerich V, Mansi L, Chaigneau L, Cals L, Villanueva C, Bazan F, Montcuquet P, Meneveau N, Perrin S, Algros MP, Pivot X. *Discordances in estrogen receptor status, progesterone receptor status, and HER2 status between primary breast cancer and metastasis*. The Oncologist. 2013; 18 (6): 667–674.
5. Niikura N, Liu J, Hayashi N, Mittendorf EA, Gong Y, Palla SL, Gonzalez-Angulo AM, Hortobagyi GN, Ueno NT. *Loss of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expression in metastatic sites of HER2-overexpressing primary breast tumors*. J Clin Oncol. 2012; 30 (6): 593–599.
6. Arslan C, Sari E, Aksoy S, Altundag K. *Variation in hormone receptor and HER-2 status between primary and metastatic breast cancer: review of the literature*. Expert Opin Ther Targets. 2011; 15 (1): 21–30.
7. Joseph C, Papadaki A, Althobiti M, Alsaleem M, Aleskandarany MA, Rakha EA. *Breast cancer intratumour heterogeneity: current status and clinical implications*. Histopathology. 2018; 73 (5): 717–731.
8. Turashvili G, Brogi E. *Tumor heterogeneity in breast cancer*. Front Med. 2017; 4: 227.
9. Kurbasic E, Sjöström M, Krogh M, Folkesson E, Grabau D, Hansson K, Rydén L, Waldemarson S, James P, Niméus E. *Changes in glycoprotein expression between primary breast tumour and synchronous lymph node metastases or asynchronous distant metastases*. Clin Proteomics. 2015; 12 (1): 13.
10. Bergamo P, Balestrieri M, Cammarota G, Guardioli J, Abrescia P. *CD4-mediated anchoring of the seminal antigen gp17 onto the spermatozoon surface*. Hum Immunol. 1997; 58 (1): 30–41.
11. Ward HWC. *Anti-oestrogen therapy for breast cancer: a trial of tamoxifen at two dose levels*. Br Med J. 1973; 1 (5844): 13–14.
12. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, Zalcrisson S, Cardoso F, ESMO Guidelines Committee. *Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 2015; 26 Suppl 5: v8–30.
13. Monteagudo C, Merino MJ, LaPorte N, Neumann RD. *Value of gross cystic disease fluid protein-15 in distinguishing metastatic breast carcinomas among poorly differentiated neoplasms involving the ovary*. Hum Pathol. 1991; 22 (4): 368–372.

14. Tian W, Osawa M, Horiuchi H, Tomita Y. *Expression of the prolactin-inducible protein (PIP/GCDFP15) gene in benign epithelium and adenocarcinoma of the prostate*. Cancer Sci. 2004; 95 (6): 491–495.
15. Wick MR, Lillemoe TJ, Copland GT, Swanson PE, Manivel JC, Kiang DT. *Gross cystic disease fluid protein-15 as a marker for breast cancer: immunohistochemical analysis of 690 human neoplasms and comparison with alpha-lactalbumin*. Hum Pathol. 1989; 20 (3): 281–287.
16. Nassar A, Radhakrishnan A, Cabrero IA, Cotsonis GA, Cohen C. *Intratumoral heterogeneity of immunohistochemical marker expression in breast carcinoma: a tissue microarray-based study*. Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM. 2010; 18( 5): 433–441.
17. Chhieng DC, Frost AR, Niwas S, Weiss H, Grizzle WE, Beeken S. *Intratumor heterogeneity of biomarker expression in breast carcinomas*. Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm. 2004; 79 (1): 25–36.
18. Glöckner S, Buurman H, Kleeberger W, Lehmann U, Kreipe H. *Marked intratumoral heterogeneity of c-myc and cyclinD1 but not of c-erbB2 amplification in breast cancer*. Lab Invest J Tech Methods Pathol. 2002; 82 (10): 1419–1426.
19. Focke CM, Decker T, van Diest PJ. *Intratumoral heterogeneity of Ki67 expression in early breast cancers exceeds variability between individual tumours*. Histopathology. 2016; 69 (5): 849–861.
20. Voduc KD, Cheang MCU, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. *Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse*. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2010; 28 (10): 1684–1691.
21. Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK. *Diseases of the breast: Fifth edition*. Wolters Kluwer Health Adis (ESP); 2014; <https://miami.pure.elsevier.com/en/publications/diseases-of-the-breast-fifth-edition> [dostęp: 20.07.2019].
22. Creighton CJ. *The molecular profile of luminal B breast cancer*. Biol Targets Ther. 2012; 6: 289–297.
23. *Rak piersi. Klasyfikacja TNM*; <http://www.mp.pl/social/article/52138> [dostęp: 16.09.2019].
24. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lønning PE, Brown PO, Børresen-Dale AL, Botstein D. *Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100 (14): 8418–8423.
25. Cancer Genome Atlas Network. *Comprehensive molecular portraits of human breast tumours*. Nature. 2012; 490 (7418): 61–70.
26. Rivenbark AG, O'Connor SM, Coleman WB. *Molecular and cellular heterogeneity in breast cancer*. Am J Pathol. 2013; 183 (4): 1113–1124.
27. Khan N, Mukhtar H. *Cancer and metastasis: prevention and treatment by green tea*. Cancer Metastasis Rev. 2010; 29 (3): 435–445.
28. Greenberg PA, Hortobagyi GN, Smith TL, Ziegler LD, Frye DK, Buzdar AU. *Long-term follow-up of patients with complete remission following combination chemotherapy for metastatic breast cancer*. J Clin Oncol. 1996; 14 (8): 2197–2205.
29. Hüsemann Y, Geigl JB, Schubert F, Musiani P, Meyer M, Burghart E, Forni G, Eils R, Fehm T, Riethmüller G, Klein CA. *Systemic spread is an early step in breast cancer*. Cancer Cell. 2008; 13 (1): 58–68.

30. Liotta LA, Kohn EC. *Cancer's deadly signature*. Nat Genet. 2003; 33(1): 10–11.
31. Badve S, Gökmen-Polar Y. *Tumor Heterogeneity in breast cancer*. Adv Anat Pathol. 2015; 22 (5): 294–302.
32. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning PE, Børresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. *Molecular portraits of human breast tumours*. Nature. 2000; 406 (6797): 747–752.
33. Shirendeb U, Hishikawa Y, Moriyama S, Win N, Thu MMM, Mar KS, Khatanbaatar G, Masuzaki H, Koji T. *Human papillomavirus infection and its possible correlation with p63 expression in cervical cancer in Japan, Mongolia, and Myanmar*. Acta Histochem Cytochem. 2009; 42 (6): 181–190.
34. Hooghe B, Hulpiau P, van Roy F, De Bleser P. *ConTra: a promoter alignment analysis tool for identification of transcription factor binding sites across species*. Nucleic Acids Res. 2008; 36: 128–132.
35. Klöppel G, Perren A, Heitz PU. *The gastroenteropancreatic neuroendocrine cell system and its tumors: the WHO classification*. Ann N Y Acad Sci. 2004; 1014 (April): 13–27.
36. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, Barni S. *Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients*. Breast Cancer Res Treat. 2015; 153 (3): 477–491.
37. Mohammed H, Russell IA, Stark R, Rueda OM, Hickey TE, Tarulli GA, Serandour AA, Birrell SN, Bruna A, Saadi A, Menon S, Hadfield J, Pugh M, Raj GV, D'Santos C, Robinson JL, Silva G, Launchbury R, Perou CM, Stingl J, Caldas C, Tilley WD, Carroll JS. *Progesterone receptor modulates ERα action in breast cancer*. Nature. 2015; 523 (7560): 313–317.
38. Zheng Z-Y, Bay B-H, Aw S-E, Lin VC-L. *A novel antiestrogenic mechanism in progesterone receptor-transfected breast cancer cells*. J Biol Chem. 2005; 280 (17): 17480–17487.
39. Urbaniak A, Jablonska K, Podhorska-Okolow M, Ugorski M, Dziegiel P. *Prolactin-induced protein (PIP) – characterization and role in breast cancer progression*. Am J Cancer Res. 2018; 8 (11): 2150–2164.

## Gross cystic disease fluid protein 15 (GCDFP-15) expression in primary and metastatic breast cancer foci

### Abstract

**Introduction:** Heterogeneity is a characteristic feature of breast cancer biology. Previous studies in this area mostly include the established prognostic and predictive factors, however, the most important for metastatizing appear differences in expression of less known proteins.

**Materials and methods:** Immunohistochemical assessment of GCDFP-15 protein expression and potential heterogeneity of primary tumors and metastases in axillary lymph nodes in breast cancer.

**Results:** The variation in GCDFP-15 expression within primary and metastatic breast cancer foci was revealed, as well as positive correlations between GCDFP-15 expression

and the presence of Ki-67 and the strength of expression of progesterone receptors in metastases.

Conclusions: The heterogeneity of metastatic breast cancer foci includes the expression of GCDFP-15. The revealed correlations between the expression of this protein and the established prognostic factors support the evaluation of lymph nodes involved in the course of cancer as a valuable complement to the primary tumor assessment. The role of GCDFP-15 protein in metastasizing in breast cancer requires further research with particular emphasis on the mechanisms of immune response.

Key words: breast cancer, GCDFP-15 protein, metastatizing, immunological system



Wojciech Kuncman<sup>1</sup> [ORCID 0000-0003-1117-4463]

Magdalena Orzechowska<sup>2</sup> [ORCID 0000-0002-8301-8059]

Katarzyna Taran<sup>3</sup> [ORCID 0000-0002-0598-9079]

Radziśław Kordek<sup>1</sup> [ORCID 0000-0003-4724-3627]

1. Zakład Patologii, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
2. Zakład Kancerogenezy Molekularnej, Katedra Medycyny Molekularnej i Biotechnologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
3. Zakład Patomorfologii, Pracownia Frakcjonowania Izotopowego w Procesach Patologicznych, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

## **EWALUACJA EKSPRESJI FOSFATAZY TYROZYNOWEJ 4A3 (PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE 4A3, PRL-3) – NIEZNANE ASPEKTY HETEROGENNOŚCI PIERWOTNYCH OGNISK RAKA PIERSI**

Autor korespondencyjny:

Katarzyna Taran, Zakład Patomorfologii, Pracownia Frakcjonowania Izotopowego w Procesach Patologicznych, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź, e-mail: katarzyna.taran@umed.lodz.pl

### **Streszczenie**

Wstęp: Pomimo znacznego postępu w diagnostyce i wprowadzenia nowoczesnej terapii wyniki leczenia chorych z rakiem piersi są nadal dalekie od oczekiwań. Wskazuje to konieczność poznawania przyczyn i następstw heterogenności tego nowotworu oraz potencjalnych implikacji klinicznych takiej wiedzy.

Materiały i metody: Immunohistochemiczna ocena ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL-3) w raku piersi oraz poszukiwanie jej potencjalnych związków z wybranymi czynnikami o znaczeniu rokowniczym.

Wyniki: Ujawniono heterogenność ognisk pierwotnych raka piersi pod względem ekspresji PRL-3 oraz związki z uznanymi czynnikami o znaczeniu rokowniczym, w tym korelację z siłą ekspresji receptorów progesteronowych.

Wnioski: Wyniki przedstawionych badań ukazują nieznane dotychczas aspekty heterogenności pierwotnych ognisk raka piersi oraz złożoną rolę białka PRL-3 w biologii tego nowotworu. Sugerują także istnienie nowego mechanizmu udziału PRL-3 w procesach ruchomości, naciekania oraz przerzutowania komórek raka piersi poprzez oddziaływanie z receptorem progesteronowym i potencjalnie białkami SNAIL+SLUG.

Słowa kluczowe: rak piersi, białko PRL-3, heterogenność, przerzuty

## Wprowadzenie

Jednym z kluczowych problemów w ochronie zdrowia na świecie jest rak piersi. Każdego roku stwierdza się ponad 1 350 000 nowych przypadków tego nowotworu, w tym 500 000 zgonów [1,2]. Jednocześnie zachorowalność na ten nowotwór rośnie z roku na rok; obecnie, zgodnie z prognozami American Cancer Society, aż jedna na dziewięć kobiet w Stanach Zjednoczonych jest zagrożona jego rozwojem [3].

Pomimo znacznego postępu w diagnostyce, terapii i identyfikacji nowych czynników rokowniczych osiągnęte wyniki leczenia pozostają nadal dalekie od oczekiwania. Największe nadzieje są pokładane w terapii spersonalizowanej ukierunkowanej na pojedyncze białka. Podstawą współczesnej terapii jest podział molekularny, mający odzwierciedlenie w rokowaniu pacjentek [4]. Pierwszego podziału dokonano w 2000 roku na podstawie oznaczeń ekspresji 8102 genów badanych przy użyciu mikromacierzy. Wyróżniono 4 grupy molekularne: raki luminalne (raki wywodzące się z warstwy wewnętrznej komórek przewodowych piersi), HER2 dodatnie (z obecnością nadekspresji drugiego nabłonkowego czynnika wzrostu), „basal-like” (raki wywodzące się z komórek mioepitelialnych przewodów piersiowych) oraz „normal breast-like” (nieswoiste) [5]. Najliczniejszą grupą nowotworów piersi okazały się raki luminalne, obejmujące ok. 40–80% wszystkich przypadków [6,7].

W praktyce kliniczno-patomorfologicznej ocenie podlega także stopień złośliwości histologicznej nowotworu (ang. *grading*). Zgodnie z systemem Blooma-Richardsona (modyfikacja Elston/Nottingham) zmiany dzielone są na 3 grupy: G1, G2, G3. Ponadto wyróżniana jest grupa GX, określająca zmiany bez możliwości oceny wiarygodnego stopnia złośliwości, najczęściej w przypadku uprzedniego zastosowania terapii. Drugim przyjętym sposobem ewaluacji jest ocena stopnia zaawansowania klinicznego (ang. *staging*) zgodnie z uniwersalnym systemem TNM. W przypadku raka piersi kluczowymi jego elementami są: wielkość guza pierwotnego, naciekanie struktur sąsiadujących, obecność przerzutów w węzłach chłonnych (ze specjalnym uwzględnieniem węzłów chłonnych

pachowych), a także obecność przerzutów odległych. Wyróżnia się 4 podstawowe stadia zaawansowania klinicznego choroby.

Stopień złośliwości histologicznej oraz klinicznego zaawansowania raka piersi są uznanymi czynnikami o znaczeniu rokowniczym, jednakże złożona biologia złośliwych zmian nowotworowych gruczołu piersiowego wymaga analizy wielu innych markerów. Wraz z postępem wiedzy niektóre z nich zostają zreklasifikowane, np. przesunięte z grupy potencjalnych do uznanych (jak HER2), znaczenie innych nadal jest ewaluowane, wreszcie znane wcześniej białka stają się po raz pierwszy przedmiotem badań o aspekcie prognostycznym.

PRL-3 to białko należące do rodziny białkowych fosfataz tyrozynowych oznaczonych symbolem 4A3 (ang. *protein tyrosine phosphatase 4A3*), nazywane jest również trzecią fosfatazą regenerującą wątrobę (ang. *phosphatase of regenerating liver-3*). Główną funkcją PRL-3 jest regulacja fosforylacji (defosforylacja) czynników biorących udział w cyklu komórkowym, wzroście komórki, różnicowaniu i transformacji nowotworowej. Skutkiem ekspresji PRL-3 jest także miejscowe nasilenie angiogenezy [8]. W rakach piersi nadekspresja PRL-3 stwierdzana jest w około 62–75% przypadków. W raku żołądka, jelita grubego oraz wątroby ujawniono wzrost poziomu PRL-3 w przerzutach. Białko to wydaje się być obiecującym celem terapeutycznym [9].

Heterogenność jest jednym z najbardziej istotnych zjawisk w biologii raka piersi. Odnotowuje się zarówno heterogenność wewnętrzną jednego ogniska (np. HER2 wykazuje znaczącą heterogenność wewnątrz guza pierwotnego, zarówno pod względem ekspresji immunohistochemicznej, jak i pod względem amplifikacji genu), jak i różnice pomiędzy ogniskami u jednego lub wielu chorych [10,11,12], co istotnie może zmieniać rokowanie [13]. W przypadku niektórych białek heterogenność potwierdzono badaniami genetycznymi. Dzięki zastosowaniu porównawczej hybrydyzacji genomowej (ang. *comparative genomic hybridization*, CGH) o niskiej rozdzielczości, ujawniono różnice w liczbie kopii TP53 oraz ERBB2 [14–16]. Również najbardziej precyzyjne techniki, jak sekwencjonowanie nowej generacji (ang. *next generation sequencing*, NGS), potwierdzają heterogenność w różnych morfologicznie polach jednego guza [17–19]. Wyniki oceny nie są jednakże w pełni jednoznaczne, wg części autorów ogniska guza są wewnętrznie homogenne [20].

## Cel

Celem pracy była ocena ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL-3) w aspekcie heterogenności ognisk pierwotnych raka piersi oraz poszukiwanie potencjalnych związków z uznanymi czynnikami o znaczeniu rokowniczym.

## Materiały i metody

Na podstawie zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi RNN/12/16/KE przeprowadzono badania ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL3) u 41 pacjentek z rakiem piersi. Zgodnie z ogólnie przyjętymi standardami pooperacyjny materiał tkankowy (gruczoł piersiowy z guzem oraz węzły chłonne) utrwalano od 24 do 48 godzin w 10-procentowym roztworze zbuforowanej formaliny w temperaturze pokojowej. Podczas badania makroskopowego z guzów oraz węzłów chłonnych zostały pobrane wycinki, umieszczone następnie w procesorze tkankowym Excelsior™ AS ThermoFisher i procedowane według schematu: 8 godzin w wymienianych roztworach etanolu o rosnącym stężeniu (70–99%), 2 godziny w wymienianym roztworze ksylenu oraz 2 godziny w parafinie histologicznej o temperaturze 58°C, a następnie zatopione w bloczkach parafinowych. Materiał badany skrojono mikrotomem na skrawki o grubości 4–5 µm, a następnie wykorzystano do rutynowego wykonania preparatów barwionych hematoksyliną i eozyną, badań objętych aktualnie obowiązującymi protokołami (obecność receptorów estrogenowych ER, obecność receptorów progesteronowych PGR, Ki-67 oraz HER2) oraz dodatkowo badań immunohistochemicznych ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL-3) zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta przeciwciała i danymi zawartymi w tabeli 1.

Tabela 1. Szczegóły procedury badań immunohistochemicznych ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL3)

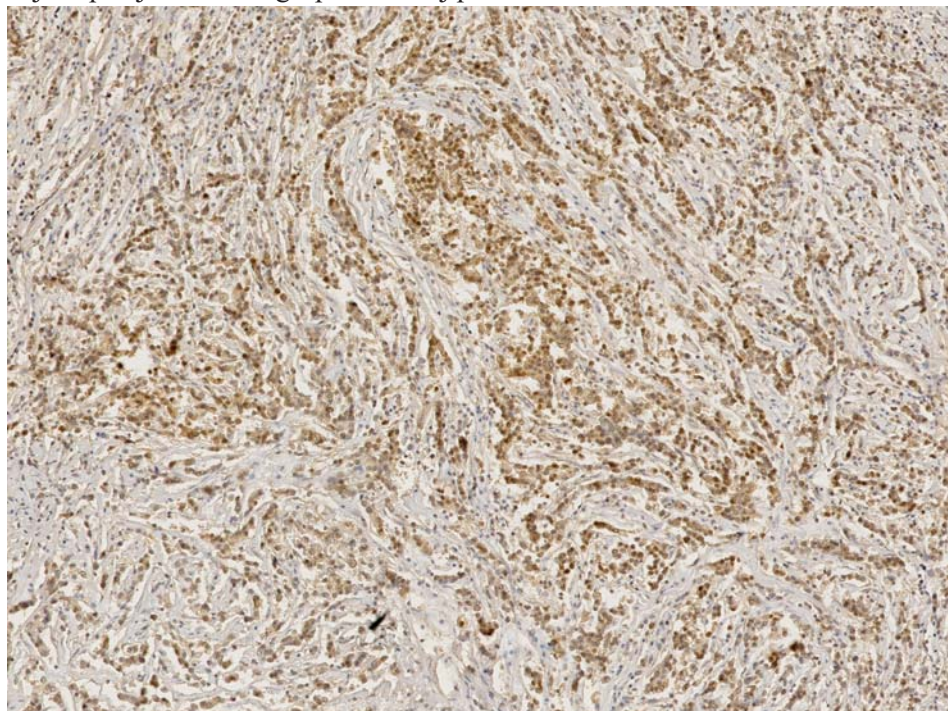
| Nazwa przeciwciała | Producent | Stężenie | Czas inkubacji | Sposób odsłonięcia antygeny | Sposób oceny preparatów                 |
|--------------------|-----------|----------|----------------|-----------------------------|-----------------------------------------|
| PRL-3 (PTP4A3)     | Abcam     | 1:300    | 30'            | PT link<br>pH 8,0<br>20'    | Ocena intensywności (skala: od 0 do +3) |

Przygotowane preparaty histologiczne odparafinowano z użyciem ksylenu, ponownie nawodniono z użyciem roztworu stężonego alkoholu etylowego oraz zastosowano procedurę cieplnego odmaskowania epitopu (HIER) przy użyciu aparatu PT Link (z użyciem odczynników Dako EnVision FLEX Target Retrieval Solution oraz Dako EnVision FLEX Wash Buffer) lub łaźni wodnej w zasadowym buforze. Następnie zablokowano działanie endogennych peroksydaz za pomocą Dako Peroxidase Blocking Reagent (10'). Na tak przygotowanych preparatach dokonano barwienia immunohistochemicznego za pomocą Dako Autostainer z użyciem przeciwciał pierwotnych (30'–60'), przeciwciał wtórnych (30') oraz barwieniu enzymatycznemu DAB (10'); zgodnie z instrukcjami producenta użyto odczynników systemu Dako EnVision FLEX.

Immunoekspresję PRL-3 oceniano w umownej skali czterostopniowej (0, +1, +2, +3) na podstawie intensywności barwy. Wyniki tej ewaluacji poddano analizie statystycznej, przeprowadzonej przy użyciu pakietu statystycznego STATISTICA 12.5 (StatSoft, Tulsa, OK, USA, [JKKP501E504328AR-F]) z zasobów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. W pierwszym etapie przeprowadzono test Shapiro-Wilka, w kolejnych etapach analizy wykorzystano testy nieparametryczne, dla oznaczenia istotności różnic statystycznych wykorzystano test Manna-Whitneya-Wilcoxon. Korelacje między parametrami obliczono korzystając ze współczynnika Pearsona ( $r$ ). Poziom istotności ( $p$ ) uznawano za statystycznie znamienne, gdy jego wartość wynosiła  $<0,05$ . Doboru narzędzi statystycznych dla celu pracy dokonano zgodnie z wytycznymi Casson, R. J. and Farmer, L. D. (2014).

## Wyniki

Ekspresję fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL-3) stwierdzono w 36 z 41 zbadanych guzów, tj. w 88% przypadków (fot. 1). Spektrum intensywności cytoplazmatycznej ekspresji PRL-3 w grupie badanej przedstawia tabela 2.



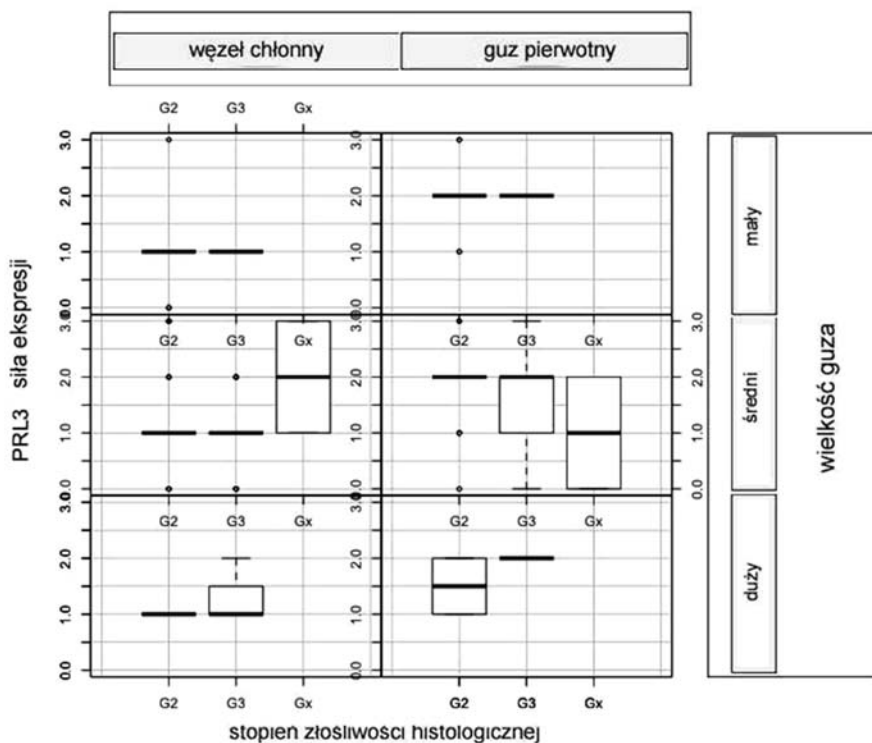
Fot. 1. Ekspresja fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL-3) w ognisku pierwotnym raka piersi oceniona na +2 w skali intensywności, chora lat 47, stopień złośliwości histologicznej nowotworu 2 (G2) (powiększenie 100x)

Tabela 2. Wyniki badań intensywności ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 (PRL-3) w ogniskach pierwotnych raka piersi.

| Siła ekspresji immunohistochemicznej PRL-3 | Guz pierwotny |
|--------------------------------------------|---------------|
| 0                                          | 5 (12%)       |
| 1                                          | 14 (34%)      |
| 2                                          | 16 (39%)      |
| 3                                          | 6 (15%)       |
| Suma:                                      | 41 (100%)     |

Badany rozkład nie okazał się zgodny z rozkładem normalnym. Dalsza analiza statystyczna ujawniła istnienie ujemnej korelacji pomiędzy poziomem białka PRL-3 w ogniskach pierwotnych a siłą ekspresji receptorów progesteronowych w komórkach raka piersi – współczynnik korelacji Pearsona -0,44 ( $p = 0,042$ ), nie stwierdzono natomiast istotnych statystycznie związków z innymi rutynowo ewaluowanymi czynnikami o znaczeniu prognostycznym lub predykcyjnym: ekspresją receptorów estrogenowych, HER2 ani Ki-67. W teście Manna-Whitneya-Wilcoxa nie wykazano istotnych statystycznie różnic w sile ekspresji PRL-3 pomiędzy guzem pierwotnym a przerzutem do węzła chłonnego ( $p = 0,67$ ). U 8 chorych (38%) ujawniono spadek ekspresji o intensywności z -1 do -3. Wzrost siły ekspresji odnotowano także u 8 pacjentek (38%), zawsze o +1 punkt. W 6 przypadkach (29%) stwierdzono zanik ekspresji, natomiast pojawienie się *de novo* w przerzucie – w 2 przypadkach (10%).

Analiza uzyskanych wyników w aspekcie uznanych czynników o znaczeniu rokowniczym, tj. histoklinicznych (stopień złośliwości histologicznej oraz zaawansowania klinicznego choroby) pozwoliła zauważyć obecność różnic pod względem poziomu badanego białka pomiędzy guzami o drugim i trzecim stopniu złośliwości histologicznej (G2 i G3). Różnice widoczne były w największym stopniu w guzach o skrajnej wielkości (pT1 i pT3–4). Mała liczebność grup nie upoważniła do prowadzenia dalszej analizy statystycznej. Przedstawione związki ilustruje rycina 1.



Ryc. 1. Siła ekspresji białka PRL-3 w guzie pierwotnym oraz w przerzucie w aspekcie danych histoklinicznych – stopnia złośliwości histologicznej nowotworu (grade, GX, G2, G3) oraz wielkości guza (guzy małe: poniżej 2 cm, guzy średnie: 2–5 cm, guzy duże: powyżej 5 cm). Wyniki prezentowane jako mediana (pogrubione linie poziome) ± rozrzut między 1-ym i 3-im kwartylem (prostokąty), zakres (minimum–maksimum, zwykłe linie poziome uzupełnione przerywanymi liniami pionowymi)

## Dyskusja

Największym problemem diagnostyki i terapii raków piersi wydaje się być złożoność ich biologii oraz brak spójności istniejących podziałów: morfologicznego, immunohistochemicznego i molekularnego-ekspresyjnego, a tym samym brak jednoznacznego obrazu zmian oraz możliwości precyzyjnego rokowania. Na znaczeniu coraz bardziej zyskują podziały molekularne, jednak najdokładniejsze narzędzia oceniające ekspresję genów (mRNA) nadal są stosunkowo mało dostępne i kosztowne. Wybór kompromisowych rozwiązań, stający się niekiedy

koniecznością w codziennej praktyce, może natomiast przyczyniać się do obniżenia skuteczności leczenia.

Zróźnicowanie komórek raka piersi oraz różnorodna ekspresja genów i obecność białek jest zjawiskiem udokumentowanym, podobnie jak jej wpływ na przebieg choroby nowotworowej w indywidualnych przypadkach. Rozpatrując heterogenność pojedynczego ogniska, stwierdza się różnice na poziomie ekspresji oraz, w mniejszym stopniu, na poziomie genetycznym. Nawet w przypadku oznaczenia wiodących markerów o znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym (np. ER, PR, HER2, p53) stwierdza się różnice wewnątrz guza w zależności od miejsca pobrania materiału [10]. Wskazuje to na potencjalny wpływ heterogenności na wybory terapeutyczne oraz konieczność ostrożnego podejścia klinicznego do uzyskiwanych wyników, w praktyce klinicznej znajdując odzwierciedlenie w rekomendacjach dotyczących adiuwantowego leczenia raka piersi [21–23]. Istnienie zjawiska heterogenności skłania część autorów do podważania zasadności użycia biopsji gruboigłowej do oceny białek predykcyjnych, gdyż w przypadku ewaluacji jedynie niewielkiej części masy guza istnieje istotne ryzyko błędnej oceny [24]. Heterogenność nie ogranicza się do uznanych biomarkerów raka piersi – współczesne badania wskazują kolejne białka, których zróźnicowaną ekspresję ujawnia się w ogniskach pierwotnych lub pomiędzy ogniskami raka piersi. Co najistotniejsze, podobnie jak w przypadku innych nowotworów, tak i w raku piersi przypuszcza się, że to właśnie te dodatkowe, mniej dotychczas rozpoznane czynniki mają największy wpływ na rokowanie w indywidualnych przypadkach [10,25,26].

Fosfataza tyrozynowa 4A3 – trzecia fosfataza regenerująca wątroby (PRL-3) – jest stosunkowo mało poznanym białkiem. Udokumentowano wyższą ekspresję tego białka w utkaniu raka piersi w porównaniu do zdrowej tkanki [8]. Sugeruje się zarówno heterogenność owej ekspresji, jak i możliwość jej wykorzystania w strategiach terapeutycznych. Główną fizjologiczną funkcją PRL-3 jest regulacja cyklu komórkowego oraz proliferacji poprzez regulację czynności kinazy Akt. Nadekspresję PRL-3 stwierdza się również w trakcie wzrostu i zróźnicowania komórek. Aktywność tego białka łączy się z nasileniem angiogenezy. Ponadto białko PRL-3 pełni funkcje regulacyjne w mechanizmach odpowiedzialnych za mobilność komórek nowotworowych [27]. Uważa się, że obecność nadekspresji PRL-3 wiąże się również z gorszym rokowaniem dla pacjentów [28]. W najnowszych badaniach nad rakiem wątrobowokomórkowym wskazano białko GATAD1 jako regulatora ekspresji PRL-3. Kolejną istotną obserwacją było stwierdzenie skutecznego hamowania proliferacji komórek raka wątroby dzięki zastosowaniu inhibitora BR1 oddziaływującego selektywnie z PRL-3. Doniesienie to zwróciło po raz kolejny uwagę na PRL-3 jako potencjalny cel terapeutyczny w praktyce klinicznej [14]. Podjęto już próby wykorzystania PRL-3 na modelach zwierzęcych. Dotychczas wykazano skuteczność zastosowania u myszy szczepionki immunizującej przeciwko komórkom raka piersi nadekspresją PRL-3

[15]. Niestety, mechanizm tego procesu nie został dotąd wystarczająco poznany, co uniemożliwia podjęcie badań u ludzi.

W dotychczas przeprowadzonych ewaluacjach obecność PRL-3 w raku piersi stwierdzano w ok. 62–75% natomiast nadekspresję (+2 lub +3) w 34,8% przypadków, z którymi to wartościami pozostają w zgodności wyniki prezentowanych badań. Wyższe poziomy ekspresji wiąże się w literaturze z gorszym rokowaniem. Tożsamą obserwację w zakresie wzrostu ekspresji PRL-3 w guzach wtórnych odnotowano również w rakach żołądka, jelita grubego oraz w przypadku raka wątroby [16]. W rakach piersi stwierdza się nie tylko podwyższoną ekspresję PRL-3 w stosunku do zdrowej piersi, ale i to, że jej poziom w ognisku pierwotnym koreluje z ryzykiem wystąpienia przerzutów [27]. W publikacjach szczególnie mocno podkreślane jest gorsze rokowanie, obecność angioinwazji oraz częstsza obecność przerzutów w węzłach chłonnych związana z nadekspresją PRL-3 [27,28]. Ponadto większy poziom białka PRL-3 ujawniano w przerzutach do węzłów chłonnych pachowych (95,2%) niż w guzie pierwotnym (70,7%) [17,29]. Niestety, białko PRL-3 nie jest jeszcze dostatecznie poznane pod względem heterogenności jego ekspresji w guzach pierwotnych i ogniskach przerzutowych – odnaleziono jedynie dwa badania poruszające ten aspekt. Radke i wsp. opisali ekspresję immunohistochemiczną w grupie 24 pacjentów, stosując trzystopniową skalę (0, +1, +2). Stwierdzono ekspresję w 22 przerzutach (91,7%) oraz w 16 guzach pierwotnych (66,7%), istotność statystyczną obserwacji potwierdzono testem chi-kwadrat dla prób sparowanych ( $p = 0,033$ ) [18]. Zbliżone wyniki uzyskał Hao i wsp. na grupie 63 pacjentów, wykorzystując zarówno ocenę ekspresji mRNA, jak i ocenę półilościową (0, +1, +2, +3) obecności białka z wykorzystaniem immunohistochemii. W guzach wtórnych wykazano metodami immunohistochemicznymi ekspresję PRL-3 na poziomie 95,2% (60 pozytywnych z 63 przypadków) oraz dodatnią ekspresję mRNA na poziomie 0,961 (+/- 0,110). W ogniskach pierwotnych wyniki były istotnie niższe, tj. 77,8% (49 pozytywnych z 63 przypadków,  $p = 0,003$ ) przy ocenie immunohistochemicznej oraz 0,842 (+/- 0,191;  $p = 0,022$ ) przy oznaczeniu ekspresji na poziomie mRNA. Dodatkowym atutem badania była wysoka zgodność między ekspresją na poziomie mRNA a ilością białka określaną za pomocą immunohistochemii sięgająca 91,1% oraz potwierdzenie wyższej ekspresji na poziomie mRNA u pacjentów z przerzutami do węzłów w stosunku do grupy bez przerzutów [17]. Występowanie heterogenności w przerzutach pod względem PRL-3 opisane zostało w przypadku kilku nowotworów. Xing ujawnił wyższy odsetek (76,2%) w przerzutach raków do wątroby w stosunku do guzów pierwotnych (19,4%) [19]. Również w raku jelita grubego została zaobserwowana heterogenność ekspresji PRL-3, która w przerzutach do węzłów chłonnych wynosiła 91,6%, natomiast w guzie pierwotnym jedynie 18,4%.

Stwierdzona w opisanych badaniach heterogenność ognisk pierwotnych raka piersi pod względem ekspresji PRL-3 wymaga dalszych badań ze szcze-

gólnym uwzględnieniem ewaluacji porównawczej guzów pierwotnych i ognisk przerzutowych. Już na obecnym etapie wydają się jednak niezwykle interesujące związki ekspresji PRL-3 z uznanymi czynnikami o znaczeniu rokowniczym, zaobserwowane w przytoczonych badaniach. Stopień złośliwości histologicznej (grade) oraz wielkość guza jako główny element oceny stopnia zaawansowania klinicznego (stage) są podstawowymi histoklinicznymi elementami ewaluacji raka piersi. Ujawnienie w prezentowanych badaniach tendencji zmian ekspresji białka PRL-3 w zależności od obu wymienionych czynników wskazuje na potrzebę poszerzenia badań w kierunku wpływu tej ekspresji na biologię guza i przebieg choroby.

Szczególnie interesująca wydaje się obecność odwrotnej korelacji (potwierdzona testem Pearsona) z siłą ekspresji receptora progesteronowego, będącego silnym czynnikiem predykcyjnym i prognostycznym.

Receptor progesteronowy (PR) należy, podobnie jak receptor estrogenowy (ER), do grupy receptorów hormonów steroidowych. Wyróżnia się dwie podstawowe jego izoformy: A oraz B (PRA i PRB). W przypadku raka piersi izoformy A i B współlistnieją i współdziałają. Izolowane pobudzenie izoform przynosi odmienne efekty, jednak uważa się, że są one od siebie wzajemnie zależne i działają synergistycznie *in vivo*. Wskazuje się także, że obie izoformy biorą udział w rozprzestrzenianiu się komórek raka piersi. Niestety, pomimo że stwierdza się gorsze rokowania u pacjentek z rakiem piersi o zróżnicowanej ekspresji PRA i PRB, rutynowo dostępne metody immunohistochemiczne nie umożliwiają odróżnienia izoform PR. Według europejskich wytycznych obecność ekspresji PR powyżej 20% komórek jest charakterystyczna dla podtypu podobnego do luminalnego A [30]. Podział na raki luminalne A i B nie w pełni odzwierciedla złożoną biologię raka sutka, a ocena dokonywana na podstawie wyników badań immunohistochemicznych nie jest w oczekiwany sposób zgodna z podziałem na podstawie ewaluacji ekspresji genów. Podkreśla się, że aktywność szlaku PR zależnego jest bardziej istotna niż ekspresja białek PR. Trwają także próby wykorzystania PR jako punktu uchwytu terapii celowanej, ale i tu podkreśla się, że zastosowanie terapii winno być ograniczone do grupy z aktywowanym szlakiem PR, a nie samą obecnością receptora progesteronowego [31].

Raki piersi PR+ mają lepsze rokowanie niż raki PR-, gdyż pierwotne pobudzenie PR powoduje również zwrotne hamowanie PR. Wzajemne relacje pomiędzy ER i PR są złożone. Pobudzenie receptora ER wyzwala ekspresję PR, jeśli receptor PR nie jest pobudzony, mamy do czynienia z rakiem luminalnym A i profilem ER+, PR+, jeśli natomiast na tym etapie dojdzie do pobudzenia PR, dochodzi od sprzężenia zwrotnego z ER i autoregulacyjnego zahamowania ekspresji PR oraz zwiększenia ekspresji czynników efektorowych dla PR – w efekcie profil immunohistochemiczny przedstawia się następująco: słabsza ekspresja ER, PR- oraz efektorowo wysoki indeks Ki-67. W rakach luminalnych B cały proces jest w swoistej równowadze relacji ER i PR.

Kluczem do zrozumienia biologicznych efektów oddziaływania PR jest prześledzenie mechanizmów molekularnych. Izolowana obecność PR jest rzadka [32–34]. Pojawienie się białka PR jest zależne od ER i występuje dopiero po aktywacji jego szlaku, jednak zjawisko to nie jest w pełni poznane. Działanie PR pozostaje w dużym stopniu synergiczne z ER i w wielu aspektach wzmacnia jego efekt, izolowana aktywacja bez ER daje niewspółmiernie słabszy efekt komórkowy. Pobudzenie samego PR nie wpływa także na zmiany ruchomości czy potencjału proliferacyjnego komórek raka piersi. Oddziaływanie PR jest w dużej mierze elementem wzmacniającym i przejściowym. Wskazuje na to aktywność czynników efektorowych w stosunku do PR. Jednym z najważniejszych i najlepiej poznanych mechanizmów tego typu jest parakrynnie działanie RANKL. Komórka sama nie ulega przyspieszonym podziałom, a jedynie na skutek pobudzenia PR wydziela do mikrośrodowiska RANKL, który pobudza proliferację komórek raka otaczających aktywowaną komórkę [35]. W aspekcie klasyfikacji molekularnej raki piersi z aktywnym szlakiem PR, najczęściej nieprezentujące immunohistochemicznie wysokich poziomów PR, należą do grupy luminalnych B [32,36].

Związki ekspresji PR i PRL-3 pozostają nieznane. Ujawniona w prezentowanych badaniach korelacja pomiędzy ekspresją obu tych białek potencjalnie wydaje się wiązać z mechanizmami proliferacji oraz mobilności komórek nowotworowych, jednak wysnucie jednoznacznych wniosków jest trudne z uwagi na nie w pełni poznaną rolę w tych procesach samego PR. Potencjalny udział białka PRL-3 w mechanizmach mobilności oraz lokalnego i ogólnoustrojowego rozsiewu komórek raka piersi pozostawałby także w zgodności ze stwierdzonym związkiem pomiędzy nadekspresją PRL-3 i gorszym rokowaniem [28] oraz obiecującymi wynikami badań nad lekami zmniejszającymi ryzyko powstania przerzutów z wykorzystaniem blokowania ścieżki PRL-3 [16].

Niezwykle interesujące w aspekcie prezentowanych wyników oceny ekspresji białka PRL-3 i ujawnionej korelacji ujemnej z PR wydają się związki ekspresji PRL-3 z poziomem SLUG+SNAIL w ogniskach pierwotnych raków piersi (publikacja w toku, korelacja dodatnia,  $p = 0,011$ ). O ile funkcja PR jest złożona, ekspresja SNAIL+SLUG jednoznacznie wiąże się z rozsiewem komórek nowotworowych. Istnieją także doniesienia literaturowe o pośrednim związku ekspresji PRL-3 z przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym [27]. Białka SNAIL (inaczej SNAI1) oraz SLUG (SNAI2) należą do wspólnej rodziny białek transkrypcyjnych nazywanych czynnikami transkrypcyjnymi palca cynkowego (ang. *zinc finger*) typ C2H2. Oba białka wykazują znaczne podobieństwo funkcjonalne, różni je czas aktywności w trakcie przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT). SNAIL1 głównie indukuje proces, natomiast SNAIL2 podtrzymuje fenotyp mezenchymalny [37,38]. W zdrowych tkankach u dorosłych ekspresja tych białek nie jest obecna. W procesie nowotworzenia białka SNAI 1 i 2 hamują ekspresję E-kadheryny i warunkuje przejście nabłonkowo-mezenchy-

malne. EMT umożliwia przerzutowanie oraz pozwala na przetrwanie komórek nowotworowych poza ogniskiem pierwotnym. Zmiana fenotypu na mezenchymalny z nadekspresją SNAI1 i SNAI2 wiąże się z gorszym rokowaniem w raku piersi. Stwierdzenie korelacji pomiędzy ekspresją PRL-3 w pierwotnych ogniskach raka piersi a czynnikami o uznanej roli w procesie przerzutowania wskazuje na potrzebę dalszej ewaluacji mechanizmów wiążących PR, PRL-3 oraz SNAI1+SLUG. Należy rozważyć wpływ EMT na fenotyp komórki, w tym ekspresję PRL-3, ER (oraz wtórnie PR), ewentualnie samą aktywność ER w komórce o fenotypie mezenchymalnym. Lepsze poznanie tego procesu może wpływać na poprawę zrozumienia złożonych mechanizmów przerzutowania.

## Wnioski

Wyniki przedstawionych badań ekspresji fosfatazy tyrozynowej 4A3 – PRL-3 – ukazują nieznane dotychczas aspekty heterogenności pierwotnych ognisk raka piersi oraz złożoną rolę białka PRL-3 w biologii nowotworu. Sugerują także istnienie nowego mechanizmu wpływu PRL-3 w procesach ruchomości, naciekania oraz przerzutowania komórek raka piersi poprzez oddziaływanie z receptorem progesteronowym i potencjalnie białkami SNAI1+SLUG.

## Bibliografia

1. Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. *Breast Cancer: Epidemiology and Etiology*. Cell Biochem Biophys. 2015; 72 (2): 333–338.
2. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, Stein KD, Alteri R, Jemal A. *Cancer treatment and survivorship statistics, 2016*. CA Cancer J Clin. 2016; 66 (4): 271–289.
3. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. *Breast cancer statistics, 2013*. CA Cancer J Clin. 2014; 64 (1): 52–62.
4. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Lønning PE, Børresen-Dale AL. *Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001; 98 (19): 10869–10874.
5. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning PE, Børresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. *Molecular portraits of human breast tumours*. Nature. 2000; 406 (6797): 747–752.
6. Voduc KD, Cheang MCU, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. *Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse*. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 1 April 2010; 28 (10): 1684–1691.

7. Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK. *Diseases of the breast: Fifth edition*. Wolters Kluwer Health Adis (ESP) 2014; <https://miami.pure.elsevier.com/en/publications/diseases-of-the-breast-fifth-edition> [dostęp: 1.09.2019].
8. Ustaalioglu BB, Bilici A, Barisik NO, Aliustaoglu M, Vardar FA, Yilmaz BE, Seker M, Gumus M. *Clinical importance of phosphatase of regenerating liver-3 expression in breast cancer*. Clin Transl Oncol Off Publ Fed Span Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex. 2012; 14 (12): 911–922.
9. Radke I, Götte M, Smollich M, Scharle N, Kiesel L, Wülfing P. *Expression of PRL-3 regulates proliferation and invasion of breast cancer cells in vitro*. Arch Gynecol Obstet. 2017; 296 (6): 1153–1160.
10. Nassar A, Radhakrishnan A, Cabrero IA, Cotsonis GA, Cohen C. *Intratumoral heterogeneity of immunohistochemical marker expression in breast carcinoma: a tissue microarray-based study*. Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM. 2010; 18 (5): 433–441.
11. Allison KH, Dintzis SM, Schmidt RA. *Frequency of HER2 heterogeneity by fluorescence in situ hybridization according to CAP expert panel recommendations: time for a new look at how to report heterogeneity*. Am J Clin Pathol. 2011; 136 (6): 864–871.
12. Andersson J, Linderholm B, Bergh J, Elmberger G. *HER-2/neu (c-erbB-2) evaluation in primary breast carcinoma by fluorescent in situ hybridization and immunohistochemistry with special focus on intratumor heterogeneity and comparison of invasive and in situ components*. Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM. 2004; 12 (1): 14–20.
13. Seol H, Lee HJ, Choi Y, Lee HE, Kim YJ, Kim JH, Kang E, Kim SW, Park SY. *Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance*. Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc. 2012; 25 (7): 938–948.
14. Geyer FC, Weigelt B, Natrajan R, Lambros MBK, de Biase D, Vatcheva R, Savage K, Mackay A, Ashworth A, Reis-Filho JS. *Molecular analysis reveals a genetic basis for the phenotypic diversity of metaplastic breast carcinomas*. J Pathol. 2010; 220 (5): 562–573.
15. Patani N, Barbashina V, Lambros MBK, Gauthier A, Mansour M, Mackay A, Reis-Filho JS. *Direct evidence for concurrent morphological and genetic heterogeneity in an invasive ductal carcinoma of triple-negative phenotype*. J Clin Pathol. 2011; 64 (9): 822–828.
16. Navin N, Krasnitz A, Rodgers L, Cook K, Meth J, Kendall J, Riggs M, Eberling Y, Troge J, Grubor V, Levy D, Lundin P, Månér S, Zetterber A, Hicks J, Wigler M. *Inferring tumor progression from genomic heterogeneity*. Genome Res. 2010; 20 (1): 68–80.
17. Verigos J, Magklara A. *Revealing the Complexity of Breast Cancer by Next Generation Sequencing*. Cancers. 2015; 7 (4): 2183–2200.
18. Aleskandarany MA, Vandenberghe ME, Marchiò C, Ellis IO, Sapino A, Rakha EA. *Tumour Heterogeneity of Breast Cancer: From Morphology to Personalised Medicine*. Pathobiol J Immunopathol Mol Cell Biol. 2018; 85 (1–2): 23–34.
19. Nik-Zainal S, Van Loo P, Wedge DC, et al. *The life history of 21 breast cancers*. Cell. 2012; 149 (5): 994–1007.

20. Turashvili G, Brogi E. *Tumor Heterogeneity in Breast Cancer*. Front Med. 2017; 4: 227.
21. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. *Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer*. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 1999; 17 (5): 1474–1481.
22. Bardou V-J, Arpino G, Elledge RM, Osborne CK, Clark GM. *Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases*. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2003; 21 (10): 1973–1979.
23. Hammond MEH, Hayes DF, Wolff AC, Mangu PB, Temin S. *American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer*. J Oncol Pract. 2010; 6 (4): 195–197.
24. Kurbasic E, Sjöström M, Krogh M, Folkesson E, Grabau D, Hansson K, Rydén L, Waldemarson S, James P, Niméus E. *Changes in glycoprotein expression between primary breast tumour and synchronous lymph node metastases or asynchronous distant metastases*. Clin Proteomics. 2015; 12 (1): 13.
25. Taran K, Kobos J, Sporny S. *Examination of expression of WT1 gene product and CD44 adhesive molecule in nephroblastoma histologic types*. Pol J Pathol. 2008; 59 (3): 177–182.
26. Taran K, Owecka A, Kobos J. *Prognostic importance of Cyclin E1 expression in neuroblastic tumors in children*. Pol J Pathol. 2013; 64 (2): 149–152.
27. Glöckner S, Buurman H, Kleeberger W, Lehmann U, Kreipe H. *Marked intratumoral heterogeneity of c-myc and cyclinD1 but not of c-erbB2 amplification in breast cancer*. Lab Invest J Tech Methods Pathol. 2002; 82 (10): 1419–1426.
28. Focke CM, Decker T, van Diest PJ. *Intratumoral heterogeneity of Ki67 expression in early breast cancers exceeds variability between individual tumours*. Histopathology. 2016; 69 (5): 849–861.
29. Hao R-T, Zhang X-H, Pan Y-F, Liu H-G, Xiang Y-Q, Wan L, Wu XL. *Prognostic and metastatic value of phosphatase of regenerating liver-3 in invasive breast cancer*. J Cancer Res Clin Oncol. 2010; 136 (9): 1349–1357.
30. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, Zalcrisson S, Cardoso F, ESMO Guidelines Committee. *Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 2015; 26 Suppl 5: v8–30.
31. Jonat W, Bachelot T, Ruhstaller T, Kuss I, Reimann U, Robertson JFR. *Randomized phase II study of lonaprisan as second-line therapy for progesterone receptor-positive breast cancer*. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 2013; 24(10): 2543–2548.
32. Knutson TP, Lange CA. *Tracking progesterone receptor-mediated actions in breast cancer*. Pharmacol Ther. 2014; 142 (1): 114–125.
33. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Paish EC, Powe DG, Gee J, Nicholson RI, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. *Biologic and clinical characteristics of breast cancer with single hormone receptor positive phenotype*. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2007; 25 (30): 4772–4778.

34. Briskin C. *Progesterone signalling in breast cancer: a neglected hormone coming into the limelight*. Nat Rev Cancer. 2013; 13 (6): 385–396.
35. Schramek D, Leibbrandt A, Sigl V, Kenner L, Pospisilik JA, Lee HJ, Hanada R, Joshi PA, Aliprantis A, Glimcher L, Pasparakis M, Khokha R, Ormandy CJ, Widschwendter M, Schett G, Penninger JM. *Osteoclast differentiation factor RANKL controls development of progesterin-driven mammary cancer*. Nature. 2010; 468 (7320): 98–102.
36. Lim E, Palmieri C, Tilley WD. *Renewed interest in the progesterone receptor in breast cancer*. Br J Cancer. 2016; 115 (8): 909–911.
37. Peinado H, Portillo F, Cano A. *Transcriptional regulation of cadherins during development and carcinogenesis*. Int J Dev Biol. 2004; 48 (5–6): 365–375.
38. Papiewska-Pająk I, Kowalska MA, Boncela J. *Expression and activity of SNAIL transcription factor during Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) in cancer progression*. Postepy Hig Med Doswiadczalnej Online. 2016; 70 (0): 968–980.

## **Evaluation of protein tyrosine phosphatase 4A3 (PRL-3) expression – the unknown aspects of breast cancer primary foci heterogeneity**

### **Abstract**

Introduction: Despite significant progress in the diagnosis and introduction of modern therapy, the results of treatment of patients with breast cancer are still far from expectations. This indicates the need to find out the causes and consequences of the heterogeneity of breast cancer and the potential clinical implications of such knowledge.

Materials and methods: Immunohistochemical assessment of 4A3 tyrosine phosphatase (PRL-3) expression in breast cancer and search for its potential relations to selected prognostic parameters.

Results: There was heterogeneity of primary breast cancer foci in terms of PRL-3 expression and relation to the established prognostic parameters. The inverse correlation of the strength of progesterone receptor expression and PRL-3, were revealed. There was no significant correlation in straight of expression between primary foci and synchronous metastasis to the lymph node.

Conclusions: The results of the presented research show previously unknown aspects of heterogeneity of primary breast cancer foci and the complex role of the PRL-3 protein in the biology of this cancer. There was shows need for further research of the role of PRL-3 in EMT.

Key words: breast cancer, PRL-3 protein, heterogeneity, metastases



Małgorzata Kalemba-Drożdż [ORCID: 0000-0002-7017-3279]

Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Zakład Biochemii

## **CZY RODZAJ STOSOWANEJ DIETY: WEGAŃSKA I WEGETARIAŃSKA LUB TRADYCYJNA, NIEWYKLUCZAJĄCA MIĘSA, WPŁYWA NA ZAWARTOŚĆ METALI CIĘŻKICH, DIOKSYN I POLICHLOROWANYCH BIFENYLI W MLEKU KOBIECYM? BADANIE WSTĘPNE\***

Adres korespondencyjny:

Małgorzata Kalemba-Drożdż, Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Zakład Biochemii, ul. Gustawa Herlinga-Grudzińskiego 1,  
30-705 Kraków, tel.: +48 12 252 45 05, e-mail: mkalemba-drozd@afm.edu.pl

### **Streszczenie**

Wstęp: Zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi, dioksynami i polichlorowanymi bifenylami (PCB) jest poważnym problemem ekologicznym oraz zdrowotnym, ponieważ m.in. wraz z pokarmem trafiają one do naszego organizmu. Metale i dioksyny mogą ulegać bioakumulacji i biomagnifikacji, zatem teoretycznie mniejszy poziom toksyn w organizmie powinien charakteryzować osoby stosujące dietę wegańską, czyli wykluczającą produkty pochodzenia zwierzęcego.

Materiał i metody: W badaniu analizowano zawartość metali ciężkich: arsenu (As), baru (Ba), chromu (Cr), cynku (Zn), kadmu (Cd), kobaltu (Co), miedzi (Cu), niklu (Ni), ołowiu (Pb) i rtęci (Hg) oraz dioksyn i polichlorowanych bifenyli w mleku 34 kobiet w zależności od stosowanej przez nie diety (tradycyjnej lub wykluczającej mięso). Stężenie

---

\* Praca finansowana z Działalności Statutowej Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego WZiNM/DS/2/2014. Podczas realizacji badania nie wystąpił żaden konflikt interesów.

metali w mleku oznaczono metodą spektrometrii masowej, natomiast stężenie dioksyn i PCB – metodą chromatografii gazowej.

**Wyniki:** Stwierdzono, że w części próbek zawartość arsenu, baru, chromu, niklu, ołowiu i rtęci przekroczyła dopuszczalne stężenia. Wyższe stężenie miedzi i chromu charakteryzowało próbki pochodzące od kobiet stosujących dietę tradycyjną, natomiast w mleku kobiet na diecie roślinnej występowało wyższe stężenie rtęci. Wiosną w pobieranych próbkach mleka występował wyższy niż jesienią poziom metali ciężkich. Stężenie dioksyn i polichlorowanych bifenyli nie przekroczyło dopuszczalnych wartości.

**Wnioski:** Na podstawie analizowanych danych nie stwierdzono jednoznacznie pozytywnego lub negatywnego wpływu diety wegańskiej i wegetariańskiej – w porównaniu do diety tradycyjnej – na stężenie metali ciężkich, dioksyn i PCB w mleku kobiecym.

**Słowa kluczowe:** metale ciężkie, dioksyny, mleko kobiece, zanieczyszczenia środowiska

## Wprowadzenie

Żyjemy w epoce antropocenu. Środowisko naturalne zostało nieodwracalnie zmienione przez człowieka, a zmiany te obejmują niestety głównie zniszczenia oraz wciąż narastające zanieczyszczenia wód, gleby i powietrza. Wielopierścieniowe węglowodory, dioksyny, polichlorowane bifenyle (PCB) oraz metale ciężkie, które wprowadzamy do otoczenia, zatruwają również nasze własne organizmy. Zanieczyszczenia wraz z wodą są pobierane z gleby przez rośliny, które następnie z wodą i pokarmem trafiają do organizmów zwierzęcych, a ponadto ulegają bioakumulacji i biomagnifikacji w kolejnych ogniwach łańcuchów pokarmowych, na których szczyście często znajduje się człowiek. Z zagrożeń dietetycznych dla ludzi analizie należy poddać produkty pochodzenia zwierzęcego, szczególnie ryby (również słodkowodne) i owoce morza, zwierzęta hodowlane karmione mączką rybną – ze względu na silną akumulację metali ciężkich i dioksyn w organizmach wodnych [1,2] – a także podroby [3]. Jednakże niektóre rośliny wykazują również zdolność akumulowania metali [4], a ponadto pestycydy stosowane w rolnictwie stanowią poważne źródło metali ciężkich, dioksyn i PCB w środowisku [5–7]. Jednocześnie flawonoidy i przeciwutleniacze obecne w roślinach wykazują działanie ochronne przeciwko zniszczeniom wywołanym przez metale ciężkie [8,9].

Celem pracy było zbadanie, czy poziom metali ciężkich, dioksyn i polichlorowanych bifenyli obecnych w mleku kobiecym jest zależny od stosowanej diety wegańskiej lub tradycyjnej. Ze względu na fakt, iż metale ciężkie i dioksyny mogą ulegać bioakumulacji i biomagnifikacji, wysunięto hipotezę, że niższy poziom badanych toksyn charakteryzuje osoby stosujące dietę wegańską, czyli wykluczającą produkty pochodzenia zwierzęcego niż osoby, które spożywają mięso, ryby, jajka i inne odzwierzęce produkty żywnościowe.

### *Toksyny antropogeniczne*

Arsen (As) jest uwalniany z rud podczas produkcji miedzi, ołowiu i cynku, podczas spalania węgla oraz w trakcie produkcji pestycydów. Jego związki nieorganiczne mogą dostać się do organizmu poprzez wdychanie pyłów, picie skażonej wody oraz w wyniku kontaktu ziemi lub skażonej wody ze skórą. Metal ten ulega akumulacji w mięsie ryb oraz w ryżu. Arsen blokuje reszty siarkowe w białkach enzymatycznych, wykazuje działanie genotoksyczne i kancerogenne [10,11]. Z organizmu człowieka usuwany jest z moczem, gdzie wykrywa się go w stężeniu 0,013–0,25 mg/l [12].

Bar (Ba) stosowany jest w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym. W medycynie służy jako środek kontrastujący w badaniu układu pokarmowego. Nierozpuszczalne sole baru, np. siarczan baru, są uznawane za nietoksyczne. Z kolei rozpuszczalne i jednocześnie toksyczne sole baru to m.in.: chlorek baru, azotan(V) baru, chloran(V) baru, octan baru i węglan baru, a narażenie na nie występuje w przemyśle metalurgicznym i przy użyciu pestycydów [13]. Toksyczność tego metalu wynika głównie z wypierania jonów potasu i wytrącania anionów siarczanowych [14].

Chrom (Cr) na +3 stopniu utlenienia jest uznawany za pierwiastek niezbędny dla zdrowia, który wchodzi w skład chromoduliny, tj. tetrapeptydu uczestniczącego w wiązaniu insuliny do receptora insulinowego. Jednakże chrom na +6 stopniu utlenienia wykazuje właściwości toksyczne i rakotwórcze, ponieważ łatwo przenika przez błony komórkowe i może dotrzeć do jądra komórkowego. Metal ten jest jednym z najpowszechniej występujących zanieczyszczeń środowiska, szczególnie wód [15,16].

Kobalt (Co) to mikroelement występujący w organizmie w postaci witaminy B12 (kobalaminy). Kobalt nieorganiczny jest powszechny w środowisku: w glebie, powietrzu i żywności; stosuje się go także w przemyśle metalurgicznym i ceramicznym, a w medycynie służy do powlekania protez i endoprotez. Zagrożenie kobaltem wynika głównie z ekspozycji wziewnej, a nadmierne spożycie nieorganicznego kobaltu może prowadzić do rozwoju kardiomiopatii [17].

Kadm (Cd) występuje w rudach cynku i jest wykorzystywany w przemyśle do produkcji elektrod akumulatorowych oraz jako barwnik. Wchłaniany jest drogą oddechową lub pokarmową, szczególnie z owocami morza i podrobami, a także z dymem tytoniowym [1,18]. Akumuluje się w wątrobie i w nerkach kompleksowany przez metalotioneiny. Kadm eliminowany jest bardzo powoli, a jego czas półtrwania w organizmie wynosi ok. 16 lat [19]. Jest silnie toksyczny i zaburza metabolizm: żelaza, cynku, miedzi, wapnia, magnezu i seleniu. Zwiększa ryzyko raka piersi, macicy i prostaty.

Miedź (Cu) należy do niezbędnych mikroelementów. Transportowana jest przez albuminę, a magazynowana przez wątrobową ceruloplazminę. Jest kofaktorem licznych enzymów, m.in.: hydroksylazy lizylowej, oksydazy cytochromu

c, dysmutazy ponadtlenkowej i tyrozynazy. Nadmiar miedzi usuwany jest z żółcią. Zaburzenia równowagi między jej pobieraniem a wydalaniem mogą spowodować jednak zapalenie wątroby, martwicę nerek i neurodegenerację [20].

Nikiel (Ni) wchłaniany jest przede wszystkim z wodą. Metal ten wywołuje często alergię typu IV oraz może działać neurotoksycznie i rakotwórczo [21].

Rtęć (Hg) szybko ulega akumulacji w organach wewnętrznych, m.in. w nerkach i mózgu nawet na dziesiątki lat. Ekspozycja na nią może uszkodzić układ nerwowy, wydaliniczy i immunologiczny [22]. Rtęć występuje w postaci metalicznej w związkach nieorganicznych i organicznych. W żywności w wysokich stężeniach pojawia się szczególnie w owocach morza.

Ołów (Pb) wchłaniany jest przez przewód pokarmowy i układ oddechowy, w mniejszym stopniu również przez skórę. Przenika przez łożysko i w dużej ilości znajdować się może w mleku matki. U dorosłych w przewodzie pokarmowym wchłaniane jest 10% ołowiu obecnego w żywności, a u dzieci odsetek ten sięga nawet 50%. Wchłanianie ołowiu w jelitach zmniejsza się w obecności wapnia i fosforu w diecie, a zwiększa w obecności witaminy C. Akumulacja ołowiu doprowadza do uszkodzenia układu nerwowego i odpornościowego, szpiku kostnego, nerek oraz skóry, a także wywiera efekt mutageny i teratogeny [2,9,22].

Dioksynami nazywa się polichlorowane dibenzo-para-dioksyny (PCDD) i polichlorowane dibenzofurany (PCDF). Polichlorowane bifenyly (PCB) wykazują podobne działanie do dioksyn, stąd ze względu na efekt biologiczny klasyfikuje się je razem z dioksynami, pomimo braku atomów tlenu w ich strukturze chemicznej [5,6,23]. Dioksyny i związki dioksynopodobne były obecne w środkach ochrony roślin stosowanych w latach 80. XX wieku. Powstają m.in. podczas produkcji tworzyw sztucznych, przetapiania metali czy bielenia papieru, a także w trakcie niekontrolowanego spalania odpadów [5,6,23]. Są słabo rozpuszczalne w wodzie, za to dobrze rozpuszczają się w tłuszczach. Mają długi okres półtrwania i ulegają bioakumulacji, szczególnie w tkance tłuszczowej zwierząt [5]. Ekspozycja na dioksyny i PCB może prowadzić do: zaburzeń układu endokrynnego, m.in. modyfikując stężenia niektórych hormonów [6]; opóźnienia rozwoju układu nerwowego [23]; zaburzeń odporności, a także do mutacji i kancerogenezy [24], głównie poprzez oddziaływanie na receptory aryłowe. Wykazano również, że dioksyny mogą wiązać się do receptorów tyroidowych, estrogenowych i androgenowych, a także hamować syntezę serotoniny [25]. Działanie hepatotoksyczne może objawić się jako następstwo zmian ekspresji genów i aktywności niektórych enzymów, a także na skutek uszkodzeń wywołanych reaktywnymi formami tlenu, generowanymi podczas I fazy detoksyfikacji tych związków w reakcjach chemicznych z udziałem cytochromu P450 [26].

Podsumowując, negatywne oddziaływanie metali ciężkich i dioksyn na organizm człowieka obejmuje: indukcję stresu oksydacyjnego, zmiany przekazywania wewnątrzkomórkowego, zaburzenia endokrynnego, uszkodzenia narządów wewnętrznych, w tym czynności układu krążenia, oddechowego, wydaliniczego,

nerwowego i rozrodczego, a także kancerogenezę [9,18]. Toksyny obecne w organizmie kobiety w czasie laktacji mogą zatruć mleko matki i w efekcie organizm niemowlęcia.

## **Material i metody**

### ***Grupa badana***

Projekt jako badanie pilotażowe objął 34 kobiety między 21 a 41 r.ż. będące w czasie laktacji. 16 uczestniczek stosowało dietę tradycyjną, która obejmowała produkty pochodzenia zwierzęcego, natomiast 18 kobiet stosowało dietę wykluczającą mięso, z czego 6 stosowało dietę wegetariańską i oprócz pokarmów pochodzenia roślinnego spożywało nabiał i okazjonalnie jajka, zaś 12 kobiet było na diecie czysto roślinnej (wegańskiej) przynajmniej przez trzy lata przed badaniem. Rekrutacja uczestniczek odbyła się drogą internetową przez ogłoszenie na stronie „Trochę Inna Cukiernia” (<http://pinkcake.blox.pl>) – blogu o tematyce kulinarnej odwiedzanym przez osoby na diecie wegańskiej. Uczestniczki zostały poinformowane o celu badania i wyraziły pisemną zgodę na udział w nim. Następnie wypełniły ankietę dotyczącą ich stylu życia i miejsca zamieszkania, wywiadu położniczego i sytuacji zdrowotnej, a także ankietę żywieniową. Na koniec pobrały próbkę swojego mleka między 1 a 10 tygodniem laktacji.

### ***Zawartość metali ciężkich w mleku***

Pobrane próbki mleka o objętości 10–50 ml przechowywano w -80°C do czasu wykonania oznaczeń. Badanie zawartości metali ciężkich w mleku zostało przeprowadzone w Akredytowanym Laboratorium Hydrogeochemicznym w Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie przy użyciu metody spektrometrii masowej z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-MS) w spektrometrze ELAN 6100 (Perkin Elmer, USA). Analizowano zawartość arsenu, baru, chromu, cynku, kadmu, kobaltu, miedzi, niklu, ołowiu i rtęci zgodnie z normą PN-EN ISO 17294-2:2016-11.

### ***Zawartość dioksyn i polichlorowanych bifenyli w mleku***

Badanie zawartości dioksyn i polichlorowanych bifenyli (PCB) w mleku kobiecym przeprowadzono w próbkach o objętości 1 litra, które zostały dostarczone przez cztery uczestniczki badania pochodzące z Krakowa i podkrakowskich miejscowości. Do czasu analizy próbki przechowywano w -20°C w szklanych pojemnikach. Dwie z kobiet, które dostarczyły próbki do tego badania, stosowały dietę wegańską przez minimum trzy lata, zaś dwie kolejne dietę tradycyjną zawierającą nabiał, jajka i mięso. Oznaczenie wykonano w Akredytowanym

Laboratorium Analiz Śladowych Politechniki Krakowskiej metodą chromatografii gazowej i tandemowej spektrometrii masowej GC-MS/MS, zgodnej z rozporządzeniem UE 709/2014, według procedury P/01 wydanie 03 z dnia 11.03.2010 roku (certyfikat akredytacji AB 749). Średnią zawartość tłuszczu w mleku kobiecym przyjęto na poziomie 3%.

Analizowano kongenery dioksyn: 2,3,7,8-TCDD; 1,2,3,7,8-PeCDD; 1,2,3,4,7,8-HxCDD; 1,2,3,6,7,8-HxCDD; 1,2,3,7,8,9-HxCDD; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD; OCDD; 2,3,7,8-TCDF; 1,2,3,7,8-PeCDF; 2,3,4,7,8-PeCDF; 1,2,3,4,7,8-HxCDF; 1,2,3,6,7,8-HxCDF; 1,2,3,7,8,9-HxCDF; 2,3,4,6,7,8-HxCDF; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF; OCDF. Niepewność oznaczenia pojedynczego kongeneru szacowano na 26%. Analizie poddano kongenery PCB dioksynopodobnych (dl-PCB): PCB77, PCB81, PCB105, PCB114, PCB118, PCB123, PCB126, PCB156, PCB157, PCB167, PCB169 i PCB189. Niepewność ich oznaczenia oszacowano na 22%. Badano również zawartość kongenerów PCB o właściwościach niepodobnych do dioksyn (ndl-PCB): PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153, PCB180 z niepewnością oznaczenia poszczególnych kongenerów szacowaną na 22%. Wyniki przedstawiono zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (UE) nr 1259/2011 z dn. 2 grudnia 2011 r. zmieniającym rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów dioksyn, polichlorowanych bifenyli o działaniu podobnym do dioksyn i polichlorowanych bifenyli o działaniu niepodobnym do dioksyn w środkach spożywczych jako górny limit, a jako jednostkę przyjęto równoważniki toksyczności (TEQ).

### *Analiza statystyczna danych*

Analizę statystyczną zebranych danych przeprowadzono przy pomocy programu Statistica 12 (StatSoft, Polska). Analizy wariancji dokonano testem ANOVA, który został poparty analizą post hoc Tukeya (HSD). Siłę związku między zmiennymi oceniano przy pomocy ogólnego testu F oraz procedury Fishera. Aby ustalić istnienie współzależności pomiędzy mierzonymi parametrami, korzystano z regresji liniowej. Siła związku między zmiennymi została oceniona przez obliczenie współczynników korelacji Pearsona. Za istotne statystycznie uznawano wyniki testów, których prawdopodobieństwo błędu I rodzaju było mniejsze niż 0,05.

### **Wyniki**

Po wstępnej analizie statystycznej, w której nie wykazano istotnych różnic między grupą wegańską a wegetariańską, zdecydowano się na połączenie puli wyników dla diet wykluczających mięso, co pozwoliło na wyrównanie liczebności grup poddanych analizie.

Statystyki podstawowe dla wyników pomiaru stężeń metali ciężkich w mleku kobiecym zebrano w tabeli 1.

Tabela 1. Zawartość metali ciężkich w mleku kobiecym (N = 34)

| Metale oznaczane<br>w mleku<br>kobiecym | Średnia | Minimum | Maksimum | Odch.<br>St. | Wartość<br>normowa<br>w mleku<br>ssaczym | Liczba<br>próbek<br>powyżej<br>normy | Norma<br>w wodzie |
|-----------------------------------------|---------|---------|----------|--------------|------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|
| As [µg/kg]                              | 43,7    | 0,7     | 456,1    | 75,4         | <100                                     | 3                                    | <50               |
| Ba [µg/kg]                              | 51,4    | 1,7     | 463,4    | 84,0         | –                                        | 3                                    | <100              |
| Cd [µg/kg]                              | 0,5     | 0,1     | 2,6      | 0,6          | <10                                      | 0                                    | <5                |
| Co [µg/kg]                              | 10,9    | 1,6     | 62,5     | 12,3         | 0,5–7*                                   | 5                                    | –                 |
| Cr [µg/kg]                              | 40,1    | 2,8     | 245,2    | 48,4         | –                                        | 1                                    | <50               |
| Cu [mg/kg]                              | 0,2     | 0,06    | 0,4      | 0,2          | 0,2–0,3*                                 | 4                                    | –                 |
| Hg [µg/kg]                              | 4,4     | 0,0     | 68,5     | 9,1          | <10                                      | 0                                    | –                 |
| Ni [µg/kg]                              | 108,6   | 4,4     | 1511,7   | 256,9        | –                                        | 7                                    | <50               |
| Pb [µg/kg]                              | 2,3     | 0,1     | 10,8     | 2,8          | <20                                      | 1                                    | <10               |
| Zn [mg/kg]                              | 0,818   | 0,139   | 7,122    | 1,011        | 1,7–5*                                   | 7                                    | –                 |

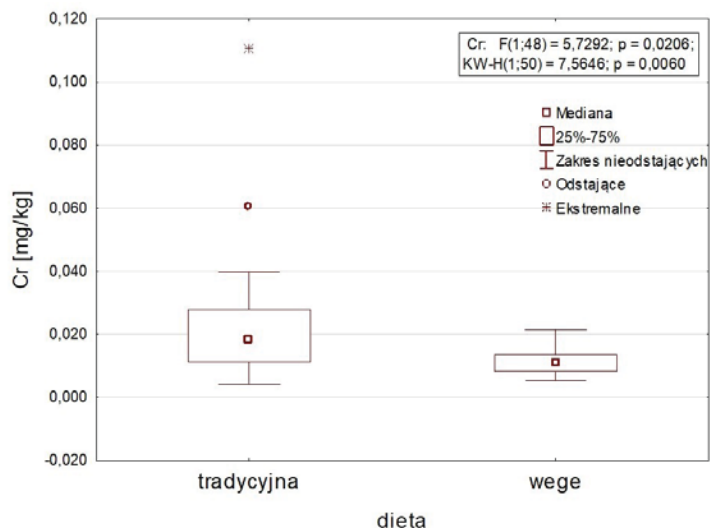
Odch. St. – odchylenie standardowe. Norma – dopuszczalne maksymalne stężenie

\* stężenie typowe dla mleka ssaków [27,28]

Stężenia metali ciężkich w mleku kobiecym były ze sobą istotnie skorelowane ( $p < 0,05$ ). Stwierdzono występowanie dodatniej korelacji znamiennej statystycznie: między stężeniem arsenu a stężeniami kadmu, chromu i rtęci oraz między stężeniem baru a stężeniami kadmu, chromu, rtęci, niklu i ołowiu. Stężenie kadmu korelowało ponadto ze stężeniem chromu, rtęci, niklu i ołowiu.

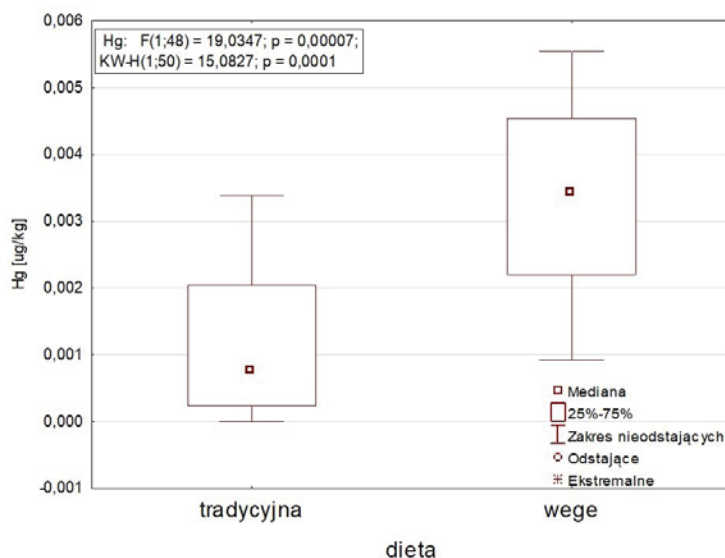
Ustalono, że w badanej grupie nie występowała istotna statystycznie zależność między stężeniem metali w mleku ani od czasu trwania laktacji, ani od wieku kobiety.

Zaobserwowano, że w mleku pochodzącym od kobiet stosujących dietę tradycyjną stężenie miedzi ( $p = 0,025$ ) oraz chromu ( $p = 0,037$ , rycina 1) było istotnie wyższe niż w mleku pochodzącym od weganek i wegetarianek.



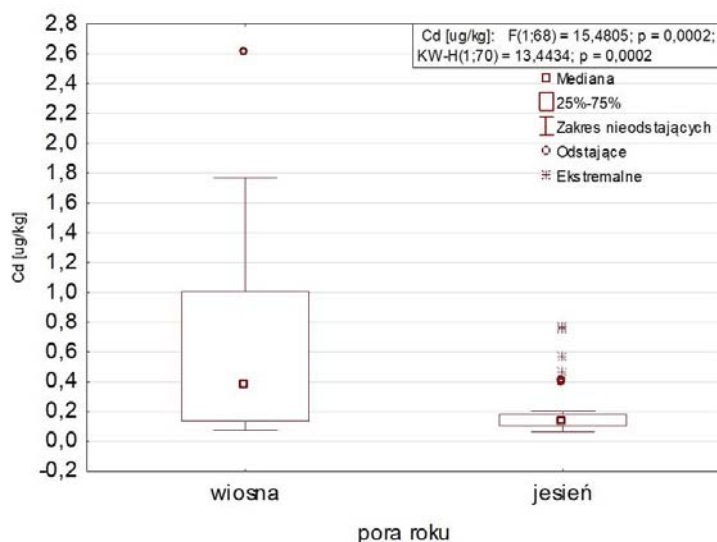
Rycina 1. Zależność zawartości chromu w mleku kobiecym (mierzonej przy pomocy spektrometrii masowej) w zależności od stosowanej przez kobiety diety: tradycyjnej lub wegetariańskiej/wegańskiej (wege)

Natomiast u kobiet stosujących diety wykluczające mięso stwierdzono wyższe stężenie rtęci ( $p = 0,003$ , rycina 2).



Rycina 2. Zależność zawartości rtęci w mleku kobiecym (mierzonej przy pomocy spektrometrii masowej) w zależności od stosowanej przez kobiety diety: tradycyjnej lub wegetariańskiej/wegańskiej (wege)

Stwierdzono również, że istotnie wyższe stężenia metali ciężkich występowały w próbkach mleka pobieranych od lipca do października niż w próbkach z okresu marzec–maj. Zależności te stwierdzono dla: baru –  $p = 0,001$ ; kobaltu –  $p < 0,001$ ; chromu –  $p = 0,004$ ; miedzi –  $p = 0,017$ ; rtęci –  $p < 0,001$ ; niklu –  $p < 0,001$ ; ołowiu –  $p = 0,004$  oraz kadmu –  $p < 0,001$  (rycina 3).



Rycina 3. Zależność zawartości kadm w mleku kobiecym (mierzonej przy pomocy spektrometrii masowej) w zależności od pory roku w której pobrano próbkę

Zawartość polichlorowanych bifenyli i dioksyn w mleku kobiecym przedstawiono w tabeli 2 oraz w tabeli 3 (A, B, C, D).

Tabela 2. Zawartość sumy dioksyn, polichlorowanych bifenyli dioksynopodobnych (dl-PCB) oraz polichlorowanych bifenyli o właściwościach niepodobnych do dioksyn (ndl-PCB) w mleku czterech kobiet z Małopolski wyrażona jako równoważniki toksyczności TEQ [pg/g tłuszczu]

| Oznaczenie                                               | Mleko 1, dieta tradycyjna, duże miasto | Mleko 2, dieta tradycyjna, mała miejscowość | Mleko 3, dieta wegańska, duże miasto | Mleko 4, dieta wegańska, mała miejscowość |
|----------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------|
| Suma dioksyn WHO-PCDD/F-TEQ [pg/g tłuszczu]              | 0,72 ± 0,19                            | 7,0 ± 1,80                                  | 0,31 ± 0,08                          | 0,91 ± 0,24                               |
| Suma dioksyn i dl-PCB WHO-PCDD/F-PCB-TEQ [pg/g tłuszczu] | 1,30 ± 0,32                            | 8,0 ± 2,00                                  | 0,35 ± 0,09                          | 1,10 ± 0,27                               |
| ndl-PCB [ng/g tłuszczu]                                  | 12,00 ± 2,70                           | 35,0 ± 7,60                                 | 0,35 ± 0,08                          | 3,10 ± 0,67                               |

Tabela 3. Szczegółowe wyniki oznaczenia zawartości dioksyn i polichlorowanych bifenyli w próbkach mleka od kobiet z Małopolski wyrażona jako równoważniki toksyczności TEQ [pg/g tłuszczu]

dl-PCB – polichlorowane bifenyle dioksynopodobne; ndl-PCB – polichlorowane bifenyle o właściwościach niepodobnych do dioksyn; LOQ – Limit of Quantification (dolna granica oznaczalności); TEQ – Toxic Equivalent (równoważnik toksyczności); WHO-TEF – World Health Organisation-Toxic Equivalency Factor (równoważnik toksyczności WHO)

Tabela 3A. Próbką mleka 1 od kobiety na diecie tradycyjnej pochodzącej z dużego miasta

| Oznaczany kongener           | WHO-TEF | Dolna granica oznaczalności LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|------------------------------|---------|---------------------------------|---------------------------|---------------------|
| <b>Dioksyne</b>              |         | 0,231                           |                           | 0,72                |
| 2,3,7,8-TCDD                 | 1       | 0,045                           | n.o.                      | 0,045               |
| 1,2,3,7,8-PeCDD              | 1       | 0,053                           | 0,15                      | 0,15                |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDD            | 0,1     | 0,084                           | n.o.                      | 0,0084              |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD            | 0,1     | 0,039                           | 0,49                      | 0,049               |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDD            | 0,1     | 0,060                           | 0,09                      | 0,009               |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD          | 0,01    | 0,069                           | 1                         | 0,01                |
| OCDD                         | 0,0003  | 0,110                           | 9,6                       | 0,0029              |
| 2,3,7,8-TCDF                 | 0,1     | 0,069                           | 0,45                      | 0,045               |
| 1,2,3,7,8-PeCDF              | 0,03    | 0,094                           | 0,5                       | 0,015               |
| 2,3,4,7,8-PeCDF              | 0,3     | 0,110                           | 0,83                      | 0,25                |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDF            | 0,1     | 0,230                           | 0,48                      | 0,048               |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDF            | 0,1     | 0,150                           | 0,39                      | 0,039               |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDF            | 0,1     | 0,140                           | n.o.                      | 0,014               |
| 2,3,4,6,7,8-HxCDF            | 0,1     | 0,130                           | 0,26                      | 0,026               |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF          | 0,01    | 0,240                           | 0,44                      | 0,0044              |
| 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF          | 0,01    | 0,520                           | 0,88                      | 0,0088              |
| OCDF                         | 0,0003  | 0,340                           | 1,6                       | 0,00048             |
| dl-PCB                       |         | 0,043                           |                           | 0,6                 |
| 3,3',4,4'-TCB (PCB77)        | 0,0001  | 0,380                           | 5,6                       | 0,00056             |
| 3,3',4,4',5-PeCB (PCB126)    | 0,1     | 0,300                           | 4,5                       | 0,45                |
| 3,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB169) | 0,03    | 0,430                           | 3,4                       | 0,102               |
| 3,4,4',5-TCB (PCB81)         | 0,0003  | 0,650                           | n.o.                      | 0,0002              |
| 2,3,3',4,4'-PeCB (PCB105)    | 0,00003 | 0,510                           | 234                       | 0,00702             |
| 2,3,4,4',5-PeCB (PCB114)     | 0,00003 | 0,620                           | 30                        | 0,0009              |
| 2,3',4,4',5-PeCB (PCB118)    | 0,00003 | 0,360                           | 1029                      | 0,03087             |

| Oznaczany kongener             | WHO-TEF         | Dolna granica oznaczalności<br>LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|--------------------------------|-----------------|------------------------------------|---------------------------|---------------------|
| 2',3,4,4',5-PeCB (PCB123)      | 0,00003         | 0,700                              | 13                        | 0,00039             |
| 2,3,3',4,4',5-HxCB (PCB156)    | 0,00003         | 0,470                              | 222                       | 0,00666             |
| 2,3,3',4,4',5'-HxCB (PCB157)   | 0,00003         | 0,610                              | 44                        | 0,00132             |
| 2,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB167)   | 0,00003         | 1,000                              | 88                        | 0,00264             |
| 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (PCB189) | 0,00003         | 0,910                              | 29                        | 0,00087             |
| <b>ndl-PCB</b>                 | [ng/g tłuszczu] | 0,00523                            | 12                        | [ng/g tłuszczu]     |
| PCB28                          |                 | 0,0024                             | 1,9                       |                     |
| PCB52                          |                 | 0,0012                             | 0,15                      |                     |
| PCB101                         |                 | 0,00046                            | 0,31                      |                     |
| PCB138                         |                 | 0,00019                            | 2,3                       |                     |
| PCB153                         |                 | 0,00058                            | 4,4                       |                     |
| PCB180                         |                 | 0,00047                            | 2,9                       |                     |

Tabela 3B. Próbkę mleka 2 od kobiety na diecie tradycyjnej pochodzącej z małej miejscowości

| Oznaczany kongener  | WHO-TEF | Dolna granica oznaczalności<br>LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|---------------------|---------|------------------------------------|---------------------------|---------------------|
| <b>Dioksyny</b>     |         | 0,772                              |                           | 7                   |
| 2,3,7,8-TCDD        | 1       | 0,19                               | n.o.                      | 0,19                |
| 1,2,3,7,8-PeCDD     | 1       | 0,18                               | 3,7                       | 3,7                 |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDD   | 0,1     | 0,26                               | n.o.                      | 0,026               |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD   | 0,1     | 0,12                               | 1,4                       | 0,14                |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDD   | 0,1     | 0,18                               | 1,6                       | 0,16                |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD | 0,01    | 0,18                               | 19                        | 0,19                |
| OCDD                | 0,0003  | 0,21                               | 81                        | 0,0243              |
| 2,3,7,8-TCDF        | 0,1     | 0,34                               | 0,63                      | 0,063               |
| 1,2,3,7,8-PeCDF     | 0,03    | 0,28                               | 0,4                       | 0,012               |
| 2,3,4,7,8-PeCDF     | 0,3     | 0,39                               | 3,9                       | 1,17                |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDF   | 0,1     | 0,59                               | 9,2                       | 0,92                |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDF   | 0,1     | 0,34                               | 1,8                       | 0,18                |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDF   | 0,1     | 0,36                               | n.o.                      | 0,014               |
| 2,3,4,6,7,8-HxCDF   | 0,1     | 0,40                               | 1,1                       | 0,11                |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF | 0,01    | 0,49                               | n.o.                      | 0,0049              |
| 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF | 0,01    | 0,87                               | 1,9                       | 0,019               |

| Oznaczany kongener             | WHO-TEF         | Dolna granica oznaczalności LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|--------------------------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------|
| OCDF                           | 0,0003          | 0,64                            | 2,7                       | 0,00081             |
| dl-PCB                         |                 | 0,104                           |                           | 1                   |
| 3,3',4,4'-TCB (PCB77)          | 0,0001          | 1,40                            | 11                        | 0,0011              |
| 3,3',4,4',5-PeCB (PCB126)      | 0,1             | 0,86                            | 6,8                       | 0,68                |
| 3,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB169)   | 0,03            | 0,60                            | 6,9                       | 0,207               |
| 3,4,4',5-TCB (PCB81)           | 0,0003          | 2,30                            | n.o.                      | 0,00069             |
| 2,3,3',4,4'-PeCB (PCB105)      | 0,00003         | 0,83                            | 499                       | 0,015               |
| 2,3,4,4',5-PeCB (PCB114)       | 0,00003         | 0,81                            | 74                        | 0,0022              |
| 2,3',4,4',5-PeCB (PCB118)      | 0,00003         | 48,00                           | 2403                      | 0,072               |
| 2',3,4,4',5-PeCB (PCB123)      | 0,00003         | 1,10                            | 15                        | 0,00045             |
| 2,3,3',4,4',5-HxCB (PCB156)    | 0,00003         | 0,58                            | 731                       | 0,022               |
| 2,3,3',4,4',5'-HxCB (PCB157)   | 0,00003         | 0,75                            | 142                       | 0,004               |
| 2,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB167)   | 0,00003         | 1,00                            | 240                       | 0,0072              |
| 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (PCB189) | 0,00003         | 0,96                            | 94                        | 0,00282             |
| <b>ndl-PCB</b>                 | [ng/g tłuszczu] | 0,0133                          | 35                        | [ng/g tłuszczu]     |
| PCB28                          |                 | 0,0096                          | 1,2                       |                     |
| PCB52                          |                 | 0,0016                          | 0,36                      |                     |
| PCB101                         |                 | 0,00067                         | 0,98                      |                     |
| PCB138                         |                 | 0,00026                         | 8                         |                     |
| PCB153                         |                 | 0,00068                         | 14                        |                     |
| PCB180                         |                 | 0,00051                         | 10                        |                     |

Tabela 3C. Próbkę mleka 3 od kobiety na diecie wegańskiej pochodzącej z dużego miasta

| Oznaczany kongener  | WHO-TEF | Dolna granica oznaczalności LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|---------------------|---------|---------------------------------|---------------------------|---------------------|
| <b>Dioksyny</b>     |         | 0,274                           |                           | 0,31                |
| 2,3,7,8-TCDD        | 1       | 0,062                           | n.o.                      | 0,062               |
| 1,2,3,7,8-PeCDD     | 1       | 0,059                           | n.o.                      | 0,059               |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDD   | 0,1     | 0,100                           | n.o.                      | 0,01                |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD   | 0,1     | 0,040                           | n.o.                      | 0,004               |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDD   | 0,1     | 0,066                           | n.o.                      | 0,0066              |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD | 0,01    | 0,064                           | 0,74                      | 0,0074              |

| Oznaczany kongener             | WHO-TEF         | Dolna granica oznaczalności LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|--------------------------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------|
| OCDD                           | 0,0003          | 0,079                           | 6,7                       | 0,0020              |
| 2,3,7,8-TCDF                   | 0,1             | 0,11                            | 0,26                      | 0,026               |
| 1,2,3,7,8-PeCDF                | 0,03            | 0,11                            | n.o.                      | 0,0033              |
| 2,3,4,7,8-PeCDF                | 0,3             | 0,14                            | 0,2                       | 0,060               |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDF              | 0,1             | 0,25                            | n.o.                      | 0,025               |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDF              | 0,1             | 0,16                            | n.o.                      | 0,016               |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDF              | 0,1             | 0,15                            | n.o.                      | 0,015               |
| 2,3,4,6,7,8-HxCDF              | 0,1             | 0,14                            | n.o.                      | 0,014               |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF            | 0,01            | 0,24                            | 0,27                      | 0,0027              |
| 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF            | 0,01            | 0,47                            | 0,54                      | 0,0054              |
| OCDF                           | 0,0003          | 0,24                            | n.o.                      | 0,000072            |
| dl-PCB                         |                 | 0,039                           |                           | 0,04                |
| 3,3',4,4'-TCB (PCB77)          | 0,0001          | 0,59                            | 4,6                       | 0,00046             |
| 3,3',4,4',5-PeCB (PCB126)      | 0,1             | 0,32                            | n.o.                      | 0,032               |
| 3,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB169)   | 0,03            | 0,21                            | n.o.                      | 0,0063              |
| 3,4,4',5-TCB (PCB81)           | 0,0003          | 0,90                            | n.o.                      | 0,00027             |
| 2,3,3',4,4'-PeCB (PCB105)      | 0,00003         | 0,32                            | 7,5                       | 0,000225            |
| 2,3,4,4',5-PeCB (PCB114)       | 0,00003         | 0,45                            | 1,4                       | 0,000042            |
| 2,3',4,4',5-PeCB (PCB118)      | 0,00003         | 0,23                            | 19                        | 0,00057             |
| 2',3,4,4',5-PeCB (PCB123)      | 0,00003         | 0,49                            | 1,9                       | 0,000057            |
| 2,3,3',4,4',5-HxCB (PCB156)    | 0,00003         | 0,24                            | 3,4                       | 0,000102            |
| 2,3,3',4,4',5'-HxCB (PCB157)   | 0,00003         | 0,29                            | 0,76                      | 0,0000228           |
| 2,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB167)   | 0,00003         | 0,49                            | 1,2                       | 0,000036            |
| 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (PCB189) | 0,00003         | 0,37                            | n.o.                      | 0,000011            |
| <b>ndl-PCB</b>                 | [ng/g tłuszczu] | 0,0015                          | 0,35                      | [ng/g tłuszczu]     |
| PCB28                          |                 | 0,00038                         | 0,14                      |                     |
| PCB52                          |                 | 0,00033                         | 0,43                      |                     |
| PCB101                         |                 | 0,00025                         | 0,029                     |                     |
| PCB138                         |                 | 0,000086                        | 0,034                     |                     |
| PCB153                         |                 | 0,00024                         | 0,075                     |                     |
| PCB180                         |                 | 0,00021                         | 0,025                     |                     |

Tabela 3D. Próbkę mleka 4 od kobiety na diecie wegańskiej pochodzącej z małej miejscowości

| Oznaczany kongener             | WHO-TEF | Dolna granica oznaczalności LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|--------------------------------|---------|---------------------------------|---------------------------|---------------------|
| <b>Dioksyny</b>                |         | 0,772                           |                           | 0,91                |
| 2,3,7,8-TCDD                   | 1       | 0,10                            | n.o.                      | 0,1                 |
| 1,2,3,7,8-PeCDD                | 1       | 0,09                            | 0,17                      | 0,17                |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDD              | 0,1     | 0,16                            | n.o.                      | 0,016               |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD              | 0,1     | 0,08                            | 0,67                      | 0,067               |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDD              | 0,1     | 0,12                            | n.o.                      | 0,012               |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD            | 0,01    | 0,12                            | 6,2                       | 0,062               |
| OCDD                           | 0,0003  | 0,13                            | 33                        | 0,0099              |
| 2,3,7,8-TCDF                   | 0,1     | 0,14                            | 1,4                       | 0,14                |
| 1,2,3,7,8-PeCDF                | 0,03    | 0,16                            | 0,3                       | 0,009               |
| 2,3,4,7,8-PeCDF                | 0,3     | 0,22                            | 0,26                      | 0,078               |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDF              | 0,1     | 0,58                            | 1,1                       | 0,11                |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDF              | 0,1     | 0,36                            | 0,56                      | 0,056               |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDF              | 0,1     | 0,24                            | n.o.                      | 0,024               |
| 2,3,4,6,7,8-HxCDF              | 0,1     | 0,25                            | 0,28                      | 0,028               |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF            | 0,01    | 0,42                            | n.o.                      | 0,0042              |
| 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF            | 0,01    | 1,60                            | 2,4                       | 0,024               |
| OCDF                           | 0,0003  | 0,39                            | 1,5                       | 0,00045             |
| dl-PCB                         |         | 0,128                           |                           | 0,14                |
| 3,3',4,4'-TCB (PCB77)          | 0,0001  | 1,00                            | 26                        | 0,0026              |
| 3,3',4,4',5-PeCB (PCB126)      | 0,1     | 0,97                            | n.o.                      | 0,1                 |
| 3,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB169)   | 0,03    | 1,00                            | n.o.                      | 0,03                |
| 3,4,4',5-TCB (PCB81)           | 0,0003  | 1,70                            | n.o.                      | 0,0051              |
| 2,3,3',4,4'-PeCB (PCB105)      | 0,00003 | 1,50                            | 53                        | 0,0016              |
| 2,3,4,4',5-PeCB (PCB114)       | 0,00003 | 1,80                            | 5,1                       | 0,00015             |
| 2,3',4,4',5-PeCB (PCB118)      | 0,00003 | 1,10                            | 201                       | 0,006               |
| 2',3,4,4',5-PeCB (PCB123)      | 0,00003 | 2,70                            | 7,3                       | 0,000219            |
| 2,3,3',4,4',5-HxCB (PCB156)    | 0,00003 | 1,20                            | 10                        | 0,000               |
| 2,3,3',4,4',5'-HxCB (PCB157)   | 0,00003 | 1,40                            | 1,7                       | 0,000               |
| 2,3',4,4',5,5'-HxCB (PCB167)   | 0,00003 | 3,80                            | 5,5                       | 0,000165            |
| 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (PCB189) | 0,00003 | 4,80                            | n.o.                      | 0,00014             |

| Oznaczany kongener | WHO-TEF         | Dolna granica oznaczalności LOQ | Zawartość [pg/g tłuszczu] | TEQ [pg/g tłuszczu] |
|--------------------|-----------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------|
| <b>ndl-PCB</b>     | [ng/g tłuszczu] | 0,0119                          | 3,1                       | [ng/g tłuszczu]     |
| PCB28              |                 | 0,0025                          | 0,89                      |                     |
| PCB52              |                 | 0,0035                          | 0,54                      |                     |
| PCB101             |                 | 0,0014                          | 0,97                      |                     |
| PCB138             |                 | 0,00031                         | 0,2                       |                     |
| PCB153             |                 | 0,0021                          | 0,41                      |                     |
| PCB180             |                 | 0,0021                          | 0,056                     |                     |

## Dyskusja

### *Stężenie metali ciężkich w mleku*

Ze względu na brak wyznaczonych dopuszczalnych norm stężenia metali ciężkich w mleku kobiecym, uzyskane wyniki porównano do norm dopuszczalnej zawartości metali w mleku ssaków hodowlanych [3,29]. W przypadku braku opracowanych norm dla mleka (co dotyczy baru, chromu i niklu) odniesiono się do norm zawartości metali ciężkich w wodzie pitnej, ponieważ pokarm matczyny jest zwykle dla niemowląt jedynym pożywieniem i napojem przez pierwsze pół roku życia. Obydwa rodzaje zaproponowanych w pracy wartości granicznych stanowią jedynie zgrubny punkt odniesienia dla oceny bezpiecznego stężenia metali ciężkich w mleku kobiecym. Należy wziąć pod uwagę, że mleko zwierząt hodowlanych nigdy nie stanowi wyłącznego źródła pożywienia dla ludzi, dlatego dopuszczalne normy zawartości metali ciężkich w mleku mogą wydawać się zawyżone w odniesieniu do niemowląt i z tego względu wydaje się uprawnione skorzystanie pomocniczo z bardziej restrykcyjnych norm dopuszczalnego stężenia metali ciężkich w wodzie pitnej. Warto jednak zauważyć, że w badanej grupie nie stwierdzono wysokiego spożycia jaj zarówno wśród wegetarianek, jak i kobiet na diecie tradycyjnej, a także, co ważne, kobiety stosujące dietę tradycyjną nie spożywały dużych ilości ryb, które często są znaczącym źródłem metali ciężkich w pożywieniu.

Spośród badanych 34 próbek mleka kobiecego w trzech stężenie arsenu przekroczyło jego dopuszczalny poziom w mleku, zaś dozwolone normy zawartości w wodzie – sześć próbek. Stwierdzono także, że u trzech kobiet zawartość baru w mleku przekraczała dopuszczalne normy dla wody pitnej. Nie potwierdzono wpływu diety, miejsca zamieszkania ani innych czynników na stężenie tych metali.

Nie wykazano również, aby stężenie kadmu w próbkach mleka przekroczyło dozwolone normy jego zawartości w mleku i w wodzie, niezależnie od stosowanej diety przez dawczynię próbki.

Brak jest wyznaczonych norm zawartości kobaltu w produktach żywnościowych. Warto zauważyć, że może on występować nie tylko w niekorzystnych zdrowotnie związkach nieorganicznych, ale także w postaci witaminy B12, gdzie jest skoordynowany pierścieniem korynowym. Z kolei zastosowane metody analityczne nie umożliwiają rozróżnienia postaci, w jakiej kobalt wydzielany jest do mleka. Można jedynie stwierdzić, że w niektórych próbkach stężenie kobaltu wielokrotnie przekroczyło jego ilości typowo występujące w mleku kobiecym w postaci witaminy B12 [30].

W ponad 1/5 analizowanych próbek mleka stężenie niklu przekraczało normy wyznaczone dla wody pitnej. Jego wysoki poziom w mleku nie był jednak zależny od diety kobiet.

Nie stwierdzono, by w próbkach stężenie ołowiu przekroczyło dopuszczalne normy dla mleka i wody. Nie wykazano także zależności stężenia ołowiu w mleku kobiet od stosowanej przez nie diety.

Stężenie chromu w spożywanych produktach nie powinno przekroczyć 0,05–0,1 mg/kg, co jednak miało miejsce w jednej z próbek. Statystycznie wyższe stężenie chromu stwierdzono w mleku kobiet stosujących dietę tradycyjną, w której spożywa się mięso.

Statystycznie wyższe stężenie rtęci występowało u kobiet stosujących diety bazujące na produktach roślinnych, choć teoretycznie spodziewano się odwrotnej zależności ze względu na fakt, iż jej najbogatszymi źródłami są owoce morza.

W czterech próbkach stwierdzono nieznaczne przekroczenie normowego stężenia miedzi w mleku (2–3 mg/100 mg). Jednakże ze względu na istotne funkcje miedzi w organizmie, warto zwrócić uwagę, że wyższa zawartość tego pierwiastka charakteryzowała próbki pochodzące od kobiet stosujących dietę tradycyjną. Należy więc uwzględnić, że może to zarówno świadczyć o ich lepszym odżywieniu, jak i większym obciążeniu organizmu toksynami. Podobne obserwacje poczyniono w przypadku stężenia cynku. Ten pierwiastek jest niezbędnym mikroelementem i nie jest zazwyczaj uznawany za toksynę. W przypadku siedmiu próbek stwierdzono przekroczenie wartości typowych dla mleka kobiecego, jednakże nie można uznać, że były to stężenia niebezpieczne dla zdrowia niemowląt. Mogą one za to świadczyć o dobrym stopniu odżywienia kobiet.

Ponadto wykazano, że stężenie 8 z 10 analizowanych w mleku kobiecym metali ciężkich było zdecydowanie wyższe w próbkach pobieranych wiosną niż w tych z okresu późnego lata i początków jesieni (przed rozpoczęciem sezonu grzewczego). Jest to przesłanka która wskazuje, że być może kluczowe znaczenie w podniesieniu poziomu metali ciężkich w organizmie i mleku karmiących

matek ma nie dieta, lecz zanieczyszczenie powietrza. Spaliny samochodowe, ogrzewanie domów piecami węglowymi oraz stosowanie niskiej jakości opału powodują wielokrotne przekroczenia norm stanu powietrza w okresie zimowym, co być może jest właśnie przyczyną silnego zanieczyszczenia mleka kobiecego toksynami antropogenicznymi.

Pod uwagę należy wziąć również fakt, że w badaniu pilotażowym nie analizowano wielu czynników, które mogły wpłynąć na zwiększenie stężenia metali ciężkich w mleku, m.in. uwalniania złożeń toksyn z tkanek kobiet, np. na skutek zmian hormonalnych lub zmian masy ciała.

### ***Stężenie dioksyn i polichlorowanych bifenyli***

Ze względu na wykonanie analizy zawartości dioksyn i PCB dla małej liczby próbek, wyników badania nie można poddać analizie statystycznej. Mogą one jedynie być potraktowane jako doniesienie i stanowić odniesienie uzyskanych wartości do zawartości dioksyn w mleku zwierzęcym, a także w mleku kobiet z innych populacji.

Według zaleceń WHO maksymalna dopuszczalna dzienna dawka dioksyn PCDD wynosi 1 pg-TEQ/kg masy ciała. Według opublikowanych danych mleko kobiece zawiera 25–40 pg-TEQ/g tłuszczu, podczas gdy w mleku zwierzęcym zawartość ta kształtuje się na poziomie 0,1–6 pg-TEQ/g tłuszczu [31]. Zatem przy założeniu, że niemowlę ważące 5–8 kg, karmione wyłącznie naturalnie matczynym pokarmem zjada ok. 150 ml mleka o średniej zawartości tłuszczu w granicach 3%, jest prawdopodobne, że dziennie przyjmuje ono nawet 50-krotnie większą dawkę dioksyn niż osoba dorosła stosująca standardową dietę.

Wyniki uzyskane w niniejszym badaniu wskazują na zdecydowanie niższą zawartość dioksyn i polichlorowanych bifenyli dioksynopodobnych (dl-PCB) w badanym mleku kobiet mieszkających w Polsce niż uprzednio publikowane dane [31]. Zawartość dioksyn w mleku kobiecym w Holandii [32] mieściło się w zakresie 4,3–32 pg-TEQ/g tłuszczu oraz 0,6–8,1 pg-TEQ/g tłuszczu dla PCB dioksynopodobnych. Natomiast w Niemczech w mleku kobiet stwierdzono obecność dioksyn w stężeniach 1,8–34,7 pg-TEQ/g tłuszczu oraz dl-PCB 1,2–50,1 pg-TEQ/g tłuszczu [33]. W Chinach w mleku kobiecym stężenie dioksyn wynosiło 7,4–23,6 pg-TEQ/g tłuszczu oraz dl-PCB 0,9–7,9 pg-TEQ/g tłuszczu [34], a w Wietnamie 1,5–14,2 pg-TEQ/g tłuszczu [7]. Zatem zmierzone stężenia nie odbiegają od wartości raportowanych w innych badaniach, a co najważniejsze nie przekraczają sugerowanej przez WHO bezpiecznej dawki dziennej dla niemowlęcia, co wspiera tezę, że naturalny pokarm jest najlepszym rozwiązaniem w żywieniu noworodków [35], nawet pomimo występowania w nim niekiedy wyższego stężenia dioksyn niż w preparatach mlekozastępczych [31,36].

## Wnioski

Nie stwierdzono jednoznacznie pozytywnego lub negatywnego wpływu diety wegańskiej i wegetariańskiej na stężenie metali ciężkich w mleku kobiecym. Uczestniczki badania stosujące dietę tradycyjną miały w swoim mleku wyższe stężenie chromu i niklu, natomiast próbki pochodzące od kobiet wykluczających z diety mięso charakteryzowało wyższe stężenie rtęci. Sugerowana jest dokładniejsza analiza wpływu poszczególnych składników diety. Analiza danych pod kątem ustalenia, jakie czynniki wpływają na zawartość dioksyn w mleku matki, wymaga wykonania dalszych badań na większej liczbie próbek. Wątkiem wartym dogłębnej analizy wydaje się wpływ poziomu zanieczyszczenia powietrza na stężenie toksyn antropogenicznych w mleku karmiących matek.

## Bibliografia

1. Wang WX, Meng J, Weng N. *Trace Metals in Oysters: Molecular and Cellular Mechanisms and Ecotoxicological Impacts*. Environ Sci Process Impacts. 2018; 20 (6): 892–912. doi: 10.1039/c8em00069g.
2. Rehman K, Fatima F, Waheed I, Akash MSH. *Prevalence of Exposure of Heavy Metals and Their Impact on Health Consequences*. J Cell Biochem. 2018; 119 (1): 157–184. doi: 10.1002/jcb.26234.
3. Duma P, Pawlos M, Rudy M. *Zawartość metali ciężkich w wybranych produktach spożywczych województwa podkarpackiego*. Bromat Chem Toksykol. 2012; 45 (1): 94–100.
4. Kumarathilaka P, Seneweera S, Meharg A, Bundschuh J. *Arsenic Accumulation in Rice (*Oryza sativa* L.) is Influenced by Environment and Genetic Factors*. Sci Total Environ. 2018; 642: 485–496. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.030.
5. Mathew BB, Singh H, Biju VG, Krishnamurthy NB. *Classification, Source, and Effect of Environmental Pollutants and Their Biodegradation*. J Environ Pathol Toxicol Oncol. 2017; 36 (1): 55–71. doi: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2017015804.
6. Tavakoly Sany SB, Hashim R, Salleh A, Rezayi M, Karlen DJ, Razavizadeh BB, Abouzari-Lotf E. *Dioxin Risk Assessment: Mechanisms of Action and Possible Toxicity in Human Health*. Environ Sci Pollut Res Int. 2015; 22 (24): 19434–19450. doi: 10.1007/s11356-015-5597-x.
7. Saito K, Nhu DD, Suzuki H, Kido T, Naganuma R, Sakakibara C, Tawara K, Nishijo M, Nakagawa H, Kusama K, Dung PT, Thom le H, Hung NN. *Association Between Dioxin Concentrations in Breast Milk and Food Group Intake in Vietnam*. Environ Health Prev Med. 2010; 15 (1): 48–56. doi: 10.1007/s12199-009-0106-9.
8. Vargas F, Romecín P, García-Guillén AI, Wangesteen R, Vargas-Tendero P, Paredes MD, Atucha NM, García-Estañ J. *Flavonoids in Kidney Health and Disease*. Front Physiol. 2018; 9: 394. doi: 10.3389/fphys.2018.00394.

9. Rana MN, Tangpong J, Rahman MM. *Toxicodynamics of Lead, Cadmium, Mercury and Arsenic- Induced Kidney Toxicity and Treatment Strategy: A Mini Review*. Toxicol Rep. 2018; 5: 704–713. doi: 10.1016/j.toxrep.2018.05.012.
10. Jia Y, Xi B, Jiang Y, Guo H, Yang Y, Lian X, Han S. *Distribution, Formation and Human-Induced Evolution of Geogenic Contaminated Groundwater in China: A Review*. Sci Total Environ. 2018; 643: 967–993. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.201.
11. Rager JE, Auerbach SS, Chappell GA, Martin E, Thompson CM, Fry RC. *Benchmark Dose Modeling Estimates of the Concentrations of Inorganic Arsenic That Induce Changes to the Neonatal Transcriptome, Proteome, and Epigenome in a Pregnancy Cohort*. Chem Res Toxicol. 2017; 30 (10): 1911–1920. doi: 10.1021/acs.chemrestox.7b00221.
12. PubChem; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> [dostęp: 13.08.2018].
13. Goel A, Aggarwal P. *Pesticide Poisoning*. Natl Med J India. 2007; 20 (4): 182–191.
14. Kravchenko J, Darrah TH, Miller RK, Lyerly HK, Vengosh A. *A Review of the Health Impacts of Barium from Natural and Anthropogenic Exposure*. Environ Geochem Health. 2014; 36 (4): 797–814. doi: 10.1007/s10653-014-9622-7.
15. Bakshi A, Panigrahi AK. *A Comprehensive Review on Chromium Induced Alterations in Fresh Water Fishes*. Toxicol Rep. 2018; 5: 440–447. doi: 10.1016/j.toxrep.2018.03.007.
16. Chen QY, Costa M. *A Comprehensive Review of Metal-Induced Cellular Transformation Studies*. Toxicol Appl Pharmacol. 2017; 331: 33–40. doi: 10.1016/j.taap.2017.05.004.
17. Donaldson JD, Beyersmann D. *Cobalt and Cobalt Compounds* [headword]. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim 2005: 38.
18. Ramos-Treviño J, Bassol-Mayagoitia S, Hernández-Ibarra JA, Ruiz-Flores P, Nava-Hernández MP. *Toxic Effect of Cadmium, Lead, and Arsenic on the Sertoli Cell: Mechanisms of Damage Involved*. DNA Cell Biol. 2018; 37 (7): 600–608. doi: 10.1089/dna.2017.4081.
19. Satarug S. *Dietary Cadmium Intake and Its Effects on Kidneys*. Toxics. 2018; 6 (1): 15. doi: 10.3390/toxics6010015.
20. Bulcke F, Dringen R, Scheiber IF. *Neurotoxicity of Copper*. Adv Neurobiol. 2017; 18: 313–343. doi: 10.1007/978-3-319-60189-2\_16.
21. Song X, Fiati Kenston SS, Kong L, Zhao J. *Molecular Mechanisms of Nickel Induced Neurotoxicity and Chemoprevention*. Toxicology. 2017; 392: 47–54. doi: 10.1016/j.tox.2017.10.006.
22. Bjørklund G, Dadar M, Mutter J, Aaseth J. *The Toxicology of Mercury: Current Research and Emerging Trends*. Environ Res. 2017; 159: 545–554. doi: 10.1016/j.envres.2017.08.051.
23. Tai PT, Nishijo M, Anh NT, Maruzeni S, Nakagawa H, Van Luong H, Anh TH, Honda R, Kido T, Nishijo H. *Dioxin Exposure in Breast Milk and Infant Neurodevelopment in Vietnam*. Occup Environ Med. 2013; 70 (9): 656–662. doi: 10.1136/oemed-2012-101021.
24. Rathna R, Varjani S, Nakkeeran E. *Recent Developments and Prospects of Dioxins and Furans Remediation*. J Environ Manage. 2018; 1 (223): 797–806. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.06.095.

25. Rice CP, O’Keefe P, Kubiak TJ. *Sources, Pathways, and Effects of PCBs, Dioxins, and Dibenzofurans*. In: *Handbook of Ecotoxicology*, 2nd ed., eds. DJ Hoffman, BA Rattner, GA Burton Jr., J Cairns Jr. CRC Press, Boca Raton 2003: 499–571.
26. Inui H, Itoh T, Yamamoto K, Ikushiro S, Sakaki T. *Mammalian Cytochrome P450-Dependent Metabolism of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins and Coplanar Polychlorinated Biphenyls*. *Int J Mol Sci*. 2014; 15 (8): 14044–14057. doi: 10.3390/ijms150814044.
27. USDA National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release, April 2018.
28. Kunachowicz H, Przygoda B, Nadolna I, Iwanow K. *Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych i potraw*. PZWL, Warszawa 2017.
29. Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych, wraz z Rozporządzeniem Komisji (UE) nr 420/2011 z dnia 29 kwietnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych.
30. Pawlak R, Vos P, Shahab-Ferdows S, Hampel D, Allen LH, Perrin MT. *Vitamin B-12 Content in Breast Milk of Vegan, Vegetarian, and Nonvegetarian Lactating Women in the United States*. *Am J Clin Nutr*. 2018; 108 (3): 525–531. doi: 10.1093/ajcn/nqy104.
31. Grochowalski A. *Badania nad oznaczaniem polichlorowanych dibenzodioskyn, dibenzofuranów i bifenyli*. Zeszyty Naukowe Politechniki Krakowskiej. Monografia 272. Kraków 2000.
32. Croes K, Colles A, Koppen G, De Galan S, Vandermarken T, Govarts E, Bruckers L, Nelen V, Schoeters G, Van Larebeke N, Denison MS, Mampaey M, Baeyens W. *Determination of PCDD/Fs, PBDD/Fs and Dioxin-Like PCBs in Human Milk from Mothers Residing in the Rural Areas in Flanders, Using the CALUX Bioassay and GC-HRMS*. *Talanta*. 2013; 113: 99–105. doi: 10.1016/j.talanta.2013.03.086.
33. Colles A, Koppen G, Van De Mierop E, Covaci A, Croes K, Kotz A, Mampaey M, Schoeters G. *Are Policy Measures Reflected in Time Trends of Human Biomonitoring Results in Flanders (Belgium)?*. *Organohalogen Compounds*. 2011; 73: 1555–1558.
34. Leng JH, Kayama F, Wang PY, Nakamura M, Nakata T, Wang Y. *Levels of Persistent Organic Pollutants in Human Milk in Two Chinese Coastal Cities, Tianjin and Yantai: Influence of Fish Consumption*. *Chemosphere*. 2009; 75 (5): 634–639. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.01.008.
35. Mead MN. *Contaminants in Human Milk: Weighing the Risks against the Benefits of Breastfeeding*. *Environ Health Perspect*. 2008; 116 (10): A426–A434.
36. Costopoulou D, Vassiliadou I, Leondiadis L. *Infant Dietary Exposure to Dioxins and Dioxin-Like Compounds in Greece*. *Food Chem Toxicol*. 2013; 59: 316–324. doi: 10.1016/j.fct.2013.06.012.

## **Does diet (vegan, vegetarian or traditional) influence the concentration of heavy metals, dioxins and PCBs in human milk? A pilot study**

### **Abstract**

**Introduction:** Pollution of the environment with heavy metals, dioxins and PCBs is a serious ecological and health problem; moreover, these toxins are also found in food. Metals and dioxins can bioaccumulate and biomagnify, which theoretically means there is a lower risk of toxicity for vegans, who exclude animal products.

**Material and methods:** In the study the content of arsenic (As), barium (Ba), chromium (Cr), zinc (Zn), cadmium (Cd), cobalt (Co), copper (Cu), nickel (Ni), lead (Pb), mercury (Hg), dioxins and polychlorinated biphenyls were analyzed in the breast milk of 34 women on different types of diet (vegan, vegetarian or traditional). The level of heavy metals in milk was determined with mass spectrometry and the levels of dioxins and PCBs were analyzed using gas chromatography.

**Results:** The study revealed that in some samples the content of arsenic, barium, chromium, nickel, lead and mercury exceeded the allowable concentrations. Higher concentrations of copper and chromium were found in samples from women on a traditional diet, while in milk obtained from women on a plant diet there was a higher concentration of mercury. Higher concentrations of heavy metals were found in milk samples collected in spring than in samples collected in autumn. The concentration of dioxins and polychlorinated biphenyls did not exceed the admissible values.

**Conclusions:** Based on the obtained results, it cannot be stated unequivocally whether a vegan and vegetarian diet compared to a traditional diet have a positive or negative influence on the concentration of heavy metals, dioxins and PCBs in human milk.

**Key words:** heavy metals, dioxins, breast milk, environmental pollution



Justyna Filipowicz-Cieply<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0002-7883-0042]

Monika Przybytek<sup>2</sup> [ORCID: 0000-0002-7292-3248]

1. Akademia Wychowania Fizycznego im. Bronisława Czecha w Krakowie,  
Wydział Rehabilitacji Ruchowej

2. Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu

## OCENA EFEKTÓW FIZJOTERAPII ZAWODOWYCH ZABURZEŃ GŁOSU – BADANIA PILOTAŻOWE

Autor korespondencyjny:

mgr Justyna Filipowicz-Cieply, al. Jana Pawła II 78, 31-571 Kraków,

e-mail: justfil200@gmail.com

### Streszczenie

**Wprowadzenie:** Często obserwowanym problemem zdrowotnym wśród osób pracujących głosem jest zawodowa niewydolność głosu (fonastenia). Określenie poziomu jego aktywności funkcjonalnej ma istotne znaczenie dla jakości i skuteczności komunikacji interpersonalnej w sytuacjach codziennych oraz dla interakcji werbalnej osób pracujących w zawodach, w których głos i mowa są podstawowymi narzędziami pracy. Celem badań była ocena wyników rehabilitacji zaburzeń głosu w wybranych grupach zawodowych.

**Materiał i metody:** Materiał badany stanowiło 14 kobiet w wieku 31–48 lat (średnia: 39,43 lat), zawodowo pracujących głosem. U wszystkich wykonano badanie kości gnykowej, ruchomości krtani względem żuchwy i względem kręgosłupa szyjnego, dokonano oceny postawy ciała, zarejestrowano czas fonacji oraz przeprowadzono ocenę toru oddychania. Wykorzystano standaryzowany kwestionariusz Voice Handicap Indeks (VHI). Przeprowadzono rehabilitację oddechową, fonacyjną oraz zastosowano metody manualne obniżające napięcie mięśni krtani. Pacjentki zostały dwukrotnie zbadane – przed fizjoterapią oraz po 2 tygodniach samodzielnych ćwiczeń.

Wyniki: W pierwszym badaniu u wszystkich kobiet odnotowano zwiększony tonus mięśni szyi podczas fonacji oraz zaobserwowano nieprawidłowy tor oddechowy. Po zastosowanej fizjoterapii napięcie mięśni szyi podczas fonacji znacząco uległo poprawie u 6 (42%) pacjentek, u 12 (85%) zarejestrowano zmianę toru oddychania z piersiowo-żebrowego na żebrowo-przeponowy. Wynik MPT w badaniu pierwszym wynosił średnio 17,4 s, natomiast w drugim 21,6 s. Uzyskane wyniki za pomocą kwestionariusza VHI przed terapią wynosiły średnio 14,14 pkt., a w drugim badaniu zmniejszyły się średnio do 10,78 pkt.

Wnioski: 1. Napięcie mięśni szyi znacząco wpływa na czas fonacji. 2. Korekcja toru oddechowego u osób pracujących głosem pozytywnie wpływa na jego aspekt funkcjonalny, emocjonalny oraz fizyczny w ocenie kwestionariuszem VHI.

Słowa kluczowe: fizjoterapia, rehabilitacja głosowa, fonacja, choroby zawodowe

## Wprowadzenie

Często obserwowanym problemem zdrowotnym wśród osób pracujących głosem jest zawodowa niewydolność głosu (fonastenia). Fonastenia jest nerwicą ruchową, polegającą na zaburzeniu koordynacji mięśni narządu głosowego. Charakterystyczne objawy zaburzeń głosowych fonastenii to m.in.: chrypka, detonacja, dwugłos, załamywanie i chwieianie się głosu oraz odchrząkanie. Powodem jest brak koordynacji między oddychaniem, fonacją, artykulacją a działaniem jam rezonacyjnych. Z kolei fonastenia rzekoma (pseudofonastenia) powstaje podczas nadmiernej pracy narządu głosowego wskutek jego zmęczenia. Jest to charakterystyczne zaburzenie występujące u osób pracujących głosem. Może mieć charakter trwały lub czasowy w zależności od stopnia uszkodzenia narządu głosu. Zaburzenie głosu charakteryzuje prawidłowy wygląd krtani, bez zmian w obrazie klinicznym, jednak z dyskomfortem w ocenie subiektywnej pacjenta [1].

Sprawność funkcjonalna głosu, obok jego dobrego stanu fizycznego i emocjonalnego, stanowi niezbędny aspekt samodzielnego i bezwarunkowego zaspokajania jednej z podstawowych potrzeb człowieka – porozumiewania się. Określenie poziomu aktywności funkcjonalnej głosu ma istotne znaczenie dla jakości i skuteczności komunikacji interpersonalnej w sytuacjach codziennych oraz dla interakcji werbalnej osób pracujących w zawodach, w których głos i mowa są podstawowymi narzędziami pracy (ang. *voice and speech professions*) [2]. Chroniczne przeciążenia głosu w początkowej fazie są kompensowane poprzez ośrodkowy układ nerwowy na drodze wzmożonego napięcia mięśni krtani. Wraz z postępowaniem dysfunkcji dochodzi do wyczerpania mechanizmu kompensacyjnego i powstania zmian o charakterze trwałym. Stale powtarzające się mikrourazy błony śluzowej i mięśni głosotwórczych krtani prowadzą do ich zwyrodnienia, w wyniku czego obserwuje się obecność guzków śpiewaczych lub czynnościowe zaburzenia krtani. Nieprawidłowości w jej obrębie mogą mieć charakter niedowładów czynnościowych lub organicznych. Niedowład mięśni krtaniowych jest

uszkodzeniem narządu głosowego, a zatem przyczyną zaburzeń funkcji innych narządów, które bezpośrednio współpracują z narządem głosowym. W takim przypadku zaburzeniu ulega funkcja układu oddechowego. Objawy charakteryzujące zaburzenia głosu są złożone, w opinii powszechnej dyskretne, często lekceważone przez pacjentów i lekarzy, przez co mogą wywoływać poważne implikacje w funkcjonowaniu tzw. mówców zawodowych. Powyższe zaburzenia wymagają wczesnej diagnostyki [3].

Prawidłowy wzorzec oddychania odgrywa kluczową rolę w procesie powstawania głosu, a prawidłowa postawa warunkuje synchronizację oraz koordynację procesu oddychania. Oddech ułatwia rozpoczęcie fonacji oraz uczynnia rezonatory. Wyróżnia się trzy główne typy oddychania: piersiowy (żebrowy), brzuszny (przeponowy) oraz mieszany (piersiowo-brzuszny). Tor oddychania piersiowo-brzuszny, w którym dochodzi do obniżenia przepony oraz zwiększenia obwodu klatki piersiowej, uważany jest za najbardziej fizjologiczny i oczekiwany.

Mianem podparcia oddechowego (wł. *appoggio*) określa się świadome wydłużenie i pogłębienie fazy wydechowej za pomocą jednoczasowego, kontrolowanego napięcia dwóch antagonistycznych grup mięśni – wdechowych i wydechowych. Zdaniem Sielskiej-Badurek i Domerackiej-Kołodziej [4] śpiew tworzony z podparcia oddechowego powstaje przy obniżonej krtani, przy wyższym ciśnieniu podgłośniowym. Charakteryzuje go wzrost maksymalnej szybkości przepływu powietrza przez głośnię i skrócony czas jej zamykania, wydłużony maksymalny czas fonacji (MPT) oraz wzrost poziomu ciśnienia dźwięku.

Ze względu na etiologię rozróżniamy zaburzenia głosu spowodowane jego uszkodzeniem w wyniku: nadmiernej eksploatacji głosu, chorób narządu głosowego, w tym ostrych i przewlekłych stanów dotyczących krtani, oskrzeli, gardła, tchawicy, zatok, płuc i opłucnej, oraz chorób ogólnych wpływających wtórnie na czynność głosu i dotyczących układu hormonalnego, pokarmowego, nerwowego i czynności psychicznych. Aby rehabilitacja głosu pacjenta była efektywna, należy wziąć pod uwagę wszystkie możliwe czynniki powodujące jego zaburzenia. Szeroki wachlarz wiedzy na ich temat zwiększa możliwości pomocy chorym.

Zespołowe działania Instytutu Medycyny Pracy prowadzone wraz z innymi ośrodkami klinicznymi w Polsce przyczyniły się do podniesienia kompleksowej opieki nad osobami używającymi głosu zawodowo. Edukacja studentów pedagogiki, w tym kursy emisji głosu, poprawiły świadomość przyszłych pedagogów na temat higieny własnego głosu. Zgodnie z aktualną wiedzą dotychczasowe postępowanie w zawodowych zaburzeniach głosu obejmuje 24-dniowy turnus sanatoryjny ZUS. Stosuje się tam głównie metody fizykalne, a uzupełnieniem terapii jest autoedukacja pacjentów z zaleceniem kontynuowania leczenia po powrocie z turnusu. Pomimo tego zapadalność na choroby narządu głosu w 2017 roku widniała na 3 miejscu wśród przyczyn zawodowych, tuż po pylicach płuc i chorobach zakaźnych. Niestety nakłady na leczenie, profilaktykę i rehabili-

tację głosu są niewspółmiernie wysokie do osiągniętych efektów terapeutycznych [5]. Za niezbędną uznaje się dalszą analizę problemu i ocenę wyników dotychczasowych działań prewencyjnych w zakresie chorób zawodowych związanych z głosem.

Badaniom przyświecały następujące cele:

1. Ocena wyników rehabilitacji zaburzeń głosu w wybranych grupach zawodowych.
2. Ocena bólu stawów skroniowo-żuchwowych u pacjentek zawodowo pracujących głosem.
3. Porównanie poziomu napięcia przepony w badaniu palpacyjnym przed i po terapii u kobiet pracujących głosem.
4. Zbadanie korelacji między czasem fonacji a poziomem niepełnosprawności głosowej u badanych zawodowo posługujących się głosem.

## Material i metody

Badana grupa obejmowała 14 kobiet ( $n = 14$ ) w wieku 31–48 lat (średnia: 39,43 lat), zawodowo pracujących głosem. Masa ciała badanych zawierała się w przedziale 50–75 kg (średnia: 62,43 kg, tabela 1). W większości uczestniczki pracowały jako nauczycielki ( $n = 6$ ; 42,9%) nauczania początkowego, fizjoterapeutki ( $n = 4$ ; 28,6%) czynnie prowadzące kursy specjalistyczne oraz wykonywały zawód aktora ( $n = 4$ ; 28,6%). Pacjentki włączone do badania zgłosiły się do prywatnej praktyki logopedycznej w celu poprawy emisji głosu.

Tabela 1. Statystyki opisowe wieku, masy ciała, wzrostu i BMI badanych kobiet ( $N = 14$ )

|            | R           | M     | SD   | Sk   | Kurt  | W    |
|------------|-------------|-------|------|------|-------|------|
| Wiek [l]   | 31–48       | 39,43 | 8,79 | 0,15 | -1,98 | 0,83 |
| Masa [kg]  | 50–75       | 62,43 | 8,79 | 0,09 | -1,25 | 0,93 |
| Wzrost [m] | 154–179     | 162   | 8,60 | 0,60 | -0,83 | 0,91 |
| BMI        | 18,33–27,85 | 23,16 | 3,09 | 0,13 | -1,00 | 0,84 |

$p < 0,05$

Kryteria włączenia do badania stanowiły:

- wiek 30–50 lat;
- osoby aktywne zawodowo;
- osoby zawodowo pracujące głosem;
- brak schorzeń górnych i dolnych dróg oddechowych;
- brak przebytych zabiegów operacyjnych w obrębie krtani;
- brak czynnego stanu zapalnego w obrębie noso-gardła i krtani;
- zgoda na udział w badaniu.

U wszystkich kobiet włączonych do badania wykonano:

- badanie ruchomości bocznej kości gnykowej;
- badanie ruchomości krtani względem żuchwy i kręgosłupa szyjnego;
- ocenę zakresów ruchomości odcinka szyjnego kręgosłupa;
- ocenę bólu w obrębie stawów skroniowo-żuchwowych (SSŻ);
- ocenę toru oddychania;
- rejestrację czasu fonacji (Maximum Phonation Time, MPT) w sekundach, ze średnią z 3 próbek;
- palpacyjne badanie przepony.

U wszystkich osób włączonych do badania wykorzystano kwestionariusz Voice Handicap Indeks (VHI) oceniający stan emocjonalny, fizyczny i czynnościowy pacjenta. Wskaźnik został wprowadzony w 1997 roku przez Jacobsona i wsp. VHI jest ilościową metodą samooceny dokonywanej indywidualnie przez pacjentów i dotyczy psychospołecznych konsekwencji zaburzeń głosu. Zalecany w diagnostyce zaburzeń foniatrycznych przez Komitet Foniatrii Europejskiego Towarzystwa Laryngologicznego kwestionariusz składa się z 30 twierdzeń. Wynik zawiera się w przedziale 0–120 pkt. Rezultat w zakresie: 0–30 pkt. oznacza niewielką niepełnosprawność narządu głosu; 31–60 pkt. średnią niepełnosprawność narządu głosu ze wskazaniem do konsultacji laryngologicznej; 61 pkt. i więcej – poważną niepełnosprawność narządu głosu ze wskazaniem do konsultacji foniatrycznej [6].

U wszystkich kobiet włączonych do badania zastosowano terapię manualną obejmującą: normalizację tonusu mięśniowego struktur w obrębie głowy i szyi, osteopatyczną pracę przepony, manipulacje kości gnykowej oraz masaż powięziowy mięśni szyi. Przeprowadzono edukację pod kątem prawidłowych zasad i technik emisyjnych, prawidłowego toru oddechowego oraz pouczono pacjentki odnośnie dalszej pracy z głosem. Przygotowano ćwiczenia do samodzielnego wykonywania w domu codziennie przez 10 min.: ziewanie na samogłosce a, mruczenie przy zamkniętych ustach i luźnej żuchwie oraz aktywizowanie przepony poprzez wykonywanie ćwiczeń dźwiękowych na głoskach p, b, s.

Terapia z fizjoterapeutą obejmowała dwa spotkania w odstępach tygodnia i była prowadzona przez pierwszą z autorek. Po każdym spotkaniu pacjent dostawał zestaw ćwiczeń automobilizacyjnych, które miał wykonywać dwa razy

dziennie w domu. Pacjenci nie korzystali w tym czasie z innych zabiegów fizjoterapeutycznych, ponieważ mogło to wpłynąć na wyniki. Badanie kobiet wykonano dwukrotnie – przed fizjoterapią oraz po zastosowanym leczeniu, a jego efekty oceniała druga autorka. Badanie zaplanowano i przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską. Włączeni do badania zostali poinformowani ustnie i pisemnie na temat wszystkich procedur, a następnie wyrazili świadomą zgodę na udział w nim.

Podczas analizy danych obliczone zostały statystyki opisowe wskaźników badanych (badanie aerodynamiczne fonacji oraz wynik kwestionariusza VHI przed i po terapii). Do oceny intensywności bólu wykorzystano 5-cio stopniową klasyfikację bólową VRS (*Verbal Rating Scale*). Przed i po terapii pacjenci na podstawie subiektywnych odczuć dokonywali aktualnej oceny swoich dolegliwości bólowych w obrębie stawów skroniowo-żuchwowych.

Ponieważ mierzone zmienne wyrażone zostały na skali ilościowej, obliczono dla nich całe spektrum statystyk opisowych: zakres (minimum–maksimum), miary tendencji centralnej (średnia) i rozproszenia (odchylenie standardowe) oraz miary położenia (skośność, kurtoza). Aby sprawdzić, czy uzyskane rozkłady różnią się od teoretycznego rozkładu normalnego zastosowano test Shapiro-Wilka, sugerowany w sytuacji relatywnie niewielkiej liczebności próby. W celu weryfikacji hipotez związku między badaniem fonacji a wskaźnikiem VHI przeprowadzono analizę korelacji. Zastosowano nieparametryczny test korelacji rho Spearmana.

Za poziom istotny statystycznie przyjęto wartość  $p < 0,05$ . Wszystkie obliczenia zostały wykonane przy użyciu pakietu statystycznego SPSS.

## Wyniki

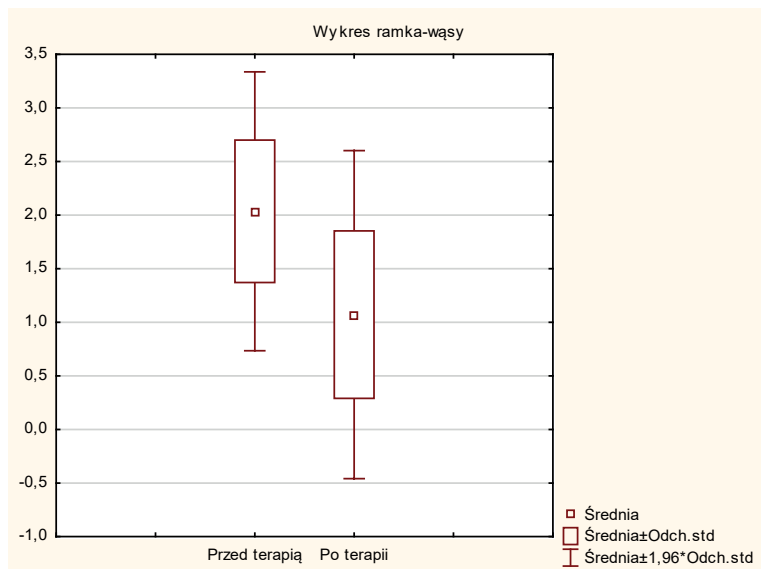
### *Ustawienie kości gnykowej*

Przed rozpoczęciem fizjoterapii w badaniu palpacyjnym u 35,7% pacjentek zaobserwowano wysokie ustawienie kości gnykowej, u 28,6% badanych odnotowano asymetrię napięcia i ustawienia tej kości, natomiast u 35,7% – brak znaczących zmian jej ustawienia. Po zastosowanej terapii badanie palpacyjne wykazało u 71,4% badanych prawidłowe, symetryczne ustawienie kości gnykowej, u 14,2% nadal utrzymywało się jej napięcie i asymetria, natomiast u 14,4% osób nie wykazano żadnych zmian po terapii. Badane kobiety w ocenie subiektywnej po terapii zgłaszały również uczucie rozluźnienia w okolicach mięśni krtani oraz powrót symetrii ruchu kości gnykowej.

### *Stawy skroniowo-żuchwowe oraz kąty żuchwy*

Porównanie wartości średnich oceny bólu stawów skroniowo-żuchwowych oraz oceny kątów żuchwy przed i po terapii wskazuje, że poziom bólu po terapii

obniżył się, ale tylko u części osób. Różnice są statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ) (rycina 1).



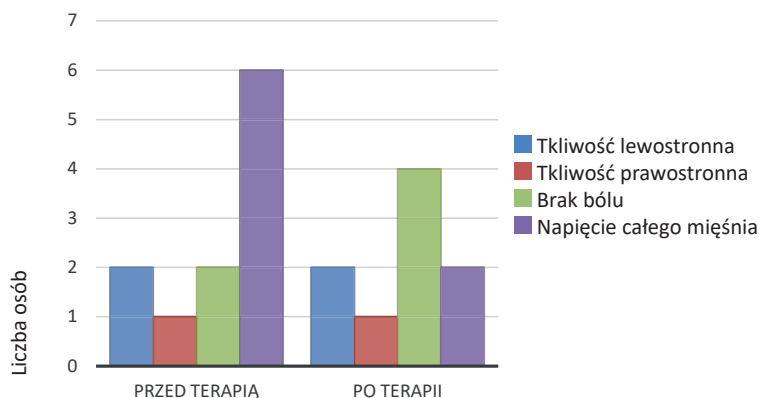
Rycina 1. Średni poziom bólu w badanej grupie

### ***Terapia a ocena krzywizn kręgosłupa***

Przed rozpoczęciem fizjoterapii u ponad połowy badanych kobiet zaobserwowano prawidłowe krzywizny kręgosłupa ( $n = 8$ ; 57,1%), u 3 hyperlordozę odcinka szyjnego ( $n = 3$ ; 21,4%), u dwóch zniesioną lordozę lędźwiową ( $n = 2$ ; 14,3%), a u jednej pogłębioną lordozę odcinka lędźwiowego ( $n = 1$ ; 7,1%). Podczas wzrokowej oceny krzywizn kręgosłupa przed terapią zaobserwowano u badanych tendencję statystyczną [ $\chi^2$  (3,  $n = 14$ ) = 8,29;  $p = 0,040$ ]. Oznacza to, że dysproporcje w rozkładzie liczebności są istotne statystycznie. Podczas drugiego badania nie odnotowano istotnych zmian w ocenie krzywizn kręgosłupa.

### ***Badanie przepony***

U prawie połowy kobiet podczas badania palpacyjnego przepony zaobserwowano wzmożone napięcie całego mięśnia ( $n = 6$ ; 42,9%), u 3 występowała tkliwość lewostronna ( $n = 3$ ; 21,4%), a u 2 tkliwość prawostronna ( $n = 2$ ; 14,3%). Brak bólu deklarowały 3 badane kobiety ( $n = 3$ ; 21,4%). Po zastosowanej terapii o 50% wzrosła liczba badanych bez dolegliwości bólowych, a wzmożone napięcie mięśnia zmniejszyło się u 70% kobiet. Liczba osób z jednostronną lub obustronną tkliwością przepony nie uległa zmianie (rycina 2).

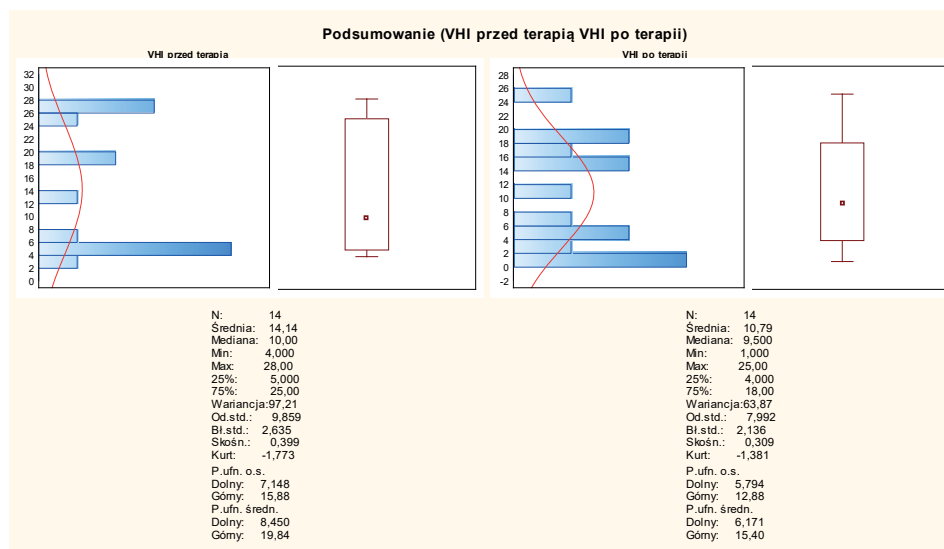


Rycina 2. Ocena tkliwości palpacyjnej przed i po terapii mięśnia przepony

### Badanie fonacji

Podczas aerodynamicznego badania czasu fonacji średnie wartości przed terapią wynosiły 17,43 s (gdzie  $<20$  s – niepełnosprawność głosowa), po terapii 21,64 s (gdzie  $>20$  s – brak niepełnosprawności głosowej).

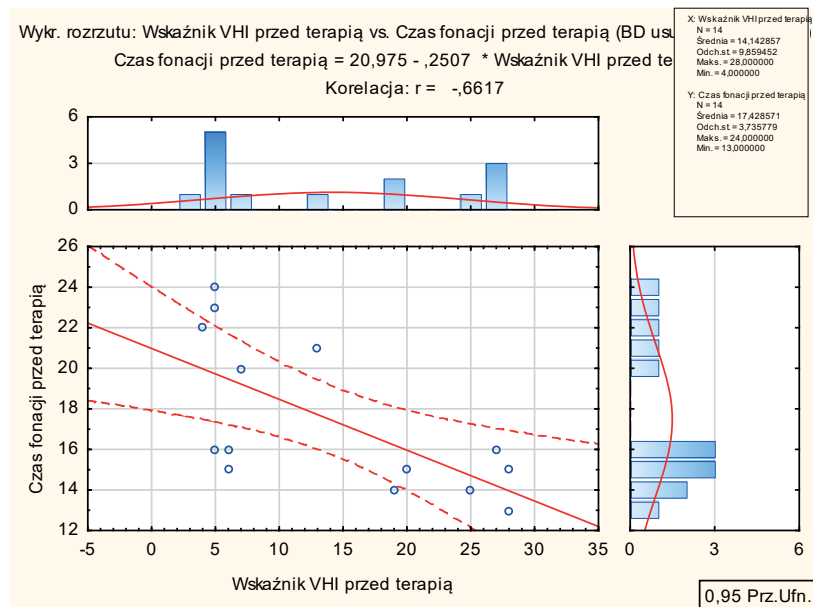
Wyniki kwestionariusza VHI (wskaźnik VHI) przed terapią wyniosły średnio 14,14 pkt., a po terapii średnio 10,79 pkt. (rycina 3). Analiza statystyczna otrzymanych danych z kwestionariusza wykazała nieznaczne rozbieżności od normalnego rozkładu zmiennej. Statystyka kurtozy dla zmiennej (wskaźnika VHI) wskazała na wyraźną platykurtyczność, czyli duże rozproszenie wyników względem średniej.



Rycina 3. Porównanie wyniku badania wskaźnika VHI przed terapią i po terapii

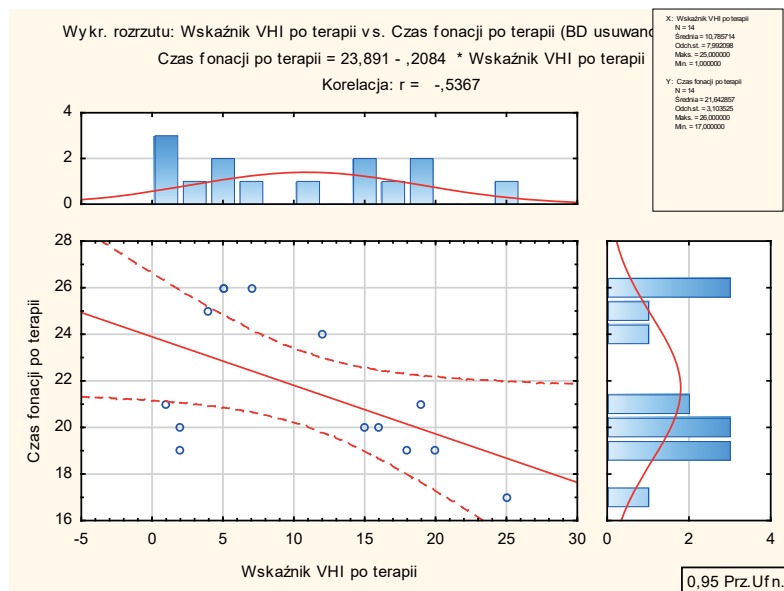
**Korelacje czasu fonacji oraz wyników kwestionariusza VHI**

Otrzymane współczynniki korelacji wskazują, że przed terapią czas fonacji był bardzo silnie ujemnie związany z poziomem stanu emocjonalnego, fizycznego i funkcjonalnego osoby badanej kwestionariuszem VHI ( $\rho = -0,6617$ ;  $p = 0,003$ ), co oznacza, że im dłuższy był czas fonacji, tym mniejsza była wartość wskaźnika VHI, natomiast po terapii związek taki nie został ujawniony ( $\rho = -0,5367$ ;  $p = 0,124$ ) (ryciny 4, 5).



$r$  – współczynnik korelacji Pearsona

Rycina 4. Korelacja między badaniem fonacji a wskaźnikiem VHI przed terapią



$r$  – współczynnik korelacji Pearsona

Rycina 5. Korelacja między badaniem czasu fonacji a wskaźnikiem VHI po terapii

### Wpływ terapii na czas fonacji

Tabela 2. Terapię a badanie fonacji – wyniki testu t-Studenta dla danych zależnych

| Test             | Przed terapią |      | Po terapii |      | Różnica |        |
|------------------|---------------|------|------------|------|---------|--------|
|                  | M             | SD   | M          | SD   | t(13)   | p      |
| Czas fonacji (s) | 17,43         | 3,74 | 21,64      | 3,10 | -12,60  | <0,001 |

$p < 0,05$

Przeprowadzone analizy wykazały istotną statystycznie różnicę między pomiarami [ $t(13) = -12,60$ ;  $p < 0,001$ ]. Wynik pomiaru fonacji przed terapią ( $M = 17,43$ ;  $SD = 3,74$ ) okazał się istotnie niższy niż uzyskany wynik po terapii ( $M = 21,64$ ;  $SD = 3,10$ ; tabela 2). Wielkość efektu ( $d$  Cohena = 3,37) wskazuje na wystąpienie bardzo silnego efektu.

**Wpływ terapii na poziom wskaźnika VHI**

Tabela 3. Terapia a wskaźnik VHI – wyniki testu t-Studenta dla danych zależnych

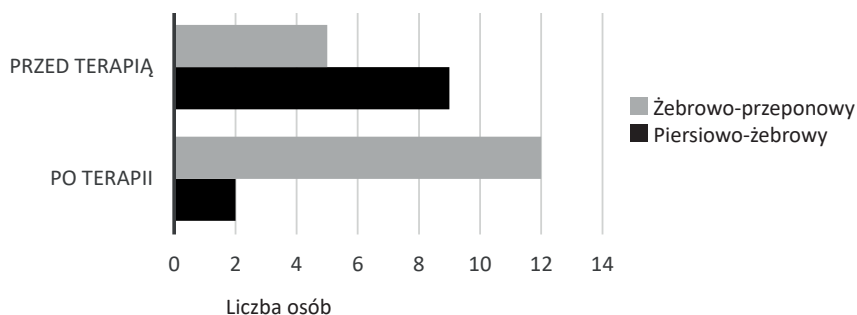
| Test               | przed terapią |      | po terapii |      | Różnica |       |
|--------------------|---------------|------|------------|------|---------|-------|
|                    | M             | SD   | M          | SD   | t(13)   | p     |
| wskaźnik VHI (pkt) | 14,14         | 9,86 | 10,79      | 7,99 | 3,87    | 0,002 |

p&lt;0,05; p&lt;0,01

Odnotowano istotną statystycznie różnicę między pomiarami wskaźnika VHI [ $t(13) = 3,87$ ;  $p = 0,002$ ]. Wynik wskaźnika VHI przed terapią ( $M = 14,14$ ;  $SD = 9,86$ ) okazał się istotnie statystycznie wyższy niż jego wynik po terapii ( $M = 10,79$ ;  $SD = 7,99$ ; tabela 3). Wielkość efektu ( $d$  Cohena = 1,03) wskazuje na bardzo silną zależność pomiędzy zmiennymi.

**Wzorzec oddechowy**

Przed terapią u 64,3% ( $n = 9$ ) badanych kobiet zaobserwowano tor oddychania piersiowo-żebrowy, natomiast u 35,7% ( $n = 5$ ) tor żebrowo-przeponowy. Po terapii u 21,4% ( $n = 2$ ) kobiet obserwowano tor piersiowo-żebrowy, a u 78,6% ( $n = 12$ ) badanych żebrowo-przeponowy (rycina 6). Odnotowano istotną statystycznie różnicę między pomiarami ( $p = 0,031$ ).



Rycina 6. Zestawienia obrazowe wpływu terapii na tor oddechowy

**Dyskusja**

Podparcie oddechowe pełni szczególną rolę, zwłaszcza u osób pracujących głosem, i jest opisywane jako jedna z podstawowych czynności, którą kształtuje zarówno rehabilitacja zaburzeń głosu, jak i nauka śpiewu. W czasie eksploatacji

głosowej układ oddechowy musi sprostać szczególnym wymaganiom, które wynikają z konieczności wydłużenia fazy wydechowej następującej w czasie fonacji oraz precyzyjnego kontrolowania przepływu powietrza i ciśnienia w okolicy podgłośniaowej. Wzorce oddechowe opisywane w literaturze jako najbardziej funkcjonalne dla celów tworzenia głosu, szczególnie profesjonalnego, wskazują na wykorzystywanie żebrowo-przeponowego toru oddechowego, zwanego także brzuszno-przeponowym. Sielska-Badurek i Domeracka-Kołodziej [4], na podstawie rzetelnego przeglądu piśmiennictwa dotyczącego podparcia oddechowego, zwróciły uwagę na bardzo duże rozbieżności w zrozumieniu tego terminu. Głównym powodem okazały się różnice w nauczaniu emisji głosu, zależne od indywidualnych doświadczeń śpiewaków. Podkreślono zbyt słabo rozumiany związek pomiędzy oddechem a emisją głosu oraz brak wiarygodnych doniesień naukowych.

Z kolei Kazanecka i wsp. [6] w swoich badaniach oceniali zarówno wzorzec podparcia oddechowego funkcjonujący u osób, które uczą się śpiewu, jak również stopień opanowania umiejętności *appoggio* wśród wokalistów. Autorzy sugerują, że czynności oddechowe w czasie śpiewania nie są w pełni świadome ani kontrolowane przez badane osoby. Próby świadomego zastosowania kontroli oddechowej *appoggio* wśród badanych osób wywoływały niepożądane wzorce. Zaobserwowano zbyt nadmierne napięcia zarówno w obrębie mięśni oddechowych klatki piersiowej, jak i tłoczni brzusznej oraz niekorzystną barwę głosu. W sumie wykazano, że słuchowa kontrola emisji głosu nie jest wystarczająca do opanowania pożądanych nawyków na poziomie czynności mięśni oddechowych. W celu podniesienia wyników kształtowania fonacji, wykorzystano metodę pletyzmografii indukcyjnej, która – jak sugeruje Kazanecka i wsp. – może wspomagać proces kształcenia techniki wokalne w zakresie kontroli wzorca oddechowego. W prezentowanych badaniach u osób pracujących zawodowo głosem wzorzec oddechowy przed zastosowaną terapią był u większości torem piersiowo-żebrowym. Można przyjąć, że istotnie wpłynęło to na gorsze wyniki fonacji, czynności stawów skroniowo-żuchwowych czy niesymetryczne napięcie przepony. Wyniki inspirują do pogłębienia wiedzy w kolejnych badaniach na temat wpływu napięcia przepony na barwę głosu.

W literaturze opisywane są skutki nieprawidłowego napięcia oraz ustawienia przepony. Zdaniem Mirtrynowicz-Modrzewskiej [7] jednym z czynników wpływających niekorzystnie na emisję głosu jest wysoki stan przepony po prawej lub lewej stronie. Sytuacja taka została opisana jako „objaw Williamsa”. Pierwsze symptomy rozpoczynających się problemów z przeponą obserwowano w płucach – wpływało to niekorzystnie na czynności mięśni oddechowych. Nierówne (schodkowate) ruchy przepony utrudniają emisję głosu, co zostało opisane jako efekt zmniejszonej pojemności płuc. Badania własne potwierdziły, że zarówno nieprawidłowe/nierównomierne napięcie przepony, jak i złe wzorce oddechowe osób pracujących głosem niekorzystnie wpłynęły na aerodyna-

miczny wynik fonacji. Zaobserwowano również nieprawidłowości ustawienia i ruchomości stawów skroniowo-żuchwowych. W wyniku przeprowadzonej terapii odnotowano polepszenie sprawności głosowej oraz rozluźnienie mięśnia przepony. Warto zauważyć, że w dostępnych badaniach bardzo niewiele uwagi poświęca się na aspekt dotyczący rehabilitacji zaburzeń emisji głosu. Przeglądu piśmiennictwa dotyczącego występowania tego rodzaju zaburzeń w różnych grupach zawodowych dokonały Morawska i Niebudek-Bogusz [8]. W etiopatogenezie powstawania zawodowych zaburzeń głosu zwrócono szczególną uwagę na czynniki ergonomiczne (środowiskowe) oraz pozazawodowe (indywidualne). Głównym problemem w grupie zawodowej nauczycieli był brak szkolenia dotyczącego pracy z głosem. Badania wykazały, że w trakcie ostatnich dwóch dekad definiowanie zaburzeń głosu stało się bardzo ważne. Życie w pośpiechu, stres, obciążenia fizyczne i emocjonalne sprawiają, że skala problemu nieuchronnie wzrasta. Uzyskane wyniki pokazują, że problem należy do częstych, jednak brakuje zarówno rozwiązań, programów profilaktycznych, jak i odpowiednich działań prewencyjnych w tym zakresie. W niniejszych badaniach wskazano, że nieprawidłowa emisja głosu i problemy z przeponą występują szczególnie wśród nauczycieli. Badania obrazują, jak bardzo potrzebne są treningi oddechowe oraz działania edukujące pedagogów w celu zapobiegania dysfonii czynnościowej.

Zainteresowaniem badaczy w ciągu ostatnich lat cieszy się możliwość wykorzystania nowoczesnych metod w diagnostyce zaburzeń głosu. Ciekawe wyniki badań z wykorzystaniem wizualizacji fałdów głosowych (videokymography, VKG) opublikowane zostały przez Shadi i wsp. [1]. Podczas obciążenia głosowego jakim był głośny, 45 minutowy odczyt tekstu, wykryto asymetrię pomiędzy prawym a lewym fałdem głosowym. Autorzy uznali VKG za pomocne narzędzie w diagnostyce chorób i zaburzeń głosu. Cenne badanie diagnostyczne głosu stanowi także kimografia standardowa (jednowymiarowa), która pozwala na analizę ruchu fałdów głosowych w przekroju poprzecznym. Natomiast kimografia zaawansowana (dwuwymiarowa) analizuje pracę fałdów głosowych oraz ich długości na jednym obrazie – fonowibrogramie. Shadi i wsp. wskazali badanie wizualizacyjne jako bardzo pomocne i rzetelne narzędzie pozwalające na ocenę m.in. niedomykalności lub braku pracy fałdu głosowego, co może być przydatne w określeniu dalszej terapii głosu. W badaniach własnych zabrakło analizy opartej na badaniu endoskopowym czy wnikliwej obserwacji fałdów głosowych, które z pewnością rzetelniej oceniłyby stan narządu głosowego badanych kobiet. W kolejnych projektach warto byłoby wzbogacić badania o specjalistyczny sprzęt diagnostyczny w połączeniu z badaniami manualnymi.

Problematyką socjologii mówienia, zagadnień dotyczących interakcji językowej oraz czynników zewnętrznych warunkujących jakość głosu mówionego zajmowała się Kazimierczak [2]. Oceniała ona jakość głosu mówionego studentów kierunku filologii w interakcji komunikacyjnej. Wykorzystano wtedy podobny do niniejszych badań kwestionariusz VHI-30 w celu samooceny studentów

( $n = 105$ ) przygotowujących się do zawodu nauczyciela. Badani nie dostrzegli większego wpływu zaburzeń głosu na codzienną komunikację interpersonalną. Wynikało to z ogólnie dobrego poziomu interakcji komunikacyjnej większości młodych ludzi, ale po części również z: braku świadomości dotyczącej funkcjonalnego stanu własnego głosu, niedostatków wiedzy na temat wpływu głosu mówionego na jakość komunikacji codziennej oraz szkolnych interakcji językowych, jak też z braku doświadczenia w zakresie pracy głosem. Autorka podkreśliła potrzebę podnoszenia świadomości studentów przygotowujących się do pracy w zawodzie nauczyciela w zakresie obciążenia głosu oraz metod zawierających profilaktykę chorób zawodowych narządu głosu. Podczas kształcenia uniwersyteckiego wykazano brak przygotowania narządu głosu do eksploatacji, na którą będzie on bezwzględnie narażony. W niniejszych badaniach uwzględniono edukację pacjenta odnośnie metod emisyjnych i oddechowych oraz zadano ćwiczenia do wykonywania samodzielnie w domu. Wykazano, że wyniki już po dwóch tygodniach samodzielnej pracy kobiet były bardzo dobre. Obrazuje to wagę edukacji, a tym samym świadomość badanych w procesie diagnostycznym.

Szczegółowej analizy dotyczącej diagnostyki traktu głosowego oraz trafności zastosowania odpowiedniej skali dokonały Niebudek-Bogusz i wsp. [3]. Autorki zwróciły uwagę na konieczność kompleksowej oceny zaburzeń głosu, zwłaszcza o podłożu czynnościowym bezwzględnie uwzględniającym odczucia pacjenta. Posługując się skalą dyskomfortu traktu głosowego Vocal Tract Discomfort (VTD w wersji polskiej), oceniono jej przydatność w diagnostyce. Badania pilotażowe dotyczyły grupy nauczycieli, u których stwierdzono dysfonię czynnościową ( $n = 40$ ) oraz kontrolnej grupy osób z głosem eufonicznym ( $n = 40$ ). W obu grupach dokonano percepcyjnej oceny głosu oraz badania za pomocą skali VTD. Dodatkowo przeprowadzono badanie foniatryczne oraz wideostroboskopię. Porównując częstotliwość i nasilenie objawów dyskomfortu traktu głosowego w grupie badanej stwierdzono istotnie gorsze wyniki w porównaniu z grupą kontrolną ( $p < 0,001$ ). Wykazano również istotność statystyczną dla wszystkich zaburzeń traktu głosowego ( $p < 0,001$ ). Badania te dowiodły, że skala dyskomfortu traktu głosowego charakteryzuje się wysokim współczynnikiem alfa Cronbacha oceniającym rzetelność testu. W niniejszych badaniach zabrakło skali VTD, która wydaje się być narzędziem rzetelnym i przydatnym w diagnozowaniu dysfonii czynnościowej. Przeprowadzone analizy badań własnych wykazały istotność badania fonacyjnego u osób pracujących głosem i pozwoliły tym samym uznać je za najtrafniejsze w badanej grupie.

Z literatury wynika także, że nie tylko czynniki środowiskowe czy anomalie budowy mają wpływ na aparat głosowy. Związkiem wpływu hormonów na trakt głosowy w swoich projektach zajmowali się Kadakia i wsp. [9]. W badaniach rozmazu krtani oraz szyjki macicy zabarwionych estrogenem w trakcie cyklu miesięczkowego nie odnaleziono istotnych różnic. Wykazano, że oba rodzaje tkanek mają receptory estrogenu, progesteronu oraz androgenów stwier-

dzając tym samym, że cykl menstruacyjny i dojrzewanie mają znaczący wpływ na krtani kobiety. Na początku cyklu menstruacyjnego hormony powodują obrzęk fałdów głosowych, które są przez to bardziej podatne na gromadzenie się płynu. Naczynia w kanałach nosowych rozszerzają się, co istotnie wpływa na drożność głosu w percepcji wokalisty. Pod koniec fazy menstruacyjnej progesteron sprzyja złuszczeniu nabłonka krtani oraz działa antyproliferacyjnie, zwiększając lepkość wydzieliny gruczołowej, co obniża sprawność vibracyjną i ewentualnie zwiększa uszkodzenie komórek. Oceniając głos kobiety przed miesiączką badacze doszli do wniosku, że okres ten charakteryzuje się licznymi objawami, m.in. zauważono trudność w śpiewaniu wyższych nut. Najbardziej drastyczne zmiany głosowe u kobiet zauważono w okresie menopauzalnym, kiedy spada poziom estrogenu i progesteronu. W tym czasie poziom FSH i LH jest bardzo wysoki, co stymuluje produkcję androgenów przez jajniki, tym samym obniżając głos i powodując nieodwracalne zmiany w obrębie aparatu głosowego. Mięszk krtani zmniejsza się, chrząstki stają się bardziej utwardzone (niekiedy mogą ulec skostnieniu), fałdy głosowe grubsze, a włókien kolagenowych jest zdecydowanie mniej. Oczywiście jest, że głos ludzki jest bardzo podatny na zmiany hormonalne przez całe życie. Od okresu dojrzewania do starzenia się aparat wokalny ulega licznym zmianom. Zrozumienie tych mechanizmów pozwala na optymalizację leczenia. W badaniach własnych zabrakło jednak zarówno ukierunkowanych badań, jak i tego typu konkluzji. Należy więc traktować niniejsze wyniki jako wstępne, wskazując na konieczność rozszerzenia diagnostyki w odniesieniu do stanu hormonalnego danej kobiety w momencie badania.

## Wnioski

1. W wybranych grupach zawodowych wykorzystanie wielu technik i metod fizjoterapeutycznych oraz logopedycznych przyniosło wymierny efekt w zakresie korekcji toru oddechowego, zwiększenia czasu fonacji i rozluźnienia tkanek miękkich, a także zwiększyło komfort w mówieniu obniżając tym samym wskaźnik niepełnosprawności głosowej.
2. U większości badanych osób wykazano znamioną redukcję dolegliwości bólowych w obrębie stawów skroniowo-żuchwowych.
3. U większości badanych kobiet w ocenie palpacyjnej po terapii zaobserwowano obniżenie się nadmiernego napięcia przepony.
4. Otrzymane przed terapią współczynniki korelacji pomiędzy czasem fonacji a poziomem niepełnosprawności głosowej wykazały bardzo silny związek ujemny, co oznacza, że im dłuższy był czas fonacji tym mniejsza była wartość wskaźnika VHI, natomiast po terapii związku takiego nie ujawniono.

Ze względu na wysoką wagę problemu zaleca się konieczność prowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

## Bibliografia

1. Shadi MS, Hegazi MA, Nassar JF, Bassiouny S, Sarwat S, Saleh MM. *Videokymographic Visualization of Phonasthenia: A Nonorganic Voice Disorder*. Folia Phoniatric Logop. 2017; 68: 252–260. doi: 10.1159/000480432.
2. Kazimierzczak M. *Wpływ zaburzeń głosu na jakość interakcji komunikacyjnej w ocenie studentów kierunków filologicznych*. Otorynolaryngologia. 2018; 17 (1): 29–35.
3. Niebudek-Bogusz E, Woźnicka E, Śliwińska-Kowalska M. *Zastosowanie skali dyskomfortu traktu głosowego w diagnozowaniu dysfonii czynnościowej*. Otorynolaryngologia. 2010; 9 (4): 204–209.
4. Sielska-Badurek E, Domeracka-Kołodziej A. *Rola podparcia oddechowego w śpiewie operowym*. Otorynolaryngologia. 2009; 8 (3): 109–114.
5. Sinkiewicz A, Niebudek-Bogusz E, Szkiełkowska A, Wiskierska-Woźnica B, Śliwińska-Kowalska M. *Propozycja optymalizacji systemu profilaktyki i leczenia zawodowych chorób narządu głosu*. Otorynolaryngologia. 2018; 17 (1): 15–19.
6. Kazanecka E, Musialik I, Szkiełkowska A, Skarżyński H. *Ocena podparcia oddechowego (appoggio) u osób kształconych wokalnie*. Audiofonologia. 2005; 27: 107–110.
7. Mirtrynowicz-Modrzejewska A. *Fizjologia i patologia głosu, słuchu i mowy*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1963.
8. Morawska J, Niebudek-Bogusz E. *Risk Factors and Prevalence of Voice Disorders in Different Occupational Groups – A Review of Literature*. Otorynolaryngologia. 2017; 16 (3): 94–102.
9. Kadakia S, Carlson D, Sataloff R. *The Effect of Hormones on the Voice*. Journal of Singing. 2013; 69 (5): 571–574.

## The effectiveness of physiotherapy for occupational voice disease-pilot study

### Abstract

**Introduction:** A frequently observed health problem among people working with the voice is vocational failure “phonasthenia”. Determining the level of functional voice activity is important for the quality and effectiveness of interpersonal communication in everyday situations and verbal interaction of people working in occupations in which voice and speech are the basic tools of work. The aim of the study was to evaluate the results of the rehabilitation of voice disorders in selected professional groups.

**Material and methods:** The study participants comprised 14 women between the ages of 31 and 48 (mean age: 39.43) professionally working with voice. All participants were subjected to an examination of the hyoid bone, the mobility of the larynx in relation to the mandible and in relation to the cervical spine were performed, the body posture was assessed, the phonation time was recorded and the breathing track was evaluated. A standardized Voice Handicap Index (VHI) scale was used. Respiratory and phonatory rehabilitation was performed and manual methods were used to lower the tension of the larynx

muscles. The patients were examined twice before physiotherapy and after 2 weeks of individuals exercise.

Results: In the first study, all women included in the study had an increased tonus of the neck muscles during phonation and an abnormal airway was observed. After the applied physiotherapy, the muscle tone of the neck during the phonation significantly improved in 6 (42%) patients, in 12 (85%) the change of the rib-diaphragmatic breathing track was registered. The MPT result in the first study was on average 17.4 s, while in the second 21.6 s. The results obtained with the VHI questionnaire before therapy were on average 14.14 points, and in the second study they decreased to 10.78 points on average.

Conclusions: 1. The tension of the neck muscles significantly influences the time of phonation. 2. The correction of the respiratory tract in people working with the voice positively affects its functional, emotional and physical aspects in the evaluation of the Voice Handicap Index scale.

Key words: physiotherapy, rehabilitation of voice, phonation, occupational disease



Renata Bajcarczyk<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0003-4316-7807]

Renta Florek<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0003-0387-6975]

Dorota Kozieł<sup>2</sup> [ORCID: 0000-0001-8114-1814]

1. Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Tarnobrzegu, Wydział Nauk Humanistycznych i Społecznych

2. Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu

## WIEDZA NASTOLATEK I ICH MATEK NA TEMAT PROFILAKTYKI RAKA SZYJKI MACICY ORAZ SZCZEPIONEK PRZECIWKO WIRUSOWI HPV

Autor korespondencyjny:

Renata Bajcarczyk, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Tarnobrzegu,  
Wydział Nauk Humanistycznych i Społecznych, ul. Budowlanych 43B, 39-400 Tarnobrzeg,  
tel. 513-735-115, e-mail: renata130@poczta.onet.pl

### Streszczenie

**Wprowadzenie:** Zakażenie wysokoonkogennymi typami wirusa HPV jest w 70–80% związane z rozwojem raka szyjki macicy. Profilaktyka pierwotna tego rodzaju raka polega na edukacji i szczepieniu dziewcząt w wieku 11–12 lat, przed rozpoczęciem przez nie inicjacji seksualnej (zalecenia PTG). Szczepienie przeciwko wirusowi HPV nie jest jednak obowiązkowe. Celem pracy jest zbadanie wiedzy kobiet i ich córek na temat profilaktyki raka szyjki macicy, w tym: badań cytologicznych, możliwości zakażenia wirusem HPV oraz szczepionek przeciwko wirusowi.

**Materiał i metody:** Grupę badawczą stanowiły uczennice dwóch szkół średnich w Tarnobrzegu i ich matki. Jako metodę badawczą zastosowano autorski kwestionariusz.

**Wyniki:** Otrzymano 105 prawidłowo wypełnionych ankiet od córek i 46 od matek. Matki najczęściej wykonują badanie cytologiczne raz na rok (50%) i prawidłowo określają

czas odpowiedni na jego wykonanie (54,3%). Wraz z córkami posiadają wiedzę o badaniu oraz znają związek pomiędzy zakażeniem wirusem HPV a rakiem szyjki macicy. Obie grupy określają się jako zwolenniczki szczepień (matki 60,8%; córki 80%), jednak w grupie matek tylko 8,6% kobiet zaszczepiło swoje córki, natomiast 59% córek chciałoby się zaszczepić.

Wnioski: Zarówno matki, jak i córki posiadają wiedzę na temat badania cytologicznego, związku pomiędzy zakażeniem wirusem HPV a rozwojem raka szyjki macicy oraz znają drogę zakażenia wirusem. Natomiast wiedza matek na temat szczepień przeciwko wirusowi HPV jest niewystarczająca – badane kobiety nie znają szczepionek, nie wiedzą kiedy zaszczepić swoje córki i obawiają się skutków ubocznych szczepień.

Słowa kluczowe: zakażenie wirusem HPV, szczepionka, profilaktyka, rak szyjki macicy

## Wprowadzenie

W 2008 r. prof. Harald zu Hausen otrzymał nagrodę Nobla za odkrycie wirusa brodawczaka ludzkiego (*Human Papilloma Virus*, HPV) [1]. Obecnie znanych jest ok. 200 jego typów, a opracowania na temat kolejnych kilkunastu są w przygotowaniu. Według amerykańskich danych ponad 50% aktywnych seksualnie osób (zarówno kobiet, jak i mężczyzn) w ciągu swojego życia może być przejściowo zarażonych wirusem HPV [2]. Typy wirusa niskoonkogenne, czyli typ: 6, 11, 42, 43, 44 i 53 są odpowiedzialne za neoplazję małego stopnia i brodawkowate rozrosty nabłonka o charakterze kłykcin kończystych i płaskich [3]. Z kolei typy wysokoonkogenne: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 i 68 współlistnieją z neoplazją dużego stopnia i rakiem płaskonabłonkowym szyjki macicy [3]. Zakażenie wirusem HPV związane jest także z występowaniem raka gardła, odbytu i prącia. Badania przeprowadzone przez International Agency Research on Cancer (IARC) w 11 krajach wykazały obecność DNA HPV 16 i HPV 18 w 70% raka płaskonabłonkowego i w 80% raka gruczołowego szyjki macicy [2]. IARC podaje, że w 2018 r. wykryto na świecie 570 tys. przypadków raka szyjki macicy, z czego na skutek choroby zmarło 310 tys. kobiet [2].

Szczepienia są niewątpliwie jednym z największych osiągnięć medycyny, ponieważ pozwoliły w bezpieczny sposób zredukować zapadalność na choroby zakaźne, które kiedyś dziesiątkowały populację. Eksperci oceniają, że ok. 122 mln ludzi zawdzięcza swoje życie szczepionkom. Jednak już od czasu wynalezienia przez Edwarda Jennera pierwszej szczepionki przeciwko ospie prawdziwej pojawiają się głosy podważające bezpieczeństwo i skuteczność szczepień [4]. Ruchy antyszczepionkowe odniosły pewien sukces, o czym świadczy wzrost liczby niezaszczepionych dzieci [4]. W Polsce obok szczepień obowiązkowych funkcjonują szczepienia zalecane, niefinansowane przez państwo. W dotowanie tych ostatnich często włączają się samorządy, które pokrywają koszty szczepień swoich mieszkańców, najczęściej przeciwko grypie.

Do szczepień zalecanych należą także te przeciw wirusowi HPV. Pierwsza szczepionka tego typu została wprowadzona do obrotu w USA w 2006 r. pod nazwą Gardasil, a w Polsce jako Silgard. Szczepionka (4-walentna) zabezpiecza przed zakażeniem czterema typami wirusa: 6, 11, 16, 18. Od 2007 r. dostępna jest także szczepionka Cervarix, zapobiegająca wystąpieniu dwóch typów HPV –16 i 18 [5]. W 2014 r. wprowadzono na rynek szczepionkę Gardasil 9, która zabezpiecza przed 9 typami wirusa: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 i 58, z czego siedem z nich to wirusy wysokoonkogenne [6]. Ryzyko występowania niepożądanych odczynów poszczepiennych w przypadku szczepionek przeciwko wirusowi HPV jest niewielkie. W USA w latach 2006–2014 odnotowano ok. 25 000 doniesień o efektach ubocznych szczepień przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego, z czego 90% zakwalifikowano jako łagodne (stan podgorączkowy, swędzenie w miejscu wkłucia, umiarkowana gorączka) [7]. World Health Organization (WHO) zaleca wprowadzenie szczepień przeciwko HPV dla dziewcząt i chłopców w wieku 9–14 lat [8]. W 2012 r. opublikowano wspólne stanowisko Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego i Polskiego Towarzystwa Pediatrycznego, które zalecały rutynowe szczepienia dziewcząt w wieku 11–12 lat i w wieku 13–18 lat, jeśli nie zostały zaszczepione wcześniej [9]. Zaszczepione kobiety powinny wykonywać skrining cytologiczny, ponieważ szczepionka nie chroni przed wszystkimi typami wirusa. Ze względu na ochronę przed niektórymi rodzajami raka prącia, głowy, szyi oraz odbytu, a także, aby przerwać łańcuch transmisji HPV, w niektórych krajach szczepi się także chłopców (m.in. w Australii, Szwajcarii, Izraelu) [8]. Eksperci WHO przewidują, że jeśli szczepienia nie będą kontynuowane, to liczba zgonów z powodu raka szyjki macicy zwiększy się o 50% w ciągu 20 lat [10]. W 2020 r. podczas 73. Światowego Zgromadzenia Zdrowia podjęta zostanie dyskusja o globalnej strategii na lata 2020–2030, mająca za zadanie przyspieszenie eliminacji raka szyjki macicy [10].

Celem pracy było zbadanie wiedzy kobiet i ich córek na temat profilaktyki raka szyjki macicy, w tym: badań cytologicznych, zakażenia wirusem HPV oraz szczepionek przeciwko temu wirusowi.

## **Material i metody**

Grupę badawczą stanowiły uczennice dwóch szkół średnich w Tarnobrzegu: Liceum Ogólnokształcącego im. Mikołaja Kopernika i I Społecznego Liceum Ogólnokształcącego im. Hetmana Jana Tarnowskiego oraz ich matki. Badania przeprowadzono w kwietniu i maju 2019 r. Z uwagi na niewielki zwrot ankiet ze strony matek, w części przypadków wyniki nie zostały opracowane w odniesieniu do pary matka – córka, lecz zestawione osobno.

Metodą badawczą był sondaż diagnostyczny z wykorzystaniem autorskiego kwestionariusza. Ankieta dla dziewcząt zawierała pytania dotyczące: cytologii

i czasu wykonania pierwszego badania cytologicznego, zabezpieczania się przed wirusem prezerwatywą, drogi zakażenia wirusem HPV, związku pomiędzy HPV a rakiem szyjki macicy, ogólnego stosunku do szczepień i opinii o szczepionkach przeciwko temu wirusowi, a także gotowości do zaszczepienia się. Kwestionariusz dla matek rozszerzono o pytania dotyczące: częstotliwości wykonywania badań cytologicznych, tego, czy kobiety zaszczepiły swoje córki lub czy chcą je zaszczepić, jaki jest powód niewykonania szczepienia, czy po szczepieniu przeciw wirusowi HPV można zrezygnować z badań cytologicznych, jaką szczepionkę by wybrały i czy uważają edukację na temat profilaktyki raka szyjki macicy za wystarczającą.

## Wyniki

Uczennice chętnie wzięły udział w badaniu – otrzymano 105 prawidłowo wypełnionych ankiet, natomiast liczba kwestionariuszy oddanych przez matki była o wiele mniejsza i wyniosła 46. Wiek badanych uczennic to: 16 lat – 9,5%, 17 lat – 36,2% i 18 lat – 54,3%. Wiek matek wynosił 37–54 lata, co dało średnią 45,7 lat.

W grupie matek najwięcej kobiet, tj. 47,8% miało wykształcenie średnie, 41,3% – wykształcenie wyższe, a tylko 10,9% wykształcenie zawodowe. Zdecydowana większość – 76% – to mieszkanki Tarnobrzega, a na wsi mieszka 23,9% ankietowanych. Jeśli chodzi o sytuację rodzinną, to 76,1% stanowią mężatki, 17,4% kobiety rozwiedzione, a 6,5% jest stanu wolnego. Zapytane o swoją sytuację materialną 63,04% kobiet określiło ją jako dobrą, 21,7% jako przeciętną, a 15,2% uznało, że ich sytuacja materialna jest bardzo dobra; żadna kobieta nie deklarowała złej sytuacji materialnej.

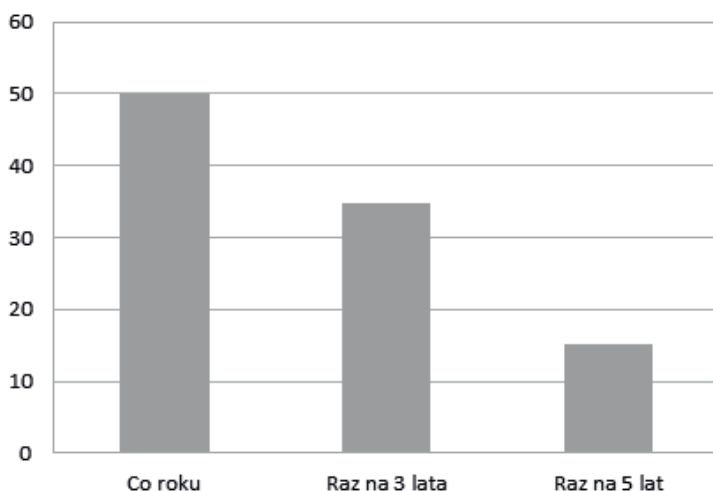
Do wszystkich badanych – matek i córek – skierowano pytanie o to, czym jest cytologia. Udzielone odpowiedzi zebrano w tabeli 1.

Tabela 1. Wiedza matek i córek na temat badania cytologicznego

| Cytologia to:                                         |   | Matki | Córki |
|-------------------------------------------------------|---|-------|-------|
| Badanie polegające na pobraniu wymazu z szyjki macicy | n | 38    | 88    |
|                                                       | % | 82,6  | 83,8  |
| Metoda obrazowania żeńskich narządów płciowych        | n | 4     | 13    |
|                                                       | % | 8,7   | 12,4  |
| Badanie czystości pochwy                              | n | 4     | 3     |
|                                                       | % | 8,7   | 2,9   |
| Badanie poziomu żeńskich hormonów płciowych           | n | –     | 1     |
|                                                       | % | –     | 0,9   |

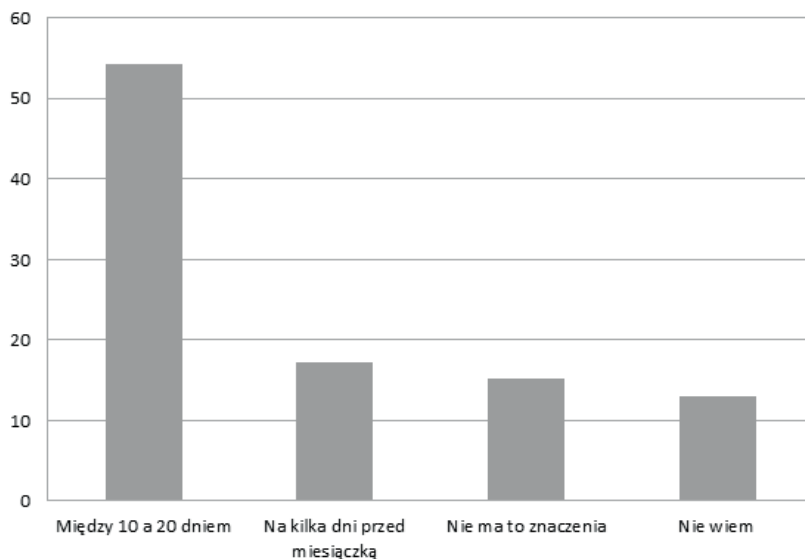
Zdecydowana większość badanych – ponad 80% w obu grupach – odpowiedziała, że cytologia to badanie polegające na pobraniu wymazu z szyjki macicy. W grupie matek po 8,7% kobiet uważa, że cytologia to metoda obrazowania żeńskich narządów płciowych i badanie czystości pochwy. Z kolei wśród córek 12,4% odpowiedziało, że cytologia to metoda obrazowania żeńskich narządów płciowych, 2,9% dziewcząt myśli, że jest to badanie czystości pochwy, a tylko 0,9% wskazuje na badanie poziomu żeńskich hormonów płciowych jako definicję cytologii.

Matki zapytano o to, jak często wykonują badanie i w której fazie cyklu należy się na nie zgłosić. 50% kobiet deklaruje wykonywanie cytologii co roku, 34,7% raz na 3 lata, a tylko 15,2% raz na 5 lat, co zilustrowano na rycinie 1.



Rycina 1. Częstotliwość wykonywania badania cytologicznego w grupie matek

54,3% matek odpowiedziało, że na cytologię trzeba się zgłosić między 10 a 20 dniem cyklu; 17,3% kobiet uważa, że należy to zrobić na kilka dni przed miesiączką, 15,2% twierdzi, że nie ma to znaczenia, natomiast 13,2% przyznaje, że nie wie, kiedy powinny się zgłosić na pobranie wymazu cytologicznego (rycina 2).



Rycina 2. Kiedy wg badanych matek należy zgłosić się na pobranie wymazu cytologicznego

W tabeli 2 zestawiono odpowiedzi, z których wynika, że badanie cytologiczne raz na rok wykonują najczęściej matki z wykształceniem wyższym, mieszkające w mieście, będące w dobrej sytuacji materialnej.

Tabela 2. Wykonywanie badania cytologicznego – badane kobiety (matki) wg wykształcenia, miejsca zamieszkania i sytuacji materialnej

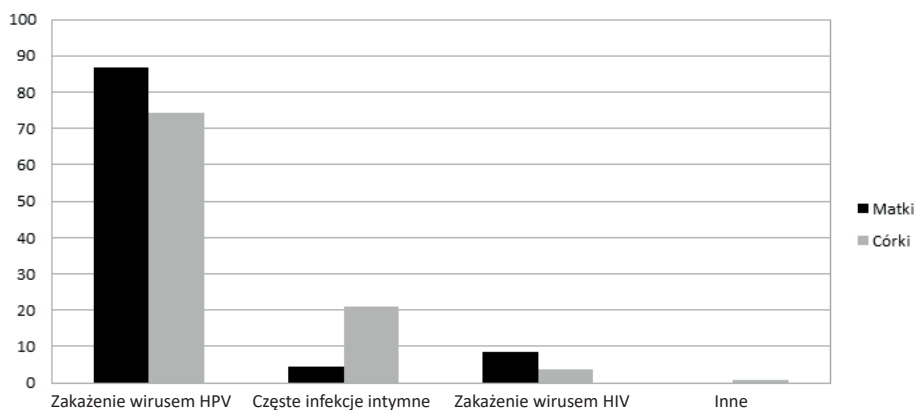
| Wykonywanie badania cytologicznego | Wykształcenie |         |          | Miejsce zamieszkania |      | Sytuacja materialna |       |            |      |
|------------------------------------|---------------|---------|----------|----------------------|------|---------------------|-------|------------|------|
|                                    | Wyższe        | Średnie | Zawodowe | Miasto               | Wieś | Bardzo dobra        | Dobra | Przeciętna |      |
| Raz na rok                         | n             | 12      | 10       | 1                    | 17   | 6                   | 2     | 18         | 3    |
|                                    | %             | 52,2    | 43,5     | 4,3                  | 73,9 | 26,1                | 8,7   | 78,3       | 13   |
| Raz na 3 lata                      | n             | 10      | 6        | –                    | 13   | 3                   | 3     | 9          | 4    |
|                                    | %             | 62,5    | 37,5     | –                    | 81,3 | 18,7                | 18,7  | 56,3       | 25   |
| Raz na 5 lat                       | n             | 6       | –        | 1                    | 5    | 2                   | 2     | 2          | 3    |
|                                    | %             | 85,7    | –        | 14,3                 | 71,4 | 28,6                | 28,6  | 28,6       | 42,8 |

W ankiecie skierowanej do uczennic pojawiło się pytanie, kiedy należy wykonać pierwsze badanie cytologiczne: 68,6% twierdzi, że po rozpoczęciu współżycia płciowego; 12,4% uważa, że przed 25 r.ż.; 2,9% – przed 30 r.ż.; 10,5% – nie później niż 3 lata po inicjacji seksualnej, a 5,7% nie wie, kiedy po-

winna wykonać pierwszą cytologię.

Ankieta dla dziewcząt zawierała również pytanie, czy prezerwatywa zabezpiecza przed zakażeniem wirusem HPV. 88,6% z nich odpowiedziało, że ogranicza ryzyko zakażenia, 6,7% uważa, że całkowicie zabezpiecza, a 4,7% jest zdania, że prezerwatywa nie zabezpiecza przed zakażeniem wirusem HPV.

Związek pomiędzy zachorowaniem na raka szyjki macicy a zakażeniem wirusem HPV zauważa 86,9% matek oraz 74,3% córek, co przedstawiono na rycinie 3. Częste infekcje intymne z zachorowaniem na raka wiąże 4,4% matek i 20,9% dziewcząt, a 8,7% matek oraz 3,9% nastolatek wskazuje na zakażenie wirusem HIV jako przyczynę zachorowania na raka szyjki macicy. Tylko 0,9% córek wskazało na inne przyczyny zakażenia (genetyczne).



Rycina 3. Przyczyny zachorowania na raka szyjki macicy w opinii badanych kobiet

Tabela 3. Stosunek do szczepień – badane kobiety (matki) wg wykształcenia, stanu cywilnego, miejsca zamieszkania i sytuacji materialnej

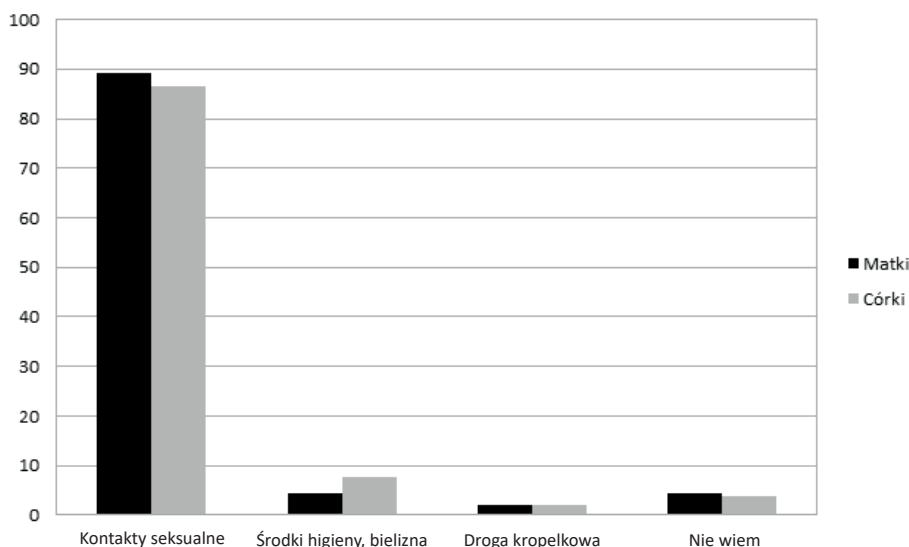
| Stosunek<br>do szczepień | Wykształcenie |         |          | Stan cywilny |          |       | Sytuacja materialna |       |            | Miejsce<br>zamieszkania |      |      |
|--------------------------|---------------|---------|----------|--------------|----------|-------|---------------------|-------|------------|-------------------------|------|------|
|                          | wyższe        | średnie | zawodowe | mężatka      | rozwódka | wolna | bardzo<br>dobra     | dobra | przeciętna | miasto                  | wieś |      |
| Zwolenniczki<br>n = 28   | %             | 67,8    | 28,6     | 3,6          | 89,3     | 7,1   | 3,6                 | 14,3  | 71,4       | 14,3                    | 67,9 | 32,1 |
|                          | n             | 19      | 8        | 1            | 25       | 2     | 1                   | 4     | 20         | 4                       | 19   | 9    |
| Przeciwniczki<br>n = 4   | %             | 50      | 50       | –            | 50       | 25    | 25                  | –     | 75         | 25                      | 75   | 25   |
|                          | n             | 2       | 2        | –            | 2        | 1     | 1                   | –     | 3          | 1                       | 3    | 1    |
| Nie mam zdania<br>n = 14 | %             | 50      | 42,9     | 7,1          | 57,1     | 35,7  | 7,1                 | 21,4  | 42,9       | 35,7                    | 28,6 | 71,4 |
|                          | n             | 7       | 6        | 1            | 8        | 5     | 1                   | 3     | 6          | 5                       | 4    | 10   |

Jako zwolenniczki szczepień najczęściej deklarowały się matki z wykształceniem wyższym – 67,9%, mężatki – 89,3%, kobiety w dobrej sytuacji materialnej – 71,4% oraz mieszkanki miasta – 67,9%.

Przeciwniczki szczepień to zarówno kobiety z wykształceniem wyższym i średnim – 50%, mężatki – 50%, w dobrej sytuacji materialnej – 75%, jak i mieszkanki miasta – 75%.

W grupie kobiet, które nie mają zdania na temat szczepień przeważają kobiety z wyższym wykształceniem – 50%, mężatki – 57,1%, osoby w dobrej sytuacji materialnej – 42,9% oraz mieszkanki wsi – 71,4%.

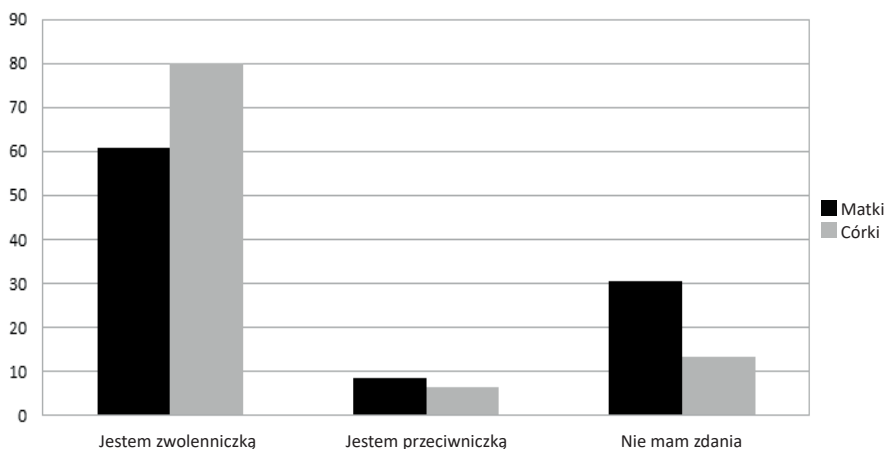
Badane kobiety spytano o to, jak można się zarazić wirusem HPV. 89,2% matek i 86,6% córek wskazało na kontakty seksualne; 4,3% matek oraz 7,6% dziewcząt twierdzi, że do zakażenia może dojść przez środki higieny i bieliznę; 2,1% matek i 1,9% córek wskazuje na drogę kropelkową zakażenia, a 4,4% matek i 3,9% nastolatek przyznaje, że nie zna odpowiedzi (rycina 4).



Rycina 4. Drogi zakażenia wirusem HPV w opinii badanych kobiet

Matki i córki zapytano o ich ogólny stosunek do szczepień oraz o opinie na temat szczepionek przeciwko wirusowi HPV.

Większość, czyli 60,8% matek i 80% córek deklaruje się jako zwolenniczki szczepień, a 8,7% matek oraz 6,6% nastolatek jest ich przeciwniczką. Co niepokojące dość duża grupa – aż 30,5% matek i 13,4% córek – nie ma zdania na ten temat (rycina 5).



Rycina 5. Stosunek do szczepień w grupie badanych kobiet

Opinie ankietowanych na temat szczepionek zbadano przy pomocy następujących zdań:

- A. Szczepienie jest konieczne, ponieważ zbyt dużo kobiet umiera na raka szyjki macicy.
- B. Szczepienie nie jest niezbędne, ale warto się szczepić.
- C. Szczepionka służy tylko firmom farmaceutycznym, które chcą zarobić jak najwięcej pieniędzy.
- D. Nie mam zdania.
- E. Myślę, że to moda wykreowana przez media.

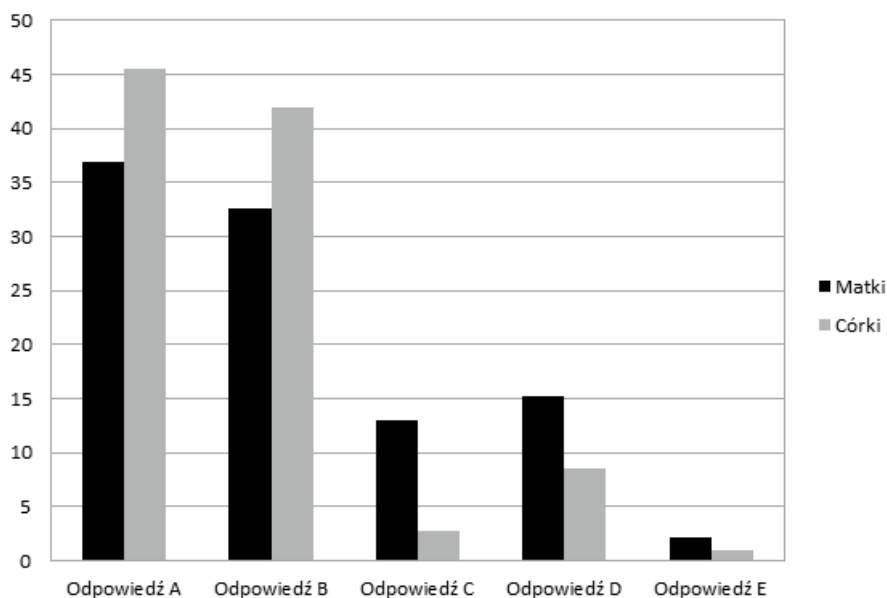
Udzielone odpowiedzi przedstawiono na rycinie 6.

Porównywalne wyniki uzyskano dla odpowiedzi A i B – 36,9% matek oraz 45,6% córek uważa, że szczepienie jest konieczne, a 32,6% matek i 42% uczennic jest zdania, że szczepienie nie jest niezbędne, ale warto się zaszczepić. Odpowiedź C – szczepionka służy tylko firmom farmaceutycznym – zaznaczyło 13% matek i tylko 2,9% córek. Zdania na ten temat nie ma 15,3% matek i 8,6% córek. Szczepionka jako moda wykreowana przez media to pogląd 2,2% matek i 0,9% córek.

W grupie matek zapytano, czy po szczepieniu przeciw wirusowi HPV można zrezygnować z badań cytologicznych. 84,8% kobiet odpowiedziało, że nie, 4,3% zaznaczyło odpowiedź twierdzącą, a 10,9% kobiet nie wie czy można tak postąpić.

Kobiety zapytano również o to, czy zaszczepiły swoje córki. Tylko 8,7% odpowiedziało twierdząco i aż 91,3% zaprzeczyło. Pytanie o przyczynę niezaszczepienia było pytaniem otwartym, a kobiety podawały następujące odpowiedzi:

wysoki koszt szczepienia (8 odpowiedzi), za mało informacji o szczepionkach (7 odpowiedzi), informacje o ich negatywnych skutkach (4 odpowiedzi), zbyt młody wiek córki (2 odpowiedzi) oraz brak rozpoczęcia przez nią życia seksualnego (2 odpowiedzi). Odpowiedzi nie sumują się, ponieważ nie wszystkie matki odpowiedziały na to pytanie.

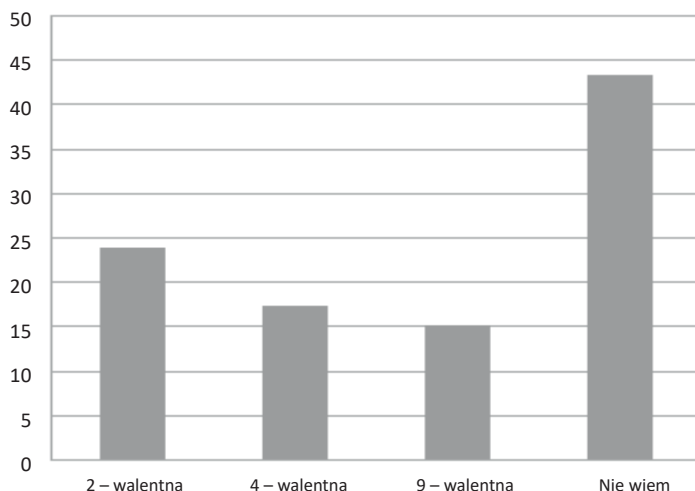


Rycina 6. Opinie badanych kobiet na temat szczepionek przeciwko wirusowi HPV

Kobiety, które zaszczepiły swoje córki były w wieku 51–54 lat, mieszkały w miastach – 75%, posiadały wykształcenie wyższe i średnie oraz wszystkie deklarowały dobrą sytuację materialną. Zaszczepione nastolatki są uczennicami Liceum Ogólnokształcącego im. Mikołaja Kopernika, które jest szkołą samorządową.

Natomiast córki zapytano, czy chciałyby być zaszczepione przeciw wirusowi HPV. Twierdząco odpowiedziało 59%, szczepić nie chce się 5,8% uczennic, 31,4% dziewcząt nie wie jeszcze, czy chce być zaszczepiona, a 3,8% już jest po szczepieniu.

Kobiety zapytano, czy zaszczepią swoje córki, jeśli samorząd lub NFZ sfinansują szczepienia. 54,3% kobiet odpowiedziało, że tak, 28,3% zaprzeczyło, a 17,4% nie wie, jak postąpić. Na pytanie o to, jaką wybrałyby szczepionkę, w 43,4%, matki odpowiedziały, że nie wiedzą, 23,9% wybrałoby szczepionkę 2-walentną, 17,4% szczepionkę 4-walentną, a 15,3% szczepionkę 9-walnetną (rycina 7).



Rycina 7. Wybór rodzaju szczepionki przeciwko wirusowi HPV w grupie badanych kobiet (matek)

Matki zostały zapytane, czy edukacja na temat profilaktyki raka szyjki macicy jest wystarczająca – 21,7% odpowiedziało twierdząco, a 78,3% uważa, że edukacji na ten temat jest zbyt mało.

## Dyskusja

Najskuteczniejszym sposobem ograniczenia zachorowań na nowotwory wszelkiego rodzaju, w tym także raka szyjki macicy, jest profilaktyka, a zwłaszcza profilaktyka pierwotna. W tego typu nowotworze zaliczamy do niej edukację seksualną i szczepienia ochronne. Dostępne na rynku szczepionki przeciwko wirusowi HPV chronią przed zakażeniem wysokoonkogennymi typami wirusa. W Polsce nie są one jednak obowiązkowe, dlatego decyzję o szczepieniu dziecka podejmują wyłącznie rodzice. Badania Faleńczyk i wsp. wykazały, że tylko 52,9% rodziców widzi taką potrzebę gdy jest to zalecane [4]. Polskie Towarzystwo Ginekologiczne radzi, aby szczepić dziewczynki przed inicjacją seksualną, w wieku 11–12 lat. Ze względu na wysoki koszt szczepienia (1 dawka to ok. 500 PLN, a cały cykl ok. 1500 PLN) jest to poważny wydatek w budżecie rodziny. Świadomość i edukacja rodziców musi być więc na odpowiednio wysokim poziomie, tak aby widzieli oni konieczność zaszczepienia swojej córki. W badaniach na temat profilaktyki raka szyjki macicy dominują tematy wczesnego wykrywania objawów chorobowych, skriningu cytologicznego i zachowań zdrowotnych, w tym seksualnych kobiet. Badania przeprowadzone w Wielkiej Brytanii dowiodły, że osiem lat szczepień

dziewczynek (2008–2016) zmniejszyło występowanie wirusa HPV w populacji z 8% do 6,9% [11].

Słopiecka i Wiraszka badały zachowania kobiet po wystąpieniu objawów chorobowych. Około 20% badanych zwlekało aż 10 miesięcy od momentu wystąpienia objawów do czasu zgłoszenia się do lekarza, co świadczy o ich niskiej świadomości zdrowotnej. Kobiety które zgłosiły się do lekarza natychmiast po zaobserwowaniu niepokojących objawów (najmniejsza grupa 14,5%), to osoby młode do 35 r.ż., u których nie stwierdzono różnic statystycznych pod względem wykształcenia i miejsca zamieszkania [12]. W badaniach Machaj i wsp. do ryzykownych zachowań seksualnych (stosunek z przysgodnym partnerem, bez użycia prezerwatywy) przyznaje się 13,2% badanych. Natomiast podejmowanie kontaktów seksualnych pod wpływem alkoholu, narkotyków lub innych środków psychoaktywnych najczęściej (29,5%) zdarza się osobom niezaangażowanym religijnie [13]. Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników zaleca wykonywanie przesiewowego badania cytologicznego raz na 3 lata, a badanie co 12 miesięcy jest rekomendowane dla kobiet z grupy ryzyka (zakażonych HIV, HPV, leczonych z powodu neoplazji śródnałonkowej) [14]. Z badań własnych wynika, że 50% kobiet wykonuje cytologię co roku i jest to najliczniejsza grupa, a 34,7% podaje, że ma ją robioną raz na 3 lata. Do grupy tej należą kobiety z wykształceniem wyższym, mieszkające w mieście, w dobrej sytuacji materialnej. W badaniach Leszczyńskiej i wsp. 24% kobiet poniżej 30 r.ż. i 28% powyżej 30 r.ż. uważa, że badanie cytologiczne powinno się wykonywać co 3 lata [15].

W badaniach własnych 74,2% dziewcząt i aż 86,9% ich matek wie, że zachorowanie na raka szyjki macicy jest związane z infekcją wirusem HPV. W badaniach Nowickiego i wsp. ponad połowa badanych kobiet z grupy związanej ze służbą zdrowia za główną przyczynę raka szyjki macicy uznało infekcję HPV, natomiast w grupie nie związanej ze służbą zdrowia tylko 13% wskazało na taką zależność [16]. Również ponad połowa kobiet – zarówno matek, jak i córek – zaszczepiłaby się przeciwko wirusowi HPV, gdyby istniała wtedy taka możliwość [16].

W badaniach przeprowadzonych przez Stefanek i Durke nie było różnic statystycznych w wiedzy o istnieniu szczepionki pomiędzy kobietami z różnych przedziałów wiekowych a tymi z różnym wykształceniem. Rozbieżności występowały tylko ze względu na miejsce zamieszkania – mniej kobiet na wsi i w małych miastach wiedziało o szczepionkach [17]. W badaniach Lewandowskiej i wsp. kobiety do 45 r.ż. wykazały się większą wiedzą na ten temat niż kobiety starsze [18]. W badaniach własnych 80% dziewcząt i 60,8% matek deklaruje się jako zwolenniczki szczepień. W pytaniu o szczepionkę przeciwko wirusowi HPV w obu grupach najwięcej (matki 36,9% i córki 45,6%) odpowiedzi uzyskało twierdzenie, że szczepienie jest konieczne, ponieważ zbyt dużo kobiet umiera na raka szyjki macicy. Kolejną pod względem wielkości grupę odpowiedzi (matki 32,6% i córki 42%) otrzymano na twierdzenie, że szczepienie nie jest niezbędne,

ale warto się szczepić. Tak więc w deklaracjach badane kobiety są zwolenniczkami szczepień przeciwko wirusowi HPV, jednak na pytanie, ile kobiet zaszczepiło swoje córki, twierdząco odpowiedziało tylko 8,6% badanych. Z kolei w grupie córek 59% wyraża chęć zaszczepienia się, 5,8% nie chce się szczepić, a 31,4% nie wie.

Szczepienie przeciwko wirusowi HPV nie jest ani obowiązkowe, ani refundowane. Jako jedną z głównych przyczyn nieszczepienia matki podają kwestie finansowe. Jeśli koszt szczepionki byłby pokrywany ze środków samorządu lub NFZ na szczepienie córek zdecydowałoby się 54,3% kobiet, 28,3% nadal nie chciałoby ich zaszczepić, a 17,4% nie wie jaką podjęłoby decyzję. W badaniach Szafrąńskiej-Barańskiej prowadzonych na grupie 134 dziewcząt zakwalifikowanych do bezpłatnego szczepienia w ramach terytorialnego programu pierwotnej profilaktyki raka szyjki macicy, ze szczepienia skorzystało 93,7% [19]. Rodzice mieli okazję uczestniczyć w spotkaniu edukacyjnym przed podjęciem decyzji – 60% podało, że uzyskana wiedza wpłynęła na ich decyzję o szczepieniu, a 40% rodziców podjęło ją na podstawie wiedzy uzyskanej z mediów [19]. W Unii Europejskiej 23 kraje zalecają rutynowe szczepienia dziewczynek przeciwko wirusowi HPV; tylko Austria zaleca takie szczepienie także dla chłopców [20]. W Danii po wprowadzeniu szczepionki ze szczepień korzystało 90% nastolatek, jednak w wyniku informacji o negatywnych skutkach szczepienia liczba ta spadła do 40%. Z tego powodu przeprowadzono kampanię informacyjną, która powoli odbudowała zaufanie do szczepionki [21].

Z badań własnych wynika, że kobiety nie posiadają dostatecznej wiedzy o szczepionkach, a na pytanie, jaką szczepionkę wybrałyby dla siebie, aż 43,4% odpowiedziało, że nie wie. Badane stwierdziły, że edukacja na temat profilaktyki raka szyjki macicy jest niewystarczająca (73,2%).

## Wnioski

1. Grupa badanych kobiet i ich córek posiada wiedzę na temat cytologii, związku pomiędzy zakażeniem wirusem HPV a rozwojem raka szyjki macicy; kobiety znają także drogę zakażenia wirusem HPV.
2. Wiedza matek na temat szczepionek przeciwko wirusowi HPV jest niewystarczająca; kobiety nie wiedzą także, jaką szczepionkę wybrać.
3. Matki deklarują się jako zwolenniczki szczepień, jednak niezaszczepienie córek tłumaczą – oprócz względów ekonomicznych – brakiem wiedzy o szczepionkach.
4. Konieczna jest edukacja kobiet w zakresie profilaktyki raka szyjki macicy, ze szczególnym uwzględnieniem profilaktyki pierwotnej czyli szczepień.
5. Edukacja rodziców powinna być skierowana na informacje o bezpieczeństwie szczepień, rodzaju szczepionek i wieku, w jakim dziewczęta powinny być w chwili rozpoczęcia cyklu szczepień.

6. Należy zwrócić uwagę władz samorządowych i NFZ na finansowanie przynajmniej części kosztów szczepienia lub włączeniu go do kalendarza szczepień obowiązkowych.

## Bibliografia

1. Długońska H. *Harald zur Hausen – badacz z pasją. Szczepionka przeciw rakowi szyjki macicy*. Wiadomości Parazytologiczne. 2009; 55 (3): 191–194.
2. Majewski S, Sikorski M. *Szczepienia przeciw HPV jako pierwotna profilaktyka raka szyjki macicy oraz innych zmian wywołanych przez HPV*. Przewodnik Lekarza. 2008; 1: 228–233.
3. Nasierowska-Guttmejer A, Kędzia W, Rokita W, Wojtylak S, Lange D, Jach R, Wielgoś M. *Polish Recommendations Regarding Diagnostics and Treatment of Cervical Squamous Intraepithelial Lesions According to the CAP/ASCCP Guidelines*. Ginekol. Pol. 2016; 87 (9): 670–676. doi: 10.5603/GP.2016.0066. (artykuł dostępny w wersji polskiej pod tytułem *Rekomendacje dotyczące diagnostyki i leczenia płaskonabłonkowych zmian śródnabłonkowych szyjki macicy na podstawie wytycznych CAP/ASCCP*).
4. Faleńczyk K, Piekarska M, Pluta A, Basińska H. *Czynniki wpływające na postawy rodziców wobec szczepień ochronnych u dzieci*. Post N Med. 2016; 29 (6): 380–385. doi: 10.5604/08606196.1205281.
5. Ściubisz M, *Dobre złego początki? O barierach we wdrażaniu szczepień przeciwko HPV*. Medycyna Praktyczna, 11.05.2015, <https://www.mp.pl/szczepienia/specjalne/117216,dobrego-zle-poczatki-o-barierach-we-wdrazaniu-szczepien-przeciwko-hpv> [dostęp: 4.09.2019].
6. European Medicines Agency. *Gardasil 9. 9-walentna szczepionka przeciw wirusowi brodawczaka ludzkiego (rekombinowana, adsorbowana)*, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/gardasil-9-epar-summary-public\\_pl.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/gardasil-9-epar-summary-public_pl.pdf) [dostęp: 4.09.2019].
7. Raczkowska-Łabuda K, Gorzelnik A, Zawadzka-Głós L. *Czemu laryngolog interesuje się rakiem szyjki macicy? Podsumowanie informacji dotyczących szczepień przeciwko HPV*. New Medicine. 2017; 3: 84–93. doi: 10.25121/New-Med.2017.21.3.84.
8. Nowakowski A, Turkot M, Wieszczy P, Miłosz K, Kamiński MF. *Co wiadomo o populacyjnych efektach szczepień przeciwko HPV?*. Medycyna Praktyczna, 14.11.2018, <https://www.mp.pl/szczepienia/artykuly/przegladowe/186-457,co-wiadomo-o-populacyjnych-efektach-szczepien-przeciwko-hpv> [dostęp: 4.09.2019].
9. Lindner B, Bidziński M. *Szczepienia przeciw onkogennym wirusom HPV u młodocianych w profilaktyce raka szyjki macicy*. Nowa Pediatria. 2016; 3: 117–120, [http://www.nowapediatria.pl/wp-content/uploads/2016/10/np\\_2016\\_117-120.pdf](http://www.nowapediatria.pl/wp-content/uploads/2016/10/np_2016_117-120.pdf) [dostęp: 4.09.2019].
10. Ściubisz M. *WHO wzywa do szczepień przeciwko HPV*. Medycyna Praktyczna, 11.02.2019, <https://www.mp.pl/szczepienia/aktualnosci/203762,who-wzywa-do-szczepien-przeciwko-hpv> [dostęp: 6.09.2019].

11. Datta S, Pink J, Medley GF, Petrou S, Staniszevska S, Underwood M, Sonnenberg P, Keeling MJ. *Assessing the Cost-Effectiveness of HPV Vaccination Strategies for Adolescent Girls and Boys In the UK*. BMC Infect Dis. 2019; 19 (1): 552. doi: 10.1186/s12879-019-4108-y.
12. Słopiecka A, Wiraszka G. *Zachowania kobiet w zakresie profilaktyki chorób narządów płciowych*. Prz Med Uniw Rzesz Inst Leków. 2013; 1: 50–60.
13. Machaj A, Roszak M, Stankowska I. *Ryzykowne zachowania seksualne kobiet w okresie prokreacyjnym*. Nowiny Lekarskie. 2010; 79 (1); 22–31.
14. Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników. Rekomendacje; <https://www.ptgin.pl/rekomendacje-0> [dostęp: 4.09.2019].
15. Leszczyńska K, Franek G, Moskwa J, Nowak-Kapusta Z, Maciejewska-Paszek I, Irzyniec T. *Wiedza kobiet na temat profilaktyki raka szyjki macicy*. Zdrowie i Dobrostan. 2015; 2: 257–270.
16. Nowicki A, Borowa I, Maruszak M. *Zachowania zdrowotne kobiet w zakresie zapobiegania, wczesnego wykrywania stanów przedrakowych i raka szyjki macicy*. Ginekol Pol. 2008; 79 (12): 840–849.
17. Stefanek A, Durka P. *Poziom świadomości kobiet na temat profilaktyki raka szyjki macicy*. Polski Przegląd Nauk o Zdrowiu. 2014; 1 (38): 29–38.
18. Lewandowska A, Mess E, Wrona A. *Profilaktyka pierwotna raka szyjki macicy*. Onkologia Polska. 2011; 14 (4): 185–189.
19. Szafrńska-Barańska A. *Dobry wybór. Program pierwotnej profilaktyki raka szyjki macicy*. Forum Medycyny Rodzinnej. 2015; 9 (2): 97–99.
20. European Centre for Disease Prevention and Control. *HPV Vaccination in EU Countries: Review of New Evidence*, 23.04.2014; <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/hpv-vaccination-eu-countries-review-new-evidence> [dostęp: 4.09.2019].
21. Vaccines Today. *Denmark: Rebuilding Confidence in HPV Vaccination*, 14.03.2018; <https://www.vaccines.today.eu/stories/denmark-rebuilding-confidence-hpv-vaccination> [dostęp: 4.09.2019].

## **Knowledge of adolescent girls and their mothers on the prevention of cervical cancer and HPV (human papilloma virus) vaccines**

### **Abstract**

Introduction: Infection with high-oncogenic types of HPV is associated with the development of cervical cancer in 70–80%. Primary prevention of cervical cancer is based on education and vaccination of girls aged 11–12 before sexual initiation (PTG recommendations). HPV vaccination is not obligatory. The aim of the study is to investigate why mothers do not decide to vaccinate their daughters with HPV vaccine.

Material and methods: The research group consisted of female students of two secondary schools in Tarnobrzeg and their mothers. An author's questionnaire was used as a research method.

Results: In the study group, both mothers and daughters have knowledge about the cytological examination, the relationship between HPV infection and the development of

cervical cancer, women know the way of HPV infection. However, the knowledge of mothers about HPV vaccination is insufficient, the women surveyed do not know the vaccines, they do not know when to vaccinate their daughters and they are afraid of the side effects of vaccination.

Key words: HPV infection, vaccine, prevention, cervical cancer

---

## PRACE POGLĄDOWE

---



Magdalena Nieckula<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0001-8897-5774]

Kinga Fecko-Gałowicz<sup>1</sup>

Justyna Adamczuk<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0002-4674-385X]

Joanna Girzelska<sup>2</sup> [ORCID: 0000-0002-5537-0987]

1. Podhalańska Państwowa Uczelnia Zawodowa w Nowym Targu, Instytut Nauk o Zdrowiu

2. Wyższa Szkoła Ekonomii i Innowacji w Lublinie, Wydział Nauk o Człowieku

## OPATRUNKI SPECJALISTYCZNE STOSOWANE W LECZENIU OWRZODZEŃ ŻYLNICH PODUDZI

Adres do korespondencji:

Magdalena Nieckula, Podhalańska Państwowa Uczelnia Zawodowa w Nowym Targu,  
Instytut Nauk o Zdrowiu, ul. Leśna 36, 34-730 Mszana Dolna, tel. 504855142,  
e-mail: madzianieckula@gmail.com

### Streszczenie

Owrzodzenia żyłne podudzi stanowią wieloaspektowy, poważny problem współczesnej medycyny. Proces ich gojenia trwa od kilku miesięcy do kilku, a nawet kilkunastu lat. Leczenie połowy wszystkich owrzodzeń zajmuje średnio 9 miesięcy, w 20% przypadków są to 2 lata, u 8% chorych ponad 5 lat, natomiast nawrót schorzenia jest możliwy w ponad 70% przypadków. Z myślą o chorych stworzona została nowoczesna koncepcja leczenia ran, której nieodzownym elementem są opatrunki specjalistyczne umożliwiające optymalne leczenie rany. Wspomagają i przyspieszają proces gojenia, przez co mają wpływ na poprawę kondycji ogólnej pacjenta, jego stan psychiczny, a w efekcie także na jakość życia. Celem niniejszej pracy było omówienie znaczenia opatrunków specjalistycznych w procesie leczenia owrzodzeń żylnych podudzi z wykorzystaniem strategii TIME.

Słowa kluczowe: owrzodzenia żyłne gołeni, opatrunki specjalistyczne, strategia TIME

## Wprowadzenie

Owrzodzenia żyłne podudzi występowały u ludzi już w czasach starożytnych, a ślad po nich uwieczniony został w egipskich papirusach. Setki lat temu dostrzeżono konieczność zabezpieczenia rany opatrunkiem, którego celem miała być ochrona odsłoniętych tkanek przed ponownym uszkodzeniem [1,2]. Owrrzodzenia podudzi stanowią wieloaspektowy, poważny problem współczesnej medycyny. Proces gojenia rany jest długotrwały i trwa od kilku miesięcy do kilku, a nawet kilkunastu lat. Literatura przedmiotu [1–4] podaje, że „leczenie połowy wszystkich owrrzodzeń trwa średnio 9 miesięcy, w 20% przypadków 2 lata, u 8% chorych ponad 5 lat, natomiast w ponad 70% przypadków jest możliwy nawrót schorzenia” [2]. Długotrwała choroba prowadzi do poważnych powikłań, powoduje przykre dla chorego dolegliwości i objawy. Stanowi też poważny problem leczniczy i pielęgnacyjny, zwłaszcza w zaawansowanych stadiach i towarzyszących im powikłaniach, spośród których najcięższe są rozległe owrrzodzenia podudzi [5].

Celem niniejszej pracy było omówienie znaczenia opatrunków specjalistycznych w procesie leczenia owrrzodzeń żylnych podudzi z wykorzystaniem strategii TIME.

## Owrrzodzenie żyłne – epidemiologia i etiologia

Grupa Ekspertów definiuje owrrzodzenie żyłne jako „ubytek pełnej grubości skóry, zwykle w okolicy kostek, który nie ma tendencji do samoistnego gojenia i jest podtrzymywany przez istniejące zaburzenia w odpływie żylnym” [6]. Owrrzodzenia żyłne podudzi są spowodowane długotrwałym działaniem nadciśnienia żylnego, które wynika z przewlekłej niewydolności żyłnej oraz zakrzepicy żył powierzchownych i głębokich [2,7–10].

Owrrzodzenia żyłne podudzi należą do najczęściej rozpoznawalnych ran przewlekłych. Terminem „rana przewlekła” charakteryzuje się „rany z ubytkiem substancji tkankowej, w której przy zastosowaniu konwencjonalnych metod leczenia nie dochodzi do aktywacji procesu gojenia w ciągu 8 tygodni” [11–12]. Europejskie Towarzystwo Leczenia Ran (European Wound Management Association, EWMA) zasugerowało zmianę terminologii. Zaproponowano, aby termin ten zastąpić pojęciem „rana nie gojąca się”, ponieważ odzwierciedla ono problemy, z jakimi spotykają się pacjenci i personel medyczny podczas udzielania świadczeń diagnostyczno-terapeutycznych: czas, w jakim rana powstała, jej odmienność, a także ból jaki towarzyszy pacjentowi [2,13–14].

Owrrzodzenia żyłne powstające na bazie przewlekłej niewydolności żyłnej stanowią 75% wszystkich przypadków. Owrrzodzenia żyłne czynne, częstsze u kobiet niż u mężczyzn, występują u ok. 0,3% dorosłej populacji krajów wysoko rozwiniętych. Owrrzodzenia czynne i zagojone występują łącznie u ok. 2% popu-

lacji. W Polsce problem ten dotyczy 17–20% społeczeństwa. Szczyt zapadalności na to schorzenie przypada na okres między 60 a 80 r.ż. [10–11].

Istnieje wiele czynników ryzyka powstania owrzodzenia żylnego podudzi. Nawrotowe owrzodzenie żylnie pojawia się w blisko 70% u chorych z czynnikami ryzyka [6,15–16]. Czynniki te dzielimy na bezpośrednie (żylaki, zakrzepica żył głębokich, przewlekła niewydolność żylna, upośledzona czynność mięśni łydki, przetoka tętniczo-żylna, otyłość; w wywiadzie: złamanie kończyny, wiek, płeć, ciąża, siedzący tryb życia, dieta ubogoresztkowa i zaparcia, pozycja ciała podczas pracy) oraz pośrednie (wszystkie czynniki ryzyka prowadzące do zakrzepicy żył głębokich, włączając do tego dysfunkcje takich składników krwi jak: białko C, białko S, antytrombina III, rodzinne występowanie żylaków) [6,15–16].

## **Charakterystyka owrzodzeń żylnych**

### ***Umiejscowienie***

Owrzodzenia żylnie podudzi najczęściej umiejscawiają się w 1/3 dolnej części podudzi od strony wewnętrznej w okolicy kostki. Zmiany te dotyczą 74% chorych. Około 49% ran o etiologii żylniej występuje w okolicy kostki bocznej, rzadziej w części przedniej – 8,5%, i tylnej podudzi – 3%. Wyjątkowo owrzodzenia żylnie mogą pojawiać się na grzbiecie stopy lub na palcach, co stanowi zaledwie 1% wszystkich przypadków [6,17].

### ***Łożysko***

Łożysko owrzodzenia żylnego jest płaskie, w fazie zapalenia i oczyszczania pokryte włóknikiem, martwicą ropną lub wydzieliną. Na etapie proliferacji wypełnione jest wysepkami ziarniny. Zmiany mogą być pojedyncze lub mnogie, od punktowych do olbrzymich, okrężnych i obejmujących cały obwód goleni. Najczęściej wymiary owrzodzenia wynoszą od kilku milimetrów kwadratowych do kilkudziesięciu, a nawet kilkuset centymetrów kwadratowych.

### ***Głębokość owrzodzenia***

Zmiana owrzodzeniowa może mieć różną głębokość (1–2 mm), a także być raną płaską lub głębokim ubytkiem, który sięga do powięzi głębokiej. Świeżo powstałe rany charakteryzuje niewielka utrata naskórka i skóry. Rany wieloletnie mogą być z kolei bardzo rozległe i głębokie.

### ***Kształt i brzegi***

Wygląd owrzodzenia zależy od: czasu trwania, towarzyszącego mu zakażenia, dynamiki gojenia i sposobu leczenia. Jego kształt jest przeważnie owalny, ale może mieć również formę nieregularną.

### **Wysięk**

Dno owrzodzenia jest płaskie, często pokryte martwiczą i/lub zainfekowaną tkanką i zawiera wydzielinę ropną, krwistą lub przypominającą osocze. Może być wypełnione masami martwiczymi, warstwą włóknikową, żółto lub zielonkawo podbarwioną. Powierzchnia może wydzielać treść surowiczą lub ropną. Gdy rana zaczyna się goić, na powierzchni uwidacznia się czysta, mocno czerwona ziarnina, początkowo w postaci pojedynczych grudek, a później w formie rozlanej tkanki wypełniającej całość dna rany [6,9–10,17–18].

W prawidłowo gojącej się ranie wydzielina jest jasna lub żółtoróżowa, zwykle klarowna i rzadka, przez co przypomina osocze. Gdy zawarte w nim elementy morfotyczne krwi mają w swoim składzie domieszkę ropy, wydzielina z rany staje się mętna i gęsta, a jej barwa zmienia się w szarożółtą. Wydzielinie produkowanej przez owrzodzenie towarzyszy nieprzyjemny zapach [6,17].

Skóra otaczająca ranę może być sucha, łuszcząca się, z objawami hiperkeratozy albo wilgotna i zmacerowana przez wysięk lub przesięk osocza. Dokonując jej oceny wokół rany należy zwrócić uwagę na występowanie charakterystycznych zmian skórnych, np. żylaków, obwodowego obrzęku kończyny, przebarwień lub wyprysku stwardnień skórno-tłuszczowych.

Owrzodzeniom żylnym może towarzyszyć obrzęk rozprzestrzeniający się od kostki w kierunku proksymalnym – w początkowej fazie choroby ustępuje on po odpoczynku, w zaawansowanym stadium może być twardy i stały. Zdarza się, że chora kończyna przyjmuje kształt „odwróconej butelki szampana”.

Ranę należy regularnie oceniać uwzględniając głębokość uszkodzenia tkanek oraz fazę procesu gojenia wraz z pomiarami powierzchni odzwierciedlającymi postęp tego procesu. Zmiany pola powierzchni można ocenić: z zastosowaniem planimetrii cyfrowej, za pomocą fotografii lub manualnego obrysowania rany na folii, a następnie naniesienia i obliczenia jej powierzchni na papierze milimetrowym. Ważne jest, aby miejscowa ocena rany miała charakter stałego monitoringu i obejmowała regularną kontrolę zmian zachodzących w czasie terapii. Ocena i leczenie miejscowe nie mogą stanowić jednak odrębnej i jedynej strategii postępowania z raną [10].

W Polsce obserwuje się pozytywne zmiany zachodzące w podejściu zespołów terapeutycznych do problemu leczenia i pielęgnowania owrzodzeń żylnych. Opieka zorientowana jest na podejście holistyczne, wielokierunkowe i angażujące różnych specjalistów. Leczenie powinno zawierać aspekty terapii przyczynowej i obejmować miejscowe leczenie rany. Dzięki temu kompleksowe działania leczniczo-pielęgnacyjne owrzodzeń żylnych przyczynią się do pozytywnego rokowania i szybszego wygojenia ran. W bezpośredniej opiece nad pacjentem z owrzodzeniem podudzi znaczącą rolę pełni pielęgniarka. Dlatego też podjęte przez nią działania mogą przyczynić się do wzrostu wskaźników gojenia, ograniczenia liczby powikłań i zredukowania ogólnych kosztów leczenia [19].

## Strategia TIME w leczeniu owrzodzeń żylnych podudzi

Grupa Ekspertów Europejskiego i Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran wypracowała założenia w zakresie miejscowego leczenia owrzodzeń żylnych. Strategia TIME skupia się na specyficznej patofizjologii owrzodzeń, a jej priorytetowe działania odnoszą się do najważniejszych elementów procesu opracowania dna rany [6,10]. Nadrzędnym celem jest więc przywrócenie kolejności i czasu trwania poszczególnych faz gojenia, które uległy destabilizacji i/lub patologicznemu wydłużeniu [6]. Do zaplanowanych działań zaliczymy zarówno samo oczyszczanie i usunięcie destrukcyjnych czynników zewnętrznych, jak również czynności, które przyczynią się do wzmocnienia wewnętrznego potencjału i jak najbardziej naturalnego gojenia owrzodzenia [10].

Strategia TIME zwraca uwagę na interwencje celowe i przemyślane. Jej wdrożenie wymaga dokładnego zobrazowania oraz oceny stanu rany, która to ocena określi i zadecyduje o podjęciu kolejnych działań i poszczególnych elementów strategii. Strategia TIME, odwołująca się do naturalnych mechanizmów gojenia, wiąże się z wykluczeniem agresywnych i hamujących proliferację działań terapeutycznych i pielęgnacyjnych. Charakteryzuje ją podejście holistyczne uwzględniające wszystkie przyczyny rozwoju i przewlekłości rany oraz czynniki wpływające na jej gojenie się [9–10].

Strategia TIME zawiera cztery elementy, które należy uwzględnić podczas każdorazowego zaopatrywania rany:

- T – *Tissue debridement* – opracowanie i usunięcie martwych tkanek;
- I – *Infection and inflammation control* – kontrola infekcji i zapalenia;
- M – *Moisture balance* – utrzymanie równowagi wilgotności;
- E – *Edges, epidermization stimulation* – pobudzenie ziarninowania i naskórkowania z brzegów rany.

Cele opracowania rany według strategii przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Cel opracowania rany według strategii TIME [10]

|                                                                              |
|------------------------------------------------------------------------------|
| T – martwica tkanek – opracowanie i usunięcie martwych tkanek:               |
| • redukcja martwicy;                                                         |
| • zniesienie bariery mechanicznej;                                           |
| • uwidocznienie łożyska rany;                                                |
| • usunięcie starych komórek niereagujących na bodźce biochemiczne;           |
| I – miejscowy stan zapalny i zakażenie rany – kontrola infekcji i zapalenia: |
| • zmniejszenie liczby bakterii kolonizujących ranę;                          |
| • ograniczenie procesu zapalnego, zmniejszenie ilości cytokin prozapalnych;  |
| • optymalizacja stężeń enzymów proteolitycznych oraz ich inhibitorów;        |
| • zwiększenie aktywności czynników wzrostu;                                  |

---

M – równowaga wilgotności – utrzymanie równowagi wilgotności:

- zmniejszenie ryzyka maceracji i ochrona skóry wokół rany przed uszkodzeniem;
- optymalizacja mikrośrodowiska i jego parametrów biochemicznych;
- upłynnienie suchej martwicy, efektywna autoliza martwicy rozplywającej;
- właściwy przebieg procesów biochemicznych, proliferacyjnych i migracji elementów komórkowych;

---

E – nieprawidłowe brzozy rany, naskórkowanie – pobudzenie ziarninowania i naskórkowania z brzożów rany:

- obecność prawidłowych fibroblastów i keratynocytów;
  - proliferacja komórek ziarniny;
  - migracja keratynocytów – widoczny obszar naskórkowania również z brzożów rany.
- 

Wprowadzenie strategii TIME pozwala zmodyfikować środowisko biochemiczne rany i ułatwić jej przechodzenie przez kolejne etapy procesu naprawy: zapalenie, ziarninowanie i epitelizację, a także umożliwia zapoczątkowanie procesu efektywnego gojenia się rany [6,10].

### ***T – opracowanie i usunięcie martwych tkanek***

Przed zastosowaniem opatrunku należy oczyścić łożysko owrzodzenia, usuwając z jego powierzchni fizyczne, biologiczne i toksyczne czynniki opóźniające proces gojenia rany [4]. Przewlekły charakter owrzodzenia i związana z nim długotrwała ekspozycja na działanie czynników zewnętrznych sprawiają, że rana jest zanieczyszczona i często ulega zakażeniu. Martwica, mało wartościowe tkanki w ranie oraz różne zanieczyszczenia tworzą idealne podłoże dla wzrostu drobnoustrojów chorobotwórczych. Mogą być one źródłem groźnej infekcji, ponieważ martwe tkanki stanowią mechaniczną przeszkodę hamującą gojenie rany oraz tworzą idealne warunki do zasiedlenia i namnażania się w łożysku rany drobnoustrojów chorobotwórczych. Usunięcie zarówno martwiczej tkanki, ropy, nadmiaru wysięku, wszelkich zanieczyszczeń, ciał obcych, jak i mikroorganizmów przyczynia się do stworzenia optymalnych warunków do gojenia się owrzodzenia.

Leczenie miejscowe, stosowane równolegle z kompresjoterapią, obejmuje: opracowanie martwych tkanek, kontrolę bakteriologiczną, leczenie zakażenia, wilgotne leczenie rany i stosowanie opatrunków specjalistycznych.

Niezależnie od sposobu oczyszczenia rany, rana owrzodzeniowa w związku z trwającym procesem chorobowym prowadzącym do martwicy tkanek może wymagać wielokrotnego oczyszczania. Istnieje na to kilka sposobów. Najczęściej stosuje się autolityczne i mechaniczne opracowanie rany, ponieważ jest ono najbardziej korzystne dla procesu gojenia. W przypadku ran opornych na postępowanie autolityczne można wdrożyć opracowanie mechaniczne, enzymatyczne, biochirurgiczne, chirurgiczne i metody fizyczne, takie jak: sonoterapia, elektroterapia, komora hiperbaryczna lub zastosować podciśnienie miejscowe.

Wyboru najbardziej optymalnej metody opracowania rany i rodzaju opatrunku dokonuje się biorąc pod uwagę następujące kryteria:

- stopień zanieczyszczenia rany i rozległość martwicy wypełniającej łożysko owrzodzenia;
- selektywność metody opracowania i ryzyko uszkodzenia zdrowych tkanek;
- efektywność i czas optymalnego oczyszczenia rany;
- obecność/brak zakażenia rany;
- ogólny stan chorego;
- dostępność środków i całkowity koszt leczenia [6,9–11].

### ***I – kontrola infekcji i zapalenia***

Ponad 80% owrzodzeń żylnych jest skolonizowanych przez bakterie. Umiarkowana obecność drobnoustrojów w ranie i ich bezobjawowa kolonizacja stanowią zjawisko naturalne i akceptowane, ponieważ obecność ta jest stymulowana przez odpowiedź immunologiczną w ranie.

Ocena rany wymaga oznaczenia liczby i gatunku patogenów. Badanie mikrobiologiczne w celu wykrycia jej zakażenia jest konieczne i uzasadnione wielokierunkowym oraz niekorzystnym wpływem bakterii na proces gojenia. Oceny mikrobiologicznej rany dokonuje się za pomocą oceny jakościowej (wymaz) i ilościowej (biopłat) [6,9–10].

Postępowanie, które ma za zadanie redukcję ryzyka zakażenia obejmuje takie działania jak:

- staranne opracowanie i eliminację z łożyska rany składników stanowiących pożywkę dla bakterii;
- odkażanie rany łagodnym preparatem antyseptycznym o niskim wskaźniku toksyczności, który jest przeznaczony do aplikacji bezpośrednio na zdrowe tkanki;
- włączenie wyłącznie antybiotykoterapii ogólnej zgodnie z wynikami badań mikrobiologicznych;
- stosowanie specjalistycznych opatrunków: piankowych, z jonami srebra, z węglem lub alginianem wapnia, które likwidują nieprzyjemny zapach i wydzielinę oraz posiadają właściwości sekwestracyjne [6,9].

Nie należy stosować na ranę maści z antybiotykiem oraz środków bakteriobójczych, takich jak: woda utleniona, sol. Rivanoli, spirytus czy gencjana, ze względu na ich działanie cytotoksyczne [8].

W przypadku zainfekowanej rany owrzodzeniowej ważny jest dobór technik i środków do oczyszczania rany. Na uwagę zasługują lawaseptyki i antyseptyki. Celem pierwszych jest oczyszczenie rany poprzez fizyczne usunięcie substancji szkodliwych. Z kolei antyseptyki posiadają w swoim składzie substancje aktywne o charakterze przeciwdrobnoustrojowym. W związku z powyższym zasadne jest, aby do oczyszczania ran używać lawaseptyków łącznie z antyseptykami [20].

### ***M – utrzymanie równowagi i wilgotności***

Owrzodzenia żylne charakteryzuje intensywny wysięk o nieprawidłowych stężeniach i proporcjach mediatorów biochemicznych. Ważnym elementem w strategii TIME jest rola wysięku w ranie. Jego obecność jest zjawiskiem pożądanym i mającym korzystny wpływ na gojenie. Niekorzystny jest natomiast jego nadmiar lub brak. Wysięk prawidłowy ma barwę słomkową lub lekko bursztynową, a zdjęty z rany opatrunek uzupełnia dane dotyczące jego cech. Ponadto dostarcza informacji odnośnie poziomu wilgotności w ranie i trafności doboru terapii miejscowych [6].

Równowagę wilgotności utrzymuje się zapewniając odpowiedni opatrunek – właściwie dobrany wchłania nadmiar wysięku utrzymując na powierzchni rany optymalny poziom nawodnienia. Absorpcja nadmiaru wydzieliny, jako jeden z elementów strategii TIME, stanowi uzupełnienie i zarazem wzmocnienie efektów wcześniejszego opracowania tkanek i redukcji bytujących w ranie mikroorganizmów [8–9].

Kontynuacja badań Georga Wintera dotycząca wpływu wilgoci na proces gojenia doprowadziła do zdefiniowania cech opatrunku przyjaznego ranie, a więc takiego, który pobudza proces gojenia i zapewnia jednoczesną, efektywną ochronę delikatnych struktur rany przed uszkodzeniem. Utrzymanie optymalnej wilgotności rany ma na celu stworzenie środowiska sprzyjającego: proliferacji komórek, pobudzeniu syntezy kolagenu i stymulacji angiogenezy. Zalety takie posiadają gotowe opatrunki, tj. interaktywne opatrunki nowej generacji stosowane w leczeniu owrzodzeń [17]. Na polskim rynku obecnych jest wiele firm produkujących bądź dystrybuujących takie opatrunki [21].

Podstawowe grupy opatrunków specjalistycznych przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Charakterystyka wybranych grup opatrunków specjalistycznych [6]

| Grupa /właściwości opatrunków                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hydrokoloidowe: <ul style="list-style-type: none"> <li>• utrzymują wilgotne środowisko gojenia (chłonąc wysięk i tworząc miękki żel na powierzchni rany), stałą optymalną temperaturę oraz kwaśny odczyn wysięku;</li> <li>• stymulują fibrynolizę, pobudzają aktywność enzymów proteolitycznych;</li> <li>• przyspieszają proliferację i migrację nowych komórek;</li> <li>• zapewniają zewnętrzną ochronę rany (przed wpływem wilgoci, zanieczyszczeń, kału, moczu, bakterii, tlenu oraz przed tarciem i uciskiem);</li> <li>• łagodzą dolegliwości bólowe;</li> </ul> |
| Pasty, pudry: <ul style="list-style-type: none"> <li>• pasty przeciwdziałają zapadaniu się podminowanych brzegów rany; wypełniają ranę i umożliwiają kontakt z opatrunkiem pokrywającym;</li> <li>• pudry posiadają właściwości ochronne i zwiększają chłonność opatrunku;</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

---

**Błony półprzepuszczalne:**

- posiadają właściwości adhezyjne, które powodują dobre przyleganie opatrunku do rany;
- chronią skórę/ranę przed wpływem wilgoci, powietrza i zanieczyszczeń;
- utrzymują wilgoć na powierzchni rany (umiarkowane parowanie wody z rany);

---

**Alginianowe, alginianowo-wapniowe:**

- są chłonne (absorbują wysięk w ilości 18–20-krotność własnej masy);
- utrzymują wilgotne środowisko gojenia (chłoną wysięk, tworzą żel);
- posiadają cechy hemostatyczne (obecność jonów  $\text{Ca}^{2+}$  wpływa na ciśnienie osmotyczne w kapilarach i przyspiesza proces krzepnięcia);
- są hipoałergiczne (resztki żelu ulegają biodegradacji do cząsteczek glukozy nie wywołując objawów alergicznych);

---

**Hydrowłókniste:**

- są chłonne;
- utrzymują wilgotne środowisko gojenia;
- posiadają zdolność sekwestracji;

---

**Poliuretanowe:**

- są chłonne (odbarczają nadmiar wydzieliny, oczyszczają rany);
- utrzymują wilgotne środowisko gojenia;
- stymulują fibrynolizę i angiogenezę;
- są opatrunkami przylepnymi, które zapewniają zewnętrzną ochronę rany;

---

**Hydrożelowe:**

- gwarantują nawodnienie rany;
- powodują upłynnienie martwicy (przez dostarczanie wilgoci i wzmacnianie naturalnej autolizy)

---

**Przeciwdrobnoustrojowe:**

– zawierające srebro hydrofilowe:

- posiadają szeroki zakres bójczy;
- są chłonne i oczyszczające;

---

– zawierające srebro hydrofobowe:

- posiadają szeroki zakres bójczy;
- nie mają właściwości chłonnych;

---

– zawierające środek antybakteryjny, np. Octenilin

- posiadają szeroki zakres bójczy, inaktywują patogeny;
- regulują bilans wilgotności w ranie, przyspieszają proces gojenia;
- upłynniają martwicę;

---

**Hydrofobowe:**

- posiadają silne właściwości hydrofobowe powodujące eliminację drobnoustrojów ze środowiska rany;
- większość ma właściwości chłonne;

---

**Inne – złożone:**

– z superabsorbentem:

- zapewniają aktywne oczyszczanie rany;

---

– z celulozą i kolagenem:

- zmniejszają aktywność proteaz;
- optymalizują mikrośrodowisko rany w fazie proliferacji

---

**Opatrunki siatkowe:**

- są nieprzywierające;
  - chronią delikatną tkankę
-

### ***E – nieprawidłowe brzegi rany, naskórkowanie***

Niezastąpioną częścią procesu leczenia rany jest wnikliwa obserwacja jej brzegów. Nadmiar wysięku może przyczynić się do maceracji brzegów rany, a tym samym spowodować opóźnienie w procesie gojenia. Szczególną uwagę należy zwrócić na zaopatrywanie rany opatrunkiem przy brzegach nietypowych (np. wychodzących ponad powierzchnię skóry, podminowanych, wałowatych, twardych i zwłókniałych). Ranę ziarninującą i prawidłowo naskórkującą należy zaopatrzyć opatrunkiem w formie cienkiej płytki, która będzie chronić epitelizującą ranę przed uszkodzeniem, wysuszeniem i zanieczyszczeniem – opatrunek hydrokoloidowy, błona poliuretanowa, hydrożele, opatrunki mieszane/złożone przeznaczone do ran płaskich [6].

Opatrunek na ranę owrzodzeniową należy dobierać zgodnie z miejscową charakterystyką rany. W zaopatrywaniu ran przewlekłych najważniejszym kryterium jego doboru jest faza procesu gojenia i związana z nią produkcja wysięku. Przed zastosowaniem opatrunku należy zapoznać się z jego składem, właściwościami i wskazaniami do zastosowania tak, aby na każdym etapie gojenia spełniał on wymaganą funkcję [6].

Jednym ze sposobów klasyfikacji owrzodzeń żylnych jest oparty na doświadczeniach brytyjskich tzw. system kolorowy [3–5,10]:

- czarna/ciemnobrązowa martwica – jest to sucha lub miękka martwica w kolorze czarnym/brązowym wypełniająca dno owrzodzenia, która nie stanowi pożywki dla drobnoustrojów. W owrzodzeniach z czarną martwicą często występują uchyłki i kieszenie [3,5–6,10]. W tego rodzaju owrzodzeniach wskazane są opatrunki zatrzymujące lub dostarczające wilgotność (np. opatrunki hydrożelowe, hydrokoloidowe lub błony poliuretanowe) [6,9,11,18].
- żółta martwica rozpułwina – najczęściej o luźnej konsystencji, może być częściowo związana z podłożem i towarzyszy ranom sączącym, często zainfekowanym [3,5–6,10]. W fazie oczyszczania z żółtej martwicy opatrunek powinien zatamować krwawienie, wchłaniać wydzielinę z rany i zapobiegać zakażeniom. Należy wybierać więc opatrunki o dużej chłonności, wspomagające – o ile to możliwe – proces hemostazy i samooczyszczania rany oraz spełniające wymogi co do barierowości dla drobnoustrojów. Do takich opatrunków należą: opatrunki hydrowłókniste, alginianowe, piankowe [6,9]. W ranach zakażonych wskazane są opatrunki pochłaniające nadmiar wysięku i zawieszonych w nich drobnoustrojów. Rekomenduje się również opatrunki absorbujące zapach (np. opatrunki hydrowłókniste, piankowe, zawierające srebro, hydrofobowe, opatrunki z węglem aktywowanym) [6,9,11,18,25,26].
- czerwona tkanka – charakterystyczna w fazie ziarninowania. Prawidłowa ziarnina jest lśniąco czerwona lub czerwono-różowa, ma postać delikatnych, luźnych lub zwartych grudek i łatwo krwawi przy dotknięciu. Zmia-

na barwy może sugerować zakażenie – ziarnina zmienia wówczas konsystencję i łatwo ulega krwawiącym uszkodzeniom [3,5–6,10]. W tej fazie opatrunki powinny zapewnić wilgotność (wchłaniać nadmiar wydzieliny, zapobiegać wysychaniu), ochraniać bardzo delikatną i podatną na uszkodzenia tkankę ziarninową oraz zapobiegać zakażeniom. Wybierać należy więc opatrunki „wilgotne” lub tworzące wilgotne środowisko w ranie, atraumatyczne, stymulujące czynność fibroblastów (np. opatrunki alginianowe, piankowe, hydrokoloidowe) [6,9,11].

- różowa tkanka – kolor różowy oznacza fazę naskórkowania i najczęściej pojawia się jako obwódka zacieśniająca tzw. obszar naskórkowania. Może występować w postaci wysepek pojawiających się lub zatopionych w grudkach ziarniny. Naskórkowanie jest jednym z końcowych etapów procesu gojenia, który sugeruje zamknięcie rany i odtworzenie ciągłości tkanek powierzchniowych [3–5,10]. W tej fazie wskazane jest stosowanie opatrunków cienkich o średniej/małej sile absorpcji, utrzymujących wilgotność i chroniących delikatny naskórek przed uszkodzeniem, wysuszeniem oraz zanieczyszczeniem (np. opatrunki hydrokoloidowe, hydrożelowe, błony poliuretanowe) [6,9,11,18].

## Podsumowanie

Leczenie owrzodzeń kończyn dolnych jest procesem długotrwałym i trudnym, a tym samym traktowanym jako problem wieloaspektowy. Rodzaj, rozległość i głębokość owrzodzenia decydują o wyborze leczenia rany. Na złożony proces gojenia wpływa wiele czynników często opóźniających czas jego trwania.

Zróznicowane pod względem budowy, składu oraz właściwości opatrunki specjalistyczne mają pewne wspólne cechy. Właściwie stosowane zapewniają odpowiedni poziom wilgotności, prawidłowe ciśnienie parcjalne tlenu, optymalną temperaturę oraz właściwe środowisko chemiczne (pH) [18]. Opatrunki specjalistyczne pochłaniają nadmiar wydzieliny z powierzchni owrzodzenia. Są półprzepuszczalne, co umożliwia częściowe odparowywanie nadmiaru wilgoci, a jednocześnie stanowi barierę ochronną przed szkodliwym wpływem czynników zewnętrznych. Zabezpieczają ranę przed płynami i bakteriami dzięki swojej wodoodporności [11,21]. Dodatkowo ułatwiają autolityczne oczyszczanie ran z martwicy oraz innych niekorzystnych zanieczyszczeń. Pobudzają syntezę kolagenu, sprzyjają powstawaniu dobrze unaczynionej ziarniny, pobudzają naskórkowanie. Opatrunki specjalistyczne są łatwe w użyciu i pozwalają ograniczyć czas pracy pielęgniarki. Obniżają całkowity koszt terapii, ponieważ skracają czas leczenia i tym samym zmniejszają zużycie produktów [11,17–18,21].

Opatrunki aktywne utrzymują stałą temperaturę w miejscu gojenia, nie powodują alergii, nie podrażniają rany i otaczającej ją skóry. Z kolei opatrunki interaktywne są dostępne w różnych rozmiarach, a także są łatwe do założenia i usunięcia. Nie przylegają i nie przyklejają się do powierzchni rany.

Postępowanie zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami, w tym wdrożenie leczenia przyczynowego i właściwe postępowanie miejscowe, gwarantuje sukces w postaci prawidłowego przebiegu procesu gojenia, a następnie wygojenia rany i utrzymania ciągłości skóry.

## Bibliografia

1. Mościcka P, Szewczyk MT, Cwajda-Białasik J, Hancke E, Jawień A, Brazis P. *Owrzodzenia o różnej etiologii. Opis gojenia trzech przypadków*. Piel Chir Ang. 2012; 3: 99–104.
2. Nieckula M, Dębska G, Szewczyk A. *Udział pielęgniarki podstawowej opieki zdrowotnej świadczącej usługi zdrowotne w domu chorego mającego owrzodzenie żyłne kończyn dolnych*. Piel Zdr Publ. 2015; 5 (2): 111–119.
3. Przybylska R. *Rola zabiegów pielęgnacyjnych w leczeniu owrzodzeń podudzi*. Piel Pol. 2009; 3 (33): 221–224.
4. Lewandowska L, Adamski Z. *Opieka pielęgniarska nad chorym z chorobą owrzodzeniową podudzi*. Piel Pol. 2008; 1 (27): 59–65.
5. Mościcka P, Cwajda-Białasik J, Szewczyk MT, Jawień A. *Owrzodzenie żyłne – problem nie tylko osób starszych. Opis trzech przypadków klinicznych*. Piel Chir Ang. 2017; 11 (1): 5–12.
6. Jawień A, Szewczyk MT, Kaszuba A, Gaciong Z, Krasieński Z, Wroński J, Grzela T, Koblik T. *Wytyczne Grupy Ekspertów w sprawie gojenia owrzodzeń żylnych goleni*. Leczenie Ran. 2011; 8 (3): 59–80.
7. Gomułka W, Rewerski W (red.). *Encyklopedia zdrowia*. Tom I–II. Wyd. 9. PWN, Warszawa 2011.
8. Grey JE, Harding KG (red.). Strużyna J (red. wydania polskiego). Mądry R, Sierociński M, Strużyna J (tłum.). *Leczenie ran w praktyce*. Wyd. PZWL, Warszawa 2010.
9. Szewczyk MT, Jawień A (red. nauk.). *Leczenie ran przewlekłych*. Wyd. PZWL, Warszawa 2012.
10. Szewczyk MT, Jawień A, Cierzniańska K, Cwajda-Białasik J, Mościcka P. *Leczenie ran przewlekłych – owrzodzenie żyłne*. Piel Chir Ang. 2011; 2: 41–46.
11. Kurpas D, Wojtal M. *Rany przewlekłe w praktyce lekarza rodzinnego – zasady terapii i pielęgnacji*. Terapia. 2012; 3 (1): 60–66.
12. Wojszel ZB. *Owrzodzenia podudzi* [w:] Wieczorowska-Tobis K, Talarska D (red. nauk.) *Geriatryka i pielęgniarstwo geriatryczne. Podręcznik dla studiów medycznych*. Wyd. PZWL, Warszawa 2008: 290–295.
13. Białasik B, Muszałik M, Szewczyk MT. *Ocena dolegliwości bólowych u chorych z owrzodzeniem kończyny dolnej*. Piel Chir Ang. 2007; 4: 150–157.
14. Sepiolo A, Mroczek B, Modrzejewski A. *Nowoczesne metody leczenia ran w opiece środowiskowej – opis przypadku*. Fam Med & Prim Care Rev. 2012; 14 (1): 91–96.
15. Gawor A, Brzostek T, Gabrys T, Kawalec E, Malinowska-Lipień I, Reczek A. *Opieka pielęgniarska nad pacjentem z zakrzepowym zapaleniem żył* [w:] Jurkowska G, Łagoda K (red. nauk.). *Pielęgniarstwo internistyczne. Podręcznik dla studiów medycznych*. Wyd. PZWL, Warszawa 2011: 99–108.

16. Piotrowicz R, Brazis P. *Owrzodzenia żyłne goleni- diagnostyka i leczenie*. Nowa Klin. 2007; 14 (11–12): 1126–1129.
17. Jawień A, Szewczyk MT (red.). *Owrzodzenia żyłne goleni. Patogeneza, diagnostyka, leczenie i specjalistyczna opieka medyczna*. Wyd. Twoje Zdrowie, Warszawa 2005.
18. Szewczyk MT, Jawień A. *Zalecenia specjalistycznej opieki pielęgniarskiej nad chorym z owrzodzeniem żylnym goleni*. Piel Chir Ang. 2007; 3: 1–44.
19. Świt A, Gorzkowicz B. *Analiza czynników wpływających na efektywność leczenia owrzodzeń podudzi pochodzenia żylnego*. Fam Med & Prim Care Rev. 2011; 13 (4): 780–786.
20. Bartoszewicz M, Junka A. *Leczenie miejscowe rany przewlekłej objętej procesem infekcyjnym w świetle obowiązujących wytycznych*. Leczenie Ran. 2012; 9 (3): 93–97.
21. Krasowski G, Kruk M. *Leczenie odleżyn i ran przewlekłych*. Wyd. PZWL, Warszawa 2008.
22. Jawień A, Szewczyk MT (red.). *Kliniczne i pielęgnacyjne aspekty opieki nad chorym z owrzodzeniem żylnym*. Wyd. Termedia, Poznań 2008.
23. Mieszczkański P, Grażda P. *Owrzodzenia żyłne kończyn dolnych*. Lekarz. 2010; 7 (8):18–27.
24. Adamiec R. *Przewlekła niewydolność żylna – owrzodzenie żyłne. Współczesny algorytm kompleksowej terapii*. Terapia. 2012; 5 (2): 23–28.
25. Chrzan R, Kulpa T. *Opatrunki hydropolimerowe i hydrowłókniste w leczeniu przewlekłych owrzodzeń żylnych*. Leczenie Ran. 2011; 8 (3): 83.
26. Brazis P, Szewczyk MT, Woda Ł, Mościcka P, Jawień A. *Opatrunki hydrofobowe w leczeniu ran*. Leczenie Ran. 2011; 8 (4): 127–131.
27. Ustawa z dnia 15 lipca 2011 r. o zawodach pielęgniarki i położnej (Dz.U. 2011 Nr 174, poz 1039 z późn. zm.).

## Specialist dressings used in the treatment of venous leg ulcers

### Abstract

Venous leg ulcers are a multifaceted, a serious problem of modern medicine. The healing process takes from several months to a few or even several years. Treatment half of all ulcers takes an average of nine months in 20% of cases, two years in 8% of patients with more than five years, and more than 70% of the cases it is possible recurrence of the disease. In view of the patients developed it is a modern concept of treating wounds, which are an indispensable element of the specialist dressings for optimal wound healing. Promote and accelerate the healing process, which have an impact on the improvement of the general condition of the patient, mental state, and as a result, quality of life. The aim of this study was to discuss the importance of specialist dressings in the treatment of leg vein ulcers using the TIME strategy.

Key word: venous leg ulcers, special dressings, strategy TIME



Tomasz Senderek<sup>1</sup> [ORCID: 0000-0001-5937-5905]

Magdalena Macko<sup>2</sup> [ORCID: 0000-0001-7449-9121]

Piotr Kopiński<sup>3</sup> [ORCID: 0000-0002-7532-1226]

1. Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii i Patofizjologii

2. Krakowska Wyższa Szkoła Promocji Zdrowia

3. Collegium Medicum w Bydgoszczy, Zakład Genoterapii

## **PATOFIZJOLOGICZNE MECHANIZMY MIGOTANIA PRZEDSIONKÓW (AF) JAKO PODSTAWA SKUTECZNEGO LECZENIA W DĄŻENIU DO POLEPSZENIA JAKOŚCI ŻYCIA CHORYCH W ŚWIELE AKTUALNYCH WYTYCZNYCH ESC (EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY)**

Autor korespondencyjny:

Tomasz Senderek, Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza-Modrzewskiego, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii i Patofizjologii, ul. G. Herlinga-Grudzińskiego 1C, 30-705 Kraków, e-mail: tsenderek@afm.edu.pl

### **Streszczenie**

Migotanie przedsionków (*atrial fibrillation*, AF) należy do najczęstszych przyczyn nagłych zgonów, udarów mózgu i niewydolności serca, a zapadalność na AF w najbliższych latach jeszcze wzrośnie. Przyczynami choroby są: predyspozycje genetyczne, cukrzyca, niewydolność serca, otyłość, choroba wieńcowa, nadciśnienie tętnicze i starzenie się. Zmiany patofizjologiczne AF obejmują przebudowę przedsionków i naczyń wieńcowych, odczyn zapalny, niedokrwienie oraz zaburzenia gospodarki wapniowej kardiomiocytów. Jakość życia chorych z AF jest istotnie gorsza niż u osób zdrowych. Dzieje się tak wskutek osłabienia, kołatania serca, duszności, ucisku w klatce piersiowej i zaburzeń snu. Chorobie towarzyszy także stres psychospołeczny.

Zintegrowane leczenie AF obejmuje 4 filary: zaangażowanych chorych, zespoły wielodyscyplinarne, narzędzia technologiczne i dostęp do wszystkich możliwych terapii. Rozpoznanie oraz kontrola chorób współistniejących, leczenie przeciwzakrzepowe, kontrola rytmu serca i jego częstotliwości, a także edukacja istotnie poprawiają rokowanie i jakość życia chorych. Doraźne przywrócenie rytmu zatokowego i jego utrzymanie pozostaje integralną częścią postępowania. W celu zapobiegania nawrotowi AF, w razie współistniejącej niewydolności serca ze zmniejszoną frakcją wyrzutową, stosuje się leki nieantarytmiczne (ACEI/ARB, LBA), podobnie jak ma to miejsce w kardiomiopatii nadciśnieniowej (ACEI/ARB).

Leczenie zabiegowe w AF ma na celu całkowitą izolację żył płucnych, co przynosi skuteczniejszą kontrolę rytmu serca niż farmakoterapia. Zabieg przecewnikowy jest leczeniem z wyboru, a gdy jest on nieskuteczny lub przyjmowane leki nie pomagają, przeprowadza się zabieg chirurgiczny.

Wiele współistniejących chorób zwiększa ryzyko wystąpienia, nawrotów i powikłań AF. Ich identyfikacja i leczenie odgrywają ważną rolę w zapobieganiu AF oraz w optymalnym prowadzeniu chorych.

Słowa kluczowe: migotanie przedsionków, izolacja żył płucnych, jakość życia z arytmia

## Wprowadzenie

### *Zarys epidemiologii oraz mechanizmów arytmii*

Migotanie przedsionków (*atrial fibrillation*, AF) jest jedną z najczęstszych przyczyn udarów mózgu, niewydolności serca, nagłych zgonów czy chorób sercowo-naczyniowych na świecie, pomimo nieustannego rozwoju medycyny oraz ogromnego postępu w jego leczeniu. Z tego powodu Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne (European Society of Cardiology, ESC) przewiduje, że zapadalność na AF w najbliższych latach istotnie się zwiększy [1–4].

Arytmia jest wywoływana przez takie czynniki etiologiczne jak: predyspozycje genetyczne, cukrzyca, niewydolność serca, otyłość, choroba wieńcowa, nadciśnienie tętnicze czy proces starzenia się. Najczęstsze zmiany patofizjologiczne wynikające z etiologii dotyczą: przebudowy strukturalnej przedsionków (w tym: aktywacji fibroblastów, włóknienia, nacieczenia tkanką tłuszczową), zaburzeń krzepliwości, zapalenia, przebudowy naczyń krwionośnych, niedokrwienia, zaburzeń czynności kanałów wapniowych i niestabilności gospodarki jonów wapniowych, co sprzyja ektopii i zaburzeniom przewodzenia [5–10].

Jakość życia pacjentów z migotaniem przedsionków jest istotnie gorsza niż u osób znajdujących się w zdrowej grupie kontrolnej. Objawy występujące u pacjentów z AF to m.in.: osłabienie, kołatanie serca, duszność, ucisk w klatce piersiowej, zaburzenia snu oraz stres psychospołeczny [11]. Migotanie przedsionków jest tachyarytmia nadkomorową, która charakteryzuje się zdeorganizowanym, chaotycznym, i szybkim pobudzaniem przedsionków. Arytmia prowadzi także do całkowitego upośledzenia ich czynności mechanicznej [12].

Mechanizm inicjowania AF stanowi złożoną interakcję między nieprawidłowymi pobudzeniami odpowiedzialnymi za powstanie arytmii (tzw. triggerem) a anatomicznym podłożem arytmii w przedsionkach (tzw. substratem). Te dwa sprzężone ze sobą czynniki powodują w sprzyjających warunkach występowanie wielu niezależnych, drobnych fal krążenia nawrotnego (*microreentry*), które charakteryzują się niejednakowym czasem trwania refrakcji w poszczególnych włóknach mięśnia przedsionków, dzięki czemu powstaje krążące pobudzenie. Fala nawrotna krąży po przedsionku i obejmując włókna z krótszym okresem refrakcji powoduje ich przedwczesną depolaryzację. Nieskoordynowana aktywacja przedsionków z szybkością 350–700/min powoduje utratę efektu hemodynamicznego skurczu przedsionków, które to wpadają w swoiste drżenie. Krótki okres refrakcji i brak jego adaptacji do zmian częstości akcji serca sprzyjają dalszemu utrzymywaniu się migotania przedsionków [13,14].

### Częstość występowania migotania przedsionków

Wzrost zapadalności na AF wiąże się z lepszą wykrywalnością migotania przedsionków dzięki postępowi technologicznemu oraz zwiększeniu w warunkach ambulatoryjnych dostępności do nowoczesnych metod diagnostycznych: badania EKG, monitorowania EKG metodą Holtera, telemedycyny, a także wszczepialnych urządzeń rejestrujących [15,16].

Umieralność pacjentów z migotaniem przedsionków jest dwukrotnie wyższa niż w populacji ogólnej. Względne ryzyko dla mężczyzn to 1,5-krotny, a dla kobiet 2-krotny wzrost ogólnej umieralności [17–19]. Odnotowywany spadek śmiertelności spowodowany jest leczeniem przeciwwskrzepowym. Pacjenci poniżej 60 r.ż. mają stosunkowo dobre rokowania. Najistotniejszym problemem u chorych z AF jest podwyższone ryzyko udaru mózgu, bowiem arytmia jest przyczyną 15–18% udarów, z których aż 30% ma miejsce u osób po 65 r.ż. [20]. Wraz ze starzeniem się populacji częstość występowania migotania przedsionków na świecie stale się zwiększa. Wśród osób powyżej 70 r.ż. niemal co dziesiąta ma arytmie. Średni wiek chorego to 75 lat, ale znaczna większość chorych na AF – prawie 70% – jest w wieku 65–85 lat. Zapadalność na migotanie przedsionków u osób w wieku 40 lat jest niższa i wynosi 25%. Na podstawie obserwacji i metaanaliz wykazano, że ryzyko rozwoju migotania przedsionków wzrasta o 13% na każde 5 lat życia. Szacuje się, że do 2035 r. liczba chorych z migotaniem przedsionków podwoi się (dla Polski oznacza to wzrost z 500 tys. do 1 mln przypadków), a ogólna liczba chorych w Europie wyniesie 4,5 mln. Obserwacje wskazują, że głównym czynnikiem ryzyka wystąpienia AF jest wiek, a drugim – ważnym i niemodyfikowalnym – płeć. Istotnymi schorzeniami związanymi z migotaniem przedsionków są: choroba niedokrwienna serca, w tym zawał mięśnia serca, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca typu 1 i 2 oraz nadczynność i niedoczynność tarczycy [21–23].

## Klasyfikacja AF

Klasyfikacja AF wg. ekspertów German Competence Network on Atrial Fibrillation/European Heart Rhythm Association (AFNET/EHRA) dokonuje podziału AF na typy kliniczne zależnie od patofizjologii, co jednocześnie wpływa na dobór i skuteczność terapii. W zależności od obrazu klinicznego, czasu trwania oraz samoistnego ustępowania epizodów AF wyróżnia się 5 typów migotania przedsionków: rozpoznane po raz pierwszy (świeże), napadowe, przetrwałe, przetrwałe długo trwające i utrwalone [24].

Aktualnie przyjmuje się, że migotanie przedsionków trwające mniej niż 7 dni przerwane kardiowersją należy uważać za napadowe. Ponadto w wytycznych zrezygnowano z określeń zastawkowe i niezastawkowe AF, w miejsce których stworzono nową klasyfikację, która obejmuje AF: ogniskowe, wtórne do choroby strukturalnej, wielogenowe, monogenowe, pooperacyjne, u sportowców, u chorych ze zwężeniem zastawki mitralnej i z wszczepioną protezą zastawkową.

## Postępowanie diagnostyczne u chorych z AF

Podstawą rozpoznania migotania przedsionków jest badanie elektrokardiograficzne (EKG). Ponieważ u osób starszych i z niewydolnością serca często występuje „ciche” AF, które stwarza zagrożenie powikłaniami zakrzepowo-zatorowymi, zalecono powszechne wykonywanie badania przesiewowego u osób w wieku >65 lat poprzez badanie tętna lub EKG [wskazanie klasy I/B]. Podobnie zaleca się poszukiwanie AF u chorych z przemijającym niedokrwieniem mózgu lub udarem niedokrwinnym mózgu o każdej etiologii za pomocą wykonania EKG, a następnie EKG metodą Holtera przez co najmniej 72 godziny [I/B] [25,26]. U chorych po udarze w poszukiwaniu „cichego” AF należy rozważyć wszczepienie pętlowego rejestratora EKG [IIa/B] [27,28].

Nowością w wytycznych z 2016 r. jest zalecenie wykonania u każdego chorego z AF przezklatkowego badania echokardiograficznego [I/C] celem ustalenia dalszej strategii leczenia. Badanie to jest dostępne w podstawowej diagnostyce kardiologicznej i wnosi bardzo dużo informacji o morfologii serca [29].

## Ocena ryzyka i profilaktyka powikłań zakrzepowo-zatorowych

Po ocenie ryzyka udaru mózgu lub zatorowości obwodowej w skali CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc oraz po uwzględnieniu modyfikowalnych i niemodyfikowalnych czynników ryzyka krwawienia (dawniej ocenianych w skali HAS-BLED) podejmowana jest decyzja o antykoagulacji. U chorych z umiarkowanym lub ciężkim zwężeniem zastawki mitralnej lub z mechaniczną protezą zastawkową zaleca się stosowanie antagonistów witaminy K (VKA) [I/B] [30]. U pozostałych pacjen-

tów z migotaniem przedsionków – z punktacją 0 u mężczyzn i 1 u kobiet (gdy 1 pkt przyznany jest za płeć) – nie zaleca się stosowania leku przeciwkrzepliwego ani przeciw płytkowego [III/B]. Zaleca się natomiast leczenie przeciwkrzepliwe u mężczyzn z punktacją  $\geq 2$  i u kobiet  $\geq 3$  [I/A] [31–38]. U chorych w strefie pomiędzy tymi zaleceniami należy rozważyć antykoagulację uwzględniając przy tym indywidualną charakterystykę i preferencje pacjenta. Wytyczne ESC zawierały informacje pokazujące wyższość NOAC (doustny lek przeciwzakrzepowy niebędący antagonistą witaminy K) nad VKA (antagonista witaminy K), zwłaszcza u pacjentów po przebytym udarze mózgu. Utrzymano zalecenie, by u chorych z przeciwwskazaniami do antykoagulacji rozważać zabiegowe wewnątrznaczyniowe zamknięcie uszka lewego przedsionka. Pominięto system LARIAT (prawdopodobnie uznając go za system kardiochirurgiczny), pomimo że zakładanie takiej „zewnątrz uszkowej” pętli powodowało znacznie mniej resztkowych przecieków niż systemy „wewnątrz uszkowe” przy bardzo niskiej częstotliwości powikłań. Wymagało to jednak obecności kardiochirurga na sali zabiegowej [39].

Wytyczne uwzględniają zastosowania specyficznego antidotum dla dabigatranu w przypadku aktywnego krwawienia w trakcie leczenia. Ponadto trwają prace nad kilkoma kolejnymi lekami o charakterze antidotum dla innych NOAC. U chorych z AF u których przewiduje się ablację, należy rozważyć kontynuację leczenia przeciwkrzepliwego do czasu zabiegu z zastosowaniem VKA lub NOAC z utrzymaniem efektywnej antykoagulacji. Po ablacji zaleca się stosowanie leczenia przeciwkrzepliwego przez co najmniej 8 tygodni, co jest okresem krótszym niż wcześniejsze zalecenia (3 miesiące).

### Wybór strategii leczenia w zależności od patofizjologii

Zintegrowane leczenie składa się z 4 filarów: zaangażowanych pacjentów, zespołów wielodyscyplinarnych, narzędzi technologicznych i dostępu do wszystkich możliwych terapii. Rozpoznanie i kontrola chorób współistniejących, leczenie przeciwzakrzepowe, kontrola rytmu lub częstości rytmu komór oraz edukacja pacjentów to czynniki, które mogą istotnie wpłynąć na rokowanie i jakość życia osób chorych. Pomimo założenia, że kontrola rytmu poprawia rokowania, w próbach klinicznych nie udowodniono przewagi tej kontroli nad strategią kontroli częstości rytmu. Doraźne przywracanie rytmu zatokowego (kardiowersja elektryczna lub farmakologiczna, w tym *pill in the pocket*) oraz jego utrzymanie (zabiegowe lub farmakologiczne) celem kontroli objawów pozostaje integralną częścią postępowania. W przypadku współistnienia niewydolności serca ze zmniejszoną frakcją wyrzutową (LVEF<40%) należy rozważyć stosowanie leków nieantyarytmicznych (ACEI/ARB, LBA) w celu zapobiegania nowemu AF. Podobne działania powinny dotyczyć pacjentów z przerostem lewej komory wtórnym do nadciśnienia tętniczego (ACEI/ARB) [40,41].

Autorzy wytycznych ESC podtrzymują zdanie, że: skuteczność leków antyarytmicznych jest umiarkowana, nie eliminują one nawrotów AF, a jedynie zmniejszają ich liczbę. W trakcie leczenia działanie proarytmiczne i pozasercowe objawy niepożądane są częste. Przy podejmowaniu decyzji terapeutycznych należy większą uwagę przywiązywać do bezpieczeństwa terapii niż do przewidywanej skuteczności. Przy wyborze leku antyarytmicznego należy brać pod uwagę współistniejące choroby, ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych, proarytmii i pozasercowych objawów niepożądanych, nasilenie objawów związanych z AF i wybór pacjenta [I/A]. U chorych z utrwalonym AF nie należy stosować leków antyarytmicznych (klasy I lub III) do kontroli częstotliwości rytmu [III/A][42].

Do leczenia – zgodnie ze strategią kontroli rytmu – kwalifikowani są chorzy z objawami wtórnymi do arytmii ocenianymi w zmodyfikowanej skali EHRA, w której wprowadzono zmianę odpowiadającą klinicznej praktyce przypisywania objawów w klasie I/II czyli 2a, gdy pacjenci mają niewielkie objawy kliniczne oraz II/III czyli 2b, gdy objawy są odczuwalne, ale pozwalają jeszcze funkcjonować pacjentom [43].

### **Leczenie zabiegowe AF**

Leczenie zabiegowe (abłacja przezcewnikowa, hybrydowa, chirurgiczna) ma na celu całkowitą izolację żył płucnych [44], czego rezultatem jest dużo skuteczniejsza kontrola rytmu niż w przypadku leków antyarytmicznych [45,46]. Zabieg przezcewnikowy należy rozważyć jako terapię pierwszego rzutu u pacjentów z napadowym AF, natomiast chirurgiczne postępowanie może być zastosowane u pacjentów po nieskutecznym zabiegu przezcewnikowym lub nieprzynoszącym oczekiwanych wyników leczeniu farmakologicznym. Najlepsze efekty abłacji są uzyskiwane u chorych z krótkim wywiadem AF, licznymi i krótkimi epizodami arytmii, u których nie występuje choroba strukturalna serca. U tych chorych jako leczenie pierwszego wyboru należy rozważać wykonanie abłacji. Niewydolność serca ze zmniejszoną frakcją wyrzutową lewej komory nie jest przeciwwskazaniem do zabiegu i taką opcję należy rozważyć, jeśli podejrzewa się obecność kardiomiopatii tachyarytmicznej. W wytycznych pojawiło się też zalecenie [IIa/C], że u chorych z bradykardią zależną od migotania przedsionków lepszą opcją leczenia będzie abłacja AF niż wszczepienie stymulatora serca. U osób ze słabą kontrolą częstotliwości rytmu komór pomimo stosowanej farmakoterapii lub u pacjentów nietolerujących takiego leczenia, należy rozważyć wykonanie abłacji łączy przedsionkowo-komorowego i wszczepienie na stałe układu stymulującego serce (PM lub CRT) [47–49].

Takie postępowanie terapeutyczne wymaga przełamania stereotypu, że lepiej mieć własny rytm niż wystymulowany. W dobie urządzeń resynchronizujących z elektrodami implantowanymi do zatoki wieńcowej z możliwością

stymulacji w wielu różnych wektorach oraz doniesień o stymulacji jedynie lewokomorowej z zatoki wieńcowej u pacjentów z implantowaną sztuczną zastawką trójdzielną praktyka kliniczna pokazuje, że takie postępowanie jest bezpieczne i powinno być rozważane [50]. Warto tutaj wspomnieć jeszcze o dość starej, lecz obecnie ponownie wykorzystywanej metodzie stymulacji pęczka Hisa (*His Bundle Pacing*, HBP). Zdobywa ona coraz większe uznanie w świecie elektrokardiologii i poza pewnymi niedogodnościami przynosi szereg korzyści, np. fizjologiczny tor depolaryzacji komór, który zapobiega kardiomiopatii stymulacyjnej, oraz najwęższy z możliwych do uzyskania wystymulowanych zespołów QRS.

## Podsumowanie

W poprzednim numerze „Państwa i Społeczeństwa. Medycyna i Zdrowie Publiczne” zaprezentowana została praca oceniająca jakość życia oraz stopień akceptacji choroby u pacjentów z przetrwałym migotaniem przedsionków [51]. Aktualne wytyczne przywiązują ogromną wagę do tego zagadnienia. Wyniki uzyskane w poniższym artykule korespondują z założeniem, że podjęcie działań w szerszym zakresie niż próba wykonania kardiowersji poprawia stopień akceptacji choroby oraz jakość życia pacjentów. Taki efekt zaobserwowano u osób poddanych nie tylko kardiowersji elektrycznej, ale również zabiegowi ablacji.

Podsumowując powyższy problem związany z migotaniem przedsionków można stwierdzić, że zintegrowane usystematyzowane podejście do leczenia AF zgodne z wytycznymi pozwala na poprawę klinicznych wyników leczenia u wszystkich pacjentów.

## Bibliografia

1. Chugh SS, Havmoeller R, Narayanan K, Singh D, Rienstra M, Benjamin EJ, Gillum RF, Kim YH, McAnulty JH Jr, Zheng ZJ, Forouzanfar MH, Naghavi M, Mensah GA, Ezzati M, Murray CJ. *Worldwide Epidemiology of Atrial Fibrillation: A Global Burden of Disease 2010 Study*. Circulation. 2014; 129 (8): 837–847. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.005119.
2. Colilla S, Crow A, Petkun W, Singer DE, Simon T, Liu X. *Estimates of Current and Future Incidence and Prevalence of Atrial Fibrillation in the U.S. Adult Population*. Am J Cardiol. 2013; 112 (8): 1142–1147. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.05.063.
3. Krijthe BP, Kunst A, Benjamin EJ, Lip GY, Franco OH, Hofman A, Witteman JC, Stricker BH, Heeringa J. *Projections on the Number of Individuals With Atrial Fibrillation in the European Union, from 2000 to 2060*. Eur Heart J, 2013; 34 (35): 2746–2751. doi: 10.1093/eurheartj/ehd280.
4. Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. *Epidemiology of Atrial Fibrillation: European Perspective*. Clin Epidemiol. 2014; 6: 213–220. doi: 10.2147/CLEP.S47385.

5. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F, Morgante E, Russo MA, Maseri A. *Histological Substrate of Atrial Biopsies in Patients With Lone Atrial Fibrillation*. Circulation. 1997; 96 (4): 1180–1184. doi: 10.1161/01.cir.96.4.1180.
6. Venteclef N, Guglielmi V, Balse E, Gaborit B, Cotillard A, Atassi F, Amour J, Leprince P, Dutour A, Clément K, Hatem SN. *Human Epicardial Adipose Tissue Induces Fibrosis of the Atrial Myocardium Through the Secretion of Adipofibrokinines*. Eur Heart J. 2015; 36 (13): 795–805a. doi: 10.1093/eurheartj/ehv099.
7. Rocken C, Peters B, Juenemann G, Saeger W, Klein HU, Huth C, Roessner A, Goette A. *Atrial Amyloidosis: An Arrhythmogenic Substrate for Persistent Atrial Fibrillation*. Circulation. 2002; 106 (16): 2091–2097. doi: 10.1161/01.cir.0000034511.06350.df.
8. Schotten U, Ausma J, Stellbrink C, Sabatschus I, Vogel M, Frechen D, Schoendube F, Hanrath P, Allessie MA. *Cellular Mechanisms of Depressed Atrial Contractility in Patients With Chronic Atrial Fibrillation*. Circulation. 2001; 103 (5): 691–698. doi: 10.1161/01.cir.103.5.691.
9. Allessie MA, de Groot NM, Houben RP, Schotten U, Boersma E, Smeets JL, Crijns HJ. *Electropathological Substrate of Long-Standing Persistent Atrial Fibrillation in Patients With Structural Heart Disease: Longitudinal Dissociation*. Circ Arrhythm Electrophysiol. 2010; 3 (6): 606–615. doi: 10.1161/CIRCEP.109.910125.
10. Spach MS, Josephson ME. *Initiating Reentry: The Role of Nonuniform Anisotropy in Small Circuits*. J Cardiovasc Electrophysiol. 1994; 5 (2): 182–209. doi: 10.1111/j.1540-8167.1994.tb01157.x.
11. Budaj A (red.). *Choroby układu krążenia* [w:] Gajewski P (red. nauk.). *Interna Szczeklika*. Medycyna Praktyczna, Cholerzyn 2019: 3–612.
12. Kozłowski D. *Diagnostyka różnicowania tachyarytmii – kompendium elektrokardiografii*. Akademia Medycyny, Warszawa 2012.
13. Misiuk K. *Migotanie przedsionków jako najczęstsze zaburzenie rytmu serca – opieka pielęgniarska*. Praca magisterska. Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk 2013.
14. Dłużniewski M, Syska-Sumińska J, Kalarus Z (red.) *Migotanie przedsionków. Codzienność lekarza praktyka*. Wydawnictwo Czelej, Lublin 2013.
15. Poloński L, Hudzik B. *Czy jest miejsce dla nowych doustnych leków przeciwkrzepliowych w leczeniu chorych po ostrych zespołach wieńcowych?* Choroby Serca i Naczyn. 2013; 10 (3): 151–158.
16. Dąbrowski R, Szwed H. *Migotanie przedsionków – zagadnienie epidemiologiczne* [w:] Trusz-Gluza M, Lubiński A (red.). *Migotanie przedsionków*. Wydawnictwo Termedia. Poznań 2009; 21–26.
17. Benjamin EJ, Wolf PA, D’Agostino RB, Silbershatz H, Kannel WB, Levy D. *Impact of Atrial Fibrillation on the Risk of Death: The Framingham Heart Study*. Circulation. 1998; 98 (10): 946–952. doi: 10.1161/01.cir.98.10.946.
18. Stewart S, Hart CL, Hole DJ, McMurray JJ. *A Population-Based Study of the Long-Term Risks Associated With Atrial Fibrillation: 20-year Follow-Up of the Renfrew/Paisley Study*. Am J Med. 2002; 113 (5): 359–364. doi: 10.1016/s0002-9343(02)01236-6.
19. Andersson T, Magnuson A, Bryngelsson IL, Frøbert O, Henriksson KM, Edvardsson N, Poçi D. *All-Cause Mortality in 272,186 Patients Hospitalized With Incident*

- Atrial Fibrillation 1995–2008: A Swedish Nationwide Long-Term Casecontrol Study.* Eur Heart J. 2013; 34 (14): 1061–1067. doi: 10.1093/eurheartj/ehs469.
20. Pruszczyk P, Stępińska J, Banasiak W, Członkowska A, Opolski G, Niewada M, Ponikowski P, Tendera M, Windyga J. *Zastosowanie nowych doustnych leków przeciwnarciowych w prewencji powikłań zatorowych u chorych z migotaniem przedsionków.* Kardiologia Polska. 2012; 70: 978–988.
  21. Grupa Robocza Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego do spraw leczenia migotania przedsionków. *Wytyczne ESC dotyczące leczenia migotania przedsionków w 2016 roku, opracowane we współpracy z EACTS.* Kardiologia Polska. 2016; 74 (12): 1359–1469; doi: 10.5603/KP.2016.0172.
  22. Giacomantonio NB, Bredin SS, Foulds HJ, Warburton DE. *A Systematic Review of the Health Benefits of Exercise Rehabilitation Persons Living With Atrial Fibrillation.* Can J Cardiol. 2013; 29 (4):489–491. doi: 10.1016/j.cjca.2012.07.003.
  23. Josiak K, Banasiak W. *Czy grozi nam epidemia migotania przedsionków? A może już nadeszła?* [w:] Trusz-Gluza M, Lubiński A (red.). *Diagnostyka i leczenie migotania przedsionków.* Wydawnictwo Termedia, Poznań 2012: 7–9.
  24. Charitos EI, Pürerfellner H, Glotzer TV, Ziegler PD. *Clinical Classifications of Atrial Fibrillation Poorly Reflect Its Temporal Persistence: Insights from 1,195 Patients Continuously Monitored With Implantable Devices.* J Am Coll Cardiol. 2014; 63 (25A): 2840–2848. doi: 10.1016/j.jacc.2014.04.019.
  25. Grond M, Jauss M, Hamann G, Stark E, Veltkamp R, Nabavi D, Horn M, Weimar C, Köhrmann M, Wachter R, Rosin L, Kirchhof P. *Improved Detection of Silent Atrial Fibrillation Using 72-hour Holter ECG in Patients With Ischemic Stroke: A Prospective Multicenter Cohort Study.* Stroke. 2013; 44 (12): 3357–3364. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.001884.
  26. Rizos T, Guntner J, Jenetzky E, Marquardt L, Reichardt C, Becker R, Reinhardt R, Hepp T, Kirchhof P, Aleynichenko E, Ringleb P, Hacke W, Veltkamp R. *Continuous Stroke Unit Electrocardiographic Monitoring Versus 24-hour Holter Electrocardiography for Detection of Paroxysmal Atrial Fibrillation After Stroke.* Stroke. 2012; 43 (10): 2689–2694. doi: 10.1161/STROKEAHA.112.654954.
  27. Sanna T, Diener HC, Passman RS, et al. *Cryptogenic Stroke and Underlying Atrial Fibrillation.* N Engl J Med. 2014; 370 (26): 2478–2486. doi: 10.1056/NEJMoa1313600.
  28. Gladstone DJ, Spring M, Dorian P, et al. *Atrial Fibrillation in Patients With Cryptogenic Stroke.* N Engl J Med. 2014; 370 (26): 2467–2477. doi: 10.1056/NEJMoa1311376.
  29. Donal E, Lip GY, Galderisi M, et al. *EACVI/EHRA Expert Consensus Document on the Role of Multi-Modality Imaging for the Evaluation of Patients With Atrial Fibrillation.* Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2016; 17 (4): 355–383. doi: 10.1093/ehjci/jev354.
  30. Eikelboom JW, Connolly SJ, Brueckmann M, Granger CB, Kappetein AP, Mack MJ, Blatchford J, Devenny K, Friedman J, Guiver K, Harper R, Khder Y, Lobmeyer MT, Maas H, Voigt JU, Simoons ML, Van de Werf F. *Dabigatran Versus Warfarin in Patients With Mechanical Heart Valves.* N Engl J Med. 2013; 369 (13): 1206–1214. doi: 10.1056/NEJMoa1300615.

31. Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. *Meta-Analysis: Antithrombotic Therapy to Prevent Stroke in Patients Who Have Nonvalvular Atrial Fibrillation*. Ann Intern Med. 2007; 146 (12): 857–867. doi: 10.7326/0003-4819-146-12-200706190-00007.
32. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al. *Dabigatran Versus Warfarin in Patients With Atrial Fibrillation*. N Engl J Med. 2009; 361 (12): 1139–1151. doi: 10.1056/NEJMoa0905561.
33. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, et al. *Apixaban Versus Warfarin in Patients With Atrial Fibrillation*. N Engl J Med. 2011; 365 (11): 981–992. doi: 10.1056/NEJMoa1107039.
34. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, Pan G, Singer DE, Hacke W, Breithardt G, Halperin JL, Hankey GJ, Piccini JP, Becker RC, Nessel CC, Paolini JF, Berkowitz SD, Fox KA, Califf RM. *Rivaroxaban Versus Warfarin in Nonvalvular Atrial Fibrillation*. N Engl J Med. 2011; 365 (10): 883–891. doi: 10.1056/NEJMoa1009638.
35. Giugliano RP, Ruff CT, Braunwald E, et al. *Edoxaban Versus Warfarin in Patients With Atrial Fibrillation*. N Engl J Med. 2013; 369 (22): 2093–2104. doi: 10.1056/NEJMoa1310907.
36. Connolly SJ, Eikelboom J, Joyner C, et al. *Apixaban in Patients With Atrial Fibrillation*. N Engl J Med. 2011; 364 (9): 806–817. doi: 10.1056/NEJMoa1007432.
37. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, Reilly PA, Wallentin L. *Newly Identified Events in the RE-LY Trial*. N Engl J Med. 2010; 363 (19): 1875–1876. doi: 10.1056/NEJMc1007378.
38. Pollack CV Jr, Reilly PA, Eikelboom J, et al. *Idarucizumab for Dabigatran Reversal*. N Engl J Med. 2015; 373 (6): 511–520. doi: 10.1056/NEJMoa1502000.
39. Bartus K, Han FT, Bednarek J, Myc J, Kapelak B, Sadowski J, Lelakowski J, Bartus S, Yakubov SJ, Lee RJ. *Percutaneous Left Atrial Appendage Suture Ligation Using the LARIAT Device in Patients With Atrial Fibrillation: Initial Clinical Experience*. J Am Coll Cardiol. 2013; 62 (2): 108–118. doi: 10.1016/j.jacc.2012.06.046.
40. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, Gong J, Lefkowitz MP, Rizkala AR, Rouleau JL, Shi VC, Solomon SD, Swedberg K, Zile MR. *Angiotensin-Nepriylisin Inhibition Versus Enalapril in Heart Failure*. N Engl J Med. 2014; 371 (11): 993–1004. doi: 10.1056/NEJMoa1409077.
41. Schneider MP, Hua TA, Böhm M, Wachtell K, Kjeldsen SE, Schmieder RE. *Prevention of Atrial Fibrillation by Renin-Angiotensin System Inhibition a Meta-Analysis*. J Am Coll Cardiol. 2010; 55 (21): 2299–2307. doi: 10.1016/j.jacc.2010.01.043.
42. Chatterjee S, Sardar P, Lichstein E, Mukherjee D, Aikat S. *Pharmacologic Rate Versus Rhythm-Control Strategies in Atrial Fibrillation: An Updated Comprehensive Review and Meta-Analysis*. Pacing Clin Electrophysiol. 2013; 36 (1): 122–133. doi: 10.1111/j.1540-8159.2012.03513.x.
43. Wynn GJ, Todd DM, Webber M, Bonnett L, McShane J, Kirchhof P, Gupta D. *The European Heart Rhythm Association Symptom Classification for Atrial Fibrillation: Validation and Improvement Through a Simple Modification*. Europace. 2014; 16 (7): 965–972. doi: 10.1093/europace/eut395.
44. Kuck KH, Hoffmann BA, Ernst S, Wegscheider K, Treszl A, Metzner A, Eckardt L, Lewalter T, Breithardt G, Willems S. *Impact of Complete Versus Incomplete*

- Circumferential Lines Around the Pulmonary Veins During Catheter Ablation of Paroxysmal Atrial Fibrillation: Results From the Gap-Atrial Fibrillation-German Atrial Fibrillation Competence Network 1 Trial.* *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2016; 9 (1): e003337. doi: 10.1161/CIRCEP.115.003337.
45. Cosedis Nielsen J, Johannessen A, Raatikainen P, Hindricks G, Walfridsson H, Kongstad O, Pehrson S, Englund A, Hartikainen J, Mortensen LS, Hansen PS. *Radiofrequency Ablation as Initial Therapy in Paroxysmal Atrial Fibrillation.* *N Engl J Med.* 2012; 367: 1587–1595. doi: 10.1056/NEJMoa1113566.
  46. Mont L, Bisbal F, Hernandez-Madrid A, et al. *Catheter Ablation vs. Antiarrhythmic Drug Treatment of Persistent Atrial Fibrillation: A Multicentre, Randomized, Controlled Trial (SARA Study).* *Eur Heart J.* 2014; 35 (8): 501–507. doi: 10.1093/eurheartj/ehu457.
  47. Weerasooriya R, Davis M, Powell A, Szili-Torok T, Shah C, Whalley D, Kanagaratnam L, Heddle W, Leitch J, Perks A, Ferguson L, Bulsara M. *The Australian Intervention Randomized Control of Rate in Atrial Fibrillation Trial (AIRCRAFT).* *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41 (10): 1697–1702. doi: 10.1016/s0735-1097(03)00338-3.
  48. Lim KT, Davis MJ, Powell A, Arnold L, Moulden K, Bulsara M, Weerasooriya R. *Ablate and Pace Strategy for Atrial Fibrillation: Long-Term Outcome of AIRCRAFT Trial.* *Europace.* 2007; 9 (7): 498–505. doi: 10.1093/europace/eum091.
  49. Wood MA, Brown-Mahoney C, Kay GN, Ellenbogen KA. *Clinical Outcomes After Ablation and Pacing Therapy for Atrial Fibrillation: A Meta-Analysis.* *Circulation.* 2000; 101 (10): 1138–1144. doi: 10.1161/01.cir.101.10.1138.
  50. Ząbek A, Małecka B, Tomala I, Matusik P, Boczar K, Lelakowski J. *Cardiac Pacing in a Patient With Mechanical Tricuspid Valve.* *Pol Arch Med Wewn.* 2015; 125 (1–2): 89–91. doi: 10.20452/pamw.2654.
  51. Skorupska-Król A, Szewczyk I, Kurlito P. *Jakość życia i akceptacja choroby wśród pacjentów z przetrwałym migotaniem przedsionków.* *Państwo i Społeczeństwo.* 2019; 1: 27–41. doi: 10.34697/2451-0858-pis-2019-1-003.

**Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation (AF)  
as the basis for effective treatment in aim to improve patients life quality.  
based on current European Society of Cardiology guidelines**

**Abstract**

Atrial fibrillation (AF) is one of the most common causes of sudden death, cerebral stroke and heart failure. AF morbidity will increase in the coming years. The disease is precipitated by gene predisposition, diabetes, heart failure, obesity, coronary disease, hypertension and aging. Pathophysiological changes include atrial and coronary arteries remodeling, inflammation, and cardiomyocyte calcium metabolism disorders. Life quality in AF patients is significantly impaired, as compared to healthy people, due to weakness, heart palpitation, dyspnea, chest discomfort and sleep disorders; psychosocial stress occurs as well.

Integrated AF management requires 4 areas: patient involvement, multidisciplinary teams, technological tools and access to all currently possible therapies. Diagnosis and control of

coexisting diseases, anticoagulant treatment, heart rhythm and heart rate control, as well as education, remarkably improve AF prognosis and life quality. Casual recovery and maintaining the sinus rhythm is important as a part of the integral approach. Prevention of AF recurrence include non-antiarrhythmic medicines (ACEI/ARB, LBA) in heart failure with decreased ejection fraction, as well as in hypertensive cardiomyopathy (ACEI/ARB). Surgical treatment aims the total isolation of pulmonary veins with more efficient heart rhythm control, as compared to pharmacological management. In paroxysmal AF, percutaneous intervention is a treatment of choice. Surgery can be necessary, if percutaneous intervention either pharmacotherapy is unsuccessful.

Coexisting diseases elevate the risk of AF, including AF recurrence and complications. They need to be properly identified and treated in order to optimize the patient management.

Key words: atrial fibrillation, pulmonary vein isolation, quality of life with arrhythmia

---

## OPIS PRZYPADKU

---



Helena Kadučáková  
Barbora Tretinová

Catholic University in Ruzomberok, Faculty of Health, Ruzomberok, Slovakia

## NEEDS OF A CHILD WITH NEONATAL ABSTINENCE SYNDROME

Corresponding author:  
Prof. Helena Kadučáková,  
Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita v Ružomberku  
Namestie A. Hlinku 48, 034 01 Ruzomberok, Slovakia  
e-mail: helena.kaducakova@ku.sk

### Abstract

Neonatal Abstinence Syndrome (NAS) is defined as a generalized, multi-system group of symptoms resulting from the sudden discontinuation of fetal exposure to substances used by the mother during pregnancy. Symptoms of NAS are most dominant in the central nervous system and respiratory system of the infant. The aim of this work is to explore what the needs of infants with NAS are. Empirical data were collected by means of a qualitative research method, using case studies. The information was gathered during observation, conversation with medical staff and analysis of infants' health documentation. The sample selection process was deliberate, choosing three infants diagnosed with NAS. Based on the analysis of the data we identified the need to reconsider the local standard of nursing care of infants with NAS.

**Key words:** Infant, Neonatal Abstinence Syndrome, NAS; Finnegan Neonatal Abstinence Scoring System, FNASS

## **Introduction**

The use of addictive substances is currently increasingly common among pregnant women. Many of them do not realize that the abuse affects their prenatal child. Up to 75% of these children have symptoms of NAS after birth. Therefore, it has been recommended that the following nursing interventions are implemented in order to meet the needs of infants [1]:

- specification of infant's and mother's anamnesis;
- observation and evaluation of the infant's health, based on the valid score system;
- administration of pharmacological treatment and subsequent gradual withdrawal;
- sampling of biological material for laboratory tests;
- regular evaluation and re-evaluation of NAS symptoms; if severe, avoid the complications;
- communication with a social worker if necessary;
- education of parents or caregivers.

Recommended intervention should ensure safe and effective medical care to avoid complications in the respiratory, nervous, cardiovascular and excretory systems of the infant. It should also ensure the maintenance of adequate nutrition, and that a bond with the parents is sustained.

## ***Aim***

To identify the needs of infants with NAS, to process the case studies and to analyze individual needs.

## ***Methodology***

Empirical data was collected by means of observation, conversation with medical staff and analysis of the infants' health documentation. We used qualitative analysis to process the information, which served as a basis for the casuistics, and we created a coding system within the framework of qualitative analysis. The Finnegan Neonatal Abstinence Scoring System (FNASS) captures two fundamental needs of infants: biological needs (breathing, activity, sleep, nutrition, excretion), and psychosocial needs.

## ***Sampling***

Three infants diagnosed with NAS (two infants who had health care provided in local hospitals, and one infant in a perinatology centre).

## Case reports

### *Casuistics no. 1*

18-year-old woman, primipara, smoker, gravidity without complications. Her urine was positive for amphetamines and methamphetamines at the time of child-birth. In the 37th gestational week she spontaneously delivered a boy, weight 3,095 g, length 49 cm. The infant was troubled with mucus and phlegm that was being removed repeatedly. The skin was cyanotic, SpO<sub>2</sub> (peripheral capillary oxygen saturation) – 60%. The infant was resuscitated with Neopuff, cyanosis went within 15 minutes and the baby started to cry. Subsequently, the child was placed in an incubator (36°C) on an apnea pad and was prescribed oxygen therapy using oxygen glasses: FiO<sub>2</sub> (fraction of inspired oxygen) – 0.60%–0.30% (over 3 days). The Apgar score for the child was 7/8/10.

The child had been restless and tearful since delivery. Six hours after delivery, the child experienced apnea pauses that lasted approximately 4–6 seconds: SpO<sub>2</sub> 60%, respiratory 76/min, pulse 158/min, body temperature 37.6°C. The child began to sweat, was restless, tearful, had a squeaky, high-pitched cry, was hypertonic and had irregular limb movements. The child responded to each manipulation with increased muscle tone, irritation, crying and increased suction.

The child's clinical condition was evaluated by FNASS with a score of 11 points, and the child was prescribed Luminal 0.07 ml. I.V. every 12 hours (2 days). The apnea paused, and the restlessness and high-pitched crying retreated on the fourth day. Vital functions were stabilized at P 132/min, R 54/min, SpO<sub>2</sub> 98%, T 36.8°C.

The child's health condition was evaluated and assessed once during the day and once at night using the FNASS (highest score 11 and lowest score 5) during the first four days. The child was moved from the incubator to a cot with an apnea pad on the sixth day.

As part of the nursing care, a strict regime was initiated, and all department operations were subsequently adapted. The child was protected from excessive manipulation or stimulation (noise, strong light), and a gentle treatment was implemented with minimal handling.

When restless and crying, the child was soothed with a pacifier and fed with Beba HA milk, initially injected through the pacifier. Later the baby drank milk from a 35 ml bottle every 2.5 hours and did not vomit. The child increased its body weight to 3,284 g. Despite the interventions, the child slept continuously only for a maximum of one hour. Child's diuresis was normal; urine was drug-negative on the eighth day. The faeces were sparse and yellow in colour.

The mother was informed about the condition of the child and the care she is supposed to take over her child but she was worried that handling the baby might hurt him. On the third day after delivery the mother signed an AMA (against medical advice) form and was discharged from the hospital. The child

was released into home care 12 days after the birth accompanied by the mother and grandmother.

### *Casuistics no. 2*

30 years old, third pregnancy, smoker, admitted to the delivery room under the influence of alcohol 1,24‰. In the 40th gestational week she spontaneously delivered a boy whose birth weight was 2,800 g, length 47 cm. After the delivery the infant was groaning and its muscle tonus was slightly reduced. The Apgar score was 7/9/10, R 62/min, P 146/min, T 36,5°C, SpO<sub>2</sub> 78%. After a health evaluation, the child was placed in an incubator on an apnea pad and was prescribed oxygen therapy using oxygen glasses: FiO<sub>2</sub> (fraction of inspired oxygen) – 0.60%–0.30%.

On the second day after delivery, the infant had increased muscle tone and was experiencing excessive sweating, sneezing and high, squeaky crying. Limb tremors were also observed, especially during manipulation and stimuli: R 76/min, P 150/min, SpO<sub>2</sub> 77%, T 37,5°C. The clinical condition of the baby was assessed once a day according to FNASS (highest score 10, lowest score 3). On the fourth day after delivery, symptoms subsided and the infant was moved from the incubator to a cot with an apnea pad and a neobed.

As part of the nursing care, a strict regime was initiated to which all department operations were adapted. The child was protected from excessive manipulation, stimulation (noise, strong light), and a gentle treatment was implemented with minimal handling.

All activities relating to care of the infant were planned in advance. The child was soothed by a pacifier and fed with female milk. The infant was drinking with pauses and vomiting after feeding. It was then placed in an elevated position on its side. Gradually, milk doses were increased until the daily dose reached 145 ml/24h. Vomiting subsided. The child's body weight increased to 3,150 g. Despite the interventions, the child slept continuously only for a maximum of one hour. Urinary and faecal excretion was physiological.

The mother was with the child during the entire period of hospitalization. She was educated about the overall care of the child, which she understood. They were both discharged from the hospital after 16 days.

### *Casuistics no. 3*

21 years old, had suffered from varicella during pregnancy, and was hospitalized at the gynaecology department for preterm Premature Rupture of Membrane (pPROM), where she tested positive for amphetamine abuse in the 26th gestational week. She was discharged from hospital after she applied for AMA termination of hospitalization. Since then she has not participated in any gynecological examinations. She was smoking throughout her pregnancy. At the time

of childbirth her urine was positive for amphetamines and methamphetamines. She gave birth in the 33rd gestational week to an infant with a birth weight of 1,980 g, length 43 cm. The delivery was spontaneous. After childbirth, the baby did not cry, was hypotonic, cyanotic with gasping and exhibited signs of stridor. Birth weight was 1,980 g, length 43 cm. Apgar score 6/7/8, SpO<sub>2</sub> 63%, R 42/min, P 158/min, T 36.2°C. After stabilization of the infant's condition, the infant was placed in an incubator, on an apnea pad, and connected to a non-invasive continuous ventilation support CPAP (continuous positive airway pressure) with FiO<sub>2</sub> oxygen therapy 0.40%.

Four hours after birth, the infant began to experience severe agitation, irritant reactions, squeaking crying, rapid breathing with retraction and apnea pauses. Luminal 0.05 ml I.V. was prescribed. Gradual significant worsening of the clinical condition was noted, including tachypnoea R 78/min, grunting, dyspnoea and apnea pauses of 5–7 seconds without a decrease in SpO<sub>2</sub>. As a result of changes in the infant's clinical condition, the child was transferred to a specialized neonatal clinic. The transportation went without complications.

At the perinatology centre the child was placed in an incubator on an apnea pad, in a nesting position and connected to CPAP with FiO<sub>2</sub> oxygen therapy 0.60% – 0.35% for five days.

The child responded to each stimulus with restlessness, over-stressed high-pitched crying, limb tremor, and apneic pauses of 6–7 seconds without a decrease in SpO<sub>2</sub>. The child slept continuously only for a maximum of one hour, often waking up. Minimal handling was performed in a quiet, dark environment. Nursing activities were always planned, and the following elements of basal stimulation were implemented: initial touch (caress of the right cheek), nest position, mummy and kangaroo.

Considering the overall health of the child, parenteral nutrition was 10% glucose on the first day. On the next day, the child was enterally given Nutrilon Nenatal, a starting dose of 5 ml was tolerated and the child did not vomit. Subsequently, 15ml/h of milk was given to the child using a probe. On the seventh day, mucus and blood appeared in the child's faeces. For this reason, enteral nutrition was changed to parenteral up to the 15th day of life, when the stool was again free of mucus and blood. On the fifteenth day the child was fed again in small doses with Nutrilon Nenatal milk at 5ml/h using a probe. Gradually, milk doses were increased to 15 ml/h. The child tolerated the milk without vomiting and diarrhoea and body weight increased to 2,640 g. Oral stimulation was performed to support and maintain the child's search, sucking and swallowing reflex. On the 19th day, the child was moved from the incubator to a cot with an apnea pad and a neobed.

The mother was educated about the overall care of the child but showed no interest in the child and left the hospital after 4 days. The child was transferred to the local hospital after 29 days of hospitalization.

## ***Analysis of the casuistics***

### ***Respiration need***

Respiration needs were met on a highly individual and professional basis, and there were no complications in the respiratory system during hospitalization. While satisfying the basic need of breathing, it is important to continuously monitor health status and professionally assess and evaluate the symptoms of NAS. Experts recommend using the FNASS scale, according to which the child's health is always evaluated between feeding, even if the child is crying. The overall score shows the severity of NAS and the need for pharmacological therapy. Drug treatment is usually indicated when a score above 8 is reached [2]. For child no. 2, FNASS score was 10 and no pharmacotherapy was initiated.

### ***Movement and activity needs***

Supporting measures such as a dark, calm environment, child positioning and minimal handling are used to satisfy the movement and activity needs of a child with NAS. Of great benefit in meeting the needs of the child is the implementation of basal stimulation elements in nursing care. This was realized only with child no. 3. The implementation of basal stimulation elements improves adaptation and supports the psychomotor development of the child. It is key to the physiological and behavioral functioning of newborns [1,3,4].

### ***The need of sleep***

Whilst ensuring the infants were given all proper care, environmental disturbances were minimized, providing a quiet, dark and thermoneutral environment with minimal sensory stimulation, a soft pad and minimal handling. The medical staff kept any handling of the child to a minimum and tried not to wake the sleeping child. Swaddling reduces a child's crying periods and promotes sustainable sleep [5], but it was not used in any of the monitored cases.

### ***Nutrition need***

NAS children have problems with poor suction, regurgitation and vomiting. Each of these symptoms were monitored and recorded in all three cases here. Interventions reduced the effects of stimuli from the environment during feeding, higher position and side position were provided to prevent aspiration and daily monitoring of the child's body weight was undertaken. The third child received oral stimulation as a basal stimulation. Children were provided with a non-nutritional sucking device (a pacifier to reduce excessive sucking and prevent vomiting), and given more frequent feeding at smaller doses [6]. Multiple studies have confirmed that breast milk contains only very small amounts of methadone and

buprenorphine. Based on these findings, breastfeeding should be encouraged for children with NAS as it helps to calm them down, and in some cases has helped to manage symptoms without pharmacological intervention [7]. Breastfeeding of children with NAS has also been shown to be beneficial in reducing NAS symptoms, overall length of hospitalization, and last but not least, in strengthening the emotional attachment of mother and child [8]. Breastfeeding is always indicated unless the mother is taking heavy street drugs, using multiple opiates at the same time, is infected with HIV or has hepatitis C [5]. The monitored children were not breastfed despite the recommendations.

### ***Excretion need***

Urination and excretion were monitored in all three cases. Nutrition was adjusted according to consistency changes in the stool. The nurse provided the child with parenteral therapy and increased skin care around the genitalia [2]. Because the symptoms of abstinence also include excessive sweating, it was ensured that the bed linen was clean and dry, as were as the baby's clothes.

### ***Psychosocial need***

During pregnancy, the child enters into the first social relationship with the mother and becomes a social being. The role of medical staff is to support the building and strengthening of the bond between the child and the parents. The mothers were not interested in their child in two out of the three monitored cases. It is important that the nurse should, as far as possible, substitute and satisfy the child's need for love [1].

### **Conclusion**

In this paper, we have tried to emphasise the issue of care for children with NAS. We conclude that in order to manage each infant's individual symptoms successfully, local standards of nursing care need to be reviewed, and the evidence-based results of the research into the nursing of infants with NAS must be implemented. We identified a need to create centres that include a multidisciplinary team of gynecologists, pediatricians, midwives, nurses, psychologists, and social workers who will identify and educate future mothers from risk groups, as well as to prepare educational procedures for mothers/surrogate parents on aftercare for children with NAS using the e-health program and seminars. The focus and working with the issue is considered the first step towards a larger study dealing with NAS.

## References

1. MacMullen N, Dulski L, Blobaum P. *Evidence-Based Interventions for Neonatal Abstinence Syndrome*. Pediatric Nursing. 2014; 40 (4): 165–167.
2. Drobná H. *Ošetrovateľská starostlivosť o novorodenca s abstinenčným syndrómom*. Ošetrovateľský Obzor. 2005; 2 (1): 15–16.
3. Boledovičová M, et al. *Pediatrické ošetrovateľstvo*. Osveta. Martin 2010: 68–70.
4. Friedlová K. *Bazální stimulace v základní ošetrřovatelské péči*. Grada. Praha 2007: 61–62.
5. Kocherlakota P. Neonatal Abstinence Syndrome. Pediatrics. 2014;134 (2): e547–561. doi: 10.1542/peds.2013-3524.
6. Brucknerová I, et al. *Neonatológia pre poslucháčov lekárskej fakulty*. Univerzita Komenského v Bratislave. Bratislava 2017: 139–140.
7. Gomez-Pomar E, Finnegan L. *The Epidemic of Neonatal Abstinence Syndrome, Historical References of Its' Origins, Assessment, and Management*. Front Pediatr. 2018; 6 (33): 1–8. doi: 10.3389/fped.2018.00033.
8. Hudak ML, Tan RC. *Neonatal Drug Withdrawal*. Pediatrics. 2012; 129 (2): e540–560. doi: 10.1542/peds.2011-3212.

## Potrzeby dziecka z noworodkowym zespołem abstynencyjnym

### Streszczenie

Zespół abstynencji noworodkowej (ang. *Neonatal Abstinence Syndrome*, NAS) definiuje się jako uogólnioną wielosystemową grupę objawów odstawiennych wynikających z nagłego przerwania ekspozycji płodu na substancje, które matka stosowała w czasie ciąży. Główne objawy dotyczą zwłaszcza ośrodkowego układu nerwowego i układu oddechowego niemowlęcia. Celem pracy jest zbadanie potrzeb niemowląt z NAS. Dane empiryczne zostały zebrane za pomocą jakościowej metody badawczej – studium przypadku, a informacje uzyskane podczas obserwacji, rozmowy z personelem medycznym i analizy dokumentacji zdrowotnej niemowląt. Dobór próby był celowy – troje niemowląt ze zdiagnozowanym NAS. Na podstawie analizy danych stwierdziliśmy potrzebę ponownego rozważenia lokalnych standardów opieki pielęgniarskiej nad niemowlętami z NAS.

**Słowa kluczowe:** niemowlę, noworodkowy zespół abstynencyjny, NAS, skala Finnegan oceną abstynencji noworodków, FNASS

---

## SPRAWOZDANIA

---



**Agata Grzywacz-Kisielevska** [ORCID: 0000-0001-6950-4475]

**Anna Szczypa** [ORCID: 0000-0001-9221-2964]

Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu

## **„RODZINA – ZDROWIE – CHOROBA”. SPRAWOZDANIE Z MIĘDZYNARODOWEJ KONFERENCJI NAUKOWEJ**

W dniu 26 września 2019 r. w kampusie Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego przy ul. Herlinga Grudzińskiego 1 w Krakowie odbyła się siódma edycja międzynarodowej Konferencji Naukowej „Rodzina – Zdrowie – Choroba”, której organizatorem była nasza uczelnia. Jest to wydarzenie cykliczne, współorganizowane corocznie przez KAAFM, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Uniwersytet Katolicki w Ružomberku oraz Uniwersytet Tomasa Bata w Zlině. Wydarzenie ma na celu budowanie platformy wymiany doświadczeń i poglądów osób zajmujących się naukowo oraz zawodowo problematyką zdrowia i choroby, a także jakości życia we współczesnej rodzinie.

Konferencja została objęta patronatem przez Małopolską Okręgową Izbę Pielęgniarek i Położnych, którą podczas wydarzenia reprezentowały pielęgniarki: Agnieszka Kurbiel, Leokadia Wilczek-Filipska, Bożena Kołodziej i Wioletta Frączek. Drugim z patronów było Polskie Towarzystwo Pielęgniarskie Oddział Kraków, reprezentowane przez Przewodniczącą Marię Szymczek. Natomiast gościem honorowym była pani Zofia Małas, Prezes Naczelnej Rady Pielęgniarek i Położnych. Patronat naukowy nad konferencją objęły

następujące czasopisma: „Pielęgniarstwo w Opiece Długoterminowej”, „Państwo i Społeczeństwo. Medycyna i Zdrowie Publiczne” oraz „Public Health Forum”. Wsparcie finansowe organizacji wydarzenia zapewnili: Małopolska Okręgowa Izba Pielęgniarek i Położnych oraz firmy z branży medycznej – Biocodex i Paul Hartmann Polska.

Celem tegorocznej konferencji było m.in. szerzenie aktualnej wiedzy dotyczącej wyzwań dla: pielęgniarstwa rodzinnego, opieki pediatrycznej, postępowania w chorobach przewlekłych w rodzinie oraz jakości życia pacjenta. Na zdrowie i dobrostan chorego wpływają zastosowane procedury lecznicze oraz jego zrozumienie i akceptacja choroby, a także bezpośrednie otoczenie pacjenta. Działania mające na celu budowanie zaplecza wiedzy o chorobie powinny zatem dotyczyć zarówno personelu medycznego, w tym pielęgniarek, jak i samego chorego oraz jego rodziny.

Konferencję w imieniu gospodarzy otworzył prof. dr hab. med. Filip Gołkowski, Dziekan Wydziału Lekarskiego i Nauk o Zdrowiu. Po uroczystym rozpoczęciu i przywitaniu gości, inspirujący wykład inauguracyjny na temat „Psychologicznych uwarunkowań stresu małżeńskiego” wygłosił prof. dr hab. Zbigniew Nęcki, Dziekan Wydziału Psychologii i Nauk Humanistycznych KA-AFM. Konferencja została podzielona na trzy sesje plenarne: „Godność pacjenta oraz akceptacja choroby”, „Opieka długoterminowa z punktu widzenia pacjenta, opiekuna i pielęgniarki”, „Edukacja i samorozwój w pielęgniarstwie i nauki o zdrowiu” oraz sesję plakatową.

Sesję plakatową poprowadziły: dr Grażyna Dębska, Prodziekan Wydziału Lekarskiego i Nauk o Zdrowiu KAAFM, dr Anna Krátká z Uniwersytetu w Zlině oraz dr Joanna Kin-Dąbrowska z KAAFM. Tematyka przedstawionych prac skupiała się na takich tematach jak: problemy pacjentów onkologicznych w systemie opieki medycznej, edukacyjna rola pielęgniarki w wybranych jednostkach chorobowych czy zagadnienia związane z promocją zdrowia. Kilka prac dotyczyło także ważnej tematyki, jaką są czynniki wpływające na zdrowie młodzieży. W sesji przedstawiono 16 plakatów, z których trzy otrzymały wyróżnienia Komitetu Naukowego. Wśród wyróżnionych prac znalazły się: „Opieka nad dzieckiem z zespołem Haddada” (praca przygotowana przez zespół z Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu: Seń M., Klisowska I., Staniszevska J., Jakubowska L., Lintowska A., Grabowska B.), „Wiedza studentów pielęgniarstwa o zastosowaniu napięcia elektrycznego w nagłych przypadkach opieki zdrowotnej” (plakat autorstwa zespołu z Uniwersytetu w Nitrze: Lísková M., Mankovecká M.) oraz „Dystrybucja obciążenia na podeszwową stronę stóp u osób młodych” (praca będąca efektem współpracy zespołu z KAAFM oraz Akademii Wychowania Fizycznego w Krakowie: Golec J., Balicka-Bom J., Przybytek M., Sanocka M.).



Fot. 1. Otwarcie Konferencji: prof. dr hab. Filip Gołkowski, Dziekan Wydziału Lekarskiego i Nauk o Zdrowiu Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego. Fot. Archiwum KAAFM.



Fot. 2. Wykład Inauguracyjny: prof. dr hab. Zbigniew Nęcki, Dziekan Wydziału Psychologii i Nauk Humanistycznych Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego. Fot. Archiwum KAAFM.

Pierwszą sesję plenarną poprowadziła dr Helena Kadučáková z Uniwersytetu w Ružomberku. Tematem przewodnim panelu było ważne zagadnienie akceptacji choroby przez pacjenta oraz jego godność w obliczu niejednokrotnie uciążliwych i powodujących niepełnosprawność objawów chorobowych, m.in. nietrzymania stolca u osób starszych. Przedstawione referaty dotyczyły także codziennego funkcjonowania pacjentów z takimi chorobami jak SM czy choroba Parkinsona. Wykład pana Mateusza Malinowskiego dotyczył problemów życia codziennego pacjentów po wymianie stawu kolanowego. Poruszono także ważną tematykę godnej śmierci oraz warunków, jakie w jej obliczu warto zapewnić choremu. Niezwykle poruszającym był wykład pani Beaty Nowak, laureatki Ogólnopolskiego Konkursu „Pielęgniarka Roku 2018” dotyczący opieki nad pacjentami, którzy oczekują narodzin nieuleczalnie chorego dziecka. Na zakończenie pierwszej części Konferencji odbył się wykład pani Renaty Grabskiej, przedstawicielki Paul Hartmann Polska, na temat kompleksowych rozwiązań w terapii podciśnieniowej ran z zastosowaniem technologii Vivano®.

Kolejna sesja plenarna została poprowadzona przez dr Petre Juřeníkovą z Uniwersytetu w Zlině. Tematyka wykładów odnosiła się do opieki długoterminowej nad pacjentem. Bardzo ciekawy referat wygłosiła dr Mária Novyseďláková. Dotyczył on mechanicznego wspomagania wentylacji płuc pacjenta, problemów jakie mogą być z tym związane oraz tego, jak można przenieść tę procedurę do domu pacjenta. Wykład dr Kadučákovéj poruszył tematykę szczególnych potrzeb dziecka z wrodzonym zespołem abstynencyjnym. Kolejne wystąpienia skupiły się na zagadnieniach związanych z wiedzą i edukacją. Prezentacja wygłoszona przez panią Barborę Bartošovą dotyczyła wpływu świadomości zdrowotnej matek wykluczonych społecznie na zdrowie ich potomstwa. Z kolei wykład pani Martiny Tomagovej poruszał kwestię skuteczności szkolenia kadry pielęgniarskiej za pośrednictwem elektronicznego symulatora szkoleniowego. Na zakończenie sesji wystąpiła Prezes NRPiP, pani Zofia Małas, która wygłosiła bardzo ważny wykład na temat aktualnej sytuacji kadr medycznych i pielęgniarskich w Polsce poruszający istotne kwestie organizacyjne i prawne mające wpływ na dążenie do zapewnienia jak najlepszej opieki w polskich placówkach ochrony zdrowia.

Po przerwie rozpoczęła się trzecia, ostatnia z sesji plenarnych, którą poprowadziła dr Małgorzata Kalemba-Drożdż. Pierwszy wykład wygłosiła pani Renata Bajcarczyk, która przedstawiła badania ankietowe nt. wiedzy i przekonań dotyczących stosowania szczepień przeciwko HPV u uczennic i ich matek. Następnie dr Agnieszka Skorupska-Król poruszyła tematykę konieczności wsparcia opiekunów osób po niedokrwiennym udarze mózgu. Bardzo ciekawe wystąpienie zaprezentowała pani Małgorzata Kamińska. Dotyczyło ono niekonwencjonalnych metod leczenia ran z nowoczesnym podejściem do wykorzystywania larw muchówek oraz pijawek lekarskich w alternatywnej terapii zakażonych, niegojących się miejsc. Równie interesujący był wykład pani Moniki Przyby-



Fot. 3. Zofia Małas (na pierwszym planie), Prezes Naczelnej Rady Pielęgniarek i Położnych. Fot. Archiwum KAAFM.



Fot. 8. Dr Anna Szczypta (pierwsza od prawej, na dole), Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego Konferencji, dr Joanna Kin-Dąbrowska (w środku), Edyta Laska (po lewej), członkinie Komitetu Organizacyjnego, Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego. Fot. Archiwum KAAFM.

tek dotyczący czynników psychogennych wpływających na problemy z układem stomatognatycznym u pracowników biurowych. Referat ten skłaniał do refleksji na temat stresu, jaki na co dzień może generować z pozoru spokojna praca biurowa przy komputerze. Następnie dr Agata Grzywacz-Kisielevska opowiedziała o możliwości zastosowania ekstraktów grzybowych we wspomaganiu terapii nowotworów. Ostatni wykład dr Małgorzaty Kalemby-Drożdż poruszył ważny temat wpływu stanu naszego środowiska i diety na akumulację toksyn w mleku matek. Uroczystego zakończenia Konferencji dokonała dr Anna Szczypta, przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego wydarzenia.

Pełny program wydarzenia dostępny jest na stronie internetowej: <https://www.ka.edu.pl/aktualnosci/konferencje-naukowe/>. Książka abstraktów z konferencji „Rodzina – Zdrowie – Choroba” znajduje się na stronie Repozytorium Instytucjonalnego Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, numer e-ISBN 978-83-66007-32-1, a także bezpośrednio pod skróconym adresem: <https://bit.ly/2qDpudu>.

**Danuta Żbikowska**

**Agnieszka Cierniak** [ORCID: 0000-0001-6537-2954]

Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,  
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu

## **KOŁO NAUKOWE STUDENTÓW DIETETYKI. SPRAWOZDANIE Z DZIAŁALNOŚCI W ROKU AKADEMICKIM 2018/2019**

Koło Naukowe Studentów Dietetyki Krakowskiej Akademii im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego po dopełnieniu formalności prawnych oficjalnie rozpoczęło swoją działalność 1 lutego 2019 r. Opiekę merytoryczną nad kołem objęła dr Agnieszka Cierniak, a prezesem została pani Danuta Żbikowska. Obecnie koło liczy pięćdziesięciu aktywnych członków.

Wykład inauguracyjny „Dieta w profilaktyce chorób nowotworowych” wygłosiła dr Cierniak. Wydarzenie to cieszyło się ogromnym zainteresowaniem zarówno studentów, jak i wykładowców. Podczas wykładu zostały omówione przyczyny powstawania chorób nowotworowych, zasady chemoprewencji, czyli strategii zapobiegania zachorowaniom, oraz sposoby wspomagania leczenia nowotworów. Przedstawione zostały mechanizmy powstawania nowotworów na przykładzie heterocyklicznych amin aromatycznych, które są wytwarzane podczas grillowania, smażenia czy pieczenia mięsa. Aminy te są uznawane za jedną z przyczyn zachorowań na nowotwory przewodu pokarmowego, w tym jelita grubego. Na wykładzie zostały również przedstawione polifenole, naturalne substancje występujące w warzywach czy owocach, które zapobiegają powstawaniu nowotworów, a niektóre z nich jak: kwercetyna, resweratrol, kurkumina czy sulforafan wspomagają działanie leków stosowanych w tradycyjnej chemioterapii. Poznanie mechanizmów działania tych substancji pozwala na zrozumienie ich

znaczenia i promowania ich stosowania w codziennej diecie w celu zapobiegania nowotworom. W spotkaniu uczestniczyło 31 osób.

Z początkiem marca odbyły się warsztaty z serii „Nie tylko dietetyką student żyje” prowadzone przez dr Małgorzatę Kalembę-Drożdż. W laboratorium biochemicznym ich uczestnicy tworzyli kosmetyki: kremy, kule kąpielowe, antyperspiranty i błyszczki, przy użyciu naturalnych surowców kosmetycznych i spożywczych. Przedstawione zostały techniki i receptury przygotowywania naturalnych preparatów, a każdy z uczestników miał możliwość stworzenia swojego spersonalizowanego, wyjątkowego i niepowtarzalnego kosmetyku. Spotkanie było również okazją do poszerzenia wiedzy o zdrowym stylu życia oraz prozdrowotnym sposobie odżywiania, jako podstawowych czynnikach wpływających na zdrowie i kondycję skóry. W warsztatach wzięło udział 8 osób.



Fot. 1. Warsztaty z dr Małgorzatą Kalembą-Drożdż na temat naturalnych kosmetyków i diety dla zachowania zdrowia skóry.  
Fot. M. Kalemba-Drożdż



Fot. 2. Warsztaty z dr Małgorzatą Kalembą-Drożdż na temat naturalnych kosmetyków i diety dla zachowania zdrowia skóry.  
Fot. D. Żbikowska

Kolejne spotkanie członków Koła Naukowego Studentów Dietetyki odbyło się 18 marca i zostało poświęcone chorobie Hashimoto. Doktor Grzegorz Sokołowski przedstawił przyczyny i objawy najczęściej występujących chorób tarczycy oraz najnowsze standardy ich leczenia. Hashimoto to przewlekłe limfocytowe zapalenie tarczycy, które ma podłoże autoimmunologiczne. Omówiono

również postępowanie dietetyczne wspomagające podczas tej choroby. W wykładzie uczestniczyło 31 osób.

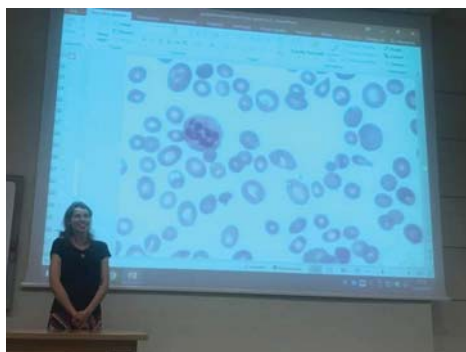
Kolejne warsztaty Koła odbyły się 8 kwietnia pod kierunkiem dr Reginy Gil. Tematem spotkania były „Zioła w dietetyce. Preparaty galenowe”. Uczestnicy warsztatów mieli okazję zapoznać się z różnymi substancjami stosowanymi w ziołolecznictwie. Współcześnie pod mianem „preparaty galenowe” rozumie się uzyskane z naturalnych surowców leki wytworzone według ściśle określonego przepisu. Dzięki poznaniu tych receptur każdy uczestnik spotkania miał okazję stworzyć własne maceraty, napary i wywary oraz poznać różnice w ich składzie i działaniu. Ponadto była to okazja do zapoznania się z Farmakopeą Polską, która określa podstawowe wymagania jakościowe oraz metody badania produktów leczniczych, surowców farmaceutycznych i ich opakowań w Polsce. W warsztatach uczestniczyło 11 osób.



Fot. 3. Warsztaty z dr Reginą Gil pt.: „Zioła w dietetyce. Preparaty galenowe”.  
Fot. D. Żbikowska

11 kwietnia br. miało miejsce kolejne spotkanie Koła Naukowego. Tym razem zajęcia „Dietoterapia w chorobie Parkinsona i innych chorobach neurodegeneracyjnych” poprowadziła mgr Małgorzata Grudniewska. Mimo iż nie istnieje dieta, która mogłaby zapobiec rozwojowi choroby Parkinsona lub powstrzymać jej postęp, to jednak odpowiednie żywienie jest ważną częścią terapii. Uczestnicy spotkania zdobyli informacje, w jaki sposób właściwa dieta poprawia jakość życia chorego, a także zwiększa skuteczność działania leków, szczególnie lewodopy. W spotkaniu wzięło udział 8 osób.

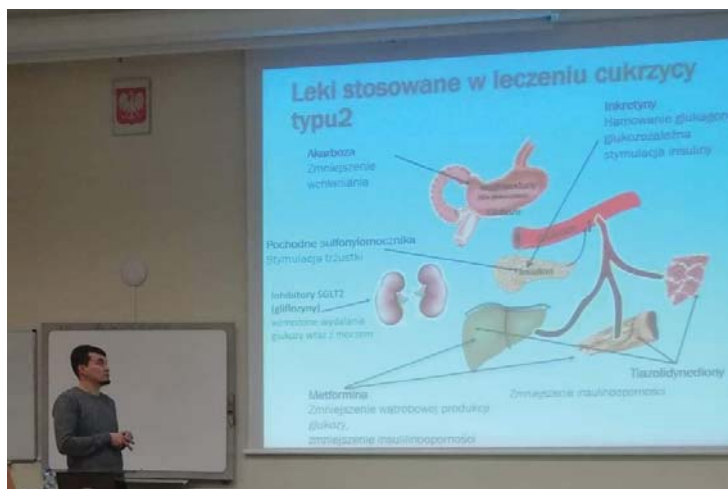
15 kwietnia dr Małgorzata Kalemba-Drożdż poprowadziła wykład „Kwas foliowy – nie tylko dla ciężarnych”, podczas którego została omówiona ważna rola tego kwasu w utrzymaniu stabilności genetycznej komórek i jego znaczenie dla prawidłowego metabolizmu, a także źródła występowania tej witaminy. Uczestnicy spotkania dowiedzieli się, że choć rola kwasu foliowego w zapobieganiu wadom rozwojowym cewy nerwowej jest niezmiernie istotna, to jest to witamina ważna nie tylko dla kobiet ciężarnych. Dr Kalemba-Drożdż omówiła mechanizmy działania kwasu foliowego, jego znaczenie w replikacji i naprawie DNA, w procesach detoksyfikacji organizmu, a także w procesach zapalnych w układzie krwionośnym. Przedstawiona została także sieć powiązań tej witaminy z innymi składnikami odżywczymi i „pułapka folianowa” oraz sposoby jak jej uniknąć. Na spotkaniu zgromadziło się 13 osób.



Fot. 4. Wykład dr Małgorzaty Kalemba-Drożdż pt.: „Kwas foliowy nie tylko dla ciężarnych”. Fot. D. Żbikowska

W dniu 23 kwietnia odbyło się kolejne spotkanie Koła Naukowego pod hasłem „Cukrzyca typu I i II okiem lekarza” pod przewodnictwem dr. Sokołowskiego. Uczestnicy wykładu poznali zatrważające statystyki dotyczące tej choroby w Polsce i na świecie oraz mechanizmy jej powstawania. Cukrzyca zaliczana jest do współczesnych chorób cywilizacyjnych. Jedynym wspólnym objawem cukrzycy typu I i II jest nieprawidłowy poziom cukru we krwi. Na wystąpienie cukrzycy typu I nie mamy wpływu – rozwija się ona w przebiegu mechanizmów niezależnych od nas. Natomiast cukrzyca typu II dotyczy osób z tzw. grupy ryzyka, a jej rozwój może zahamować zdrowy tryb życia. Na koniec zebrania dr Sokołowski odpowiedział na wszystkie nurtujące uczestników pytania. W wykładzie uczestniczyło 12 osób.

28 maja odbyło się zebranie organizacyjne członków Koła Studentów Dietetyki KAAFM, któremu przewodniczyła Danuta Żbikowska. Prezes koła w jasny sposób przedstawiła zasady jego działania, omówiła dotychczasowe spotkania oraz planowane na przyszłość zajęcia. Każdy uczestnik miał możliwość zgłoszenia własnych pomysłów dotyczących funkcjonowania koła w przyszłości. W zebraniu uczestniczyło 12 osób.



Fot. 5. Wykład dr. Grzegorza Sokołowskiego „Cukrzyca typu I i II okiem lekarza”. Fot. D. Żbikowska

Tego samego dnia odbył się długo oczekiwany wykład prof. dr hab. Marii Kapiszewskiej „Kulinarnie wyrafinowany MÓZG. Konsument żarłoczny, ale wybredny”. Profesorka Kapiszewska w fascynujący sposób omówiła wpływ dostępności pożywienia na ewolucję człowieka. Uczestnicy spotkania dowiedzieli się, jak dostępność pożywienia i rodzaj diety wpływa na rozwój mózgu. W wykładzie wzięło udział 12 osób.

Na kolejnym spotkaniu 7 czerwca dr Agnieszka Cierniak poprowadziła warsztaty „Jak napisać pracę w oparciu o badania naukowe”, w czasie których przedstawiła podstawy EBM (ang. *Evidence Based Medicine*) – medycyny opartej na badaniach. Podczas warsztatów zostały omówione rodzaje badań naukowych, metodologia oraz sposób ich przeprowadzania. Podana została zależność badań naukowych od badań podstawowych do metaanalizy z randomizacją. Uczestnicy spotkania mieli również okazję nauczyć się wyszukiwania niezbędnych informacji w bazach naukowych np.: PubMed oraz poznać sposoby gromadzenia literatury niezbędnej przy pisaniu prac z wykorzystaniem programu Mendeley. W warsztatach uczestniczyło 9 osób.

Koło Naukowe Studentów Dietetyki wznowiło swoją działalność po wakacjach. Do końca 2019 r. odbyły się następujące spotkania: 22 listopada 2019 r. dr Małgorzata Kalemba-Drożdż wygłosiła wykład „Alergie pokarmowe”; 3 grudnia 2019 r. odbyły się warsztaty dotyczące wartości odżywczej grzybów i produkowanej przez nie witaminy D, które poprowadziła dr Agata Grzywacz-Kisielewska; 4 grudnia 2019 r. prof. Dorota Lemańska wygłosiła wykład: „Choroby metaboliczne na przykładzie fenylketonurii – wykrywanie i leczenie”.

Zarząd Koła składa ogromne podziękowania władzom Akademii oraz Wydziału Lekarskiego i Nauk o Zdrowiu KAAFM za dotychczasowe wsparcie.



## INSTRUKCJA PRZYGOTOWANIA ARTYKUŁÓW Z ZAKRESU MEDYCyny I ZDROWIA PUBLICZNEGO

### Zasady ogólne

Nadsyłane prace mogą być publikowane w następujących kategoriach:

- oryginalne prace badawcze
- artykuły pogładowe
- opisy przypadków
- recenzje zawierające komentarze do opublikowanych prac innych autorów
- sprawozdania z wydarzeń naukowych (kongresy, sympozja, konferencje naukowe itp.)

### Przygotowanie manuskryptu

*Strona tytułowa* powinna zawierać: pełny tytuł pracy w języku polskim, imiona i nazwiska wszystkich autorów, nazwę instytucji, z której pochodzi praca, nr ORCID wszystkich autorów, a także imię i nazwisko, adres, numer telefonu i e-mail autora odpowiedzialnego za korespondencję z redakcją. Wszystkie powyższe dane zostaną umieszczone na pierwszej stronie artykułu.

*Streszczenie* w języku polskim wraz z wyborem do 4 słów kluczowych, powinno być umieszczone po stronie tytułowej w tekście każdego rodzaju artykułu i zawierać nie więcej niż 1100 znaków ze spacjami (około 150 słów). Tekst streszczenia należy podzielić na części: Wprowadzenie, Materiał i metody, Wyniki oraz Wnioski. Streszczenie w języku angielskim wraz z angielską wersją tytułu w języku angielskim i słowami kluczowymi należy umieścić na końcu tekstu, po bibliografii. Streszczenie w języku angielskim musi być w pełni zgodne z wersją w języku polskim.

*Tekst* prac oryginalnych należy podzielić na części: Wprowadzenie, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski. Należy ograniczyć objętość *Wprowadzenia* do informacji niezbędnych dla uzasadnienia celowości przeprowadzonych

badań oraz analizy przedstawionych wyników. Używane w pracy skróty należy wymienić przed wprowadzeniem lub podać ich wyjaśnienie przy pierwszym użyciu w tekście.

*Prace poglądowe* powinny zawierać: Wprowadzenie, tytuły rozdziałów wynikające z omawianej problematyki, Podsumowanie.

*Opisy przypadków* powinny zawierać: Wprowadzenie, Opis przypadku, Podsumowanie.

*Recenzje* – tytuł stanowi informacja bibliograficzna o recenzowanej pracy, poza tym struktura tekstu jak w pracach poglądowych.

Podsumowanie powinno zawierać wysoce syntetyczne ujęcie poruszanego w pracy tematu i nie przekraczać 500 znaków ze spacjami.

Prace mogą być przygotowane w języku angielskim. Zasady identyczne jak dla artykułów w języku polskim, w miejsce streszczenia w języku angielskim należy umieścić streszczenie w języku polskim (dotyczy autorów polskich). W przypadku gdy korekta językowa okaże się wykraczać poza rutynowy *native speaker proofreading* z powodu niezadowalającego poziomu języka angielskiego, artykuł będzie odesłany do autora celem istotnej poprawy w warstwie językowej.

### **Krój i rozmiar pisma**

Tekst artykułu powinien być złożony pismem Times New Roman o wielkości 12 punktów z interlinią 1,5. Terminy i wyrażenia obcojęzyczne należy pisać kursywą (*italic*). W tekście głównym nie należy stosować wytłuszczeń (**bold**) oraz podkreśleń.

**Zalecana objętość prac według liczby znaków ze spacjami** (z wyłączeniem streszczeń, uwzględniając tabele i ryciny):

Praca oryginalna: 20 000 – 24 000

Artykuł poglądowy: 20 000 – 24 000

Opis przypadku: 20 000 – 22 000

Recenzja: 1000 – 8000

Sprawozdanie z wydarzeń naukowych: 1000 – 8000

### **Ryciny i tabele**

Ryciny i tabele powinny być dostarczone w pliku zawierającym manuskrypt, umieszczone po streszczeniu w języku angielskim. W przypadku przyjęcia artykułu do druku, redakcja może zwrócić się o przesłanie oryginalnych plików graficznych w formacie jpg lub TIFF w rozdzielczości 300 dpi. Każda z rycin i tabel musi być umieszczona na osobnej stronie z podaniem jej numeru oraz tytułu. Opis rycin i tabel powinien wystarczać do zrozumienia ich zawartości bez odnoszenia się do tekstu głównego.

Przykłady:

Tabela 1. Częstość zaburzeń gospodarki węglowodanowej w badanej grupie. A – grupa kontrolna; B – osoby chore; \* oznacza wynik istotny statystycznie.

Rycina 1. Średnie stężenie glukozy w surowicy krwi dorosłych mężczyzn w zależności od BMI.

Jednostki danych liczbowych należy podawać w nawiasach kwadratowych. Ryciny zawierające wykresy powinny być przedstawione w formie dwuwymiarowej. Preferowana jest forma tabeli bez linii pionowych oddzielających kolumny, zawierająca linie poziome ograniczające od góry i dołu, linię poziomą oddzielającą tytuły kolumn od danych oraz opcjonalnie poziome linie oddzielające wiersze prezentowanych danych lub złożonych tytułów kolumn (przykład poniżej).

|                           | Stężenie jonów w surowicy krwi |                              | p     |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------|
|                           | Grupa A ( $\bar{x} \pm SD$ )   | Grupa B ( $\bar{x} \pm SD$ ) |       |
| Na <sup>+</sup> [mmol/l]  | 148,3 $\pm$ 6,5                | 137,2 $\pm$ 5,8              | 0.02* |
| K <sup>+</sup> [mmol/l]   | 3,4 $\pm$ 0,3                  | 4,5 $\pm$ 0,4                | 0.01* |
| Ca <sup>2+</sup> [mmol/l] | 2,4 $\pm$ 0,1                  | 2,2 $\pm$ 0,1                | 0.08  |
| Mg <sup>2+</sup> [mmol/l] | 0,9 $\pm$ 0,1                  | 1,0 $\pm$ 0,2                | 0.20  |

Akceptowane są materiały w odcieniach szarości, publikacja materiałów kolorowych wymaga wcześniejszych ustaleń z wydawcą. Ponadto w odpowiednim miejscu w tekście należy wprowadzić odnośnik w nawiasie zwykłym (Tab. 1, Ryc. 1). Ilustracje zaczerpnięte z innych prac i podlegające ochronie prawa autorskiego wymagają pisemnej zgody właściciela praw autorskich i powinny być opatrzone informacją bibliograficzną w postaci odsyłacza do literatury, umieszczonego w podpisie rysunku.

## Bibliografia

Odwołania do literatury w tekście należy umieszczać w nawiasie kwadratowym z podaniem numeru cytowanej pozycji piśmiennictwa, zgodnie ze spisem umieszczonym na końcu pracy, a nie w formie przypisów dolnych, umieszczanych pod tekstem głównym. W przypadku kilku pozycji należy podać wszystkie numery przedzielone przecinkami bez spacji lub zakres – jeżeli są to pozycje kolejne, na przykład: [5,8,12] lub [6–9,14]. Numerowanie cytowanych materiałów powinno być zgodne z kolejnością pojawiania się ich w tekście. Preferowany system Vancouvera, stosowany w NLM (*National Library of Medicine*). Nazwiska wszystkich autorów należy podawać z pierwszą literą imienia. W przypadku rozdziałów w książkach należy podać na końcu zakres stron cytowanego rozdziału. Tytuł

pozycji należy wyróżnić czcionką pochylą (*italic*). Teksty należy opatrzyć identyfikatorami elektronicznymi, jeżeli są dostępne. Wzory sposobu przedstawienia danych bibliograficznych, w zależności od rodzaju źródła, podano poniżej.

- Artykuł w czasopiśmie naukowym:

Buchanan JG, Scott PJ, McLachlan EM. *A chromosome translocation in association with periarteritis nodosa and macroglobulinemia*. Am J Med. 1967; 42: 1003–1010. doi: 10.1016/0002-9343(67)90081-2.

- Artykuł w czasopiśmie naukowym w przygotowaniu:

Pontarollo G, Mann A, Brãndao I, Malinarich F, Schöpf M, Reinhardt C. *Protease-activated receptor signaling in intestinal permeability regulation*. FEBS J. 2019 Sep 8. doi: 10.1111/febs.15055. [Epub ahead of print][dostęp: 9 września 2019].

- Książka:

Davies N. Europa. *Rozprawa historyka z historyą*. Znak, Kraków 1998.

- Rozdział w książce:

Grodziski S. *Habsburgowie* [w:] Mączak A (red.). *Dynastie Europy*. Zakład Narodowy im. Ossolińskich, Wrocław 1997; 102–136.

- Strona internetowa:

World Health Statistics 2019: Monitoring health for the SDGs [online]. Geneva: Global Health Observatory (GHO) data, 2019 [dostęp: 06-09-2019], [https://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/2019/en](https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2019/en).

### Uwaga

Do pliku zawierającego manuskrypt należy dołączyć oświadczenie podpisane przez autora korespondencyjnego, z podaniem autorów i tytułu pracy, zawierające stwierdzenia:

- praca nie była wcześniej publikowana ani nie jest złożona w innej redakcji,
- manuskrypt został zaaprobowany przez wszystkich współautorów,
- w przypadku zakwalifikowania pracy do druku autorzy zgadzają się na nieodpłatne przeniesienie praw autorskich na Oficynę Wydawniczą AFM,
- w manuskrypcie zawarto informacje co do ewentualnych źródeł finansowania i konfliktów interesów.

Autorów prosimy o podanie numeru ORCID.

Plik manuskryptu oraz plik pdf z wyżej opisanym oświadczeniem, należy przesłać na adres e-mail redakcji: [medycynazp@afm.edu.pl](mailto:medycynazp@afm.edu.pl)

Po zgłoszeniu manuskryptu powinni Państwo dostać wiadomość potwierdzającą przyjęcie artykułu i nadanie mu numeru ewidencji redakcyjnej. W przypadku braku otrzymania potwierdzenia w ciągu kilku dni roboczych, uprzejmie prosimy o ponowny kontakt z redakcją.

## ZASADY RECENZOWANIA PUBLIKACJI W CZASOPISMACH<sup>1</sup>

1. Do oceny każdej publikacji powołuje się co najmniej dwóch niezależnych recenzentów spoza jednostki.
2. W przypadku tekstów powstałych w języku obcym, co najmniej jeden z recenzentów jest afiliowany w instytucji zagranicznej innej niż narodowość autora pracy.
3. Rekomendowanym rozwiązaniem jest model, w którym autor(zy) i recenzenci nie znają swoich tożsamości (tzw. *double-blind review proces*).
4. W innych rozwiązaniach recenzent musi podpisać deklarację o niewystępowaniu konfliktu interesów; za konflikt interesów uznaje się zachodzące między recenzentem a autorem:
  - bezpośrednie relacje osobiste (pokrewieństwo, związki prawne, konflikt),
  - relacje podległości zawodowej,
  - bezpośrednia współpraca naukowa w ciągu ostatnich dwóch lat poprzedzających przygotowanie recenzji.
5. Recenzja musi mieć formę pisemną i kończyć się jednoznacznym wnioskiem co do dopuszczenia artykułu do publikacji lub jego odrzucenia.
6. Zasady kwalifikowania lub odrzucenia publikacji i ewentualny formularz recenzentki są podane do publicznej wiadomości na stronie internetowej czasopisma lub w każdym numerze czasopisma.
7. Nazwiska recenzentów poszczególnych publikacji/numerów nie są ujawniane; raz w roku czasopismo podaje do publicznej wiadomości listę recenzentów współpracujących.

---

<sup>1</sup> Zgodnie z wytycznymi Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego obowiązującą od roku 2012.



## **LISTA RECENZENTÓW**

W roku 2019 artykuły zgłaszane do „Państwa i Społeczeństwa” opiniowali pod kątem ich naukowej przydatności do rozpowszechniania:

dr Agata Baranowska  
dr Marcin Basiak  
dr Jacek Bednarek  
prof. Ilona Biernacka-Ligęza  
prof. dr hab. Agnieszka Brodowska  
dr Magdalena Cemel  
dr hab. inż. arch. Marcin Charciarek  
dr Agnieszka Cierniak  
prof. dr hab. Szczepan Cofta  
dr Marta Curyło  
dr Justyna Cwajda-Białasik  
dr Jolanta Anna Dardzińska  
dr Agnieszka Doryńska  
dr Anna Drogosz  
dr Ewelina Fic  
prof. dr hab. Ignacy Fiut  
dr hab. Kinga Flaga-Gieruszyńska  
dr hab. Michał Głowacki  
dr Dagmara Głuszek-Szafraniec  
dr hab. Anna Goc  
dr Bożena Gorzkowicz

dr hab. inż. arch. Mateusz Gyurkovich. prof. PK  
dr Agnieszka Hernik  
dr Dominika Jamiół  
prof. dr hab. Jan Karczewski  
dr hab. Joanna Kobza  
dr hab. Piotr Kopiński  
dr Agnieszka Kozioł-Kozakowska  
prof. dr hab. Józef Krzysiek  
dr inż. Renata Krzyszczka  
prof. dr hab. Andrzej Kurylak  
dr hab. Dorota Lemańska  
dr hab. Arkadiusz Lewicki  
dr Janusz Ligęza  
dr Anna Łysak-Radomska  
dr Tomasz Maicki  
prof. dr hab. inż. arch. Robert Masztalski  
dr Dominik Maślach  
dr hab. Wioletta Medrzycka-Dąbrowska  
dr Maria Mika  
dr Paulina Mościcka  
dr Tomasz Panz  
prof. Zbigniew Paszkowski  
prof. dr hab. Paweł Pencakowski  
dr inż. Renata Pietrzak-Fiećko  
dr Krystyna Piskorz-Ogórek  
dr hab. Dorota Polak-Jonkisz  
dr inż. arch. Kingę Racoń-Leja  
dr Marta Rorat  
dr Łukasz Salski  
dr hab. Agnieszka Samochowiec  
dr Tomasz Senderek  
dr Katarzyna Sękowska Kozłowska  
dr Lucyna Ścisło  
dr Rafał Trąbka  
dr Diana Wasiluk  
dr Andrzej Ząbek  
dr Joanna Zdanowska