



Vol. 77

eISSN 1734-025X



**Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach**

**Katowice 2023**





**ANNALES  
ACADEMIAE  
MEDICAE  
SILESIENSIS**

#### Kolegium Redakcyjne/Editorial Board

##### Redaktor naczelny/Editor-in-Chief:

prof. dr hab. n. med. Małgorzata Muc-Wierzgoń (Bytom)

##### Zastępca redaktora naczelnego/Deputy Editors:

prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Teresa Kokot (Bytom)

##### Redaktorzy tematyczni/Editors:

prof. dr hab. n. med. Piotr Czekaj (prace teoretyczne/theoretical research)

prof. dr hab. n. med. Michał Holecki (prace kliniczne/clinical research)

dr hab. n. med. Lidia Postek-Stefańska (prace stomatologiczne/dentistry research)

prof. dr hab. n. med. Jan Kowalski (prace farmaceutyczne/pharmaceutical research)

prof. dr hab. n. med. Katarzyna Mizia-Stec (prace studenckie/students' research)

##### Redaktor statystyczny/Statistical Editor:

dr hab. n. o zdrowiu Michał Skrzypek (Bytom)

##### Redaktorzy językowi/Language Editors:

mgr Anna Just – język polski/Polish proofreading (Katowice)

mgr Christine Frank-Szarecka – język angielski/English proofreading (Częstochowa)

##### Strona internetowa/Website:

mgr Anna Just (Katowice)

Copyright © Bentus

#### Przewodniczący Rady Naukowej/Scientific Board President:

prof. dr hab. n. med. Michał Tendera

#### Rada Naukowa/Scientific Board:

dr Josette Bettany-Saltikov (Teesside University, Wielka Brytania)

prof. dr hab. n. med. Jan Duława

dr hab. inż. Joachim Foltys, prof. UE

prof. dr hab. n. med. Zbigniew Gąsior

prof. Sergiej Giczka (Kijów, Ukraina)

prof. dr Otto Holst (Borstel, Niemcy)

prof. dr Michael Horowitz (Adelaide, Australia)

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Jonderko

prof. dr hab. n. med. Zbigniew Kalarus

dr Craig McFarlane (Townsville, Australia)

prof. Władimir Meged (Kijów, Ukraina)

prof. Pierre de Meyts (Gentofte, Dania)

prof. dr hab. n. med. Krystyna Olczyk

prof. Anders Kirstein Pedersen (Kopenhaga, Dania)

prof. dr hab. n. med. Aleksander L. Sieroń (em.)

prof. dr hab. n. med. Aleksander R. Sieroń (em.)

dr hab. Henryk Siniawski (Berlin, Niemcy)

prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Ewelina Szliszka

prof. Michael D. Threadgill (Bath, Wielka Brytania)

prof. dr hab. Janusz Węgrowski (Reims, Francja)

prof. dr hab. n. med. Jan E. Zejda

Opinie prezentowane w artykułach nie muszą być zgodne z opiniami Redakcji

Opinions presented in the articles do not necessarily represent the opinions of the Editors

**Annales Academiae Medicae Silesiensis** (eISSN 1734-025X)

Czasopismo wydawane przez

**Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach**

ul. Poniatowskiego 15

40-055 Katowice

<https://sum.edu.pl>

**Annales Academiae Medicae Silesiensis** (eISSN 1734-025X)

Published by

**Medical University of Silesia, Katowice, Poland**

ul. Poniatowskiego 15

40-055 Katowice, Poland

<https://sum.edu.pl>

#### Adres redakcji:

Redakcja „Annales Academiae Medicae Silesiensis”

Katedra i Zakład Propedeutyki

Chorób Wewnętrznych i Medycyny Ratunkowej

Wydziału Zdrowia Publicznego w Bytomiu

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

41-902 Bytom

ul. Piekarska 18

tel./fax + 48 32 397 65 27

e-mail: [aams@sum.edu.pl](mailto:aams@sum.edu.pl)

<https://annales.sum.edu.pl>

#### Editorial Address:

“Annales Academiae Medicae Silesiensis” Editorial Office

Department of Internal Diseases Propaedeutics

and Emergency Medicine

Faculty of Public Health in Bytom

Medical University of Silesia, Katowice, Poland

41-902 Bytom

ul. Piekarska 18

tel./fax +48 32 397 65 27

e-mail: [aams@sum.edu.pl](mailto:aams@sum.edu.pl)

<https://annales.sum.edu.pl>

Od lutego 2021 r. „Annales Academiae Medicae Silesiensis” wydawane jest w modelu *open access* (OA), a artykuły udostępniane są na licencji CC BY-SA 4.0 (Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe), określającej zasady ich wykorzystania.

Artykuły przesłane do Redakcji za pośrednictwem Editorial System do końca stycznia 2021 r. publikowane są na dawnych zasadach (z notą copyright i przekazaniem praw autorskich Wydawcy czasopisma, a artykuły mogą być wykorzystywane wyłącznie w ramach dozwolonego użytku).

Czasopismo jest indeksowane w bazach: CAS, DOAJ, ICI Journals Master List (ICV 2022: 98,77), Polish Scientific Journals Database, Polska Bibliografia Lekarska, Sherpa Romeo. Punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki za publikację naukową: 40 pkt.

Since February 2021, “Annales Academiae Medicae Silesiensis” is published in the open access (OA) system, and articles are made available under the CC BY-SA 4.0 license (Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International), specifying the rules for their use.

Articles sent to the Editorial Board via the Editorial System by the end of January 2021 are published on the old terms (with a copyright notice and the transfer of the copyrights to the Publisher of the journal, and the articles may be used only under fair use).

The journal is indexed in the CAS, DOAJ, ICI Journals Master List (ICV 2022: 98.77), Polish Medical Bibliography, Polish Scientific Journals Database, Sherpa Romeo. Ministry of Education and Science – value 40.



## Spis treści Content

- Multiple pulmonary cavitating nodules in female with endometrium adenocarcinoma history – difficulties in differentiation between metastases, sarcoidosis and sarcoid-like reaction. Case report** 1–6  
Liczne guzki kawitujące w płucach u kobiety z historią raka gruczołowego endometrium – trudności w różnicowaniu pomiędzy przerzutami, sarkoidozą a reakcją sarkoidalną. Studium przypadku  
*Alicja Gałeczka-Turkiewicz, Dagmara Galle, Agnieszka Goryczka, Maja Zarzecka, Dariusz Jastrzębski, Dariusz Ziara*
- Przegląd metod fizjoterapii oddechowej u pacjentów z mukowiscydozą** 7–16  
Review of respiratory physiotherapy methods in patients with cystic fibrosis  
*Oktawia Kuna, Katarzyna Stachura, Paweł Niemiec*
- Czy lekarze prowadzą zdrowszy styl życia niż w czasie, gdy byli studentami?** 17–24  
Do physicians lead healthier lifestyles than when they were students?  
*Tomasz S. Klocek, Przemysław Witek, Patryk Wawrzonkowski, Aleksandra Binek, Nadia Woźniak, Łukasz Krzych*
- Wodogłowie – objaw typowo radiologiczny?** 25–29  
Hydrocephalus – a typical radiological symptom?  
*Marta Marek, Agata Aleksandra Macionga, Kinga Szopińska, Ewa Kluczevska*
- Rola stresu oksydacyjnego w cukrzycy ciążowej** 30–36  
The role of oxidative stress in gestational diabetes  
*Kamila Stopińska, Adrianna Marzec*
- In vivo comparison of small- and large-bore aspiration catheters in patients with ST elevation myocardial infarction** 37–42  
Porównanie *in vivo* cewników aspiracyjnych o różnej średnicy u pacjentów z zawałem mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST  
*Katarzyna Pigoń, Maciej Pękała, Natalia Tomecka, Edyta Radzik, Ewa Nowalany-Kozielska, Andrzej Tomasiak*
- Przepisy dotyczące zwalczania zagrożeń epidemicznych w Polsce a pandemia COVID-19 – przegląd i ocena wdrażanych rozwiązań** 43–50  
Regulations on combating epidemic threats in Poland and COVID-19 pandemic – review and assessment of implemented solutions  
*Klaudia A. Alcer, Anita Błachut, Piotr Romaniuk*
- Osobowość typu D u pacjentów z rakiem jelita grubego** 51–59  
Type D personality in patients with colorectal cancer  
*Angelina Kaleta-Pilarska*



- Ⓜ Profilaktyka powikłań zakrzepowo-zatorowych u pacjentów z migotaniem przedsionków i otyłością** 60–66  
Prevention of thromboembolic complications in patients with atrial fibrillation and obesity  
*Izabela Kolasa, Beata Średniawa*
- Ⓜ Knowledge of students of selected fields of study on specific eating disorders** 67–74  
Wiedza studentów wybranych kierunków studiów na temat specyficznych zaburzeń odżywiania  
*Michał Górski, Beata Całyniuk, Jagoda Garbicz, Kamila Szynal, Karolina Górską, Renata Polaniak*
- Ⓜ Outbreak of *Clostridioides difficile* infection in Silesian district hospital** 75–81  
Ognisko epidemiczne *Clostridioides difficile* w śląskim szpitalu powiatowym  
*Klaudia T. Szarek, Monika A. Kabala, Krzysztof Sacha, Franciszek Drzymala, Adam Borek, Monika Pomorska-Wesołowska, Małgorzata Aptekorz, Gayane Martirosian*
- Ⓜ Chronic and acute pancreatitis elastography – current knowledge** 82–86  
Elastografia w przewlekłym i ostrym zapaleniu trzustki – aktualna wiedza  
*Agnieszka M. Sepioł, Maciej M. Cebula*
- Ⓜ Czynniki wpływające na wybór specjalizacji z psychiatrii wśród studentów uczelni medycznych – przegląd literatury** 87–94  
Factors influencing the choice of specialization in psychiatry among students of medical universities – a review  
*Arkadiusz Wilczek, Anna Rogalska*
- Ⓜ Zmiany w aktywności metaloproteinaz 2 i 9 w wątrobie szczura w doświadczalnym modelu cholestazy z uwzględnieniem czasu jej trwania, wraz z oceną wybranych jej cech** 95–107  
Changes in activity of metalloproteinases 2 and 9 in rat liver in experimental model of cholestasis taking into account its duration and assessment of selected features  
*Krzysztof Suszyński, Natalia Białoń, Dariusz Górka, Anna Dolińska, Mikołaj Górka*
- Ⓜ Manifestacje okulistyczne w zespole Sjögrena – czy nieszczęścia chodzą parami? Opis przypadku** 108–114  
Ocular manifestations in Sjögren’s syndrome – it never rains but it pours? Case report  
*Anna M. Hitnarowicz, Aleksandra Janocha, Zuzanna Wielgos, Monika Sarnat-Kucharczyk, Dorota Pojda-Wilczek*
- Ⓜ Wybrane zmiany fenotypowe oraz funkcjonalne zachodzące w komórkach raka jajnika poddanych in vitro terapii kombinowanej z zastosowaniem cisplatyny oraz hipertermii** 115–127  
Selected phenotypic and functional changes in ovarian cancer cells treated in vitro with combined therapy using cisplatin and hyperthermia  
*Aleksandra Zoń, Ilona Bednarek*
- Ⓜ Electrocardiographic history of pulmonary arterial hypertension – from diagnosis, through pregnancy, to lung transplantation** 128–136  
Obraz elektrokardiograficzny tętniczego nadciśnienia płucnego – od diagnozy poprzez ciążę do przeszczepienia płuc  
*Karolina Bula, Marek Grabka, Katarzyna Mizia-Stec*
- Ⓜ Cardiotoxicity of immunotherapy in lung cancer in light of new ESC guidelines** 137–145  
Kardiotoksyczność immunoterapii w raku płuca w świetle nowych wytycznych ESC  
*Gabriela B. Orzeł, Maciej Łydka, Justyna Lewandowska, Julia Stachowiak, Ewelina Szymańska, Katarzyna Mizia-Stec*
- Ⓜ Adult cutaneous diphtheria in Poland – a case report and literature overview** 146–150  
Błonica skóry u dorosłego pacjenta w Polsce – opis przypadku i przegląd literatury  
*Jakub Fick, Magda Bichalska-Lach, Bartosz Bichalski, Marek Rudzki, Dariusz Waniczek*
- Ⓜ Pacjent z CADASIL – wyzwanie diagnostyczne** 151–157  
Patient with CADASIL – a diagnostic challenge  
*Julia Węgrzynek, Agnieszka Tomaszewska, Angelika Wawrzkiwicz-Witkowska*





- Ⓜ The applications of posturography in selected neurological disorders** 158–165  
Zastosowania posturografii w wybranych schorzeniach neurologicznych  
*Anna Oczadło, Urszula Kowacka, Barbara Lewicka, Edyta Matusik*
- Ⓜ Rs401681 and rs402710 polymorphisms of *CLPTMIL* gene in cancerous and healthy lung tissues in patients with lung adenocarcinoma** 166–175  
Polimorfizmy rs401681 i rs402710 genu *CLPTMIL* w tkance zmienionej nowotworowo i w tkance zdrowej płuc u chorych z gruczolakorakiem płuca  
*Joanna Żywiec, Mateusz Rydel, Bogna Drozdowska, Katarzyna Klimczyk, Janusz Kasperczyk, Damian Czyżewski*
- Ⓜ The potential anticancer activities of telmisartan – a literature review** 176–181  
*Andriana Hadjiyianni, Datis Kalali*
- Ⓜ Which factors affect electrophysiological parameters in patients undergoing surgery for carpal tunnel syndrome?** 182–189  
Jakie czynniki wpływają na elektrofizjologiczne parametry przewodzenia u pacjentów poddanych operacyjnemu leczeniu zespołu cieśni nadgarstka?  
*Krzysztof Wierzbicki, Cezary Linart, Monika Bugdol, Krystian Ślusarz, Karolina Romanek, Bartosz Tadeusiak, Monika Adamczyk-Sowa*
- Ⓜ The role of 5- $\alpha$ -reductase inhibition in supressing progression of male androgenetic alopecia – a postulate for further studies on possible application of saw palmetto extracts** 190–196  
Rola inhibicji 5- $\alpha$ -reduktazy w zatrzymaniu postępu łysienia androgenowego u mężczyzn – postulat na rzecz badań nad zastosowaniem ekstraktów z palmy sabałowej  
*Marcin Piwecki, Aleksandra Urban, Jolanta Pelszyńska*
- Ⓜ Wound healing – characteristics of the ideal dressing** 197–203  
Gojenie ran – charakterystyka idealnego opatrunku  
*Kinga Orlińska, Katarzyna Komosińska-Vassev, Krystyna Olczyk, Marcin Glaesel, Paweł Olczyk*
- Ⓜ Glycosaminoglycans – types, structure, functions, and the role in wound healing processes** 204–216  
Glikoaminoglikany – rodzaje, struktura, funkcje i rola w procesach gojenia ran  
*Kinga Orlińska, Katarzyna Komosińska-Vassev, Krystyna Olczyk, Aleksandra Kowalczyk, Paweł Olczyk*
- Ⓜ Comparison of course of infections and antibiotherapy in patients with and without diabetes mellitus – one center experience** 217–225  
Porównanie przebiegu infekcji oraz zastosowanej antybiotykoterapii u pacjentów chorych na cukrzycę i bez cukrzycy – doświadczenie jednego centrum medycznego  
*Maria Stec, Agata Suleja, Wiktoria Kuczmik, Aleksandra Mroskowiak, Maciej Migacz, Michał Holecki*
- Ⓜ Cardiac sarcoidosis** 226–239  
Sarkoidoza serca  
*Małgorzata Niemiec, Bartosz Gruchlik, Jan Niemiec, Magdalena Balwierz, Katarzyna Mizia-Stec*
- Ⓜ Renal ectopia as cause of diagnostic difficulties in 43-year-old man hospitalized due to suspicion of colorectal cancer** 240–246  
Ektopia nerki jako przyczyna trudności diagnostycznych u 43-letniego mężczyzny hospitalizowanego z powodu podejrzenia raka jelita grubego  
*Grzegorz K. Jakubiak, Mikołaj Pietrzak, Grzegorz Cieślak, Agata Stanek*
- Ⓜ Assessment of consumption of light, “lekki” and fit products among students of dietetics** 247–254  
Ocena spożycia wyrobów typu light, lekki oraz fit wśród studentów kierunku dietetyka  
*Anna Szczyrba, Marek Kardas*



**Ⓜ Cadmium and lead content in gluten and gluten-free bread available on Polish market – potential health risk to consumers** 255–263

Zawartość kadmu i ołowiu w pieczywie glutenowym i bezglutenowym dostępnym na polskim rynku – potencjalne ryzyko zdrowotne konsumentów

*Magdalena Gacal, Klaudia Gut-Pietrasz, Małgorzata Ćwieląg-Drabek*

**Ⓜ Triple knot of umbilical cord – case report and review of literature** 264–267

Potrójny węzeł pępowinowy – opis przypadku i przegląd literatury

*Maisa Manasar-Dyrbuś, Joanna Sójka-Kupny, Piotr Gibala, Rafał Stojko*

**Ⓜ Gastrointestinal parasitosis diagnosed by colonoscopy as cause of weight loss in 46-year-old woman with three negative stool tests for presence of parasites** 268–272






Parazytoza przewodu pokarmowego rozpoznana w kolonoskopii jako przyczyna spadku masy ciała u 46-letniej kobiety z ujemnym wynikiem trzykrotnie wykonanego badania kału na obecność pasożytów

*Grzegorz K. Jakubiak, Mikołaj Pietrzak, Grzegorz Cieślak, Agata Stanek*



## Multiple pulmonary cavitating nodules in female with endometrium adenocarcinoma history – difficulties in differentiation between metastases, sarcoidosis and sarcoid-like reaction. Case report

Liczne guzki kawitujące w płucach  
u kobiety z historią raka gruczołowego endometrium  
– trudności w różnicowaniu pomiędzy przerzutami,  
sarkoidozą a reakcją sarkoidalną. Studium przypadku

Alicja Gałeczka-Turkiewicz<sup>1</sup> , Dagmara Galle<sup>1</sup> , Agnieszka Goryczka<sup>1</sup> , Maja Zarzecka<sup>2</sup>, Dariusz Jastrzębski<sup>2</sup> ,  
Dariusz Ziara<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Student Society of the Department of Lung Diseases and Tuberculosis, Faculty of Medical Sciences in Zabrze,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Lung Diseases and Tuberculosis, Faculty of Medical Sciences in Zabrze,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### ABSTRACT

Pulmonary cavitary lesions visible on a chest radiograph can be a diagnostic challenge. It is necessary to take into consideration a wide differential diagnosis and to conduct a wide range of examinations to confirm their exact cause.

A 44-year-old woman with a history of endometrial adenocarcinoma was admitted to the pulmonology department to diagnose mediastinal lymphadenopathy with coexisting nodules in the lung parenchyma. The X-ray and positron emission tomography (PET) showed cavitating lesions in the lungs, which could correspond to metastases, but the laboratory and histopathological tests did not confirm any neoplastic features. In specimens obtained by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) and video-assisted thoracoscopic surgery (VATs) non-caseating granulomas were found, which suggested sarcoidosis or a sarcoid-like reaction. At an advanced stage of pulmonary changes, the presence of neoplastic cells was revealed in the sputum. Despite chemotherapy the patient died. Multiple pulmonary metastases were confirmed in the post-mortem examination.

This case is an example of a rare sarcoid-like reaction in the mediastinum and lung parenchyma due to cancer located below the diaphragm. Differentiating between sarcoidosis, a sarcoid-like reaction and lung metastases in similar cases may be difficult. For this reason, it should be advisable to repeat diagnostic procedures in patients with malignancies in the past, including EBUS-TBNA and VATs.

### KEY WORDS

pulmonary cavitary nodules, sarcoidosis, sarcoid-like reaction, sarcoid granuloma, multiple pulmonary metastases, endometrial adenocarcinoma

Received: 11.07.2022

Revised: 12.08.2022

Accepted: 12.08.2022

Published online: 24.01.2023

Address for correspondence: Alicja Gałeczka-Turkiewicz, Student Society of the Department of Lung Diseases and Tuberculosis, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland, ul. Ks. Koziółka 1, 41-803 Zabrze, tel. +48 696 835 001, e-mail: alicjagaleczka@gmail.com



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

Zmiany kawitujące w płucach obrazowane na zdjęciu rentgenowskim klatki piersiowej mogą być diagnostycznym wyzwaniem. W celu dokładnego ustalenia ich przyczyny konieczne jest wzięcie pod uwagę szerokiej diagnostyki różnicowej i przeprowadzenie licznych badań.

Kobieta, 44-letnia, z gruczolakiem endometrium w wywiadzie została przyjęta na oddział pulmonologiczny w celu diagnostyki powiększonych węzłów chłonnych śródpiersia i współwystępujących w mięszu płuc guzków. Zdjęcie rentgenowskie i pozytonowa tomografia emisyjna (*positron emission tomography* – PET) uwidoczniły zmiany kawitujące w płucach, które mogły stanowić przerzuty płucne; jednakże badania laboratoryjne i histopatologiczne nie potwierdziły obecności zmian nowotworowych. W materiale pobranym w trakcie przezoskrzelowej biopsji węzłów chłonnych pod kontrolą ultrasonografii wewnątrzoskrzelowej w czasie rzeczywistym (*endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration* – EBUS-TBNA) oraz wideotorakoskopii (*video-assisted thoracoscopic surgery* – VATs) zostały znalezione niesierowaciejące ziarniaki, które sugerowały rozpoznanie sarkoidozy lub reakcji sarkoidalnej. Dopiero w zaawansowanym stadium zmian płucnych komórki nowotworowe zostały ujawnione w płwocinie. Pomimo wdrożenia chemioterapii pacjentka zmarła. Liczne przerzuty płucne zostały potwierdzone w badaniu post-mortem.

Opisany przypadek jest przykładem rzadkiego zjawiska reakcji sarkoidalnej w śródpiersiu i mięszu płuc w wyniku nowotworu zlokalizowanego poniżej przepony. Różnicowanie pomiędzy sarkoidozą, reakcją sarkoidalną i przerzutami do płuc w podobnych przypadkach może stanowić trudność diagnostyczną. Dlatego powinno się powtarzać procedury diagnostyczne takie jak EBUS-TBNA lub VATs u pacjentów z wywiadem onkologicznym.

## SŁOWA KLUCZOWE

płucne guzki kawitujące, sarkoidoza, reakcja sarkoidalna, ziarniak sarkoidalny, liczne przerzuty płucne, gruczolakorak endometrium

## INTRODUCTION

Pulmonary cavities are pathological structures filled with gas. In a radiograph they are depicted as an area of low-attenuation that surrounds a mass or a surface of consolidation [1]. Many different pathological processes may manifest themselves as a cavity, e.g. necrosis, cysts, cystic dilation, and the desquamation of a tumour with accompanying liquefaction [2,3]. Its origins may be various: from rheumatic disorders to infectious causes; however, the most common causes of cavitory lesions are primary malignancies and septic emboli [1,4]. Malignant cavitating nodules in the lungs may develop due to necrosis of the tumour or due to a specific check-valve mechanism in which the tumour infiltrates into the bronchial tree [4]. Approximately 4% of pulmonary metastases evolve from solid to cavitory lesions [5]. This transformation may be self-generated, mostly in primary cancers, or induced by both radiotherapy and chemotherapy [6,7]. In two-thirds of metastatic cavitory nodules, squamous cell carcinomas are primary lesions; mainly the head and neck, oesophageal, and uterine carcinomas [4,5,8]. We would like to present the case of a 44-year-old woman with non-characteristic pulmonary lesions, which turned out to be cavitating metastases of endometrial adenocarcinoma. During the differential diagnosis, sarcoidosis or a sarcoid-like reaction was considered due to the histopathologic findings.

## CASE REPORT

A 44-year-old female patient was admitted to the Pulmonology Department, Prof. Stanisław Szyszko Independent Public Clinical Hospital No 1 in Zabrze in December, 2017 to diagnose mediastinal lymphadenopathy with several coexisting nodules in the lung parenchyma. In 2015 the patient was treated in the Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology (Gliwice Branch) due to endometrial adenocarcinoma in stage G2 with metastases to the parametrium and regional lymph nodes, and therefore underwent a total hysterectomy. After the surgery she received chemotherapy (6 cycles of carboplatin and paclitaxel), then radiotherapy and brachytherapy. In September, 2016 she finished her oncological treatment. Positron emission tomography (PET) conducted in November, 2016 did not reveal any abnormalities – neither evidence of biomarker hyper-accumulation, nor elevated glucose metabolism characteristic of the spread of endometrial adenocarcinoma. In June, 2017 a second PET was conducted; nevertheless, its results were questionable and did not rule out the presence of lung metastases. The chest computed tomography (CT) scan showed a few isolated focal lesions – most of them were cavitory (Figure 1), and minimal hilar node enlargement. In October, 2017 in the Thoracic Surgery Department, Prof. Stanisław Szyszko Independent Public Clinical



Hospital No 1 in Zabrze the patient underwent a real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA). No neoplastic cells were found; however, sarcoidosis was suspected. The patient remained without any complaints, hence no specific treatment was ordered. Nonetheless, in November, 2017 radiological progression was observed, and therefore the patient was admitted to our pulmonary department.



Fig. 1. Chest CT scan (June 2017).

Ryc. 1. TK klatki piersiowej (czerwiec 2017).

During the hospitalization, routine laboratory analyses were within the normal ranges. Neither anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), nor cytoplasmic type of atypical anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (cANCA) were positive. Fiberoptic bronchoscopy (FB) revealed no pathology in the bronchial tree. In bronchial washing no suspicious cells were found: samples taken from the bronchial wall revealed no pathology. Bacteriological and mycological smears and culture (including *Mycobacterium tuberculosis*) were negative. The patient was discharged home with the suspicion of sarcoidosis, and prednisone (30 mg daily) was administered. In further follow-up, the patient refused to take medication and to undergo a surgical lung biopsy during video-assisted thoracoscopy (VATS). In January, 2018 the patient was re-hospitalised in our department and appeared to be asymptomatic. The laboratory test results were within the normal range; nevertheless, the chest X-ray showed the

progression of lesions in number and diameter. In a repeated EBUS-TBNA no suspicious cells were found, and once again sarcoid granulomas typical for a sarcoid or sarcoid-like reaction were found. Eight weeks of continued prednisone treatment with tuberculosis prophylaxis (pyrazinamide, ethambutol, rifampicin and isoniazid) showed no success, and in February, 2018 the patient was admitted again to our department with dyspnoea during exercise and further radiological progression. The CT scan revealed numerous cavitating nodules within both lungs, rimmed by the limbus of ground glass (Figure 2, 3). In addition, numerous enlarged lymph nodes within the mediastinum were present. The laboratory tests were yet again within the normal range. The sputum cytology examination was negative. The patient eventually agreed to VATs and lung sampling, which confirmed the suspicion of a sarcoid-like reaction. The pathologist appended the following comment: "Granulomatous diseases and – because of the clinical picture and the chemotherapy the patient underwent – a sarcoid reaction or hypersensitivity pneumonitis should be taken into account in the differential diagnosis. No suspicious cells or lung foci were found". These results were also confirmed in the Pathology Department of the Tuberculosis and Lung Diseases Institute in Warsaw.

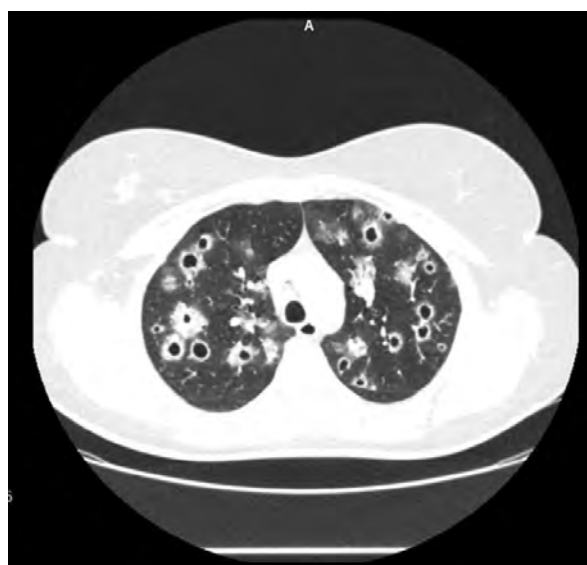


Fig. 2. Chest CT scan (February 2018).

Ryc. 2. TK klatki piersiowej (luty 2018).



Fig. 3. Chest CT scan (February 2018). Bilateral numerous cavitating nodules surrounded by limbus of ground glass opacity. In mediastinum enlarged subcarinal lymph nodes (up to 17 mm in short axis) and numerous lymph nodes measuring maximum 10 mm in short axis. Enlarged pulmonary hilar lymph nodes: right one up to 18 mm, and left one up to 11 mm in short axis.

Ryc. 3. TK klatki piersiowej (luty 2018). Obustronne, liczne kawitujące zmiany otoczone rąbkim mlecznej szyby. W śródpiersiu: powiększone węzły chłonne podoługowe (do 17 mm w osi krótkiej) oraz liczne węzły chłonne do 10 mm w osi krótkiej. Powiększone węzły chłonne wewnątrz płuc: prawy do 18 mm, lewy do 11 mm w osi krótkiej.



Fig. 4. Chest X-ray (April 2018).

Ryc. 4. Zdjęcie rentgenowskie klatki piersiowej (kwiecień 2018).

## DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Despite continued anti-mycobacterial and steroid therapy throughout April, 2018 the patient was readmitted to our department due to dyspnoea at rest. Her general condition was moderately severe, with a blood pressure of 140/70 mm Hg and a heart rate of 98 bpm. Laboratory tests showed increased concentrations of lactate dehydrogenase (273 IU/L) and D-dimers (1.39 µg/ml). The sputum examination revealed only the presence of *Candida albicans*. The tuberculosis panel was negative, nor was *Pneumocystis jirovecii* found. During the gynaecological consultation, there was no evidence of a recurrence of the cancer. After oxygen treatment, intravenous methylprednisolone (3 pulses × 0.5 g), cyclophosphamide (1.5 g intravenous, then 3 × 0.5 g per os), broad-spectrum antibiotics, and itraconazole (2 × 200 mg per os), slight improvement in the patient's general condition, including respiratory function was achieved, despite massive chest X-ray opacities (Figure 4). The fourth cytological examination of induced sputum finally revealed adenocarcinomatous cells in May, 2018. After an oncological consultation, the decision was made to undergo carboplatin treatment in monotherapy. This treatment was not effective and the patient died in June, 2018. The post-mortem examination revealed numerous metastases of adenocarcinoma in the lungs.

This case is an example of a very rare sarcoid-like reaction in the mediastinum and lung parenchyma due to cancer located below the diaphragm. Our case also exemplifies the difficulties in differential diagnosis between a sarcoid-like reaction, a cavitating form of sarcoidosis, and multiple pulmonary metastases due to endometrial adenocarcinoma.

The differential diagnosis of pulmonary cavities is very broad and should include infections (bacterial, mycobacterial, fungal, parasitic), as well as systemic diseases such as malignancies and rheumatic disorders (sarcoidosis – especially the nodular type, Wegner's granulomatosis, granulomatosis with polyangiitis, nodular amyloidosis) [4,9,10]. Septic emboli and subsequent pulmonary vessel thrombosis may result in pulmonary cavities as well. Cavitory lesions in bacterial infections can be a result of multiple abscesses or necrotising pneumonia. Although this kind of process is most characteristic of *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* infections, it can also be seen in *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Actinomyces*, *Nocardia* and *Rhodococcus* contagions. Pulmonary tuberculosis (caused by *Mycobacterium tuberculosis*) and pulmonary mycobacteriosis caused by non-tuberculous mycobacteria may also be the reason why cavitating pulmonary nodules mimic metastases, especially among patients that already





suffer from pulmonary diseases in countries like Poland with a relatively high annual incidence of tuberculosis [10,11,12]. Among certain patients percutaneous transthoracic needle aspiration may be diagnostically helpful [12]. In our patient, an infection was excluded. Additionally, pulmonary sarcoidosis may manifest as nodular cavitory lesions. The incidence of cavitory nodules in sarcoidosis is yet to be determined. Some authors have estimated its frequency from 1 to 2% and others even at 11.8%, with the highest share in chronic pulmonary sarcoidosis [9,13,14]. The mechanism of cavity formation in sarcoidosis is still unknown. The theories include: bullae formation, comorbid infections and the development of cystic bronchiectasis, whereas the reason for true cavities are: the expulsion of hyaloid material from the fibrous tissue and necrosis within aggregation areas of sarcoid granulomas [14,15]. In most cases, patients with pulmonary cavitory sarcoidosis have symptoms of dyspnoea and chronic coughing and they have a good response to glucocorticoid treatment [14].

We did not observe any positive effect of prednisone in this case, hence we suspected a sarcoid-like reaction, which is an immunologic abnormality that also results in the formation of epithelioid-cell granulomas. It is associated with an ongoing or past malignancy and usually develops in local lymph nodes and contributes to their draining. A sarcoid-like reaction is diagnosed by the exclusion of other disorders in patients with a history of oncological diseases, who have not met the criteria for sarcoidosis [16]. A sarcoid-like reaction usually occurs in about 13% of cases of Hodgkin disease, 7% of non-Hodgkin lymphoma, and only in 4.4% of carcinomas, while its incidence in lung cancer varies from 4.3% to 7% [16,17]. A sarcoid-like reaction and sarcoidosis are indistinguishable in radiologic imaging, including PET scanning [18]. A sarcoid-like reaction can be distinguished from sarcoidosis by the presence of B cells in granuloma lesions in the former [19]. It seems that EBUS-TBNA, with an evident sensitivity of 89–94% should be performed to provide the pathologic material from mediastinal nodes, and it is believed to be a gold standard in diagnosing sarcoidosis or a sarcoid-like reaction [18,20,21]. Tyan et al. [22] confirmed metastases from extra thoracic malignancies in only 25 out of 350 patients with isolated mediastinal and hilar lymphadenopathy using EBUS-TBNA (7%).

Pulmonary metastases usually mould into solid changes and manifest themselves as numerous nodose lesions, hydrothorax and lymphatic vessel proliferation [6,23]. In addition, cavernous, singular lesions in primary lung

tumours are described as quite frequent [24]. They are also related to a worse prognosis [25]. Seo et al. [26] also noticed that the incidence of cavitory nodules in primary lung cancers is more common (9%), while the frequency of their occurrence as metastatic lesions is only 4%.

Endometrial adenocarcinoma metastases to a pulmonary location are very rare and mainly solid [27]. In the D'Orsi et al. [25] study the incidence of pulmonary metastases varied from 3.2% to 4.7%. Among 24 patients with metastases in the lungs due to carcinoma of the endometrium, none of the patients had cavitory lesions. The mean time from the demonstration of pulmonary metastases to their detection amounted to 12 months, whereas the mean time from detection to death was 5 months. Pulmonary metastases are difficult to diagnose properly, mainly due to the lack of symptoms and surreptitious extension [4]. Only 5% of patients with lung metastases have such symptoms as dyspnoea, pain in the chest, a cough or haemoptysis [23]. Our patient remained asymptomatic for 2 years. Therefore, pulmonary metastases should be suspected in all patients with cavitory lesions and a history of a primary tumor.

Because of the inconsistent examination findings in our case, diagnostic procedures were repeated several times. Neoplastic cells appear in the sputum only when there is any communication between the tumour and the bronchial tree, thus in unadvanced pulmonary lesions both bronchial washing and sputum can be negative [6]. EBUS-TBNA seemed to be the best procedure to make a proper diagnosis, but each time its results led to the sarcoid-like reaction diagnosis, hence the chemotherapy regimen was delayed in our patient.

To the best of our knowledge, our report of the distant sarcoid reaction accompanying endometrial adenocarcinoma metastases is extremely rare in the literature. In 2008, Kennedy et al. [28] reported a sarcoid-like reaction in a patient with endometrial cancer. In 2018, Lashari et al. [29] described two cases of a distant sarcoid reaction in patients with adenocarcinoma of the uterus, but it appeared during an active neoplastic disease directly after the confirmation of a malignancy, unlike in our patient.

To summarise, the differentiation between sarcoidosis and a sarcoid-like reaction of lung metastases is extremely difficult, especially when the primary tumour is located outside the chest cavity. For this reason, it is important to repeat diagnostic procedures in patients with malignancies in the past, including EBUS-TBNA and VATs.



---

**Author's contribution**

Study design – D. Ziora, M. Zarzecka, A. Galetzka-Turkiewicz

Manuscript preparation – A. Galetzka-Turkiewicz, D. Galle, A. Goryczka

Literature research – D. Ziora, A. Galetzka-Turkiewicz, D. Galle, A. Goryczka

Final approval of the version to be published – M. Zarzecka, D. Jastrzębski, D. Ziora

---

**REFERENCES**

1. Ryu J.H., Swensen S.J. Cystic and cavitary lung diseases: focal and diffuse. *Mayo Clin. Proc.* 2003; 78(6): 744–752, doi: 10.4065/78.6.744.
2. Hong K.S., Jang J.G., Ahn J.H. Radial probe endobronchial ultrasound-guided transbronchial lung biopsy for the diagnosis of cavitary peripheral pulmonary lesions. *Thorac. Cancer* 2021; 12(11): 1735–1742, doi: 10.1111/1759-7714.13980.
3. Murakami A., Hayashi T., Terao Y., Mori T., Kumasaka T., Seyama K. et al. Cystic, nodular and cavitary metastases to the lungs in a patient with endometrial stromal sarcoma of the uterus. *Intern. Med.* 2014; 53(9): 1001–1005, doi: 10.2169/internalmedicine.53.1946.
4. Marchiori E., Hochegger B., Zanetti G. Multiple cavitated nodules. *J. Bras. Pneumol.* 2017; 43(2): 85, doi: 10.1590/S1806-37562016000000295.
5. Song J., Yu J., Ma Z., Lu S. Rare occurrence of cavitation of lung metastases following effective targeted therapy: A case report. *Oncol. Lett.* 2016; 11(2): 1589–1591, doi: 10.3892/ol.2016.4093.
6. Chaudhuri M.R. Cavitary pulmonary metastases. *Thorax* 1970; 25(3): 375–381, doi: 10.1136/thx.25.3.375.
7. Sewchuran T. Solid to cystic: A case report of imaging findings of atypical lung metastases. *SA J. Radiol.* 2019; 23(1), doi: 10.4102/sajr.v23i1.1663.
8. Lowen W. Cavitating pulmonary metastases. *Australas. Radiol.* 1967; 11(3): 242–245, doi: 10.1111/j.1440-1673.1967.tb01530.x.
9. Parkar A.P., Kandiah P. Differential diagnosis of cavitary lung lesions. *J. Belg. Soc. Radiol.* 2016; 100(1): 100, doi: 10.5334/jbr-btr.1202.
10. Gunasekaran K., Baskaran B., Rahi M.S., Parekh J., Rudolph D. Cavitating pulmonary metastases from a renal cell carcinoma. *Clin. Pract.* 2020; 10(1): 1234, doi: 10.4081/cp.2020.1234.
11. Morikawa K., Misumi S., Fukuda T. A case of pulmonary tuberculosis with multiple nodules mimicking lung metastases. *BJR Case Rep.* 2019; 5(3): 20180124, doi: 10.1259/bjrcr.20180124.
12. Yoo S.H., Kim S.R., Choi J.Y., Choi J.W., Ko Y.M., Jang S.H. et al. Multiple cavitary pulmonary nodules caused by *Mycobacterium intracellulare*. *Korean J. Fam. Med.* 2016; 37(4): 248–252, doi: 10.4082/kjfm.2016.37.4.248.
13. Hours S., Nunes H., Kambouchner M., Uzunhan Y., Brauner M.W., Valeyre D. et al. Pulmonary cavitary sarcoidosis: clinico-radiologic characteristics and natural history of a rare form of sarcoidosis. *Medicine (Baltimore)* 2008; 87(3): 142–151, doi: 10.1097/MD.0b013e3181775a73.
14. Handa A., Dhooria S., Sehgal I.S., Agarwal R. Primary cavitary sarcoidosis: A case report, systematic review, and proposal of new diagnostic criteria. *Lung India* 2018; 35(1): 41–46, doi: 10.4103/lungindia.lungindia\_225\_17.
15. Rockoff S.D., Rohatgi P.K. Unusual manifestations of thoracic sarcoidosis. *AJR Am. J. Roentgenol.* 1985; 144(3): 513–528, doi: 10.2214/ajr.144.3.513.
16. Koo H.J., Kim M.Y., Shin S.Y., Shin S., Kim S.S., Lee S.W. et al. Evaluation of mediastinal lymph nodes in sarcoidosis, sarcoid reaction, and malignant lymph nodes using CT and FDG-PET/CT. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(27): e1095, doi: 10.1097/MD.0000000000001095.
17. Brincker H. Sarcoid reactions in malignant tumours. *Cancer Treat. Rev.* 1986; 13(3): 147–156, doi: 10.1016/0305-7372(86)90002-2.
18. Hammen I., Sherson D.L., Davidsen J.R. Systemic sarcoidosis mimicking malignant metastatic disease. *Eur. Clin. Respir. J.* 2015; 2(1): 26761, doi: 10.3402/ecrj.v2.26761.
19. Brincker H., Pedersen N.T. Immunohistologic separation of B-cell-positive granulomas from B-cell-negative granulomas in paraffin-embedded tissues with special reference to tumor-related sarcoid reactions. *APMIS* 1991; 99(3): 282–290, doi: 10.1111/j.1699-0463.1991.tb05151.x.
20. Haddadi S., Adkinson B.C., Holt G.E., Mirsaeidi M. Sarcoidosis or cancer? That is the question. *Respir. Med. Case Rep.* 2021; 33: 101426, doi: 10.1016/j.rmcr.2021.101426.
21. Fritscher-Ravens A., Ghanbari A., Topalidis T., Pelling M., Kon O.M., Patel K. et al. Granulomatous mediastinal adenopathy: can endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration differentiate between tuberculosis and sarcoidosis? *Endoscopy* 2011; 43(11): 955–961, doi: 10.1055/s-0031-1271110.
22. Tyan C.C., Machuca T., Czarnicka K., Ko H.M., da Cunha Santos G., Boerner S.L. et al. Performance of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for the diagnosis of isolated mediastinal and hilar lymphadenopathy. *Respiration* 2017; 94(5): 457–464, doi: 10.1159/000479745.
23. Vayısoğlu Şahin G., Karadeniz G., Polat G., Demirci Üçsular F., Aydoğdu Z., Yalnız E. A case of endometrium adenocarcinoma with multiple cavitary pulmonary metastasis. [Article in Turkish]. *Tuberk. Toraks* 2018; 66(4): 349–352, doi: 10.5578/tt.67686.
24. Berger M., Thompson J.R. Cavitary carcinomatosis of the lungs: Report of a case. *Dis. Chest* 1967; 52(1): 106–111, doi: 10.1378/chest.52.1.106.
25. D'Orsi C.J., Bruckman J., Mauch P., Smith E.H. Lung metastases in cervical and endometrial carcinoma. *AJR Am. J. Roentgenol.* 1979; 133(4): 719–722, doi: 10.2214/ajr.133.4.719.
26. Seo J.B., Im J.G., Goo J.M., Chung M.J., Kim M.Y. Atypical pulmonary metastases: spectrum of radiologic findings. *Radiographics* 2001; 21(2): 403–417, doi: 10.1148/radiographics.21.2.g01mr17403.
27. Rai M.P., Randhawa M.S., Nemakayala D.R., Marinas E.B. Endometrial adenocarcinoma with pulmonary recurrence. *BMJ Case Rep.* 2018; 2018: bcr2017223015, doi: 10.1136/bcr-2017-223015.
28. Kennedy M.P., Jimenez C.A., Mhatre A.D., Morice R.C., Eapen G.A. Clinical implications of granulomatous inflammation detected by endobronchial ultrasound transbronchial needle aspiration in patients with suspected cancer recurrence in the mediastinum. *J. Cardiothorac. Surg.* 2008; 3: 8, doi: 10.1186/1749-8090-3-8.
29. Lashari B.H., Asai M., Randleman G., Sack M., Patel R. Sarcoid-like mediastinal lymphadenopathy in gynecologic malignancy. *Pulm. Med.* 2018; 2018: 5141575, doi: 10.1155/2018/5141575.



## Przegląd metod fizjoterapii oddechowej u pacjentów z mukowiscydozą

### Review of respiratory physiotherapy methods in patients with cystic fibrosis

Oktawia Kuna<sup>1</sup> , Katarzyna Stachura<sup>2</sup> , Paweł Niemiec<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Zakład Biochemii i Genetyki Medycznej, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / Department of Biochemistry and Medical Genetics, Faculty of Health Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Szkoła Doktorska, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / Doctoral School, Faculty of Health Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### STRESZCZENIE

Fizjoterapia oddechowa jest nieodłącznym elementem terapii pacjentów z mukowiscydozą. Pacjenci powinni regularnie, przez całe życie stosować rehabilitację, a także możliwie jak najszybciej samodzielnie prowadzić rehabilitację oddechową. Znajomość metod oraz zasad rehabilitacji oddechowej pozwoli fizjoterapeutom na właściwy dobór technik fizjoterapii oddechowej. Celem pracy było porównanie metod rehabilitacji oddechowej stosowanych u pacjentów z mukowiscydozą od urodzenia do okresu dojrzałości.

Aby zrealizować cel, dwóch autorów przeszukało bazy PubMed, Cochrane Library i Google Scholar w okresie czerwiec 2021–grudzień 2021. Do przeglądu włączono 58 artykułów.

Niewiele jest badań potwierdzających większą skuteczność jednej metody nad drugą, a różnorodność metod badawczych zastosowanych w pracach źródłowych uniemożliwia jednoznaczne wnioskowanie. Dobór technik powinien być uzależniony od potrzeb pacjentów z mukowiscydozą. W tym celu fizjoterapeuci powinni poszerzać wiedzę na temat metod rehabilitacji oddechowej, potwierdzoną zarówno praktycznymi umiejętnościami, jak i dowodami naukowymi.

#### SŁOWA KLUCZOWE

edukacja, mukowiscydoza, terapia oczyszczania dróg oddechowych

#### ABSTRACT

Respiratory physiotherapy is an integral part of the therapy of patients with cystic fibrosis. Patients should be rehabilitated regularly and systematically throughout their lives, and should become independent in pulmonary rehabilitation as soon as possible. Knowledge of the methods and principles of pulmonary rehabilitation by physiotherapists will allow the proper selection of respiratory physiotherapy techniques. The aim of the study was to compare pulmonary rehabilitation methods used in cystic fibrosis patients from birth to adolescence.

Received: 23.02.2022

Revised: 20.06.2022

Accepted: 22.07.2022

Published online: 26.01.2023

Adres do korespondencji: mgr Oktawia Kuna, Zakład Biochemii i Genetyki Medycznej, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice, tel. +48 32 208 88 64, e-mail: d200518@365.sum.edu.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



To achieve the goal, two authors searched the following databases: PubMed, the Cochrane Library and Google Scholar from June 2021 to December 2021. 58 articles were included in the review.

There are few studies confirming the effectiveness of one method over the other, and the discrepancies in the methodology of source works prevent unequivocal conclusions. The selection of techniques should be appropriate to the needs of patients with cystic fibrosis. For this purpose, physiotherapists should broaden their knowledge of the methods of pulmonary rehabilitation confirmed by both practical skills and scientific evidence.

#### KEY WORDS

education, cystic fibrosis, airway clearance therapy

### WSTĘP

Mukowiscydoza jest chorobą wielonarządową, spowodowaną mutacjami w genie *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), który koduje białko o tej samej nazwie [1]. Charakteryzuje ją m.in. dehydratacja, zagęszczenie płynu okołorzęskowego oraz zaburzony klirens śluzowo-rzęskowy. Zmiany te powodują wytworzenie mikrośrodowiska prozapalnego [2,3]. Główną przyczyną śmierci osób z mukowiscydozą jest niewydolność oddechowa.

Czynnikami pozytywnie wpływającymi na długość życia pacjentów z mukowiscydozą są: intensywne leczenie, odpowiednia dieta i wsparcie żywieniowe, fizjoterapia oraz farmakoterapia [4]. Średnia długość życia pacjentów z mukowiscydozą w krajach rozwiniętych wynosi obecnie 40 lat [2], co przekłada się na ich większy udział w życiu społecznym (uczęszczają do szkoły, rozpoczynają aktywność zawodową). Odpowiednia dieta oraz dobry stan ogólny młodych pacjentów sprawiają, że spełniają oni normy prawidłowego rozwoju psychoruchowego [4]. Celem opieki pediatrycznej nad pacjentami z mukowiscydozą jest przekazanie ich w jak najlepszym stanie pod opiekę ambulatoryjną dla dorosłych [5]. W celu poprawy wyników konieczne jest więc indywidualne dostosowanie technik fizjoterapeutycznych do potrzeb pacjenta [5]. Rehabilitacja oddechowa z wykorzystaniem wysokiej jakości technik potwierdzonych badaniami klinicznymi stanowi wyzwanie terapeutyczne [2]. Fizjoterapia oddechowa, obecnie szeroko pojmowana, obejmuje terapie inhalacyjne, terapie oczyszczania dróg oddechowych (drenażowe) oraz ćwiczenia [6]. Techniki oddechowe mają zahamować progresję choroby poprzez poprawę klirensu śluzowo-rzęskowego i usunięcie płwociny z dróg oddechowych.

Celem pracy było przybliżenie technik fizjoterapeutycznych stosowanych u pacjentów z mukowiscydozą od okresu dziecięcego do dorosłości, z przeglądem literatury dotyczącej ich skuteczności w porównaniu z pozostałymi technikami oraz opisem kilku istotnych różnic między urządzeniami stosowanymi do oczyszczania dróg oddechowych.

Dwóch autorów przeszukało bazy PubMed, Cochrane Library i Google Scholar. Wyszukiwanie przeprowadzono w okresie od czerwca 2021 r. do grudnia 2021 r. z użyciem słów kluczowych: mukowiscydoza, rehabilitacja, aktywność fizyczna, nebulizacja. Po analizie streszczeń

i tytułów, a następnie usunięciu powtarzających się publikacji do przeglądu włączono 58 artykułów. W przypadku niejednoznaczności autorzy odnieśli się do pełnego tekstu publikacji. Artykuły włączone do niniejszej pracy to prace oryginalne, przeglądowe oraz standardy postępowania. Pod uwagę brano badania czynnościowe płuc, ilość wydzieliny, saturację, tolerancję wysiłku, jakość życia, liczbę zaostrzeń, częstość antybiotykoterapii, preferencje pacjentów, występowanie duszności oraz skutki uboczne.

### OMÓWIENIE

#### Techniki oddechowe (*airway clearance techniques – ACTs*)

Techniki oczyszczania oskrzeli powinny być stosowane jak najwcześniej po zdiagnozowaniu mukowiscydozy [7]. Tomografia komputerowa (TK) potwierdza, że u jednej trzeciej pacjentów proces chorobowy rozpoczyna się już w trakcie kilku pierwszych miesięcy od narodzin [2,8].

Fizjoterapia oddechowa, prowadzona codziennie, przez całe życie pacjenta, wymaga doskonalenia wiedzy i umiejętności, początkowo przez opiekunów dziecka, a w późniejszym czasie przez samego chorego.

Obecnie dostępnych jest wiele technik oczyszczania dróg oddechowych, a należą do nich:

- tradycyjne techniki drenażowe, wymagające pomocy osób trzecich (drenaż ułożeniowy, drenaż zmodyfikowany, oklepywanie i wstrząsanie klatki piersiowej);
- techniki konwencjonalne bez udziału osób trzecich (technika natężonego wydechu);
- techniki do samodzielnego stosowania, np. aktywny cykl oddechowy, drenaż autogeniczny;
- metody wykorzystujące sprzęt do drenażu drzewa oskrzelowego, wytwarzające dodatnie ciśnienie wydechowe (*positive expiratory pressure – PEP*), np. Pari PEP S System, Pari PEP System I, PEP Mask, wytwarzające dodatnie ciśnienie wydechowe z oscylacją (*oscillating positive expiratory pressure – OPEP*), np. Acapella, Aerobika, RC Cornet, Flutter, Pari O-PEP, Quake, Shaker, oraz wykorzystujące oscylacje klatki piersiowej, np. Simeox [9];
- aktywność fizyczna.

Ponieważ techniki oczyszczania oskrzeli są uciążliwe, czaso- i energochłonne, wymagają też zaangażowania



pacjentów, muszą być dobrane indywidualnie do potrzeb chorego, z uwzględnieniem jego wieku, ewentualnych działań niepożądanych oraz zmian już obecnych w układzie oddechowym [5,10]. Należy również rozważyć, czy skuteczność technik polecanych częściej od pozostałych jest poparta dowodami naukowymi.

Nie istnieją badania dotyczące efektów długoterminowego stosowania technik oczyszczających drogi oddechowe u chorych w porównaniu z grupą kontrolną, u której nie stosowano fizjoterapii oddechowej [11]. Takie badanie byłoby nieetyczne, ponieważ współcześnie fizjoterapia jest uważana za stałą i podstawowy element terapii u pacjentów z mukowiscydozą. Jedynie ze względu na brak bezpośrednich dowodów naukowych świadczących o długotrwałym wpływie technik fizjoterapeutycznych na usuwanie wydzieliny z dróg oddechowych oraz argumenty dotyczące dyskomfortu i czasochłonności niektórych technik, w uzasadnionych przypadkach badacze wykorzystują grupy odniesienia, w których czasowo nie stosuje się fizjoterapii oddechowej [8,12]. Wyniki krótkoterminowych badań dowodzą, że stosowanie technik oczyszczania oskrzeli wpływa na wykrztuszenie większej ilości wydzieliny [11].

#### **Tradycyjne techniki fizjoterapii oddechowej (conventional chest physiotherapy – CCPT)**

Do tradycyjnych technik fizjoterapii oddechowej należą: drenaż ułożeniowy, drenaż zmodyfikowany, oklepywanie, wstrząsanie klatki piersiowej, technika natężonego wydechu (*huffing*) oraz kaszel kierowany [5,11,12,13].

##### *Drenaż ułożeniowy z oklepywaniem (postural drainage and percussion – PD&P)*

Drenaż ułożeniowy to technika wykorzystująca ułożenie ciała w odniesieniu do siły grawitacji w celu przesunięcia wydzieliny do centralnych oskrzeli. Dodatkowo zastosowanie technik manualnych, takich jak wstrząsanie, wibracja oraz oklepywanie, ma na celu przesunięcie wydzieliny wraz z wydechem [14]. W grupie niemowląt, małych dzieci, a także dzieci niewspółpracujących stosowany jest drenaż ułożeniowy i zmodyfikowany z oklepywaniem, wstrząsaniem, uciskaniem lub wspomaganiami wydechów. Drenaż ułożeniowy jest niewskazany u dzieci z refluksem żołądkowo-przełykowym bez zmian oskrzelowo-płucnych [10], ponieważ technika ta może nasilać epizody refluksu i desaturacji [15,16].

##### *Drenaż zmodyfikowany (modified postural drainage – MPD)*

Drenaż zmodyfikowany wykorzystuje poziome ułożenie pacjenta w odniesieniu do podłoża lub poziome ułożenie z głową uniesioną wyżej. Najczęściej stosowany

jest w terapii małych dzieci i/lub pacjentów niewspółpracujących [17].

##### *Kaszel kierowany (specific cough technique – SCT)*

Kaszel kierowany ma przypominać efektywny, spontaniczny kaszel lub jego serię. Celem terapii jest zwiększenie kontroli nad odruchem kaszlu oraz zmniejszenie związanego z nim wysiłku fizycznego.

##### Konwencjonalne techniki oddechowe a inne metody

Przegląd badań naukowych, porównujący konwencjonalne techniki oddechowe z innymi technikami oczyszczania dróg oddechowych na podstawie wyników badań czynnościowych płuc, nie potwierdził ani też nie wykluczył różnic pomiędzy metodami. Różnice dotyczące przebiegu badań uniemożliwiły ich porównanie. Wynikały one z użycia więcej niż jednej metody. Ponadto badania podawały sprzeczne wyniki, np. jedno z nich wykazało istotną statystycznie poprawę wyników nasilonej pierwszosekundowej objętości wydechowej (*forced expiratory volume in one second – FEV<sub>1</sub>*) w grupie pacjentów poddanych CCPT w porównaniu z pacjentami leczonymi dodatnim ciśnieniem wydechowym (PEP) [18]. Dane z przeglądu nie są zbieżne z danymi w oryginalnym artykule, który nie wskazuje statystycznej istotności wyników [17]. Drugie z badań wskazywało natomiast istotne statystycznie różnice w wynikach FEV<sub>1</sub> oraz natężonej pojemności życiowej (*forced vital capacity – FVC*) pomiędzy metodą PEP i CCPT, ze wskazaniem przewag terapeutycznych u pacjentów poddanych terapii PEP [19].

Z badań wynika, że pacjenci wolą raczej aktywne formy ACTs, takie jak PEP, uciskanie klatki piersiowej o wysokiej częstotliwości (*high frequency chest compression – HFCC*) i drenaż autogeniczny, niż konwencjonalne metody oczyszczania oskrzeli [18].

##### **Samodzielne techniki fizjoterapii oddechowej**

Dzięki wydłużeniu życia pacjentów z mukowiscydozą podczas terapii można wykorzystać metody, które pozwalają na prowadzenie samodzielnej terapii. W terapii oddechowej wraz z rozwojem dzieci techniki pasywne zaczynają być zastępowane aktywnymi, z wykorzystaniem zabaw uatrakcyjniających terapię [14].

##### *Aktywny cykl oddechowy (active cycle of breathing techniques – ACBTs)*

Cykl oddechowy służy do mobilizacji i usuwania wydzieliny oskrzelowej. Składa się z oddechu kontrolowanego, ekspansywnych ćwiczeń torakalnych i techniki natężonego wydechu. Metoda jest elastyczna, można ją dostosowywać do potrzeb pacjentów, nie wymaga też pomocy drugiej osoby. Pozycje nie są ograniczone, rehabilitację można wykonywać w siadzie czy też w pozycjach drenażowych [13].



Aktywny cykl oddechowy a inne metody terapeutyczne

W pracach źródłowych poddanych metaanalizie przez Mckoy i wsp. [20] brak wystarczających danych naukowych, które uzasadniałyby większą skuteczność aktywnego cyklu oddechowego w porównaniu z innymi technikami oczyszczania dróg oddechowych. Nie zaobserwowano istotnej różnicy w jakości życia pacjentów, masie płwociny, saturacji, czynności płuc, tolerancji wysiłku czy liczbie zaostrzeń płucnych. W jednym z badań otrzymano niewielkie ograniczenie duszności przy zastosowaniu ACBTs w porównaniu z terapią z wykorzystaniem urządzenia Flutter, gdzie poprawę określono jako umiarkowaną. Warto zauważyć, że większość badań włączonych do przeglądu zawierała badania i obserwacje krótkoterminowe [20].

#### *Drenaż autogeniczny (autogenic drainage – AD)*

Podstawy drenażu autogenicznego oparte są na dynamice płynów, dobrej znajomości anatomii i fizjologii układu oddechowego oraz mechanice oddechowej. Celem techniki jest mobilizacja wydzieliny z mniejszych dróg oddechowych do większych za pomocą kontrolowanego wydechowego przepływu powietrza. Pod jego wpływem w drogach oddechowych powstają siły ścinające. Do uzyskania takiego efektu konieczne jest manipulowanie wdechowym i wydechowym przepływem powietrza. Aby jednorodnie wypełnić płuca oraz doprowadzić wydzielinę, prędkość liniowa przepływu powietrza nie może być zbyt wysoka, natomiast podczas wydechu siły ścinające powinny być zlokalizowane w tym samym miejscu co wydzielina. Do lokalizacji wydzieliny wykorzystuje się trzy objawy: osłuchowe, dotykowe i proprioceptywne. Proces oczyszczania dróg oddechowych odbywa się aktywnie lub biernie. W drugim wypadku metoda nosi nazwę drenażu autogenicznego wspomaganego (*assisted autogenic drainage – AAD*). Technika wymaga zmniejszenia oporu dróg oddechowych, a także obniżenia lepkości wydzieliny za pomocą leków lub urządzeń. Drenaż autogeniczny zmniejsza wysiłek wydechowy oraz paradoksalne ruchy oddechowe. Czas trwania drenażu autogenicznego i liczba powtórzeń cykli jest uzależniona od ilości wydzieliny oraz jej lepkości. Drenaż należy wykonywać dokładnie; pacjenci z większym doświadczeniem wykonują drenaż szybciej. Technika ta, dzięki modulacji wzorca oddychania, wpływa na prawidłową ruchomość klatki piersiowej, przyczynia się również do zachowania prawidłowej długości mięśni oddechowych [1,2,7,13].

Drenaż autogeniczny a inne metody terapeutyczne

W badaniu Pryor i wsp. [21] 75 pacjentów przydzielono losowo do pięciu grup terapeutycznych (terapia AD, PEP, ACBT oraz terapia przeprowadzana za pomocą urządzeń Flutter i Cornet). Dwunastomiesięczne

badanie nie wykazało statystycznie istotnych różnic między grupami stosującymi PEP i AD, w pomiarach FEV<sub>1</sub> ( $p = 0,35$ ), Mediana (MD) -0,7 l (95% CI od -1,49 l do 0,09 l). Nie odnotowano także istotnych statystycznie różnic w FEV<sub>1</sub> między grupami poddawany terapii AD i Cornet: MD -0,01 l (95% CI od -1,44 l do 1,42 l) oraz AD i Flutter: MD -0,01 l (95% CI od -1,51 l do 1,49 l).

W kolejnych badaniach Miller i wsp. [22] porównywali działanie AD i ACBT, badając m.in. takie wskaźniki i parametry jak: pojemność życiowa płuc (*vital capacity – VC*), FVC, FEV<sub>1</sub>, szczytowy przepływ wydechowy (*peak expiratory flow – PEF*), *forced expiratory flow*<sub>25,75</sub> (FEF<sub>25,75</sub>), a także poziom nasycenia tlenem (S<sub>p</sub>O<sub>2</sub>). W tym 2-dniowym badaniu wzięło udział 18 pacjentów z mukowiscydozą. Wyniki badań wskazują, że obie metody poprawiają wentylację. Nie stwierdzono ogólnych różnic w wynikach testów czynnościowych płuc, jednak większa liczba pacjentów wykazywała poprawę FEF<sub>25,75</sub> przy zastosowaniu AD, podczas gdy u większej liczby pacjentów uzyskano poprawę FVC przy stosowaniu ACBT. Nie stwierdzono istotnych różnic w masie płwociny, częstości akcji serca ani w średniej wartości S<sub>p</sub>O<sub>2</sub>. Na podstawie badania stwierdzono, że terapia AD u pacjentów z mukowiscydozą jest tak samo skuteczną formą terapii jak ACBT, z tego też powodu jest skuteczną metodą fizjoterapii domowej.

W badaniu Davidsona i wsp. [23] porównano skuteczność CCPT z AD, badając parametry FEV<sub>1</sub> i FVC, jednak nie odnotowano istotnych statystycznie różnic pod względem FEV<sub>1</sub>, MD 1,81 (95% CI od -2,52 l do 6,14 l); FVC, MD 0,39 (95% CI od -3,62 l do 4,40 l). Także praca McIlwaine i wsp. [24] dostarczyła informacji o braku istotnych różnic między tymi metodami pod kątem parametrów FEF<sub>25,75</sub>, MD -0,42 (95% CI od -5,38 do 4,54). Na podstawie przedstawionych badań można wysunąć wniosek, iż skuteczność drenażu autogenicznego jest porównywalna z innymi terapiami. Uczestnicy badań ocenili, że ze względu na większą swobodę i niezależność jest to lepsza technika od drenażu ułożeniowego z oklepywaniem [25].

#### **Techniki wykorzystujące sprzęt do drenażu**

Osoby z mukowiscydozą, aby usprawnić usuwanie wydzieliny z dróg oddechowych, wykonują techniki oczyszczania dróg oddechowych co najmniej raz dziennie. Do tego celu służą również techniki wykorzystujące sprzęt. Pozwalają one na samodzielność u dorosłych pacjentów. Mogą z nich także korzystać dzieci spełniające odpowiednie kryterium wieku i/lub osiągnięte dojrzałość pozwalającą na współpracę z rodzicem i terapeutą.

Do technik wykorzystujących sprzęt zalicza się technikę podwyższonego ciśnienia wydechowego oraz techniki wytwarzające oscylację. Oscylacja wewnątrz dróg oddechowych może być generowana zarówno





przez urządzenie doustne, jak i przez zewnętrzną oscylację ścian klatki piersiowej za pomocą kamizelki. Doustne urządzenia wytwarzające oscylację generują również podwyższone ciśnienie wydechowe; wyjątek stanowi urządzenie Simeox, wytwarzające serię bardzo krótkich podciśnień za pomocą bodźca wibracyjnego i pneumatycznego, wpływając na drzewo oskrzelowe [26].

#### *Technika podwyższonego ciśnienia wydechowego (PEP)*

Technika została opracowana w Danii pod koniec lat 80. Przy jej stosowaniu wykorzystuje się urządzenie złożone z ustnika lub maski, rurki z zaworem zwrotnym oraz systemu zastawek stawiających opór wydechanemu powietrzu. Do pomiaru osiągniętego ciśnienia wydechowego stosuje się manometr; jest on początkowo używany do ustalenia optymalnego oporu. Zastawki dobierane są indywidualnie do każdego pacjenta, tak aby otrzymać ciśnienie 10–20 cm H<sub>2</sub>O. Cykl obejmuje oddychanie przeciwko oporowi wydechowemu, co ma tymczasowo zwiększyć czynnościową pojemność zalegającą płuc (*functional residual capacity* – FRC) i objętość oddechową płuc (*tidal volume* – TV), oraz techniki mobilizacji i usuwania wydzieliny – technikę natężonego wydechu, w trakcie których nie wykorzystuje się urządzeń. Ważne jest właściwe poinstruowanie pacjentów: wdech powinien być spokojny, a wydech nieznacznie aktywny. Należy zwrócić uwagę, że przy stosowaniu ustnika podczas wydechów istnieje ryzyko przecieku powietrza przez nos. Pacjenci muszą nauczyć się kompensować to zjawisko [13]. Technika PEP jest stosowana u niemowląt i małych dzieci mimo braku dowodów naukowych potwierdzających jej skuteczność w tej grupie.

Wśród zgłaszanych działań niepożądanych u niemowląt występował refluks żołądkowo-przełykowy, częściej niż w grupie dzieci objętych konwencjonalną formą rehabilitacji oddechowej [27]. Stosowanie dodatniego ciśnienia wydechowego jest również możliwe podczas inhalacji. Zaobserwowano istotną statystycznie poprawę MEF<sub>25</sub> (*maximal expiratory flow*) w krótkofalowym badaniu [13]. Przeciwwskazaniami do stosowania tej metody są: odma opłucnowa, masywne krwiopłucie, tkliwość powłok brzusznych u małych dzieci, zapalenie zatok, krwawienie z nosa oraz infekcja ucha [13].

#### *Techniki oczyszczania dróg oddechowych a terapia PEP*

Wyniki metaanalizy dotyczące wpływu terapii PEP i porównania jej ze skutkami innych technik oczyszczania dróg oddechowych wskazują na znaczną redukcję zaostrzeń płucnych u osób stosujących PEP w porównaniu z pacjentami stosującymi oscylację ściany klatki piersiowej o wysokiej częstotliwości (*high-frequency chest wall oscillation* – HFCWO); w grupie stosującej HFCWO wystąpiło również znacznie więcej zdarzeń niepożądanych, tj. nasilony kaszel, infekcja

klatki piersiowej, krwiopłucie, obniżona czynność płuc i ból w klatce piersiowej, niż w grupie stosującej PEP [28].

Badanie McIlwaine i wsp. [29], porównujące terapię z wykorzystaniem PEP i HFCWO, nie wykazało istotnych statystycznie różnic w czynności płuc oraz jakości życia pacjentów. Istotne statystycznie wyniki obejmowały różnice w liczbie zaostrzeń, które były mniej liczne w grupie pacjentów korzystających z techniki dodatniego ciśnienia wydechowego. Badania donoszą, że techniki PEP istotnie lepiej wpływają na poprawę parametrów FEV<sub>1</sub> oraz FVC w porównaniu z konwencjonalnym drenażem ułożeniowym i oklepywaniem [19]. Grupa pacjentów stosująca terapię PEP miała statystycznie lepsze wyniki. W innym badaniu autorzy porównywali urządzenie Flutter i terapię PEP w obserwacji rocznej. Wykazano większy spadek wartości FVC i większą liczbę hospitalizacji u pacjentów leczonych techniką dodatniego ciśnienia wydechowego z użyciem fluttera [30].

#### *Techniki dodatniego ciśnienia wydechowego z oscylacją*

##### *Flutter*

Jest to plastikowe urządzenie w kształcie stożka, wewnątrz którego znajduje się metalowa kulka zamknięta za pomocą perforowanej pokrywy. Kulka tworzy opór oraz generuje powtarzające się zmiany przepływu powietrza wydechowego, tworząc wewnętrzne drgania w drzewie tchawiczno-oskrzelowym. Dodatnie ciśnienie wydechowe zapobiega zamknięciu oskrzeli oraz ułatwia mobilizację wydzieliny, którą można ewakuować za pomocą natężonego wydechu lub kaszlu. Urządzenie generuje dodatnie ciśnienie wydechowe w zakresie 18–35 cm H<sub>2</sub>O. Częstotliwość i amplituda oscylacji, a także dodatnie ciśnienie wytworzone w urządzeniu, zależą od kąta ustawienia urządzenia podczas wydechu, zatem są zależne od grawitacji. Częstotliwość i czas trwania każdej sesji należy dostosować do potrzeb pacjenta. Pacjent poinstruowany przez fizjoterapeutę może samodzielnie wykonywać rehabilitację.

##### *Cornet*

To plastikowa tuba, wewnątrz której znajduje się gumowa taśma przymocowana do ustnika. Wydech powoduje uginanie się taśmy, która chwilowo utrudnia przepływ powietrza, tworząc oscylacje oraz dodatnie ciśnienie wydechowe. Ustawienia można regulować tak, aby były optymalne dla pacjenta. Przy obracaniu tuby następuje zmiana oporu, który dostosowuje oscylację i średnie ciśnienie [31,32].

##### *Shaker*

Urządzenie ma budowę podobną do fluttera – metalowa rurka znajduje się w okrągłym stożku, natomiast osoba obsługująca urządzenie ma możliwość ustawie-



nia ustnika. Kąt, pod jakim trzymane jest urządzenie, wpływa na amplitudę i częstotliwość drgań [13].

#### Acapella

W urządzeniu Acapella do wytworzenia oscylacji przepływającego powietrza wykorzystuje się magnes oraz przeciwwagę. Działanie urządzenia jest niezależne od siły grawitacji. Za pomocą pierścienia, umieszczonego od spodu obudowy, możliwa jest 5-stopniowa regulacja oporu i częstotliwości [13,32,33]. Dostępne są następujące rodzaje urządzeń: Acapella DH, Acapella DM, Acapella Choice, Acapella Duet. W Polsce dostępne są wersje Choice oraz Duet. Obydwa modele są łatwe do rozłożenia w celu umycia i dezynfekcji oraz do ponownego złożenia.

#### Aerobika

Urządzenie wytwarza dodatnie ciśnienie wydechowe oraz oscylacje za pomocą ruchomej klapki, uruchamianej przez powolny, równomierny wydech [13]. Aerobika posiada 5 ustawień, utrzymuje stałą amplitudę ciśnienia w różnych ustawieniach i – w porównaniu z innymi badanymi urządzeniami (Acapella, RC Cornet, Flutter) – wytwarza najwyższą średnią amplitudę ciśnienia przy średnich i wysokich konfiguracjach [33].

Zarówno Aerobika, jak i Acapella DH praktycznie nie mają amplitudy przepływu na niskim poziomie ustawienia urządzenia. W przypadku tych urządzeń większy przepływ wydechowy powoduje większą amplitudę oscylacji powietrza [25]. Średnie dodatnie ciśnienie wydechowe dla urządzeń Aerobika i Acapella DH wynosi około 20 cm H<sub>2</sub>O. Acapella charakteryzuje się wyższą średnią częstotliwością oscylacji, ale niższą średnią amplitudą oscylacji [34].

#### Porównanie urządzeń wytwarzających oscylacje

Urządzenia wytwarzające oscylacje w drogach oddechowych różnią się od siebie. Część z nich jest zależna, a część niezależna od przepływu powietrza, czego dowiedziano na podstawie przeprowadzonych badań. Porównanie pracy urządzeń wytwarzających dodatnie ciśnienie wydechowe, takich jak: Flutter, PEP S System, Aerobika i Acapella Choice [35], wykazało, że Flutter wytwarzał wyższe częstotliwości drgań we wszystkich ustawieniach oporu, chociaż częstość oscylacji zmniejszała się wraz ze wzrostem przepływów, a wraz ze wzrostem oporu zmniejszeniu ulegała amplituda dodatniego ciśnienia wydechowego. Podczas stosowania urządzenia Aerobika otrzymano najwyższy całkowity szczyt dodatniego ciśnienia wydechowego przy średnim i wysokim oporze, a stosowanie PEP S System wiązało się z najniższym całkowitym szczytem dodatniego ciśnienia wydechowego przy niskim i średnim oporze. W przypadku urządzenia Acapella Choice zwiększenie przepływu powietrza nie powoduje

zwiększenia szczytowego dodatniego ciśnienia wydechowego ani amplitudy dodatniego ciśnienia wydechowego. Również przy stałym przepływie wzrastający opór nie zwiększa średniego dodatniego ciśnienia wydechowego jak w pozostałych urządzeniach [35].

Kolejne ciekawe badanie porównuje pracę urządzeń niezależnych od grawitacji (Flutter, Gelomuc, Pari O-PEP, Shaker Medic Plus) z urządzeniami niezależnymi od ustawienia (Acapella Choice i Aerobika) [36]. W porównywanych urządzeniach zanotowano istotne różnice dotyczące wzrostu oporu, spowodowane zmniejszeniem oscylacji wszystkich sprzętów. W przypadku urządzenia Aerobika oscylacja rosła i pozostawała na stałym poziomie dla najwyższego oporu. Przy niskich ustawieniach oporu urządzenie Shaker dało mniejszą liczbę pomyślnych testów niż inne urządzenia grawitacyjne. Wszystkie urządzenia grawitacyjne miały doskonałą charakterystykę działania przy średnich i wysokich ustawieniach oporu w porównaniu z urządzeniami niezależnymi od ustawienia [36].

W badaniu Pryor i wsp. [21] – dotyczącym skuteczności terapii ACBT, AD, z zastosowaniem urządzeń Cornet, Flutter oraz terapii PEP w zakresie parametrów FEV<sub>1</sub>, wydolności wysiłkowej i jakości życia pacjentów z mukowiscydozą – wykazano, że badane wartości nie różnicowały pacjentów leczonych z użyciem poszczególnych technik rehabilitacji oddechowej.

#### *Oscylacja ściany klatki piersiowej o wysokiej częstotliwości (HFCWO)*

To technika oczyszczania dróg oddechowych, opracowana w USA w latach 80. przez Warrena Warwicka. Polega na użyciu zewnętrznej, nadmuchiwanej kamizelki, która zakrywa klatkę piersiową i tworzy zewnętrzne ciśnienie w zakresie 5–10 cm H<sub>2</sub>O. Kamizelka połączona jest za pomocą węży z kompresorem generującym impulsy powietrzne. Generator przepuszcza powietrze przez węże, co powoduje, że kamizelka szybko się napęcznieje i opróżnia, wywołując drgania klatki piersiowej o częstotliwościach 5–25 Hz. Terapia powinna trwać około 20–30 minut, z przerwami co 5 minut na odksztuszenie śluzu. Badanie McIlwaine i wsp. [27] wykazało, że kamizelka pod ciśnieniem 5–10 cm H<sub>2</sub>O, przylegająca do ściany klatki piersiowej, zmniejsza objętość wydechową o 10–50%. Postawiono hipotezę, że HFCWO co prawda umożliwia mobilizację śluzu, jednak nie wpływa na poprawę mechanizmu wentylacji zablokowanych obszarów płuc. Ograniczeniem tej techniki jest nieustabilizowany uraz głowy oraz szyi.

Oscylacja klatki piersiowej o wysokiej częstotliwości a inne metody terapeutyczne

Systematyczny przegląd badań nad urządzeniami wytwarzającymi oscylację wewnątrz drzewa oddechowe-



go oraz zewnętrznie, przez ściany klatki piersiowej, objął 76 prac, z których 35 spełniło kryterium włączenia. Najczęściej mierzonym parametrem był FEV<sub>1</sub>. W badaniach wykazano poprawę wyników po terapii; przegląd nie wykazał natomiast istotnych różnic między urządzeniami oscylacyjnymi i innymi technikami. Badania, które wskazywały na możliwy wpływ urządzenia na ilość i wagę płwociny, były narażone na błąd wynikający z mieszania się płwociny ze śliną, jak również na ryzyko połknięcia płwociny przez pacjentów, co mogło zaburzać prawidłowy pomiar [37]. Jedno badanie wskazało PEP jako technikę lepszą od HFCWO ze względu na liczbę zaostrzeń oraz antybiotykoterapię [29], inna praca, porównująca wyniki FEV<sub>1</sub> i FVC, wskazała technikę ACB jako lepszą od HFCWO [38]. Także kolejne badanie wskazuje, że pacjenci preferują standardowe techniki fizjoterapii oddechowej, nie zaś HFCWO [39]. W badaniu tym wzięto również pod uwagę masę wilgotną płwociny, spirometrię i saturację tlenem. Znacznie więcej płwociny zostało wykrztuszone podczas pojedynczej sesji ACTs niż przy zastosowaniu HFCWO. Po żadnej terapii nie zaobserwowano jednak statystycznie istotnej zmiany w FEV<sub>1</sub> w porównaniu z wartością wyjściową.

#### *Simeox PhysioAssist*

Jest to nowe urządzenie dla pacjentów z mukowiscydozą, przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (POCHP) oraz rozstrzeniemi oskrzeli. Podczas wydechu generuje serię krótkich podciśnień o regulowanej stałej objętości i częstotliwości 6 lub 12 Hz. Ma to na celu rozrzedzenie i przesunięcie wydzieliny z dystalnych dróg oddechowych do centralnych oskrzeli przez modyfikację lepkości i elastyczności śluzu. Urządzenie jest bezpieczne, a terapia dobrze tolerowana przez pacjenta. W badaniach Walickiej-Serzysko i wsp. [26] w jednej z grup pacjenci, oprócz terapii oczyszczania dróg oddechowych (AD i OPEP), stosowali także Simeox. We wszystkich badanych grupach parametry spirometryczne uległy poprawie, natomiast w grupie stosującej Simeox uzyskano poprawę wyników maksymalnego przepływu wydechowego przy 25% natężonej pojemności życiowej (MEF<sub>25</sub>). Pacjenci byli hospitalizowani z powodu zaostrzenia choroby i wymagali antybiotykoterapii. Według instrukcji podanej przez producenta urządzenie mogą stosować dzieci powyżej 8. roku życia.

#### **Połączenie technik oddechowych z terapią wspomagającą**

W terapii pacjentów z mukowiscydozą powszechne jest łączenie ACTs z inhalacjami. Wyniki badań dotyczące wpływu takiego postępowania na rozszerzenie oskrzeli, duszność, kaszel i produkcję śluzu są jednak sprzeczne [40]. Łączenie terapii PEP z terapią inhalacyjną (hipertoniczną lub izotoniczną roztwór soli) jest bardzo często stosowane przez fizjoterapeutów. Niektórzy łączą

terapię inhalacyjną z pozycjonowaniem i technikami oddechowymi, takimi jak ACB lub AD. Brak jednak badań, które dostarczyłyby wystarczających danych o skutkach łączenia tych terapii, zatem nie można wskazać konkretnych zaleceń co do postępowania terapeutycznego [7]. Poniżej przedstawiono formy farmakoterapii stosowane w połączeniu z technikami oddechowymi.

#### *Inhalacja hipertonicznym roztworem soli fizjologicznej*

Zaleca się wykonanie fizjoterapii oddechowej po inhalacji hipertonicznym roztworem NaCl, poprzedzonej podaniem leków rozszerzających oskrzela. Ze względu na krótkie działanie hipertonicznego roztworu NaCl można też prowadzić ACTs naprzemiennie z inhalacją [10,18]. W przeglądzie systematycznym Elkinsa i Dentice [40] skupiono się na określeniu, czy czas inhalacji hipertonicznym roztworem soli fizjologicznej (min. 3%) ma wpływ na stan kliniczny osób z mukowiscydozą. Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic dla FEV<sub>1</sub> w zależności od schematu przeprowadzania zabiegów, tj. czy były wykonywane 10 minut po inhalacji, czy po 6-godzinnym odstępie. Wydolność była o 10–20 mm niższa na skali 100 mm, gdy inhalację hipertoniczną solą fizjologiczną stosowano po wykonaniu ACTs, w przeciwieństwie do nebulizacji przed lub w trakcie zabiegu. Nie zaobserwowano żadnych istotnych statystycznie różnic w masie mokrej płwociny ani odczuwaniu duszności w przypadku, gdy inhalacja hipertoniczną solą fizjologiczną była wykonywana przed lub w czasie ACTs. Jednocześnie badani odczuwali większy komfort i zadowolenie, gdy inhalacja była wykonywana przed lub w trakcie ACTs.

W związku z brakiem badań porównujących skuteczność inhalacji porannej i wieczornej, o porze zabiegu powinny decydować czynniki indywidualne, np. wygoda, nasilenie kaszlu, duszności. Jeśli pacjent ma napięty grafik poranny, wieczorna inhalacja może okazać się wygodniejsza. Odwrotnie, jeśli po wieczornej inhalacji kaszel ulega nasileniu lub występują zaburzenia snu, poranne zabiegi mogą być lepiej tolerowane [40].

#### *Inhalacja dornazą alfa*

Dornaza alfa to rekombinowane białko ludzkiej deoksyrybonukleazy-1, stosowane u pacjentów z FVC > 40% normy. Ma za zadanie hydrolizować zewnątrzkomórkowe DNA zawarte w płwocinie, zmniejszając również jej lepkość. Według polskich zaleceń ACTs powinny odbyć się przed podaniem leku i/lub 2 godziny po jego przyjęciu [10]. Minimalny czas przerwy po wykonaniu inhalacji wynosi 30 minut, w tym czasie pozostały w płucach enzym oddziałuje na wydzielinę [13].

Metaanaliza dostępnych danych wykazała, że w przypadku inhalacji zarówno przed, jak i po zastosowaniu



ACTs wartości FEV<sub>1</sub> nie uległy istotnym zmianom. Podobnie różnice FVC i oceny jakości życia nie były istotne statystycznie [41]. Istotne zmiany zaobserwowano w przypadku wskaźników natężonego przepływu wydechowego FEF<sub>25,50,75</sub>. Były one na znacznie lepszym poziomie w przypadku inhalacji dornazą alfa przed wykonaniem ACTs, co może świadczyć o dodatnim wpływie takiego postępowania terapeutycznego na przepływ powietrza w drobnych oskrzelach [42,43,44]. Należy jednak pamiętać, że FEF<sub>25</sub> to wysoce zmienny wskaźnik u zdrowych osób dorosłych [45] i ma słabą powtarzalność u dzieci oraz młodzieży z mukowiscydozą [46]. Pora dnia inhalacji nie ma wpływu na czynność płuc ani nasilenie objawów, jednak inhalacja tuż przed snem nie jest zalecana ze względu na ryzyko zmniejszenia efektu terapeutycznego przy braku możliwości aktywnego odkrztuszenia plwociny. Istnieją również obawy dotyczące skutków ubocznych nocnego kaszlu i pogorszenia jakości snu. Nie zostało to jednak poparte badaniami [42,44].

#### *Inhalacja leków rozszerzających oskrzela, leków przeciwzapalnych oraz antybiotyków wziewnych*

Leki rozszerzające oskrzela mają za zadanie leczyć lub zapobiegać zwężeniu oskrzeli. Efekt działania leku wziewnego zależy od tego, w jakim stopniu dociera on do celu. Inhalacja lekiem rozszerzającym oskrzela powinna poprzedzać aktywność fizyczną, terapię dróg oddechowych czy inhalację innego leku lub hipertonicznego roztworu NaCl [18]. Po podaniu leku rozszerzającego oskrzela można również wykonać ACTs, a następnie inhalację z antybiotyku wziewnego lub hipertonicznego roztworu NaCl.

Do antybiotykoterapii należy stosować nebulizatory oraz przeznaczone do tego filtry lub usuwać powietrze wydechowe z pomieszczenia [10]. Istotne, aby lek o działaniu przeciwdrobnoustrojowym dotarł jak najbliżej miejsca docelowego, dlatego zaleca się wykonanie ACTs przed inhalacją. Lek działa tam, gdzie został zdeponowany. U pacjentów z dużymi ilościami wydzieliny aerozol osadza się na jej powierzchni i większość leku zostaje natychmiast ewakuowana z wydechem. Jeśli to możliwe, inhalację hipertoniczną solą fizjologiczną należy przeprowadzać w przerwach pomiędzy ACTs, aby systematycznie wpływać na coraz głębiej zalegające warstwy śluzu. Inhalację dornazą alfa lub lekami przeciwzapalnymi należy wykonywać po terapii udrażniania dróg oddechowych [14].

#### **Rola aktywności fizycznej w leczeniu pacjentów z mukowiscydozą**

Aktywność fizyczna i ćwiczenia aerobowe są zalecane jako terapia wspomagająca w oczyszczaniu dróg oddechowych. Mogą poprawić kondycję, zdrowie psychospołeczne, a także podnieść jakość życia pacjentów z mukowiscydozą. Aktywność fizyczną niewątpliwie należy promować wśród tych pacjentów i wdrażać

różne jej formy, dostosowane do płci oraz wieku, w celu utrzymania dobrego samopoczucia, a także zapobiegania pogorszeniu ogólnej wydolności i sprawności organizmu [3]. Aktywność fizyczna oraz ćwiczenia mogą spowolnić tempo pogarszania się funkcji płuc, przyczynić się do wzrostu przeżycia [47], zapobiegać depresji [48], a także wpływać na poprawę kondycji emocjonalno-społecznej [49]. Natomiast brak aktywności fizycznej zwiększa ryzyko zaburzeń układu krwionośnego i pokarmowego [50,51,52].

Większość opisanych w badaniach programów uwzględnia aktywność aerobową od umiarkowanej do wysokiej intensywności treningu (na ogół 60–80% tętna maksymalnego) i/lub trening oporowy [53]. Programy składają się również z ćwiczeń aerobowych łączonych z beztlenowymi [54]. Obecnie oprócz standardowych form aktywności fizycznej, tj. popularnych sportów, tradycyjnych zajęć sportowych i ćwiczeń beztlenowych, pacjenci mogą korzystać z programów wykorzystujących gry wideo, np. zajęć Wii Sports, Microsoft Xbox z urządzeniem Kinect [55], czy też platformy Nintendo Wii™ [56]. Interaktywne gry wideo generują odpowiedź tętna podobną do wymaganej podczas tradycyjnego treningu pacjentów z mukowiscydozą [57]. Na podstawie przeglądu literatury uwzględniającego 30 prac źródłowych można wskazać korzyści wynikające z aktywności fizycznej pacjentów z mukowiscydozą. Odnotowano poprawę w parametrach FEV<sub>1</sub>, wzrost siły mięśniowej, polepszenie składu ciała, jakości życia oraz zmianę innych wskaźników wydolności wysiłkowej. Jednak na podstawie dostępnych dowodów nie można obecnie sformułować jednoznacznych zaleceń dotyczących treningu wysiłkowego w przypadku mukowiscydozy, głównie ze względu na nieliczną grupę badanych i niską lub umiarkowaną jakość metodologiczną analizowanych badań. W pracach porównywano grupę wykonującą w różnych konfiguracjach trening tlenowy oraz beztlenowy, niezależnie lub w połączeniu z ćwiczeniami fizycznymi, siłowymi lub wytrzymałościowymi, z grupą kontrolną [58].

#### PODSUMOWANIE

W bieżącym przeglądzie literatury, na podstawie wyników czynnościowych badań płuc, wykazano brak różnic pomiędzy konwencjonalnymi technikami oddechowymi a pozostałymi metodami. Z badań wynika, że pacjenci wolą aktywne formy rehabilitacji oddechowej niż konwencjonalne techniki rehabilitacji. Brak wystarczających dowodów naukowych, aby określić przewagę technik do samodzielnego stosowania (ACB, AD) nad innymi. Wyniki badań wskazują jednak na przewagę terapii PEP nad HFCWO, urządzenia Flutter oraz AD. Pacjenci przedkładają standardowo stosowane przez nich techniki rehabilitacji oddechowej nad HFCWO. Dowody naukowe sugerują przewagę tech-



nik ACB i PEP nad HFCWO. W celu zwiększenia skuteczności dornazy alfa, leków przeciwzapalnych i przeciwbakteryjnych inhalacje należy wykonywać po udrożnieniu drzewa oskrzelowego. Rehabilitacja oddechowa powinna być wykonana po 2 godzinach od inhalacji dornazą alfa. Aktywność fizyczna i ćwiczenia aerobowe stanowią ważny element rehabilitacji oddechowej, ponieważ wpływają na oczyszczanie dróg oddechowych. W badaniach naukowych przedstawione są programy rehabilitacyjne, natomiast brak jednoznacznych wytycznych do prowadzenia zajęć. Aby zachęcić młodzież do aktywności fizycznej, w rehabilitacji można wykorzystać gry komputerowe. Ograniczenia prac wynikają m.in. z małej liczebności badanych grup, mnogości technik, niskiej jakości metodologicznej, a także krótkoterminowo prowadzonych badań. Czynniki te ograniczają możliwość wyciągnięcia prostych i bezpośrednich wniosków z aktualnego przeglądu wiedzy w tym zakresie.

## WNIOSKI

Ogólne wnioski płynące z bieżącego przeglądu literatury postanowiliśmy przedstawić w formie praktycznej – zaleceń dla fizjoterapeutów oraz rodziców pacjentów z mukowiscydozą. Sądzymy, że taka forma wnioskowania jest najbardziej użyteczna. Z jednej strony umożli-

wia optymalizację efektów terapeutycznych osiągniętych przez pacjentów, z drugiej daje nadzieję na bardziej przejrzyste raportowanie przez badaczy skuteczności stosowanych technik.

### 1. Zalecenia dla rodziców

Fizjoterapia oddechowa powinna być jak najszybciej wprowadzona i stosowana codziennie, najpierw przez opiekunów, następnie samodzielnie przez dzieci. Niezbędne jest stałe zdobywanie wiedzy na temat metod rehabilitacji oddechowej oraz doskonalenie umiejętności ich stosowania. Wykorzystując zabawę i ciekawość dzieci, należy wprowadzać aktywne formy rehabilitacji oddechowej u małych pacjentów.

### 2. Zalecenia dla fizjoterapeutów

Metody fizjoterapeutyczne należy dostosować do stanu klinicznego pacjenta, wieku, osobistych preferencji, zaawansowania choroby i nadaktywności oskrzeli. Ważnymi czynnikami, które mają wpływ na sumienne przestrzeganie zaleceń, są przekonania pacjenta na temat terapii, motywacja oraz czas potrzebny do wykonania zaleconej rehabilitacji. Do wyboru odpowiedniej metody niezbędna jest szeroka wiedza na temat dostępnych technik fizjoterapii oddechowej, znajomość metodyki terapii oraz badań potwierdzających ich skuteczność. Konieczna jest również znajomość działań niepożądanych i przeciwwskazań.

---

#### Author's contribution

Study design – O. Kuna

Data collection – K. Stachura

Manuscript preparation – O. Kuna, K. Stachura, P. Niemiec

Literature research – O. Kuna, K. Stachura

Final approval of the version to be published – P. Niemiec

---

## PIŚMIENNICTWO

1. Brown S.D., White R., Tobin P. Keep them breathing: Cystic fibrosis pathophysiology, diagnosis, and treatment. *JAAPA* 2017; 30(5): 23–27, doi: 10.1097/01.JAA.0000515540.36581.92.
2. Elbom J.S. Cystic fibrosis. *Lancet* 2016; 388(10059): 2519–2531, doi: 10.1016/S0140-6736(16)00576-6.
3. Flume P.A., Robinson K.A., O'Sullivan B.P., Finder J.D., Vender R.L., Willey-Courand D.B. i wsp. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: Airway clearance therapies. *Respir. Care* 2009; 54(4): 522–537.
4. Daniels T. Physiotherapeutic management strategies for the treatment of cystic fibrosis in adults. *J. Multidiscip. Healthc.* 2010; 3: 201–212, doi: 10.2147/JMDH.S8878.
5. Rand S., Hill L., Prasad S.A. Physiotherapy in cystic fibrosis: optimising techniques to improve outcomes. *Paediatr. Respir. Rev.* 2013; 14(4): 263–269, doi: 10.1016/j.prrv.2012.08.006.
6. Holland A.E., Button B.M. Physiotherapy for cystic fibrosis in Australia: Knowledge and acceptance of the Consensus Statement recommendations. *Respirology* 2013; 18(4): 652–656, doi: 10.1111/resp.12032.
7. Button B.M., Wilson C., Dentice R., Cox N.S., Middleton A., Tannenbaum E. i wsp. Physiotherapy for cystic fibrosis in Australia and New Zealand: A clinical practice guideline. *Respirology* 2016; 21(4): 656–667, doi: 10.1111/resp.12764.
8. Stoltz D.A., Meyerholz D.K., Welsh M.J. Origins of cystic fibrosis lung disease. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372(4): 363, doi: 10.1056/NEJMra1300109.
9. Wilson L.M., Morrison L., Robinson K.A. Airway clearance techniques for cystic fibrosis: an overview of Cochrane systematic reviews. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2019; 1(1): CD011231, doi: 10.1002/14651858.CD011231.
10. Walkowiak J., Pogorzelski A., Sands D., Skoprupa W., Milanowski A., Nowakowska A. i wsp. Zasady rozpoznawania i leczenia mukowiscydozy: zalecenia Polskiego Towarzystwa Mukowiscydozy 2009 Poznań – Warszawa – Rzeszów. *Stand. Med. Pediatr.* 2009; 6: 352–378.
11. Warnock L., Gates A., van der Schans C.P. Chest physiotherapy compared to no chest physiotherapy for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013; (9): CD001401, doi: 10.1002/14651858.CD001401.pub2.
12. Warnock L., Gates A. Chest physiotherapy compared to no chest physiotherapy for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; 2015(12): CD001401, doi: 10.1002/14651858.CD001401.pub3.
13. Physiotherapy for people with cystic fibrosis: from infant to adult [pdf]. 6th ed. International Physiotherapy Group for Cystic Fibrosis 2019. Dostępny w internecie: [https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-files/allied-health-professionals/IPG%20CF\\_Blue%20Booklet\\_6th%20edition%202019.pdf](https://www.ecfs.eu/sites/default/files/general-content-files/allied-health-professionals/IPG%20CF_Blue%20Booklet_6th%20edition%202019.pdf) [dostęp: 17.01.2023].









14. Rowbotham N.J., Daniels T.E. Airway clearance and exercise for people with cystic fibrosis: Balancing longevity with life. *Pediatr. Pulmonol.* 2022; 57(S1): S50–S59, doi: 10.1002/ppul.25734.
15. Button B.M., Heine R.G., Catto-Smith A.G., Phelan P.D., Olinsky A. Postural drainage and gastro-oesophageal reflux in infants with cystic fibrosis. *Arch. Dis. Child.* 1997; 76(2): 148–150, doi: 10.1136/adc.76.2.148.
16. Giles D.R., Wagener J.S., Accurso F.J., Butler-Simon N. Short-term effects of postural drainage with clapping vs autogenic drainage on oxygen saturation and sputum recovery in patients with cystic fibrosis. *Chest* 1995; 108(4): 952–954, doi: 10.1378/chest.108.4.952.
17. Tyrrell J.C., Hiller E.J., Martin J. Face mask physiotherapy in cystic fibrosis. *Arch. Dis. Child.* 1986; 61(6): 598–600, doi: 10.1136/adc.61.6.598.
18. Main E., Prasad A., van der Schans C.P. Conventional chest physiotherapy compared to other airway clearance techniques for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2005; 2005(1): CD002011, doi: 10.1002/14651858.CD002011.pub2.
19. Button B., Herbert R., Maher C. Positive expiratory pressure therapy better maintains pulmonary function than postural drainage and percussion in patients with cystic fibrosis. *Aust. J. Physiother.* 1998; 44(4): 285–286.
20. Mckoy N.A., Wilson L.M., Saldanha I.J., Odelola O.A., Robinson K.A. Active cycle of breathing technique for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; 7(7): CD007862, doi: 10.1002/14651858.CD007862.pub4.
21. Pryor J.A., Tannenbaum E., Scott S.F., Burgess J., Cramer D., Gyi K. i wsp. Beyond postural drainage and percussion: Airway clearance in people with cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2010; 9(3): 187–192, doi: 10.1016/j.jcf.2010.01.004.
22. Miller S., Hall D.O., Clayton C.B., Nelson R. Chest physiotherapy in cystic fibrosis: a comparative study of autogenic drainage and the active cycle of breathing techniques with postural drainage. *Thorax* 1995; 50(2): 165–169, doi: 10.1136/thx.50.2.165.
23. Davidson A.G.F., McIlwaine P.M., Wong T.K., Nakielna E.M., Pirie G.E. Physiotherapy in cystic fibrosis: A comparative trial of positive expiratory pressure, autogenic drainage and conventional percussion and drainage techniques. *Pediatr. Pulmonol.* 1988; 5(Suppl 2): 137.
24. McIlwaine M., Wong L.T., Chilvers M., Davidson G.F. Long-term comparative trial of two different physiotherapy techniques; postural drainage with percussion and autogenic drainage, in the treatment of cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2010; 45(11): 1064–1069, doi: 10.1002/ppul.21247.
25. McCormack P., Burnham P., Southern K.W. Autogenic drainage for airway clearance in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 10(10): CD009595, doi: 10.1002/14651858.CD009595.pub2.
26. Walicka-Serzysko K., Postek M., Jeneralska N., Cichocka A., Milczewska J., Sands D. The effects of the addition of a new airway clearance device to chest physiotherapy in children with cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *J. Mother Child* 2021; 24(3): 16–24, doi: 10.34763/jmother-andchild.20202403.2013.d-20-00008.
27. McIlwaine M., Button B., Dwan K. Positive expiratory pressure physiotherapy for airway clearance in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; (6): CD003147, doi: 10.1002/14651858.CD003147.pub4.
28. McIlwaine M., Button B., Nevitt S.J. Positive expiratory pressure physiotherapy for airway clearance in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2019; 2019(11): CD003147, doi: 10.1002/14651858.CD003147.pub5.
29. McIlwaine M.P., Alarie N., Davidson G.F., Lands L.C., Ratjen F., Milner R. i wsp. Long-term multicentre randomised controlled study of high frequency chest wall oscillation versus positive expiratory pressure mask in cystic fibrosis. *Thorax* 2013; 68(8): 746–751, doi: 10.1136/thoraxjnl-2012-202915.
30. McIlwaine P.M., Wong L.T., Peacock D., Davidson A.G. Long-term comparative trial of positive expiratory pressure versus oscillating positive expiratory pressure (flutter) physiotherapy in the treatment of cystic fibrosis. *J. Pediatr.* 2001; 138(6): 845–850, doi: 10.1067/mpd.2001.114017.
31. Cabillie M., Gouilly P., Reyckler G. Manual airway clearance techniques in adults and adolescents: What level of evidence? [Article in French] *Rev. Mal. Respir.* 2018; 35(5): 495–520, doi: 10.1016/j.rmr.2015.12.004.
32. Van Fleet H., Dunn D.K., McNinch N.L., Volsko T.A. Evaluation of functional characteristics of 4 oscillatory positive pressure devices in a simulated cystic fibrosis model. *Respir. Care* 2017; 62(4): 451–458, doi: 10.4187/respcare.04570.
33. Demchuk A.M., Chatburn R.L. Performance characteristics of positive expiratory pressure devices. *Respir. Care* 2021; 66(3): 482–493, doi: 10.4187/respcare.08150.
34. Ward N., Ward B., Stiller K., Kenyon A., Holland A.E. Development of a device to measure adherence and pressure characteristics of positive expiratory pressure therapies used by adults with cystic fibrosis. *Physiother. Theory Pract.* 2022; 38(10): 1469–1477, doi: 10.1080/09593985.2020.1858465.
35. Franks L.J., Walsh J.R., Hall K., Jacuinde G., Yerkovich S., Morris N.R. Comparing the performance characteristics of different positive expiratory pressure devices. *Respir. Care* 2019; 64(4): 434–444, doi: 10.4187/respcare.06410.
36. Poncin W., Reyckler G., Liistro M., Liistro G. Comparison of 6 oscillatory positive expiratory pressure devices during active expiratory flow. *Respir. Care* 2020; 65(4): 492–499, doi: 10.4187/respcare.07271.
37. Morrison L., Innes S. Oscillating devices for airway clearance in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 5(5): CD006842, doi: 10.1002/14651858.CD006842.pub4.
38. Phillips G.E., Pike S.E., Jaffé A., Bush A. Comparison of active cycle of breathing and high-frequency oscillation jacket in children with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2004; 37(1): 71–75, doi: 10.1002/ppul.10358.
39. Osman L.P., Roughton M., Hodson M.E., Pryor J.A. Short-term comparative study of high frequency chest wall oscillation and European airway clearance techniques in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2010; 65(3): 196–200, doi: 10.1136/thx.2008.111492.
40. Elkins M., Dentice R. Timing of hypertonic saline inhalation for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; 2016(12): CD008816, doi: 10.1002/14651858.CD008816.pub3.
41. Dentice R., Elkins M. Timing of domase alfa inhalation for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2018; 11(11): CD007923, doi: 10.1002/14651858.CD007923.pub5.
42. van der Giessen L.J., de Jongste J.C., Gosselink R., Hop W.C., Tiddens H.A. RhDNase before airway clearance therapy improves airway patency in children with CF. *Pediatr. Pulmonol.* 2007; 42(7): 624–630, doi: 10.1002/ppul.20636.
43. Anderson P., Morton J. Evaluation of two different timings of Pulmozyme nebulisation in relation to chest physiotherapy in children with Cystic Fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2009; 8(Suppl. 2): S74, doi: 10.1016/S1569-1993(09)60294-0.
44. van der Giessen L.J., Gosselink R., Hop W.C., Tiddens H.A. Recombinant human DNase nebulisation in children with cystic fibrosis: before bedtime or after waking up? *Eur. Respir. J.* 2007; 30(4): 763–768, doi: 10.1183/09031936.00031107.
45. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R. i wsp. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(5): 948–968, doi: 10.1183/09031936.05.00035205.
46. Cooper P.J., Robertson C.F., Hudson I.L., Phelan P.D. Variability of pulmonary function tests in cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 1990; 8(1): 16–22, doi: 10.1002/ppul.1950080107.
47. Moola F.J., Garcia E., Huynh E., Henry L., Penfound S., Consunji-Araneta R. i wsp. Physical activity counseling for children with cystic fibrosis. *Respir. Care* 2017; 62(11): 1466–1473, doi: 10.4187/respcare.05009.
48. Warburton D.E., Nicol C.W., Bredin S.S. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ* 2006; 174(6): 801–809, doi: 10.1503/cmaj.051351.
49. Plewa M., Markiewicz A. Aktywność fizyczna w profilaktyce i leczeniu otyłości. *Endokrynol. Otył. Zab. Przem. Mat.* 2006; 2(1): 30–37.
50. Roberts C.K., Barnard R.J. Effects of exercise and diet on chronic disease. *J. Appl. Physiol.* (1985) 2005; 98(1): 3–30, doi: 10.1152/jappphysiol.00852.2004.
51. Blair S.N., Cheng Y., Holder J.S. Is physical activity or physical fitness more important in defining health benefits? *Med. Sci. Sports Exerc.* 2001; 33(6 Suppl): S379–S399, doi: 10.1097/00005768-200106001-00007.
52. Barengo N.C., Hu G., Katarinen M., Lakka T.A., Pekkarinen H., Nissinen A. i wsp. Low physical activity as a predictor for antihypertensive drug treatment in 25–64-year-old populations in eastern and south-western Finland. *J. Hypertens.* 2005; 23(2): 293–299, doi: 10.1097/00004872-200502000-00011.
53. Burtin C., Hebestreit H. Rehabilitation in patients with chronic respiratory disease other than chronic obstructive pulmonary disease: Exercise and physical activity interventions in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Respiration* 2015; 89(3): 181–189, doi: 10.1159/000375170.
54. Cox N.S., Holland A.E. Current perspectives of physical activity in cystic fibrosis. *Expert Rev. Respir. Med.* 2019; 13(1): 13–22, doi: 10.1080/17476348.2019.1552833.
55. Gruber W., Stehling F., Olivier M., Dillenhofer S., Koerner-Rettberg C., Sutharsan S. i wsp. Effects of a long-term exercise program on motor performance in children and adolescents with CF. *Pediatr. Pulmonol.* 2020; 55(12): 3371–3380, doi: 10.1002/ppul.25064.
56. Del Corral T., Cebrià I Iranzo M.A., López-de-Uralde-Villanueva I., Martínez-Alejos R., Blanco I., Vilaró J. Effectiveness of a Home-Based Active Video Game Programme in Young Cystic Fibrosis Patients. *Respiration* 2018; 95(2): 87–97, doi: 10.1159/000481264.
57. Carbonera R.P., Vendrusculo F.M., Donadio M.V. Physiological responses during exercise with video games in patients with cystic fibrosis: A systematic review. *Respir. Med.* 2016; 119: 63–69, doi: 10.1016/j.rmed.2016.08.011.
58. Radtke T., Nevitt S.J., Hebestreit H., Kriemler S. Physical exercise training for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 11(11): CD002768, doi: 10.1002/14651858.CD002768.pub4.





## Czy lekarze prowadzą zdrowszy styl życia niż w czasie, gdy byli studentami?

### Do physicians lead healthier lifestyles than when they were students?

Tomasz S. Klocek<sup>1</sup> , Przemysław Witek<sup>1</sup> , Patryk Wawrzonkowski<sup>1</sup> , Aleksandra Binek<sup>1</sup> , Nadia Woźniak<sup>1</sup> ,  
Łukasz Krzych<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / Students' Scientific Club, Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach,

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Styl życia jest głównym determinantem zdrowia, może jednak zmieniać się z biegiem lat. Studentów cechują zwykle „gorsze” zachowania zdrowotne niż te u osób dorosłych. To ciekawe zjawisko nie było badane w środowisku lekarskim. Celem pracy była ocena stylu życia lekarzy w porównaniu z ich zachowaniami z lat studenckich.

**MATERIAŁ I METODY:** Badanie przekrojowe przeprowadzono w 2020 r. z wykorzystaniem autorskiego kwestionariusza oceniającego różne elementy stylu życia, które klasyfikowano jako „zdrowe” lub „niezdrowe” na podstawie rekomendacji Światowej Organizacji Zdrowia. W badaniu uczestniczyło 112 lekarzy (64,3% mężczyzn i 35,7% kobiet); mediana wieku wynosiła 37 lat (IQR 36–38). Wyniki porównano z danymi otrzymanymi w tej grupie na podstawie tego samego kwestionariusza dystrybuowanego w latach 2003–2005, tj. gdy badani byli studentami medycyny.

**WYNIKI:** Zaobserwowano istotne, korzystne zmiany dotyczące rzadszego spożycia posiłków z dużą zawartością soli kuchennej ( $p < 0,01$ ) oraz częstszego spożycia warzyw i owoców ( $p < 0,01$ ). Zaobserwowano zwiększenie częstości picia kawy ( $p < 0,01$ ). W pozostałym zakresie nawyki żywieniowe i stosowanie używek pozostawały niezmiennie. Nie stwierdzono różnic dotyczących aktywności fizycznej, występowania stresu oraz jego charakteru (mobilizujący/destabilizujący).

**WNIOSKI:** Styl życia lekarzy nie zmienia się znacząco w porównaniu z latami studenckimi, co można wiązać z przyzwyczajeniami z lat młodości.

#### SŁOWA KLUCZOWE

studenci, lekarze, zdrowie, styl życia

Received: 02.04.2022

Revised: 27.04.2022

Accepted: 18.08.2022

Published online: 06.02.2023

Adres do korespondencji: lek. Tomasz S. Klocek, Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice, tel. +48 784 810 747, e-mail: ttomek1996@gmail.com



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Lifestyle is a major determinant of health, but this can change over time. Students tend to have worse health behaviors than adults. This interesting phenomenon has not been verified in relation to the medical community. The aim of this study was to evaluate the lifestyle of physicians and compare it with their habits from their student years.

**MATERIAL AND METHODS:** A cross-sectional study was conducted in 2020 using an original questionnaire assessing various lifestyle elements that were classified as “healthy” or “unhealthy” based on World Health Organization recommendations. 112 physicians (64.3% male and 35.7% female) with a median age of 37 years (IQR 36–38) participated in the study. The results were compared with data obtained in this group from the same questionnaire distributed between 2003 and 2005, i.e. when the subjects were medical students.

**RESULTS:** Significant favorable changes were observed regarding less frequent consumption of meals with a high content of table salt ( $p < 0.01$ ) and increased consumption of fruits and vegetables ( $p < 0.01$ ). An increased frequency of coffee drinking was observed ( $p < 0.01$ ). Their dietary habits and stimulant use remained unchanged. There were no differences in physical activity, the occurrence of stress or its nature (mobilizing or destabilizing).

**CONCLUSIONS:** The lifestyles of physicians do not change significantly compared to their student years, which may be related to the habits from their youth.

## KEY WORDS

students, doctors, health, lifestyle

## WSTĘP

Definicja stylu życia obejmuje codzienne zachowania, funkcjonowanie jednostek w pracy, w czasie wolnym oraz nawyki żywieniowe [1]. Wpływ na nie ma wychowanie, charakter pracy oraz tempo życia. [2]. Na zdrowy styl życia składa się wiele zmiennych, takich jak prawidłowo zbilansowana dieta, regularna aktywność fizyczna oraz unikanie używek. Do składowych zdrowego stylu życia często dodaje się również czas trwania oraz jakość snu.

Studia medyczne oraz zawód lekarza z jednej strony kształtują prawidłowe zachowania zdrowotne, z drugiej mogą zaburzać zdrowe nawyki i prowadzić do nowych, szkodliwych zachowań [3]. Studenci medycyny, a potem lekarze, którzy prowadzą zdrowy styl życia, są bardziej skłonni do zalecania pacjentom zmiany nawyków. Według Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization – WHO) styl życia w około 60% odpowiada za stan zdrowia i jakość życia jednostki [1]. Niezdrowy styl życia stanowi podstawę wielu chorób, głównie układu sercowo-naczyniowego, oddechowego czy pokarmowego. Istotnym elementem jest edukacja prozdrowotna, prowadzona przez specjalistów i ekspertów w tej dziedzinie, która ma na celu zwiększenie świadomości społecznej [4,5]. Studia medyczne są wymagające, a ich realizacja może skutkować niekorzystnymi zmianami stylu życia i codziennych nawyków [3]. Jak dotąd w naszym kraju nie prowadzono badań w tak długim zakresie czasowym w odniesieniu do środowiska lekarskiego.

Celem pracy była ocena stylu życia aktywnych zawodowo lekarzy – młodych dorosłych w porównaniu z ich zachowaniami z lat studenckich. Postanowiono zweryfikować, czy zmiana aktywności zawodowej (z okresu studiów do pracy zawodowej osoby z 15-letnim doświadczeniem) wpłynęła na zachowania zdrowotne,

a jeśli tak, czy była to zmiana prozdrowotna, czy wręcz przeciwnie.

## MATERIAŁ I METODY

Ankietowe badanie przekrojowe prowadzono w okresie od listopada 2019 r. do lutego 2020 r. Na podstawie danych osobowych uczestników badania z lat 2003–2005, wówczas studentów kierunku lekarskiego, a obecnie praktykujących lekarzy, personalia uaktualniono z wykorzystaniem Rejestru Praktyk Zawodowych. Po uzyskaniu numerów telefonów kontaktowano się z ankietowanymi w celu uzyskania ich zgody na udział w badaniu oraz aktualnego adresu e-mail.

W latach 2003–2005 został zaprojektowany kwestionariusz zawierający 17 pytań, służących ocenie stylu życia studentów kierunku lekarskiego [6]. Ankieta składała się z dwóch części: danych demograficznych oraz pytań odnoszących się do stylu życia. Pytania dotyczyły m.in. spożycia soli, tłuszczów, alkoholu, palenia papierosów, a więc czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, chorób układu oddechowego czy pokarmowego, odczuwania stresu oraz czasu trwania snu. Ankieta została wówczas przeprowadzona w formie papierowej wśród 532 studentów, którzy wyrazili chęć udziału w badaniu. Ten sam kwestionariusz posłużył jako narzędzie badawcze w 2020 r. do ponownej oceny stylu życia oraz porównania odpowiedzi tych osób, będących już aktywnymi zawodowo lekarzami. Kwestionariusz dystrybuowano w formie elektronicznej, e-mailowo poprzez link do formularza „Google Forms”. Grupę badaną stanowiło 112 lekarzy (64,3% mężczyzn i 35,7% kobiet; mediana wieku 37 lat (IQR 36–38)), którzy wyrazili zgodę na udział w badaniu.

Odpowiedzi na pytania kwestionariuszowe zostały sklasyfikowane jako „zdrowy nawyk” lub „niezdrowy nawyk” na podstawie rekomendacji WHO [7]. Sposób



klasyfikacji odpowiedzi przedstawiono w tabeli I. Odpowiedzi na pytania „Jak często pijesz kawę?” oraz „Czy obserwujesz u siebie skutki stresu?” odbiegały od opisanej klasyfikacji, dlatego sposób ich interpretacji został zmieniony. Dodatkowo badanych podzielono z uwzględnieniem wskaźnika masy ciała (*body mass index* – BMI) na subkategorie: nieprawidłowo niskie BMI ( $< 18,5 \text{ kg/m}^2$ ), wartość prawidłowa ( $\leq 18,5 - 25 \text{ kg/m}^2$ ), nadwaga ( $\leq 25 - 30 \text{ kg/m}^2$ ) oraz otyłość ( $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ). Dane porównano z odpowiedziami udzielonymi w czasach studenckich, archiwizowanymi w bazie danych autora (ŁJK).

Analizę statystyczną prowadzono z wykorzystaniem procedur dostępnych w programie MedCalc oraz

arkusza kalkulacyjnym Microsoft Excel. Dane jakościowe zostały przedstawione jako wartości całkowite oraz odsetek wartości całkowitej (%). Porównania danych jakościowych dokonano za pomocą testu McNemara. Ocenę rozkładu danych ilościowych przeprowadzono za pomocą testu Shapiro i Wilka. Wartości danych ilościowych zostały przedstawione jako średnie i odchylenia standardowe (rozkład normalny), a także mediany i przedziały międzykwartylowe (rozkład odbiegający od normalnego). W przypadku rozkładu normalnego do testowania różnic między grupami użyto testu t-Studenta dla zmiennych powiązanych, natomiast jeśli rozkład odbiegał od normalnego – testu Wilcoxon. Za statystycznie znamienne uznano  $p < 0,05$ .

Tabela I. Klasyfikacja odpowiedzi na pytania zawarte w kwestionariuszu  
Table I. Classification of questionnaire responses

Pytanie kwestionariuszowe	Zdrowy nawyk	Niezdrowy nawyk
Czy spożywasz regularnie posiłki?	tak	nie
Czy preferujesz w swojej codziennej diecie posiłki z dużą ilością soli kuchennej?	nie	tak
Jak często spożywasz posiłki z wysoką zawartością tłuszczów zwierzęcych?	rzadziej niż kilka razy w miesiącu nigdy	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu
Jak często spożywasz słodczy?	rzadziej niż kilka razy w miesiącu nigdy	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu
Jak często spożywasz mleko i sery?	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu	rzadziej niż kilka razy w miesiącu nigdy
Jak często spożywasz owoce i warzywa?	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu	rzadziej niż kilka razy w miesiącu nigdy
Jak często pijesz napoje alkoholowe?	rzadziej niż kilka razy w miesiącu nigdy	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu
Jak często palisz papierosy?	nigdy	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu rzadziej niż kilka razy w miesiącu
Jak często uprawiasz ćwiczenia fizyczne?	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu	rzadziej niż kilka razy w miesiącu nigdy
Ile czasu dziennie przeznaczasz na sen?	6–8 h > 8 h	< 6 h
	<b>Piję kawę</b>	<b>Nie piję kawy</b>
Jak często pijesz kawę?	codziennie kilka razy w tygodniu kilka razy w miesiącu rzadziej niż kilka razy w miesiącu	nigdy
	<b>Obserwuję skutki stresu</b>	<b>Nie obserwuję skutków stresu</b>
	pozytywne	negatywne
Czy obserwujesz u siebie skutki stresu?	tak, stres jest dla mnie mobilizujący	tak, stres jest dla mnie destabilizujący
		nie



## WYNIKI

Charakterystykę grupy badanej przedstawiono w tabeli II. Stwierdzono znamienne statystycznie wzrost masy ciała ( $p < 0,01$ ), a tym samym BMI ( $p < 0,01$ ) u ankietowanych w porównaniu z ich parametrami w pierwszej części badania. W kwestii palenia papierosów u 5 lekarzy zaobserwowano zmianę częstości z „nigdy” na „codziennie”, natomiast u 10 osób z „codziennie” na „nigdy”.

Wyniki analizy dotyczącej zmian w stylu życia lekarzy przedstawiono w tabeli III. Zaobserwowano istotne zmiany w zakresie spożycia posiłków z dużą zawartością soli kuchennej (61 osób zmieniło nawyki na zdrowsze;  $p < 0,01$ ) oraz częstości spożywania warzyw i owoców (11 osób zmieniło nawyki na zdrowsze;  $p < 0,01$ ). Zaobserwowano zwiększenie spożycia kawy (19 osób częściej pije kawę niż w latach studenckich;  $p < 0,01$ ). Nie stwierdzono różnic dotyczących pozostałych używek, aktywności fizycznej, występowania stresu oraz jego charakteru (mobilizujący/destabilizujący) na przestrzeni lat.

Tabela II. Charakterystyka badanych i ich styl życia  
Table II. Characteristics of respondents and their lifestyle

Charakterystyka		Studenci (2003–2005)	Lekarze (2020)
1		2	3
Płeć	kobieta	40 (35,7%)	
	mężczyzna	72 (64,3%)	
Wiek (lata)		21 (20–23)	37 (36–38)
Wzrost (cm)		<b>175 (± 9,7)</b>	<b>175 (± 9,6)</b>
Masa ciała (kg)		70 (60–76)	76 (66–85)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )		22 (21–24)	24 (22–27)
Czy spożywasz regularnie posiłki?	tak	64 (57,1%)	62 (55,4%)
	nie	48 (42,9%)	50 (44,6%)
Czy preferujesz w swojej codziennej diecie posiłki z dużą ilością soli kuchennej?	tak	68 (60,7%)	11 (9,8%)
	nie	44 (39,3%)	101 (90,2%)
Jak często spożywasz posiłki z wysoką zawartością tłuszczów zwierzęcych?	codziennie	20 (17,9%)	12 (10,7%)
	kilka razy w tygodniu	50 (44,6%)	57 (50,9%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	28 (25,0%)	31 (27,7%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	8 (7,1%)	12 (10,7%)
	nigdy	6 (5,4%)	0 (0%)
Jak często spożywasz słodcze?	codziennie	35 (31,2%)	28 (25,0%)
	kilka razy w tygodniu	51 (45,6%)	50 (44,6%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	19 (16,9%)	24 (21,4%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	6 (5,4%)	10 (9,0%)
	nigdy	1 (0,9%)	0 (0%)
Jak często spożywasz mleko i sery?	codziennie	38 (33,9%)	64 (57,1%)
	kilka razy w tygodniu	57 (50,9%)	40 (35,7%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	15 (13,4%)	3 (2,7%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	1 (0,9%)	2 (1,8%)
	nigdy	1 (0,9%)	3 (2,7%)
Jak często spożywasz owoce i warzywa?	codziennie	34 (30,4%)	82 (73,2%)
	kilka razy w tygodniu	64 (57,1%)	26 (23,2%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	13 (11,6%)	3 (2,7%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	1 (0,9%)	1 (0,9%)
	nigdy	0 (0%)	0 (0%)
Jak często pijesz kawę?	codziennie	60 (53,6%)	93 (83,0%)
	kilka razy w tygodniu	18 (16,1%)	7 (6,3%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	11 (9,8%)	5 (4,5%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	8 (7,1%)	3 (2,7%)
	nigdy	15 (13,4%)	4 (3,6%)



cd. tab. II

	1	2	3
Jak często pijesz napoje alkoholowe?	codziennie	1 (0,9%)	2 (1,8%)
	kilka razy w tygodniu	7 (6,3%)	24 (21,4%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	66 (58,9%)	58 (51,8%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	30 (26,8%)	25 (22,3%)
	nigdy	8 (7,1%)	3 (2,7%)
Jak często palisz papierosy?	codziennie	22 (19,6%)	12 (10,7%)
	kilka razy w tygodniu	6 (5,4%)	5 (4,5%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	1 (0,9%)	5 (4,5%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	2 (1,8%)	6 (5,4%)
	nigdy	81 (72,3%)	84 (75,0%)
Jak często uprawiasz ćwiczenia fizyczne?	codziennie	5 (4,5%)	7 (6,3%)
	kilka razy w tygodniu	60 (53,6%)	45 (40,2%)
	<b>kilka razy w miesiącu</b>	31 (27,7%)	39 (34,8%)
	rzadziej niż kilka razy w miesiącu	14 (12,5%)	14 (12,5%)
	nigdy	2 (1,8%)	7 (6,3%)
Czy obserwujesz u siebie skutki stresu?	nie	20 (17,8%)	15 (13,4%)
	<b>tak, stres jest dla mnie mobilizujący</b>	49 (43,8%)	56 (50,0%)
	<b>tak, stres jest dla mnie destabilizujący</b>	43 (38,4%)	41 (36,6%)
Ile czasu dziennie przeznaczasz na sen?	< 6 h	34 (30,3%)	26 (23,2%)
	6–8 h	77 (68,8%)	82 (73,2%)
	> 8 h	1 (0,9%)	4 (3,6%)

Tabela III. Zmiany stylu życia lekarzy w porównaniu z okresem studiów  
Table III. Physicians' lifestyle changes compared to their period of studies

Składowe stylu życia	Zmiana nawyków		Pozostanie przy nawykach		Test McNemara (%)	95% CI	p
	na zdrowsze	na mniej zdrowe	zdrowych	niezdrowych			
Regularność posiłków	25	27	37	23	1,79	-10,83 do 14,40	0,9
Spożycie soli kuchennej	61	4	40	7	-50,89	-61,39 do -40,39	< 0,01
Spożycie tłuszczów zwierzęcych	18	17	25	52	-0,89	-11,24 do 9,46	1,0
Spożycie słodczy	21	13	13	65	-7,14	-17,26 do 2,96	0,2
Spożycie nabiału	1	4	106	1	2,68	-1,20 do 6,56	0,4
Spożycie owoców i warzyw	11	1	97	3	-8,93	-14,76 do -3,10	< 0,01
Spożycie alkoholu	15	25	13	59	8,93	-2,02 do 19,87	0,2
Palenie papierosów	17	14	67	14	-2,68	-12,41 do 7,05	0,7
Wysiłek fizyczny	16	29	36	31	11,61	0,07 do 23,15	0,07
Sen	27	19	59	7	-7,14	-18,94 do 4,65	0,3

Spośród studentów 95 osób (85%) miało prawidłowe BMI, natomiast 17 (15%) nadwagę. W 2020 r. do kategorii masy prawidłowej zakwalifikowano 57 osób; spośród nich 53 nie zmieniły kategorii BMI, natomiast 4 pierwotnie cechowała nadwaga. Wśród badanych w 2020 r. nadwagę miało 49 osób, z czego 9 pozostało w tej kategorii, natomiast u 40 BMI wzrosło z wartości prawidłowych. Dodatkowo 6 osób znalazło się w kategorii osób otyłych, z czego 2 wcześniej kwalifikowano jako osoby z prawidłowym BMI, natomiast 4 w 2004 r. miały nadwagę. Największy przyrost BMI wyniósł 16 kg/m<sup>2</sup>, natomiast największy spadek to 4 kg/m<sup>2</sup>.

Średnia zmiana BMI to +2 kg/m<sup>2</sup>. Charakter zmian kategorii BMI był znamieny statystycznie ( $p < 0,01$ ). Przeanalizowano zmianę nawyków żywieniowych u osób, które wyjściowo w 2004 r. miały prawidłowe BMI lub nadwagę (nie było innych kategorii). Osoby z prawidłowym BMI zmieniły nawyki na zdrowsze pod względem spożycia owoców (9 osób zmieniło nawyki na zdrowsze, 1 na mniej zdrowe;  $p < 0,05$ ), słodczy (21 osób zmieniło nawyki na zdrowsze, 9 na mniej zdrowe;  $p < 0,05$ ) oraz soli kuchennej (54 osoby zmieniły nawyki na zdrowsze, 3 na mniej zdrowe;  $p < 0,01$ ), natomiast na mniej zdrowe w przypadku aktywności



fizycznej (28 osób zmieniło nawyki na mniej zdrowe, 14 na zdrowsze;  $p < 0,05$ ). U osób z nadwagą w 2004 r. nie wykazano istotnych zmian w stylu życia. Osoby, u których BMI wzrosło, cechowała korzystna zmiana w częstotliwości spożycia soli kuchennej (24 osoby zmieniły nawyk na bardziej zdrowy;  $p < 0,01$ ), natomiast mniej zdrowa zmiana dotyczyła aktywności fizycznej (zmiana na mniej zdrowy nawyk u 15 osób;  $p < 0,05$ ). U osób, które były otyłe w 2020 r., podczas pierwszego badania ankietowego dominowały niezdrowe nawyki dotyczące niskiej aktywności fizycznej przy jednocześnie wysokim spożyciu słodczy oraz tłuszczów zwierzęcych. Przyzwyczajenia te nie uległy poprawie w kolejnym badaniu.

## DYSKUSJA

Wyniki pokazują, że zachowania i nawyki lekarzy – uczestników badania pozostają w dużej mierze niezmiennie na przestrzeni lat. Może się to wiązać z przyzwyczajeniami wyniesionymi z domu rodzinnego, jak i ogólnymi trendami społecznymi w populacji [8,9]. Badania wskazują wpływ przyzwyczajzeń żywieniowych wyniesionych z domu rodzinnego na przyszłe nawyki związane z różnorodnością przyjmowanych pokarmów, kolejno podczas studiów oraz po ich ukończeniu [2,10]. Okazuje się, że w badanej grupie pozycja zawodowa i zmiana wykonywanego zajęcia (student – lekarz) nie ma wpływu na dietę ani regularność wysiłku fizycznego. Warto zauważyć, że nawyki żywieniowe, zarówno wyjściowo zdrowe, dotyczące regularności posiłków czy spożycia nabiału, jak i wyjściowo niezdrowe, dotyczące wysokiego spożycia słodczy lub tłuszczów zwierzęcych, pozostają niezmiennie. Należy więc zadać pytanie, czy jest to kwestia dotycząca jedynie tej relatywnie wąskiej grupy badanej, czy raczej problem populacji. Logicznym wnioskiem byłaby poprawa jakości życia w związku ze zwiększeniem świadomości i wiedzy na temat zdrowych nawyków, jednak zarówno niniejsze badanie, jak i inne [11,12] pokazują, że takie wnioski niekoniecznie są zgodne z realiami. Dodatkowym elementem pobudzającym ciekawość jest punkt wyjścia w kształtowaniu nawyków u konkretnych osób. Różnorodne elementy wpływające na kształtowanie nawyków żywieniowych u rodzin mogą wpływać na styl życia osób dorosłych, opuszczających dom rodzinny [2]. Rozważania te mogą być podstawą podobnych badań w środowisku zarówno studenckim, jak i lekarskim oraz służyć głębszym przemyśleniom dotyczącym konkretnych przyzwyczajzeń.

### Aktywność fizyczna

Wymagający tryb życia pracowników ochrony zdrowia nie sprzyja regularnej aktywności fizycznej. W badaniach przeprowadzonych przez Bandaya i wsp. [13] w Arabii Saudyjskiej wykazano, że 34,8% lekarzy

prowadziło nieaktywny styl życia. Badanie przeprowadzone wśród irlandzkich lekarzy również ujawniło niepokojące wyniki – 24,5% spośród badanych zadeklarowało brak aktywności fizycznej [12]. W badaniu Biernat i wsp. [14] wskazano, że aż 53% lekarzy i 51% lekarek w warszawskich szpitali prezentowało małą aktywność fizyczną. Wśród naszych ankietowanych 29 osób (26%) zmieniło nawyki na mniej zdrowe, przy czym 53% obecnych lekarzy zadeklarowało, że ćwiczenia uprawia kilka razy w miesiącu lub rzadziej. Na niski poziom aktywności fizycznej u lekarzy mogą mieć wpływ różne czynniki opisane m.in. przez Alahmed i Lobelo [15], którzy wspominają o braku motywacji do podjęcia aktywności fizycznej. Często nieregularny tryb życia, długie godziny pracy dyżurowej oraz nocnej nie wpływają mobilizująco na podejmowanie wysiłku fizycznego częściej niż kilka razy w miesiącu.

### Dieta

Jedynie istotne statystycznie zmiany w stylu życia lekarzy dotyczyły zmniejszenia spożycia soli kuchennej oraz warzyw i owoców. Od czasu przedstawienia pierwszej części badania ukazało się wiele materiałów dotyczących niekorzystnego wpływu spożywania dużych ilości soli kuchennej, negatywnie wpływającej na ciśnienie tętnicze krwi i układ sercowo-naczyniowy [16]. Nie można wykluczyć, że kampanie społeczne, a także większa niż w przeciętnej populacji wiedza lekarzy na temat zdrowego trybu życia wpłynęły na zmniejszenie tendencji do solenia potraw w tej grupie [17]. Podobnie jest ze spożyciem warzyw i owoców. Udowodniony pozytywny wpływ regularnego spożywania produktów z tej grupy mógł działać mobilizująco na zmiany żywieniowe u ankietowanych. Należy zwrócić uwagę, że nasza grupa badana jest dość wąska i specyficzna, dlatego nie może dziwić tendencja niewspółmierna do zaobserwowanych w ostatnich latach odmiennych trendach żywieniowych w populacji ogólnej [18].

Dla wielu osób nieodłącznym elementem dnia oraz przerw w pracy stała się kawa. Odsetek Polaków wspomagających się kofeiną jest duży. Według Chudy [19] 95,2%, a według Przybysz i wsp. [20] aż 97% respondentów zadeklarowało picie kawy. W niniejszym badaniu spożywanie tego napoju zadeklarowało 96% lekarzy. Odsetek ten wyraźnie zwiększył się w porównaniu z latami 2003–2005. Przejście z trybu nauki w tryb pracy zmianowej, nocnej zdaje się mieć wpływ na spożycie kawy, które jest większe wśród personelu narażonego na brak snu [21].

### Reakcje stresowe

Stres jest nieodłącznym elementem pracy lekarza oraz nauki studenckiej. Mnogość sytuacji stresogennych zarówno w pracy, jak i na studiach wymaga wypracowania mechanizmów obronnych przed stresem oraz jego





długoterminowymi skutkami, takimi jak wypalenie zawodowe, negatywizm czy choroby somatyczne [22]. Z naszego badania wynika, że mechanizmy reakcji na stres u lekarzy nie zmieniają się istotnie w porównaniu z tymi z czasów studenckich. Może mieć to związek ze skutecznością wypracowanych mechanizmów obronnych w przypadku osób, na które stres działa mobilizująco, bądź z brakiem takowych reakcji u osób, na które stres działa destabilizująco. Ważnym elementem walki ze skutkami stresu jest odpowiednia ilość czasu na odpoczynek i relaks. Dlatego czas trwania snu u lekarzy stanowi przedmiot zainteresowania wielu badań [23].

### Ograniczenia badania

Głównym ograniczeniem badania jest relatywnie mała liczba ankietowanych w porównaniu z badaniem pierwotnym. Wynika to z trudności w odnalezieniu absolwentów uniwersytetu, bazując jedynie na ich imieniu i nazwisku. Jest to szczególnie istotne w przypadku kobiet – mężatek, co znajduje odzwierciedlenie w małym ich odsetku w grupie badanej. Innym powodem małej

liczby odpowiedzi kwestionariuszowych jest niechęć lekarzy i brak zgody na uczestnictwo w kontynuacji badania. Ponadto zmiany dotyczące spożycia kawy i soli niekoniecznie muszą wynikać z nawyków zdrowotnych. Mniejsza ilość kawy wypijana w czasie studiów mogła być efektem braków finansowych, a mniejsza ilość spożywanej w posiłkach soli może dotyczyć osób w nadciśnieniem tętniczym, dla których jest to konieczność. Ważna jest także różnica w sposobie dystrybucji kwestionariusza: papierowy podczas pierwszego badania, aktualnie zaś internetowy. Zmiana podyktowana była praktycznością i wykonalnością badania – wersja elektroniczna daje możliwość szybszego dotarcia do respondentów i większą swobodę wypowiedzi.

### WNIOSKI

Styl życia lekarzy nie zmienia się znacząco w porównaniu z latami studenckimi, co można wiązać z przyzwyczajeniami z lat młodości.

### Author's contribution

Study design – T. S. Klocek, P. Witek, P. Wawrzonkowski, A. Binek, N. Woźniak, Ł. Krzych

Data collection – T. S. Klocek, P. Witek, P. Wawrzonkowski, A. Binek, N. Woźniak

Data interpretation – T. S. Klocek, P. Witek, P. Wawrzonkowski, Ł. Krzych

Statistical analysis – T. S. Klocek, Ł. Krzych

Manuscript preparation – T. S. Klocek, P. Witek, P. Wawrzonkowski, A. Binek, N. Woźniak, Ł. Krzych

Literature research – T. S. Klocek, P. Witek, P. Wawrzonkowski, A. Binek, N. Woźniak

### PIŚMIENNICTWO

1. Farhud D.D. Impact of lifestyle on health. *Iran J. Public Health*. 2015; 44(11): 1442–1444.
2. Dudek M., Kasznia-Kocot J. Wpływ czynników społeczno-ekonomicznych na zachowania zdrowotne nastolatków mieszkających w Rybniku. *Med. Srod.* 2016; 19(4): 40–47, doi: 10.19243/2016406.
3. Brehm B.J., Sumner S.S., Khoury J.C., Filak A.T., Lieberman M.A., Heubi J.E. Health status and lifestyle habits of US medical students: a longitudinal study. *Ann. Med. Health Sci. Res.* 2016; 6(6): 341–347, doi: 10.4103/amhsr.amhsr 469 15.
4. Pati S., Chauhan A.S., Mahapatra S., Sinha R., Pati S. Practicing health promotion in primary care – a reflective enquiry. *J. Prev. Med. Hyg.* 2017; 58(4): E288–E293, doi: 10.15167/2421-4248/jpmh2017.58.4.749.
5. Paterick T.E., Patel N., Tajik A.J., Chandrasekaran K. Improving health outcomes through patient education and partnerships with patients. *Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent.)* 2017; 30(1): 112–113, doi: 10.1080/08998280.2017.11929552.
6. Kowalska M., Zejda J.E., Krzych Ł. Biologiczna zmienność ciśnienia tętniczego krwi u młodych osób dorosłych. *Med. Biol. Sci.* 2006; 20: 63–69.
7. Healthy diet. World Health Organization. Regional Office for the Eastern Mediterranean, 2019. Dostępny w internecie: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325828>.
8. Wolańska-Buzalska D., Wiśniewska K. Dieta Polaków a zalecenia żywieniowe – część 1. *Przem. Spoż.* 2019; 73(8): 28–32.
9. Wiśniewska K., Wolańska-Buzalska D. Dieta Polaków a zalecenia żywieniowe – część 2. *Przem. Spoż.* 2019; 73(9): 49–52.
10. Hardcastle S.J., Thøgersen-Ntoumani C., Chatzisarantis N.L. Food choice and nutrition: a social psychological perspective. *Nutrients* 2015; 7(10): 8712–8715, doi: 10.3390/nu7105424.
11. Hegde S.K., Vijaykrishnan G., Sasankh A.K., Venkateswaran S., Parasuraman G. Lifestyle-associated risk for cardiovascular diseases among doctors and nurses working in a medical college hospital in Tamil Nadu, India. *J. Family Med. Prim. Care* 2016; 5(2): 281–285, doi: 10.4103/2249-4863.192355.
12. O' Keeffe A., Hayes B., Prihodova L. "Do as we say, not as we do?" the lifestyle behaviours of hospital doctors working in Ireland: a national cross-sectional study. *BMC Public Health* 2019; 19(1): 179, doi: 10.1186/s12889-019-6451-8.
13. Bandy A.H., Want F.A., Alris F.F., Alrayes M.F., Alenzi M.J. A cross-sectional study on the prevalence of physical activity among primary health care physicians in Aljouf region of Saudi Arabia. *Mater. Sociomed.* 2015; 27(4): 263–266, doi: 10.5455/msm.2015.27.263-266.
14. Biernat E., Poznańska A., Gajewski A.K. Is physical activity of medical personnel a role model for their patients. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2012; 19(4): 707–710.
15. Alahmed Z., Lobelo F. Correlates of physical activity counseling provided by physicians: A cross-sectional study in Eastern Province, Saudi Arabia. *PLoS One* 2019; 14(7): e0220396, doi: 10.1371/journal.pone.0220396.
16. Feng W., Dell'Italia L.J., Sanders P.W. Novel paradigms of salt and hypertension. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2017; 28(5): 1362–1369, doi: 10.1681/ASN.2016080927.
17. Białek-Dratwa A., Kukielczak A., Czech N., Giętek M. Kampanie społeczne przykładem sposobu propagowania zasad zdrowego żywienia. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2012; 93(2): 414–419.
18. Jąder K. Konsumpcja warzyw w Polsce w różnych typach gospodarstw domowych. *Rocz. Nauk. Stow. Ekon. Rol. Agrobiz.* 2015; 17(3): 144–150.
19. Chudy S. Development of coffee market and changes in coffee consumption among Poles. *J. Agribus. Rural Dev.* 2014; 4(34): 41–51.



20. Przybysz M.A., Widla G., Dłużewska E. Preferencje konsumenckie picia kawy. Wpływ temperatury i czasu prażenia ziarna kawy na ocenę smaku i zapachu espresso. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 2013; 572: 65–79.

21. Temple J.L., Hostler D., Martin-Gill C., Moore C.G., Weiss P.M., Sequeira D.J. et al. Systematic review and meta-analysis of the effects of caffeine in fatigued shift workers: implications for Emergency Medical Services personnel. *Prehosp. Emerg. Care* 2018; 22(sup1): 37–46, doi: 10.1080/10903127.2017.1382624.

22. Molek-Winiarska D. Skutki stresu zawodowego. W: Z. Janowska [red.]. *Dysfunkcje i patologie w sferze zarządzania zasobami ludzkimi*. T. 4. Wyd. Uniwersytetu Łódzkiego. Łódź 2011, s. 312–326.

23. Krajewska O., Skrypnik K., Kręgielska-Narożna M., Suliburska J., Bogdański P. Wpływ długości i jakości snu na parametry antropometryczne, metaboliczne i ogólny stan zdrowia fizycznego i psychicznego. *Forum Zab. Metab.* 2017; 8(2): 47–55.



## Wodogłowie – objaw typowo radiologiczny?

### Hydrocephalus – a typical radiological symptom?

Marta Marek<sup>1</sup> , Agata Aleksandra Macionga<sup>2</sup> , Kinga Szopińska<sup>2</sup> , Ewa Kluczevska<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Radiologii Lekarskiej i Radiodiagnostyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / Department of Radiology and Radiodiagnostics, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Radiologii Lekarskiej i Radiodiagnostyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / Students' Scientific Club, Department of Radiology and Radiodiagnostics, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### STRESZCZENIE

Wodogłowie może mieć wiele przyczyn. Zadaniem lekarza radiologa oprócz stwierdzenia poszerzenia układu komorowego na podstawie diagnostyki obrazowej jest próba określenia przyczyny takiego stanu. Autorki pragnęły przybliżyć kwestię powstawania płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) oraz zagadnienia związane z zaburzeniem krążenia PMR. Celem pracy było również przedstawienie aktualnej klasyfikacji wodogłowia w celu ułatwienia komunikacji pomiędzy lekarzami – radiologiem i neurologiem. Istotne jest zwrócenie uwagi radiologów na fakt, że wodogłowie nie jest jedynie objawem radiologicznym, ale może być związane z zaburzeniami obrazu klinicznego dotkniętych nim pacjentów.

#### SŁOWA KLUCZOWE

wodogłowie, płyn mózgowo-rdzeniowy, obraz radiologiczny

#### ABSTRACT

Hydrocephalus can have many causes. The task of a radiologist in addition to find out about enlargement of the ventricular system by using diagnostic imaging methods is also to attempt to determine the cause of such a condition. The authors would like to present the subject of the formation of and issues related to the disturbance of cerebrospinal fluid circulation. The aim of the study was also to present the current classification of hydrocephalus in order to facilitate

Received: 12.09.2022

Revised: 30.09.2022

Accepted: 03.10.2022

Published online: 16.02.2023

Adres do korespondencji: dr n. med. Marta Marek, Katedra i Zakład Radiologii Lekarskiej i Radiodiagnostyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. 3 Maja 13, 41-800 Zabrze, tel. +48 32 370 42 48, e-mail: marta.marek@sum.edu.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



communication between physicians – the radiologist and neurologist. It is important to draw the attention of radiologists to the fact that hydrocephalus is not only a radiological symptom, but may also be associated with disturbances in the clinical picture of patients affected by hydrocephalus.

#### KEY WORDS

hydrocephalus, cerebrospinal fluid, radiological image

### Charakterystyka płynu mózgowo-rdzeniowego

Płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) to klarowna, bezbarwna ciecz zawierająca wiele substancji, w tym białka; otaczając mózg i rdzeń kręgowy, chroni ośrodkowy układ nerwowy. Odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy i funkcjonowaniu neuronów. Wytworzony jest w większości przez splot naczyniówkowy układu komorowego [1,2,3]. Następnie przepływa do komory III, poprzez wodociąg mózgu do komory IV, skąd dzięki pośredniemu otworowi Magendiego oraz bocznym otworom Luschki przedostaje się do przestrzeni podpajęczynówkowej [4]. Pozanaczyniówkowym źródłem PMR jest płyn śródmiąższowy, w mniejszym stopniu jest wydzielany przez wyściółkę komór oraz kapilary mózgowia [2,3]. Z przestrzeni podpajęczynówkowej PMR jest wchłaniany przez ziarnistości pajęczynówki, które wnikają do zatok żylnych. W ostatnich latach zaproponowano teorię wchłaniania PMR poza ziarnistościami pajęczynówki, tzn. przez układ limfatyczny blaszki sitowia, oraz przez osłonki nerwów czaszkowych, a nawet rdzeniowych [1,3,4].

Temat wytwarzania PMR jest przedmiotem zainteresowań badaczy. Teoria Monro i Kelliego z XVII w. głosi, że objętość PMR, mózgowia i krwi jest stała, a wzrost objętości jednego z kompartmentu powoduje spadek objętości pozostałych [1,5,6]. Objętość PMR u osób dorosłych szacuje się na około 150 ml, z czego 25 ml znajduje się w układzie komorowym, 50 ml w przestrzeni podpajęczynówkowej czaszki i 75 ml w przestrzeniach podpajęczynówkowych kręgosłupa [1,2,3]. Objętość PMR w stosunku do mózgowia wzrasta wraz z wiekiem [1,3]. U noworodków całkowita objętość PMR wynosi 50 ml [2].

Wydzielanie PMR u osób dorosłych waha się między 400 a 600 ml/dobę [1]. Oznacza to również, że PMR jest odnawiany 3–4 razy w ciągu doby [1,2,3]. Wraz z wiekiem tempo wymiany PMR ulega zmniejszeniu, przez co wzrasta ryzyko akumulacji produktów przemiany materii [1,3].

Płyn mózgowo-rdzeniowy składa się aż w 99% z wody. Pozostały 1% to białka, jony, neurotransmitery i glukoza [1].

Produkcja PMR jest regulowana głównie przez autonomiczny układ nerwowy, w wyniku działania neuropeptydów, takich jak dopamina i przedsiorkowy peptyd natriuretyczny. Układ cholinergiczny, w przeciwieństwie do współczulnego układu nerwowego, zwiększa produkcję i sekrecję PMR [1,3].

### Układ limfatyczny

Tradycyjna koncepcja krążenia PMR została ostatnio zakwestionowana w kontekście nowo zdefiniowanego tzw. układu limfatycznego, który umożliwia wymianę płynu śródmiąższowego oraz PMR, a w konsekwencji również usuwanie produktów przemiany materii [7]. Układ ten składa się z systemów okołotętniczego i okołozylowego, które są zależne od receptorów dla akwaporyny-4 (AQP4), a metabolity ostatecznie doprowadzane są do układu limfatycznego głowy. Układ odgrywa znaczącą rolę w przebiegu chorób neurodegeneracyjnych. Według ostatnich badań przestrzeń śródmiąższowa ulega poszerzeniu podczas snu, co zwiększa możliwości oczyszczenia płynu śródmiąższowego i PMR również z beta-amyloidu oraz białka tau [7,8].

### Etiologia wodogłowia

Przyczynami wodogłowia mogą być: nadmierna produkcja PMR (występuje rzadko, jest związana z obecnością brodawczaka splotu naczyniówkowego), upośledzenie jego przepływu lub zaburzenia wchłaniania [9].

Nieprawidłowości zaburzające resorpcję PMR najczęściej lokalizują się na poziomie ziarnistości pajęczynówki, np. w wyniku krwawienia podpajęczynówkowego lub zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych.

### Wodogłowie – nowy podział

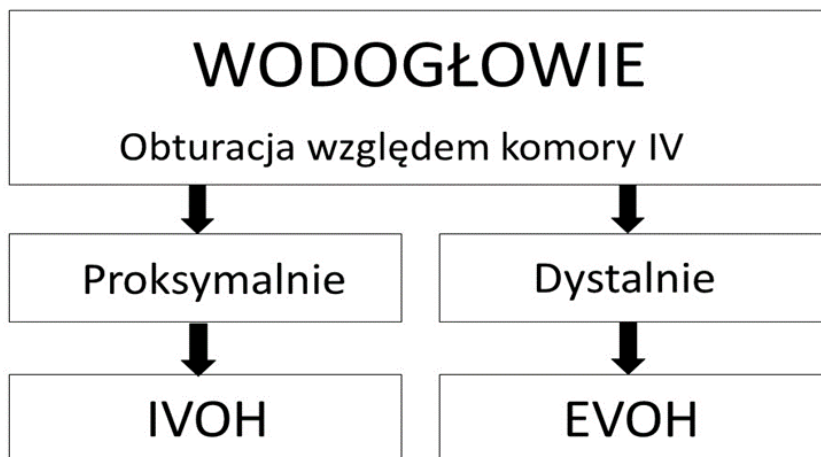
Wodogłowie definiuje się jako zwiększoną objętość PMR w układzie komorowym mózgu, prowadzącą do jego poszerzenia i zniekształcenia. Przyczyny tej patologii są różne, zarówno pierwotne, jak i wtórne, a mechanizmy jej powstania można podzielić na wynikające z zaburzeń przepływu, zaburzeń absorpcji czy nadprodukcji PMR [9].

Wodogłowie posiada wiele definicji i systemów klasyfikacji. Dawniej dzielono je na cztery główne typy: komunikujące, niekomunikujące, normotensyjne i *ex vacuo* [10]. Jedną z pierwszych i wiodących klasyfikacji była zaproponowana w 1919 r. przez Waltera Dandy'ego, dzieląca wodogłowie na dwa typy: komunikujące i niekomunikujące. Na przestrzeni lat powstało jednak wiele różnych podziałów. Różnorodność definicji wodogłowia była problematyczna, ponieważ stwarzała trudności w komunikacji między naukowcami i lekarzami różnych specjalizacji. Trudno było ocenić, czy pojawiające się opracowania i raporty dotyczyły tej samej patologii [10,11].

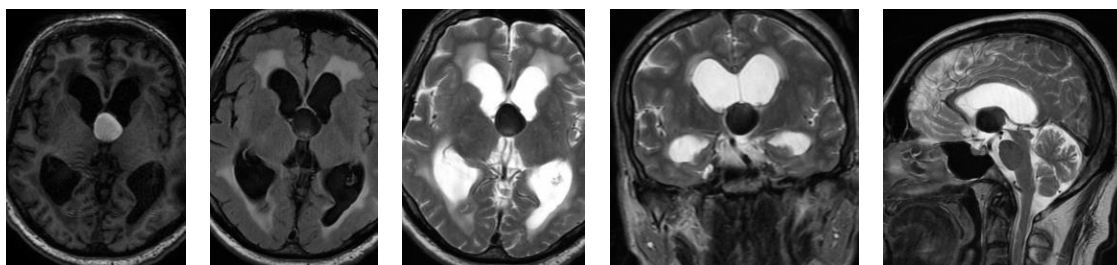


W ostatnim czasie wprowadzono podział na wewnątrzkomorowe/wewnętrzne wodogłowie obturacyjne (*intraventricular obstructive hydrocephalus* – IVOH) i pozakomorowe/zewnętrzne wodogłowie obturacyjne (*extraventricular obstructive hydrocephalus* – EVOH). Głównym kryterium tego podziału jest lokalizacja przyczyny zaburzenia krążenia PMR (ryc. 1). W przypadku IVOH przeszkoda utrudniająca przepływ PMR znajduje się proksymalnie do otworów komory IV. Przyczyną tego stanu mogą być m.in. torbiele (koloidowe, pajęczynówki itd.) zlokalizowane

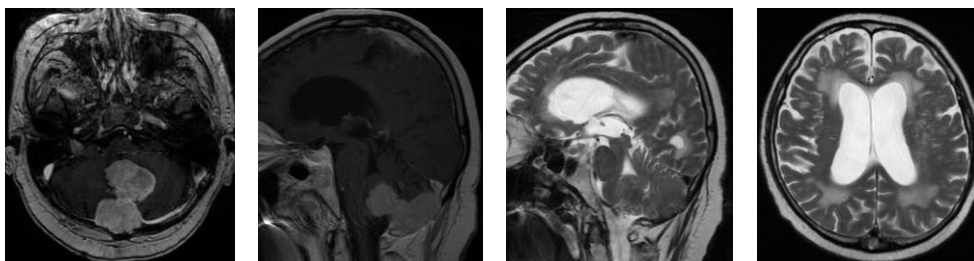
w topografii otworu Monro (ryc. 2) – mogące być również przyczyną jednostronnej wentrykulomegalii – zmiany rozrostowe (*ependymoma, subependymoma*), zrosty, a nawet infekcje (*meningitis, ventriculitis*). Do grupy tej zaliczane są również guzy tylnej jamy czaszki (ryc. 3) [12]. W przypadku EVOH przeszkoda zlokalizowana jest dystalnie od otworów komory IV. Przyczyną mogą być np. krwawienie podpajęczynówkowe, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, przerzuty (*leptomeningeal carcinomatosis*).



Ryc. 1. Schematyczny podział wodogłowia (na podstawie [10]).  
Fig. 1. Schematic classification of hydrocephalus (based on [10]).



Ryc. 2 (a, b, c, d, e). Torbiel koloidowa w topografii otworu Monro. U pacjenta doszło do poszerzenia układu komorowego z widocznym przesiękiem płynu mózgowo-rdzeniowego.  
Fig. 2 (a, b, c, d, e). Colloid cyst at level of foramen of Monro. Dilatation of ventricular system with visible cerebrospinal fluid leakage.



Ryc. 3 (a, b, c, d). Poszerzenie układu komorowego spowodowane patologiczną zmianą rozrostową w obrębie tylnej jamy czaszki.  
Fig. 3 (a, b, c, d). Dilatation of ventricular system due to pathological mass in posterior fossa.



## Metody obrazowe

Zadaniem lekarzy radiologów jest nie tylko stwierdzenie wodogłowa w obrazie radiologicznym, lecz także próba ustalenia jego przyczyny.

### Ultrasonografia

Ze względu na dużą dostępność i nieinwazyjność ultrasonografia (USG) jest badaniem przesiewowym powszechnie stosowanym, zgodnie z wytycznymi do oceny rozwoju płodu i wykrywania ewentualnych patologii rozwojowych. Jest również wykorzystywana w diagnostyce patologii u noworodków. Obrazowanie mózgu noworodka wykonuje się przez dostępne (do mniej więcej 12–18 miesiąca życia) okna akustyczne czaszki, czyli ciemiączka. Ze względu na techniczne ograniczenia metody może być konieczne poszerzenie diagnostyki z zastosowaniem rezonansu magnetycznego (*magnetic resonance imaging* – MRI) [13].

### Tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny

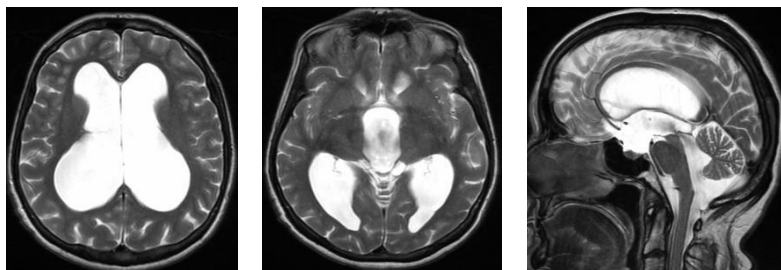
Do wstępnej oceny często wykonuje się tomografię komputerową (TK). Jest to metoda powszechnie dostępna, czas badania jest znacznie krótszy niż w przypadku MRI i często jest pierwszym wyborem w przypadku zaburzeń neurologicznych, zwłaszcza w trybie ostrego dyżuru. Należy jednak pamiętać, że MRI jest metodą z wyboru w przypadku wodogłowa, ponieważ umożliwia poszukiwanie przyczyn tego stanu.

Ciągły gwałtowny rozwój i coraz szersze zastosowanie MRI skutkuje opracowaniem wielu przydatnych technik umożliwiających ocenę krążenia PMR. Ruchome obrazy uzyskuje się dzięki nowej, specjalistycznej metodzie obrazowania za pomocą MRI z zastosowaniem kontrastu fazowego PC CINE MRI. Stosuje się ją przede wszystkim do oceny przepływu PMR, a także określania kierunku i prędkości przepływu.

### Obraz radiologiczny

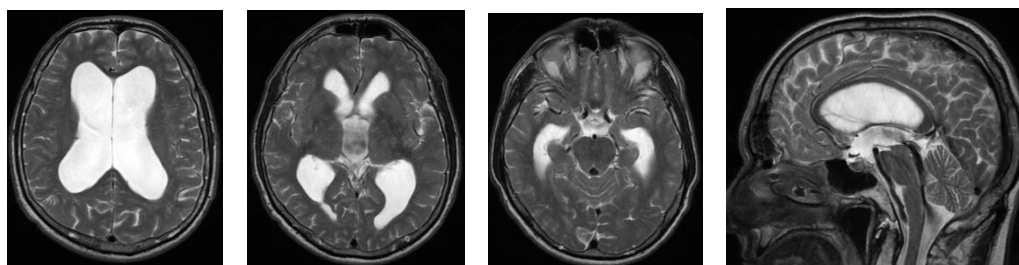
Najbardziej charakterystycznym radiologicznym objawem wodogłowa jest poszerzenie układu komorowego (ryc. 4), co w sposób obiektywny można ocenić, stosując wskaźnik Evansa (jest to stosunek szerokości rogów przednich komór bocznych do szerokości czaszki, a wartość prawidłowa nie powinna przekraczać 0,3) [14].

W razie znacznego poszerzenia układu komorowego może dojść do „ścięczenia” ciała modzelowatego (ryc. 5). Poza tym obserwuje się zmianę tzw. kąta ciała modzelowatego (*callosal angle*) ocenianego w obrazach w płaszczyźnie czołowej – jest to ważny wskaźnik ułatwiający różnicowanie wodogłowa od poszerzenia układu komorowego związanego z atrofią. W przypadku wodogłowa wartość wynosi około 40–90 stopni [14]. Innym ważnym objawem ocenianym w obrazach w płaszczyźnie czołowej jest tzw. *tight convexity*, czyli zaciśnięcie bruzd na sklepiści mózgowia [14].



Ryc. 4 (a, b, c). Poszerzenie i zniekształcenie układu komorowego nadnamiotowego z widocznym wpuklaniem się przestrzeni płynowej w obręb siodła tureckiego.

Fig. 4 (a, b, c). Widening and distortion of supratentorial ventricular system with visible penetration of fluid space into sella turcica.



Ryc. 5 (a, b, c, d). Znaczące poszerzenie i zniekształcenie układu komorowego nadnamiotowego. Obraz w płaszczyźnie strzałkowej przedstawia łukowato wygięte ciało modzelowate.

Fig. 5 (a, b, c, d). Significant widening and distortion of supratentorial ventricular system. Image in sagittal plane shows arched corpus callosum.



W niektórych przypadkach wodogłowie normotensyjnego (*normal pressure hydrocephalus* – NPH) można zaobserwować tzw. DESH (*disproportionately enlarged subarachnoid space hydrocephalus*), czyli nieproporcjonalne poszerzenie bruzd Sylwiusza z zaciśnięciem bruzd na sklepiści mózgowia [4,14,15].

W obrazowaniu za pomocą TK można zaobserwować zmiany okołokomorowo-hipodensyjne, natomiast w przypadku MRI w obrazowaniu T2-zależnym i FLAIR – hiperintensywne.

### Wodogłowie normotensyjne

Etiologia NPH u dorosłych nie jest jeszcze w pełni poznana. W badaniach wykazano związek między chorobami naczyń mózgowych a NPH. Warto podkreślić, że idiopatyczne wodogłowie normotensyjne (iNPH) jest potencjalnie odwracalną przyczyną demencji [12,14]. Wodogłowie normotensyjne to przewlekła i postępująca choroba, która powoduje obniżenie jakości życia chorego. Większość pacjentów z NPH to osoby powyżej 65 roku życia w momencie rozpoznania. Ze względu na trudności diagnostyczne i podobieństwo obrazu klinicznego do chorób neurodegeneracyjnych

pacjenci szukają pomocy u lekarzy różnych specjalizacji, co opóźnia rozpoznanie [14]. Charakterystyczny obraz radiologiczny współwystępuje z równie charakterystycznym zestawem objawów klinicznych, tzw. triadą Hakima, czyli nietrzymaniem moczu, ośpieniem i ataksją [2,10,11,14,15]. Dlatego współpraca neurologów i radiologów w postawieniu prawidłowego rozpoznania jest niezwykle ważna, a leczenie i monitorowanie pacjentów z NPH to zadanie interdyscyplinarnego zespołu lekarzy wielu specjalizacji [14].

### PODSUMOWANIE

Temat powstawania i krążenia PMR wciąż stanowi wyzwanie badawcze, a nowe koncepcje oczyszczenia płynu śródmiąższowego i PMR pozwalają spojrzeć pod innym kątem na zagadnienia związane z rozwojem chorób neurodegeneracyjnych. Dynamiczny rozwój nowych metod obrazowania oraz przejrzyste kryteria podziału wodogłowie wprowadzają nową jakość diagnostyki i postępowania klinicznego u pacjentów z wodogłowiem.

### Author's contribution

Study design – E. Kluczevska, M. Marek

Data collection – M. Marek

Manuscript preparation – A.A. Macionga, K. Szopińska, M. Marek

Literature research – A.A. Macionga, K. Szopińska

Final approval of the version to be published – E. Kluczevska

### PIŚMIENNICTWO

1. Shapey J., Toma A., Saeed S.R. Physiology of cerebrospinal fluid circulation. *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2019; 27(5): 326–333, doi: 10.1097/MOO.0000000000000576.
2. Filis A.K., Aghayev K., Vrionis F.D. Cerebrospinal fluid and hydrocephalus: physiology, diagnosis, and treatment. *Cancer Control* 2017; 24(1): 6–8, doi: 10.1177/107327481702400102.
3. Sakka L., Coll G., Chazal J. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *Eur. Ann. Otorhinolaryngol. Head Neck Dis.* 2011; 128(6): 309–316, doi: 10.1016/j.anorl.2011.03.002.
4. Graff-Radford N.R., Jones D.T. Normal pressure hydrocephalus. *Continuum (Minneapolis, Minn.)* 2019; 25(1): 165–186, doi: 10.1212/CON.0000000000000689.
5. Algin O., Hakyemez B., Parlak M. The efficiency of PC-MRI in diagnosis of normal pressure hydrocephalus and prediction of shunt response. *Acad. Radiol.* 2010; 17(2): 181–187, doi: 10.1016/j.acra.2009.08.011.
6. Langner S., Fleck S., Baldauf J., Mensel B., Kühn J.P., Kirsch M. Diagnosis and differential diagnosis of hydrocephalus in adults. *Rofo* 2017; 189(8): 728–739, doi: 10.1055/s-0043-108550.
7. Jiang Q. MRI and glymphatic system. *Stroke Vasc. Neurol.* 2019; 4(2): 75–77, doi: 10.1136/svn-2018-000197.
8. Mestre H., Mori Y., Nedergaard M. The brain's glymphatic system: current controversies. *Trends Neurosci.* 2020; 43(7): 458–466, doi: 10.1016/j.tins.2020.04.003.
9. Kahle K.T., Kulkarni A.V., Limbrick D.D. Jr, Warf B.C. Hydrocephalus in children. *Lancet* 2016; 387(10020): 788–799, doi: 10.1016/S0140-6736(15)60694-8.
10. Tully H.M., Dobyns W.B. Infantile hydrocephalus: a review of epidemiology, classification and causes. *Eur. J. Med. Genet.* 2014; 57(8): 359–368, doi: 10.1016/j.ejmg.2014.06.002.
11. Agarwal A., Bathla G., Kanekar S. Imaging of communicating hydrocephalus. *Semin. Ultrasound CT MR* 2016; 37(2): 100–108, doi: 10.1053/j.sult.2016.02.007.
12. Wang K.W., Chang W.N., Chang H.W., Wang H.C., Lu C.H. Clinical relevance of hydrocephalus in bacterial meningitis in adults. *Surg. Neurol.* 2005; 64(1): 61–65, discussion 66, doi: 10.1016/j.surneu.2004.10.009.
13. Wright Z., Larrew T.W., Eskandari R. Pediatric hydrocephalus: current state of diagnosis and treatment. *Pediatr. Rev.* 2016; 37(11): 478–490, doi: 10.1542/pir.2015-0134.
14. M. Das J., Biagioni M.C. Normal pressure hydrocephalus. [Updated 2022 Jun 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.
15. Gavrilo G.V., Gaydar B.V., Svistov D.V., Korovin A.E., Samarcev I.N., Churilov L.P., Tovpeko D.V. Idiopathic normal pressure hydrocephalus (Hakim-Adams syndrome): clinical symptoms, diagnosis and treatment. *Psychiatr. Danub.* 2019; 31(Suppl 5): 737–744.



# Rola stresu oksydacyjnego w cukrzycy ciążowej

## The role of oxidative stress in gestational diabetes

Kamila Stopińska , Adrianna Marzec 

Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / Department of Gynaecology, Obstetrics and Oncological Gynaecology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### STRESZCZENIE

Cukrzyca ciążowa (*gestational diabetes mellitus* – GDM) jest jedną z najczęstszych chorób prowadzących do powikłań w trakcie ciąży. Zauważono, że GDM towarzyszy nasilenie stresu oksydacyjnego. Celem niniejszej pracy jest podsumowanie stanu wiedzy na temat wpływu stresu oksydacyjnego na występowanie i przebieg GDM oraz jej odległe skutki. Przegląd ma także na celu sprawdzenie potencjalnych implikacji klinicznych związanych z GDM. Przeszukano bazy danych takie jak Pubmed, Scopus i Google Scholar. Artykuły wyszukiwano m.in. z użyciem fraz „gestational diabetes mellitus” i „oxidative stress”. Wykazano istotnie wyższy poziom stresu oksydacyjnego u kobiet z GDM, zarówno we krwi, jak i w łożysku. Stres oksydacyjny może być ściśle związany z patogenezą GDM. Ze względu na istotną rolę stresu oksydacyjnego w patofizjologii GDM wiele badań skupia się na poszukiwaniu substancji, które mogą zmniejszyć stężenie prooksydantów i zwiększyć udział antyoksydantów, tym samym poprawiając potencjał oksydacyjny. Stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w patogenezie i patofizjologii GDM. Ponieważ jest to choroba, która może prowadzić do wielu powikłań zarówno u matki, jak i u płodu, jej wczesne wykrycie i skuteczne leczenie wymaga szczególnej uwagi. Ocena możliwości zastosowania parametrów stresu oksydacyjnego jako biomarkerów do wczesnego wykrywania GDM wymaga dalszych szczegółowych badań.

### SŁOWA KLUCZOWE

stres oksydacyjny, reaktywne formy tlenu, cukrzyca ciążowa

### ABSTRACT

Gestational diabetes mellitus (GDM) is one of the most common diseases that leads to complications during pregnancy. It has been noticed that GDM is accompanied by an increase in oxidative stress. The aim of this study is to summarize the state of knowledge on the influence of oxidative stress on the occurrence and course of gestational diabetes as well as its long-term effects. This review also aims to examine the potential clinical implications of GDM. Databases such as Pubmed, Scopus, and Google Scholar were searched. Articles were searched for using the phrases “gestational diabetes

Received: 26.09.2022

Revised: 26.10.2022

Accepted: 30.10.2022

Published online: 21.02.2023

Adres do korespondencji: Kamila Stopińska, Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Batorego 15, 41-902 Bytom, tel. +48 32 786 15 40, e-mail: klingin1@interia.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach





mellitus” and “oxidative stress”. A significantly higher level of oxidative stress was found in women with GDM, both in the blood and in the placenta. Oxidative stress may be closely related to the pathogenesis of GDM. Due to the important role of oxidative stress in the pathophysiology of GDM, many studies have focused on finding substances that can reduce the concentration of prooxidants and increase the proportion of antioxidants, thereby improving the oxidative potential. Oxidative stress plays a key role in the pathogenesis and pathophysiology of GDM. As it is a disease that can lead to a number of complications for both the mother and the fetus, its early detection and effective treatment require special attention. Further detailed research is required to evaluate the possibility of using the parameters of oxidative stress as biomarkers for the early detection of GDM.

#### KEY WORDS

oxidative stress, reactive oxygen species, gestational diabetes mellitus

## WPROWADZENIE

Cukrzyca ciążowa (*gestational diabetes mellitus* – GDM) definiowana jest przez Światową Organizację Zdrowia jako hiperglikemia spowodowana nietolerancją węglowodanów, stwierdzoną po raz pierwszy w czasie trwania ciąży i z wyłączeniem pacjentek spełniających kryteria cukrzycy typu 2 (*type 2 diabetes mellitus* – T2DM) [1]. To jedno z najczęstszych schorzeń występujących w ciąży, którego częstość występowania rośnie wraz ze wzrostem odsetka kobiet zachodzących w ciążę w wieku powyżej 40. roku życia, ma też związek z otyłością i brakiem aktywności fizycznej u matek [2]. Częstość występowania GDM w populacjach różni się w zależności od pochodzenia, wskaźnika masy ciała (*body mass index* – BMI) oraz zastosowanych badań przesiewowych i diagnostycznych [3]. Cukrzyca ciążowa wiąże się ze zwiększonym ryzykiem krótko- i długoterminowych negatywnych skutków zdrowotnych u matki i dziecka [2]. Leczenie GDM prowadzi do zmniejszenia ryzyka stanu przedrzucawkowego, dystocji barkowej i makrosomii. Jednak dotychczasowe dowody nie wykazują ani wpływu na hipoglikemię noworodków, ani na przyszłe, słabe wyniki metaboliczne. Nie odnaleziono także dowodów na krótkotrwałe szkody związane z leczeniem GDM [4].

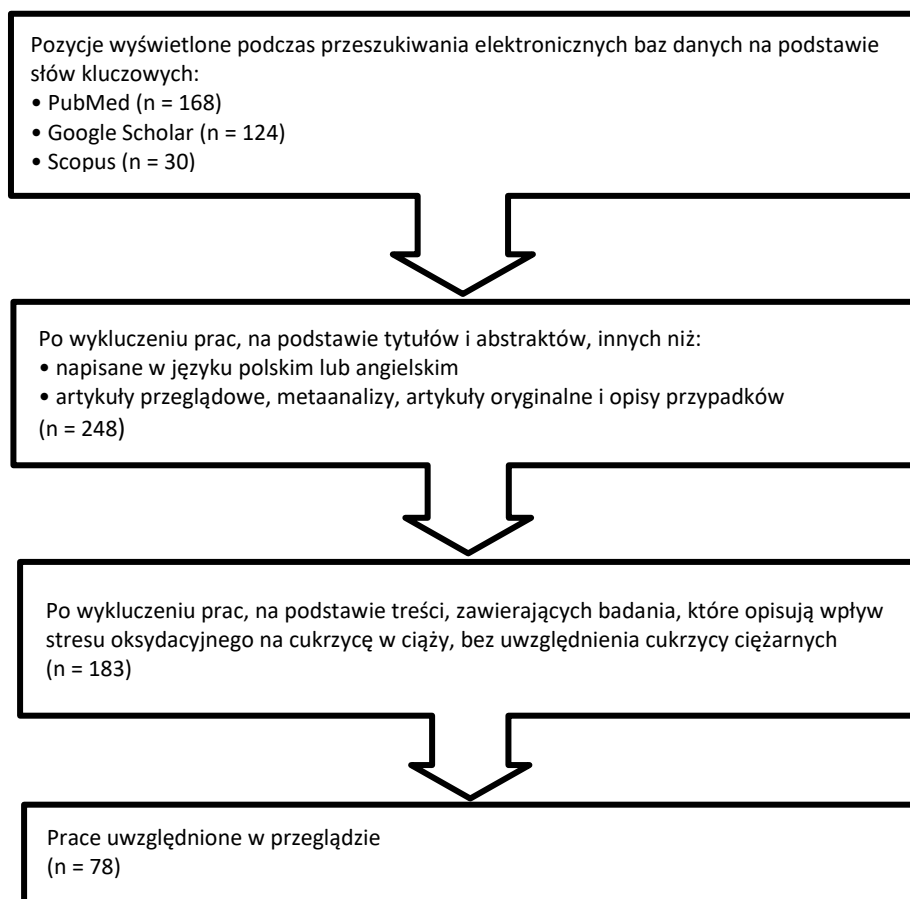
Cukrzyca ciążowa predysponuje do zachorowania na T2DM w przyszłości [5]. Charakteryzuje się zwiększeniem poziomu glikemii we krwi spowodowanym niezdolnością do odpowiedniej reakcji na zwiększone zapotrzebowanie na insulinę w ciąży [6]. W pewnych warunkach równowaga oksydacyjna i antyoksydacyjna przesuwa się w kierunku stanu oksydacyjnego, prowadząc do stanu zwanego stresem oksydacyjnym [7]. Stres oksydacyjny jest definiowany jako brak równowagi pomiędzy zwiększonym poziomem reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species* – ROS) a niską aktywnością mechanizmów antyoksydacyjnych. Zwiększony stres oksydacyjny może wpłynąć na uszkodzenie struktury komórkowej i potencjalnie zniszczyć tkanki. Stres oksydacyjny występuje wtedy, gdy system antyoksydacyjny organizmu zostaje

zaburzony wskutek nadmiaru ROS – wysoce reaktywnych cząsteczek, które są niestabilne i krótkotrwałe. Należy jednak zwrócić uwagę, że ROS są potrzebne do prawidłowego funkcjonowania komórki [8]. Cząsteczki te przyczyniają się do kontroli szlaków sygnałowych, a także procesów komórkowych i fizjologicznych [9]. Stres oksydacyjny wiąże się z wieloma chorobami, włącznie ze schorzeniami występującymi w ciąży [10,11]. Ciąża predysponuje do nasilenia stresu oksydacyjnego w związku z zachodzącymi podczas niej zmianami w układzie immunologicznym, co skutkuje zwiększeniem ilości ROS [10]. Uważa się, że łożysko jest głównym miejscem powstawania ROS podczas ciąży [11]. Stres oksydacyjny jest wyraźnie powiązany z T2DM, jednak dane dotyczące udziału stresu oksydacyjnego w GDM, chorobie o podobnej patofizjologii, są ograniczone [10]. Hiperglikemia może powodować stres oksydacyjny w łożysku [12].

Celem niniejszej pracy jest podsumowanie dotychczasowego stanu wiedzy na temat wpływu stresu oksydacyjnego na występowanie GDM, jej przebieg i odległe powikłania. Podjęto również próbę oceny implikacji klinicznych związanych ze stresem oksydacyjnym w GDM.

## MATERIAŁ I METODYKA

Do analizy wykorzystano bazy danych PubMed, Scopus i Google Scholar. Do wyszukiwania artykułów użyto haseł: „gestational diabetes”, „gestational diabetes mellitus”, „oxidative stress”, „oxidative stress diabetes mellitus”. Po analizie tytułów i abstraktów wykluczono prace, które nie dotyczyły bezpośrednio GDM i stresu oksydacyjnego w ciąży. Wykluczono również badania opisujące wpływ stresu oksydacyjnego na cukrzycę w ciąży, bez uwzględnienia cukrzycy ciężarnych oraz artykuły opublikowane w językach innych niż polski lub angielski. Do analizy zostały włączone artykuły przeglądowe, metaanalizy, artykuły oryginalne i opisy przypadków (ryc. 1). W przeglądzie wykorzystano także oficjalne strony internetowe organizacji i stowarzyszeń medycznych.



Ryc. 1. Diagram przepływu selekcjonowanej literatury.  
Fig. 1. Flow diagram of selected literature.

## OMÓWIENIE

### Stres oksydacyjny

Stres oksydacyjny wynika z braku równowagi między prooksydantami (utleniaczami) i antyoksydantami (przeciwutleniaczami) w komórce. Prooksydanty to reaktywne formy tlenu (ROS), które mogą być wolnymi rodnikami lub nierodnikowymi pochodnymi tlenu [10,11]. Choć w biologii i medycynie ROS jest szeroko stosowanym terminem do opisywania reaktywnych form zawierających tlen, w literaturze istnieją również inne terminy, które obejmują reaktywne metabolity tlenu (*reactive oxygen metabolites* – ROM), reaktywne związki pośrednie tlenu (*reactive oxygen intermediates* – ROI) i rodniki tlenowe [13]. Do ROS można zaliczyć: anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^-$ ), rodnik wodoronadtlenkowy ( $HO_2^{\cdot}$ ), rodnik hydroksylowy ( $HO^{\cdot}$ ), nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ), tlen singletowy ( $^1O_2$ ), peroksydazę lipidową (LOOH), peroksydazę glutationową (*glutathione peroxidase* – GPx) i ozon ( $O_3$ ) [14]. W tabeli I przedstawiono opisywane w literaturze reaktywne formy tlenu wraz ze wzorami.

Dowodzono, że u kobiet z GDM dochodzi do zwiększonej produkcji wolnych rodników, a prooksydanty powodują dysfunkcję śródbłonna z powodu zwiększonej produkcji cytotoksycznego stresu oksydacyjnego [11,15]. Źródłem ROS w komórce są mitochondria. Wykazano, że ekspresja białek związanych z dysfunkcją mitochondriów jest zwiększona u kobiet z GDM [16].

Tabela I. Reaktywne formy tlenu  
Table I. Reactive oxygen species

Wzór	Pełna nazwa
wolne rodniki	
$O_2^-$	rodnik ponadtlenkowy
HO	rodnik hydroksylowy
$^1O_2$	tlen singletowy
HOO	rodnik wodoronadtlenkowy
LOO	rodnik nadtlenkowy
LO	rodnik alkoksylowy
NO	tlenek azotu
reaktywne formy tlenu	
$H_2O_2$	nadtlenek wodoru
LOOH	wodoronadtlenek lipidowy
ClO-	jon podchlorynowy



## Pomiar ROS

Z definicji ROS są wysoce reaktywne i dlatego trudno je zmierzyć w jakiegokolwiek próbie biologicznej, szczególnie zaś w łatwo dostępnych materiałach biologicznych, takich jak surowica czy osocze [17]. Pomiaru poszczególnych parametrów stresu oksydacyjnego można dokonać za pomocą bezpośredniego pomiaru poziomu ROS, wykrywania powstałych uszkodzeń oksydacyjnych biomolekuł (DNA, lipidów i białek) oraz określenia statusu antyoksydacyjnego (enzymatyczna aktywność antyoksydacyjna, nieenzymatyczna aktywność antyoksydacyjna lub całkowita pojemność antyoksydacyjna) [17]. Całkowita pojemność antyoksydacyjna (*total antioxidant capacity* – TAC) uwzględnia skumulowane działanie wszystkich przeciwutleniających obecnych w osoczu i płynach ustrojowych, zapewniając w ten sposób zintegrowany parametr mierzalnych przeciwutleniających. Całkowita pojemność antyoksydacyjna odnosi się do pełnego spektrum aktywności przeciwutleniającej wobec różnych reaktywnych rodników tlenowych/azotowych [18]. Całkowity status oksydacyjny (*total oxidant status* – TOS) i TAC mają większą wartość niż ocena jednej części tych układów i wykazują dobrą korelację z innymi markerami stresu oksydacyjnego [7]. Całkowita pojemność antyoksydacyjna jest metodą często używaną do oceny stanu antyoksydacyjnego próbek biologicznych i pozwala ocenić odpowiedź antyoksydacyjną przeciwko wolnym rodnikom wytwarzanym w danej chorobie [18].

## Rozpoznanie GDM

Hiperglikemia wykryta po raz pierwszy w czasie ciąży może być sklasyfikowana jako cukrzyca w ciąży lub GDM [1]. Kryteria rozpoznania GDM na podstawie badania OGTT (*oral glucose tolerance test*) z użyciem 75 g glukozy obejmują:

- 1) glikemię na czczo 5,1–6,9 mmol/l (92–125 mg/dl),
- 2) glikemię w 1 h OGTT  $\geq 10$  mmol/l (180 mg/dl),
- 3) glikemię w 2 h OGTT 8,5–11,0 mmol/l (153–199 mg/dl).

Do ustalenia rozpoznania wystarczy spełnienie jednego z tych kryteriów [1].

## Czynniki ryzyka GDM

Do czynników ryzyka GDM należą: ciąża po 35. roku życia, urodzenie dziecka o masie powyżej 4 kg lub z wadą rozwojową, zgon wewnątrzmaciczny w wywiadzie, nadciśnienie tętnicze lub BMI  $> 27$  kg/m<sup>2</sup> przed ciążą, wywiad rodzinny w kierunku T2DM, przebyta GDM, wielorództwo [1,2,5]. U kobiet z grupy wysokiego ryzyka zalecane jest jak najwcześniejsze wykonanie OGTT [19].

## Etiopatogeneza GDM

Cukrzycą ciążową nazywa się nietolerancję węglowodanów, prowadzącą do hiperglikemii o różnym nasi-

leniu z początkiem lub pierwszym rozpoznaniem w czasie ciąży. Głównym czynnikiem patogennym w GDM może być nieprawidłowe wydzielanie insuliny [5]. Podczas ciąży fizjologicznej w metabolizmie glukozy dochodzi do zmian, które mają ułatwić zaopatrzenie w substancje odżywcze rozwijający się płód. Badania wskazują, że u zdrowych kobiet w trzecim tryestrze ciąży wrażliwość na insulinę spada o 56%, a endogenna produkcja glukozy zwiększa się o 30% [6,20]. U kobiet z prawidłową tolerancją glukozy komórki beta trzustki dostosowują się do zachodzących w organizmie zmian przez zwiększenie wytwarzania insuliny [6]. Dysfunkcja komórek beta trzustki może być spowodowana autoimmunologicznym zniszczeniem komórek beta w wyniku obecności we krwi przeciwciał przeciwko wysepkom i antygenom komórek beta. Podobny stan można zaobserwować w cukrzycy typu 1 [13]. Podejrzewa się, że na rozwój GDM może mieć wpływ reakcja zapalna i związana z nią zwiększona sekrecja cytokin [21].

## Stres oksydacyjny w GDM

Badacze z Uniwersytetu w Melbourne przeprowadzili badania, których celem było zbadanie łożyskowego stresu oksydacyjnego u zdrowych kobiet w ciąży i kobiet z GDM [22]. Badana hipoteza zakładała, że stężenie markerów tkankowych stresu oksydacyjnego jest znacznie zwiększone w GDM w porównaniu z normalnymi tkankami łożyska. Mierzono aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (*superoxide dismutase* – SOD; zarówno SOD zawierającej miedź oraz cynk (CuZn-SOD), jak i SOD zawierającej mangan (Mn-SOD)) i GPx (n = 10). Aktywność SOD była podwyższona w łożyskach uzyskanych od kobiet z GDM (P < 0,04), podczas gdy nie było istotnej różnicy w aktywności GPx. Dane wykazują obecność stresu oksydacyjnego w łożysku kobiet z GDM. W badaniu tym wzrost stresu oksydacyjnego w GDM nie wydaje się wtórny do niedoboru systemów obronnych enzymów antyoksydacyjnych, ale może być spowodowany zaburzoną kontrolą glikemii.

Zaobserwowano, że łożysko w GDM charakteryzuje się zwiększoną ekspresją genów antyoksydacyjnych i jest mniej wrażliwe na egzogenny stres oksydacyjny niż tkanki uzyskane od zdrowych kobiet w ciąży. Może się to wiązać z mechanizmem ochronnym lub adaptacyjnym zapobiegającym wewnątrzmacicznym uszkodzeniom spowodowanym stresem oksydacyjnym, co sugeruje zwiększona ekspresja antyoksydantów w tkankach. Otrzymane dane potwierdzają hipotezę, że łożysko kobiet z GDM wykazuje zmniejszoną zdolność reagowania na stres oksydacyjny. Osłabiona odpowiedź łożyska kobiet z GDM na stres oksydacyjny może być konsekwencją zwiększonej ekspresji genów enzymów antyoksydacyjnych [23].

Ponadto wykazano, że u kobiet z GDM zwiększone jest stężenie nie tylko markerów stresu oksydacyjnego



(8-iso-prostaglandyna F<sub>2</sub> α), lecz także białek prozapalnych (*tumor necrosis factor alpha* – TNF-α), natomiast obniżeniu ulega poziom cytokin przeciwzapalnych (*interleukin 10* – IL-10) [24]. Jednak poziomy tych biomarkerów we krwi pępowinowej były porównywalne w obu grupach, co sugeruje, że dobrze kontrolowana GDM prawdopodobnie nie wpływa na stan oksydacyjny płodu lub noworodka [24].

### Substancje potencjalnie zmniejszające poziom stresu oksydacyjnego u kobiet z GDM

Ze względu na poważne implikacje kliniczne, jakie niesie za sobą GDM, intensywnie poszukiwane są substancje mogące obniżyć poziom markerów stresu oksydacyjnego u pacjentek z GDM. Tetrametylopirazyna to substancja hamująca stan zapalny indukowany hiperглиkemią. Ponieważ oba te procesy są ściśle powiązane z GDM, tetrametylopirazyna jest badana z uwagi na możliwość zastosowania w leczeniu GDM. Badanie przeprowadzone na mysim modelu GDM wykazało zmniejszenie hiperglykემii, hiperinsulinemii, redukcję poziomu dialdehydu malonowego (*malondialdehyde* – MDA) oraz wzrost stężenia substancji o działaniu antyoksydacyjnym – SOD oraz GPx. Ponadto tetrametylopirazyna poprawiała profil lipidowy u ciężarnych myszy – zmniejszyła stężenie cholesterolu całkowitego, frakcji lipoprotein o małej gęstości (*low density lipoprotein* – LDL), triacylogliceroli, natomiast zwiększyła stężenie lipoprotein o dużej gęstości (*high density lipoprotein* – HDL) [25]. Z kolei astragalozyd IV (AS-IV) to substancja pozyskiwana z traganika błoniastego o udowodnionych właściwościach przeciwzapalnych, immunomodulujących i przeciwutleniających. Udowodniono pozytywny wpływ suplementacji AS-IV w mysim modelu GDM. Znacząco obniżał on u zwierząt hiperglykemię, insulinooporność, łóżyskowy poziom stresu oksydacyjnego, wydzielanie cytokin prozapalnych (w tym ekspresję genu IL-6), produkcję TNF-α, aktywację szlaku TLR4/NF-κB (*toll-like receptor 4/nuclear factor kappa B*) oraz glukoneogenezę wątrobową [26,27]. Wykazano również, że u ciężarnych z GDM poziom magnezu, cynku, wapnia i witaminy D jest istotnie niższy niż u zdrowych ciężarnych. W randomizowanym badaniu kontrolnym Jamilian i wsp. [28] udowodniono, że 6-tygodniowa równoczesna suplementacja magnezem, cynkiem, wapniem oraz witaminą D u kobiet z GDM prowadzi do istotnego zwiększenia stężenia antyoksydantów we krwi ( $p = 0,02$ ), a także tendencji malejącej dotyczącej masy ciała noworodków oraz występowaniu makrosomii ( $p = 0,08$ ) w porównaniu z grupą kontrolną. Suplementacja magnezem, cynkiem, wapniem i witaminą D spowodowała istotne zmniejszenie poziomu FPG (*fasting plasma glucose*;  $p = 0,008$ ) i stężenia hs-CRP (*high sensitivity C-reactive protein*;  $p = 0,01$ ) w surowicy oraz stężenia MDA w osoczu ( $p = 0,003$ ), a także znaczący wzrost poziomu TAC ( $p = 0,01$ ) w porównaniu z pla-

cebo. Badanie to wykazało, że 6-tygodniowe jednoczesne podawanie magnezu, cynku, wapnia i witaminy D kobietom z GDM łagodziło stan zapalny i stres oksydacyjny poprzez zmniejszenie stężenia hs-CRP w surowicy, całkowitego stężenia azotynów w osoczu i MDA oraz wzrost poziomu TAC.

W randomizowanym badaniu kontrolnym Hajifaraji i wsp. [29] badano wpływ 8-tygodniowej suplementacji probiotykami (zawierającymi cztery szczepy bakterii: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*) na stężenie wybranych markerów w osoczu pacjentek z GDM. W porównaniu z grupą kontrolną zaobserwowano zmniejszenie stężenia CRP i TNF-α oraz zwiększenie stężenia MDA, reduktazy glutationowej i GPx. W porównaniu z grupą kontrolną stężenie IL-6 po suplementacji probiotykiem w grupie badanej uległo zmniejszeniu; nie zanotowano istotnych różnic między grupą badaną i kontrolną.

Metaanaliza Okesene-Gafy i wsp. [30] wskazuje na niską jakość danych z badań oceniających znaczenie suplementacji probiotykami u kobiet z GDM, wskazując konieczność przeprowadzenia dobrze zaplanowanych badań klinicznych w celu oceny wpływu probiotyków na leczenie, jak również rokowanie ciężarnych oraz noworodków z cięż powikłanych GDM. Metaanaliza Chatzakisa i wsp. [31] potwierdziła przewagę suplementacji probiotykami, kwasami omega-3 i witaminą E jeśli chodzi o zwiększenie poziomu TAC osocza ciężarnych oraz przewagę suplementacji witaminą D, wapniem, kwasami omega-3, witaminą E, cynkiem oraz probiotykami jeśli chodzi o zmniejszenie stężenia MDA (markera stresu oksydacyjnego) w porównaniu z brakiem interwencji lub placebo. Metaanaliza obejmowała 16 badań z łącznym udziałem 1173 ciężarnych z rozpoznaniem GDM. Przeprowadzono metaanalizę sieciową randomizowanych badań kontrolnych, porównując zmiany w TAC i zmiany stężenia MDA po różnych interwencjach terapeutycznych z suplementami diety u ciężarnych z GDM.

### Implikacje kliniczne związane ze stresem oksydacyjnym w GDM

Badanie Zhou i wsp. [32] wykazało, że noworodki urodzone z cięż powikłanych GDM mają istotnie wyższe TOS, TAC oraz stężenie MDA w surowicy. Udowodniono, że w GDM stężenie MDA negatywnie koreluje z masą ciała pacjentek sprzed ciąży, podczas gdy poziom SOD jest pozytywnie związany z masą noworodków oraz porodem przedwczesnym [33]. Wysoki poziom stresu oksydacyjnego u ciężarnych z GDM może się także wiązać z większym ryzykiem zaburzeń funkcji lewej komory u płodów [34]. Ponadto wykazano, że wysoki poziom MDA i niski SOD, glutationu oraz aktywności antyoksydacyjnej osocza to niezależne czynniki ryzyka powikłań w czasie ciąży [35]. W GDM poziom markerów stresu oksydacyjnego może także



dotąd korelować z poziomem adipokin we krwi ciążarnych, natomiast ujemnie ze wskaźnikiem HOMA-IR (*homeostatic model assessment for insulin resistance*) i masą urodzeniową noworodków [36]. Inne badania sugerują natomiast, że poziom markerów stresu oksydacyjnego nie jest związany ze zwiększeniem ryzyka komplikacji okołoporodowych u matki oraz noworodka, jak również odległych powikłań [24].

## PODSUMOWANIE

Przegląd badań wykazał, że u kobiet z hiperglikemią wykrytą w trakcie ciąży występuje większe ryzyko powikłań ciążowych, takich jak makrosomia płodu czy stan przedrzucawkowy. Leczenie GDM w skuteczny sposób zmniejsza ryzyko dystocji barkowej, makrosomii płodu, stanu przedrzucawkowego oraz nadciśnienia tętniczego indukowanego ciążą.

Stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w patogenezie i patofizjologii GDM. Istnieją dowody wskazujące

na jego udział w inicjacji oraz progresji tego zaburzenia. Czynniki, które prowadzą do produkcji ROS, powinny być dalej badane, mogą też być wykorzystane jako potencjalne biomarkery do wczesnego wykrywania stresu oksydacyjnego w ciąży ze względu na potwierdzone w wielu badaniach istotne zwiększenie ich poziomu u ciężarnych z GDM. Wczesna diagnostyka GDM z użyciem markerów stresu oksydacyjnego może znacząco przyczynić się do ograniczenia powikłań ciążowych związanych z tą jednostką chorobową.

Dalsze badania oceniające mechanizmy, które łączą stres oksydacyjny z występowaniem GDM, są konieczne dla lepszego zrozumienia tego zaburzenia, a także opracowania nowych strategii profilaktycznych i terapeutycznych. Ważne, aby zdać sobie sprawę, że stres oksydacyjny jest zjawiskiem złożonym, przez co trudnym do scharakteryzowania. Sprawdzenie dokładnych zależności między poziomem poszczególnych parametrów stresu oksydacyjnego we krwi pacjentek ciężarnych może służyć określeniu ryzyka GDM, co w konsekwencji pozwoliłoby ograniczyć odległe skutki choroby.

### Author's contribution

Study design – K. Stopińska

Data collection – K. Stopińska, A. Marzec

Manuscript preparation – K. Stopińska, A. Marzec

Literature research – K. Stopińska, A. Marzec

Final approval of the version to be published – K. Stopińska, A. Marzec

## PIŚMIENNICTWO

1. Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: a World Health Organization Guideline. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2014; 103(3): 341–363, doi: 10.1016/j.diabres.2013.10.012.
2. Farrar D. Hyperglycemia in pregnancy: prevalence, impact, and management challenges. *Int. J. Womens Health* 2016; 8: 519–527, doi: 10.2147/IJWH.S102117.
3. Farrar D., Fairley L., Santorelli G., Tuffnell D., Sheldon T.A., Wright J. i wsp. Association between hyperglycaemia and adverse perinatal outcomes in south Asian and white British women: analysis of data from the Born in Bradford cohort. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015; 3(10): 795–804, doi: 10.1016/S2213-8587(15)00255-7.
4. Hartling L., Dryden D.M., Guthrie A., Muise M., Vandermeer B., Donovan L. Benefits and harms of treating gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force and the National Institutes of Health Office of Medical Applications of Research. *Ann. Intern. Med.* 2013; 159(2): 123–129, doi: 10.7326/0003-4819-159-2-201307160-00661.
5. Tamás G., Kerényi Z. Gestational diabetes: current aspects on pathogenesis and treatment. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 2001; 109 Suppl 2: S400–411, doi: 10.1055/s-2001-18598.
6. Catalano P.M., Tyzbit E.D., Roman N.M., Amini S.B., Sims E.A. Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 165(6 Pt 1): 1667–1672, doi: 10.1016/0002-9378(91)90012-G.
7. Dundaroz R., Erenberk U., Turel O., Demir A.D., Ozkaya E., Erel O. Oxidative and antioxidative status of children with acute bronchiolitis. *J. Pediatr. (Rio J)* 2013; 89(4): 407–411, doi: 10.1016/j.jpeds.2012.12.001.
8. Preiser J.C. Oxidative stress. *J. Parenter. Enteral Nutr.* 2012; 36(2): 147–154, doi: 10.1177/0148607111434963.
9. Hussain T., Murtaza G., Metwally E., Kalhor D.H., Kalhor M.S., Rahu B.A. i wsp. The role of oxidative stress and antioxidant balance in pregnancy. *Mediators Inflamm.* 2021; 2021: 9962860, doi: 10.1155/2021/9962860.
10. Phoswa W.N., Khaliq O.P. The role of oxidative stress in hypertensive disorders of pregnancy (preeclampsia, gestational hypertension) and metabolic disorder of pregnancy (gestational diabetes mellitus). *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021; 2021: 5581570, doi: 10.1155/2021/5581570.
11. Burton G.J., Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2011; 25(3): 287–299, doi: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016.
12. Aouache R., Biquard L., Vaiman D., Miralles F. Oxidative stress in preeclampsia and placental diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(5): doi: 10.3390/ijms19051496.
13. Buchanan T.A., Xiang A.H. Gestational diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 2005; 115(3): 485–491, doi: 10.1172/JCI24531.
14. Li R., Jia Z., Trush M.A. Defining ROS in biology and medicine. *React. Oxyg. Species (Apex)* 2016; 1(1): 9–21, doi: 10.20455/ros.2016.803.
15. Nita M., Grzybowski A. The role of the reactive oxygen species and oxidative stress in the pathomechanism of the age-related ocular diseases and other pathologies of the anterior and posterior eye segments in adults. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016; 2016: 3164734, doi: 10.1155/2016/3164734.
16. Huang T.T., Sun W.J., Liu H.Y., Ma H.L., Cui B.X. p66Shc-mediated oxidative stress is involved in gestational diabetes mellitus. *World J. Diabetes* 2021; 12(11): 1894–1907, doi: 10.4239/wjcd.v12.i11.1894.
17. Stephens J.W., Khanolkar M.P., Bain S.C. The biological relevance and measurement of plasma markers of oxidative stress in diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2009; 202(2): 321–329, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.006.
18. Rubio C.P., Hernández-Ruiz J., Martínez-Subiela S., Tvarijonavičiute A., Ceron J.J. Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC Vet. Res.* 2016; 12(1): 166, doi: 10.1186/s12917-016-0792-7.
19. Johns E.C., Denison F.C., Norman J.E., Reynolds R.M. Gestational diabetes mellitus: mechanisms, treatment, and complications. *Trends Endocrinol. Metab.* 2018; 29(11): 743–754, doi: 10.1016/j.tem.2018.09.004.
20. Catalano P.M., Tyzbit E.D., Wolfe R.R., Calles J., Roman N.M., Amini S.B., Sims E.A. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects



- and women with gestational diabetes. *Am. J. Physiol.* 1993; 264(1 Pt 1): E60–67, doi: 10.1152/ajpendo.1993.264.1.E60.
21. Makki K., Froguel P., Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm.* 2013; 2013: 139239, doi: 10.1155/2013/139239.
22. Coughlan M.T., Vervaart P.P., Permezel M., Georgiou H.M., Rice G.E. Altered placental oxidative stress status in gestational diabetes mellitus. *Placenta* 2004; 25(1): 78–84, doi: 10.1016/S0143-4004(03)00183-8.
23. Lappas M., Mitton A., Permezel M. In response to oxidative stress, the expression of inflammatory cytokines and antioxidant enzymes are impaired in placenta, but not adipose tissue, of women with gestational diabetes. *J. Endocrinol.* 2010; 204(1): 75–84, doi: 10.1677/JOE-09-0321.
24. Rueangdetnarong H., Sekararithi R., Jaiwongkam T., Kumfu S., Chattipakorn N., Tongsong T., Jatavan P. Comparisons of the oxidative stress biomarkers levels in gestational diabetes mellitus (GDM) and non-GDM among Thai population: cohort study. *Endocr. Connect.* 2018; 7(5): 681–687, doi: 10.1530/EC-18-0093.
25. Jiao Y., Zhang S., Zhang J., Du J. Tetramethylpyrazine attenuates placental oxidative stress, inflammatory responses and endoplasmic reticulum stress in a mouse model of gestational diabetes mellitus. *Arch. Pharm. Res.* 2019; 42(12): 1092–1100, doi: 10.1007/s12272-019-01197-y.
26. Zhang R., Xing B., Zhao J., Zhang X., Zhou L., Yang S. i wsp. Astragaloside IV relieves gestational diabetes mellitus in genetic mice through reducing hepatic gluconeogenesis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2020; 98(7): 466–472, doi: 10.1139/cjpp-2019-0548.
27. Zhou L., Zhang R., Yang S., Zhang Y., Shi D. Astragaloside IV alleviates placental oxidative stress and inflammation in GDM mice. *Endocr. Connect.* 2020; 9(9): 939–945, doi: 10.1530/EC-20-0295.
28. Jamilian M., Mirhosseini N., Eslahi M., Bahmani F., Shokrpour M., Chamani M., Asemi Z. The effects of magnesium-zinc-calcium-vitamin D co-supplementation on biomarkers of inflammation, oxidative stress and pregnancy outcomes in gestational diabetes. *BMC Pregnancy Childbirth* 2019; 19(1): 107, doi: 10.1186/s12884-019-2258-y.
29. Hajifaraji M., Jahanjou F., Abbasalizadeh F., Aghamohammadzadeh N., Abbasi M.M., Dolatkah N. Effect of probiotic supplements in women with gestational diabetes mellitus on inflammation and oxidative stress biomarkers: a randomized clinical trial. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2018; 27(3): 581–591, doi: 10.6133/apjcn.082017.03.
30. Okesene-Gafa K.A., Moore A.E., Jordan V., McCowan L., Crowther C.A. Probiotic treatment for women with gestational diabetes to improve maternal and infant health and well-being. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2020; 6(6): CD012970, doi: 10.1002/14651858.CD012970.pub2.
31. Chatzakis C., Sotiriadis A., Tsakmaki E., Papagianni M., Paltoglou G., Dinas K., Mastorakos G. The effect of dietary supplements on oxidative stress in pregnant women with gestational diabetes mellitus: A network meta-analysis. *Nutrients* 2021; 13(7): 2284, doi: 10.3390/nu13072284.
32. Zhou M., Liu X.H., Liu Q.Q., Chen M., Bai H., Jiang C.Y. i wsp. Lactonase activity and status of paraoxonase 1 and oxidative stress in neonates of women with gestational diabetes mellitus. *Pediatr. Res.* 2021; 89(5): 1192–1199, doi: 10.1038/s41390-020-1023-2.
33. Zhang C., Yang Y., Chen R., Wei Y., Feng Y., Zheng W. i wsp. Aberrant expression of oxidative stress related proteins affects the pregnancy outcome of gestational diabetes mellitus patients. *Am. J. Transl. Res.* 2019; 11(1): 269–279.
34. Jatavan P., Lerthiranwong T., Sekararithi R., Jaiwongkam T., Kumfu S., Chattipakorn N., Tongsong T. The correlation of fetal cardiac function with gestational diabetes mellitus (GDM) and oxidative stress levels. *J. Perinat. Med.* 2020; 48(5): 471–476, doi: 10.1515/jpm-2019-0457.
35. Ma H., Qiao Z., Li N., Zhao Y., Zhang S. The relationship between changes in vitamin A, vitamin E, and oxidative stress levels, and pregnancy outcomes in patients with gestational diabetes mellitus. *Ann. Palliat. Med.* 2021; 10(6): 6630–6636, doi: 10.21037/apm-21-1036.
36. Shang M., Dong X., Hou L. Correlation of adipokines and markers of oxidative stress in women with gestational diabetes mellitus and their newborns. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2018; 44(4): 637–646, doi: 10.1111/jog.13586



## ***In vivo* comparison of small- and large-bore aspiration catheters in patients with ST elevation myocardial infarction**

### **Porównanie *in vivo* cewników aspiracyjnych o różnej średnicy u pacjentów z zawałem mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST**

Katarzyna Pigoń , Maciej Pękała , Natalia Tomecka , Edyta Radzik , Ewa Nowalany-Kozielska ,  
Andrzej Tomasiak 

II Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze,  
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska / 2<sup>nd</sup> Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Aspiration thrombectomy is recommended only in selected patients with ST elevation myocardial infarction (STEMI). Optical coherence tomography analysis revealed limitations of some aspiration catheters in thrombus removal. Additionally, *in vitro* tests show significant differences in their effectiveness depending on the design of the distal tip and their internal diameter. The aim of this study is to compare the results of percutaneous coronary intervention (PCI) alone and adjunctive aspiration thrombectomy using catheters with small and large cross-sectional areas, compare the effectiveness of coronary angioplasty with and without aspiration thrombectomy, as well as check the effectiveness of different catheters depending on their internal diameter.

**MATERIAL AND METHODS:** 773 patients with STEMI were enrolled in the study: 586 patients with PCI alone (Ctrl group), and 187 patients with PCI and aspiration thrombectomy. All the aspiration catheters were categorized as large-bore – 146 patients (LB group) and small-bore – 41 patients (SB group). Myocardial perfusion, left ventricular ejection fraction (LVEF) and the long-term all-cause mortality were compared. Statistical analysis was based on non-parametrical, ANOVA and Kaplan-Meier survival analysis.

**RESULTS:** The groups were significantly biased with respect to demographics and the angiographic presentation of myocardial infarction. In comparison with the Ctrl group the LB and SB groups were younger and presented worse epicardial flow and thrombus burden according to the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) classification. There is an insignificant trend towards inferior myocardial perfusion in the SB group in comparison with the Ctrl group. The LB group had a lower pre-discharge LVEF in comparison to the Ctrl group. The long-term all-cause mortality was comparable across the groups.

**CONCLUSIONS:** There is not enough evidence to prove that SB catheters are less effective. A positive observation is the fact that the long-term all-cause mortality in the group of patients with adjunctive aspiration thrombectomy is comparable to the control group. However, this observation requires confirmation in future studies.

#### KEY WORDS

acute myocardial infarction, aspiration thrombectomy, percutaneous coronary intervention, STEMI, thrombectomy catheters, thrombus

Received: 12.10.2022

Revised: 30.10.2022

Accepted: 08.11.2022

Published online: 09.03.2023

Address for correspondence: lek. Katarzyna Pigoń, II Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. M. Skłodowskiej-Curie 10, 41-800 Zabrze, tel. +48 32 373 23 72, e-mail: katarzynapigon@gmail.com



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Trombektomia aspiracyjna jest zalecana jedynie u wybranych pacjentów z zawałem mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (*ST elevation myocardial infarction* – STEMI). Analiza z wykorzystaniem optycznej tomografii koherencyjnej wykazała ograniczenia niektórych cewników aspiracyjnych w usuwaniu skrzepliny. Ponadto testy *in vitro* wskazują na istotne różnice w ich skuteczności zależnie od konstrukcji końcówki dystalnej oraz wewnętrznej średnicy. Celem pracy jest porównanie skuteczności przeszskórnej interwencji wieńcowej (*percutaneous coronary intervention* – PCI) z zastosowaniem trombektomii aspiracyjnej oraz bez jej użycia, a także sprawdzenie skuteczności różnych cewników w zależności od ich wewnętrznej średnicy.

**MATERIAŁ I METODY:** Badaniem objęto 773 chorych ze STEMI: 586 chorych tylko po PCI (grupa Ctrl) oraz 187 chorych po PCI i trombektomii. Cewniki podzielono na te o dużym otworze (*large-bore* – LB), zastosowane u 146 pacjentów (grupa LB), oraz te o wąskim otworze (*small-bore* – SB) – u 41 pacjentów (grupa SB). Porównano perfuzję mięśnia sercowego, frakcję wyrzutową lewej komory (*left ventricular ejection fraction* – LVEF) i długoterminową śmiertelność z jakiegokolwiek przyczyny. Analizę statystyczną oparto na nieparametrycznej analizie przeżycia ANOVA oraz Kaplana i Meiera.

**WYNIKI:** Grupy charakteryzowała stronniczość wyboru w odniesieniu do danych demograficznych oraz prezentacji angiograficznej zawału mięśnia sercowego. W porównaniu z grupą Ctrl grupy LB i SB były młodsze, prezentowały wolniejszy przepływ nasierdziowy i większy materiał zakrzepowy w klasyfikacji TIMI (Thrombolysis in Myocardial Infarction). W grupie SB, w porównaniu z grupą Ctrl, obserwowano nieistotny trend w kierunku gorszej perfuzji mięśnia sercowego. Grupa LB miała niższą LVEF przed wypisem w porównaniu z grupą Ctrl. Długoterminowa umieralność z przyczyn ogólnych była porównywalna we wszystkich grupach.

**WNIOSKI:** Nie mamy wystarczających dowodów na to, że cewniki SB są mniej skuteczne. Pozytywną obserwacją jest fakt, że długoterminowa śmiertelność z jakiegokolwiek przyczyny w grupie pacjentów po trombektomii aspiracyjnej jest porównywalna z tą w grupie kontrolnej, wymaga ona jednak potwierdzenia w przyszłych badaniach.

## SŁOWA KLUCZOWE

ostry zespół wieńcowy, trombektomia aspiracyjna, przeszskórna angioplastyka wieńcowa, STEMI, cewniki aspiracyjne, skrzeplina

## INTRODUCTION

Primary percutaneous coronary intervention (PCI) is the gold standard for the treatment of acute myocardial infarction [1,2]. Despite the continuous progress in interventional tools and techniques, the immediate results of primary coronary angioplasty remain far from optimal. Up to 40% of patients with restored normal epicardial blood flow TIMI III (Thrombolysis in Myocardial Infarction) have impaired myocardial perfusion [3] and microvascular obstruction arises as a major obstacle in complete heart muscle recovery [4]. In striving for procedural optimization, we have recently witnessed the introduction of appealing thrombus aspiration as an adjunct to primary PCI and an equally quick end to the hope. Due to the publication of results of the TOTAL and TASTE trials [5,6], which have questioned the effectiveness and safety of thrombus aspiration in an ST elevation myocardial infarction (STEMI) patients, its routine use was downgraded to the class III indication [1]. Currently, aspiration thrombectomy, as well as the use of stent retrievers, is mostly used in the management of cerebrovascular accidents. Though less popular in cardiology, aspiration thrombectomy may result in the improvement of coronary flow [7]. Numerous models of aspiration catheters can be found on the market, but the research for comparing the efficacy of their usage and long-term effects is very scarce. The aim of this study was to conduct an *in vivo*

comparison of the angiographic effectiveness and long-term outcomes of primary PCI performed with adjunctive large-bore and small-bore aspiration catheters.

## MATERIAL AND METHODS

There were 773 patients with STEMI enrolled in the study, who were admitted between 2004 and 2014 to 2<sup>nd</sup> Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland. STEMI was diagnosed based on the patients' symptoms, electrocardiography (ECG) findings, creatine kinase–myocardial band (CK-MB) and cardiac troponin tests on presentation. If the time from the onset of chest pain was less than 12 hours, the participants were deemed eligible for primary PCI. Before PCI intervention, the patients were given 300 mg of acetylsalicylic acid and 600 mg of clopidogrel. The patients were divided into two groups: a control (Ctrl) group of 586 patients who underwent PCI alone, while the second group was comprised of 187 patients who received adjunct manual thrombus aspiration. Coronary angiography was performed via femoral or radial artery access. The decision to perform aspiration was based solely on intraoperative findings. All the aspiration catheters were 6 French ones, compatible with 146 patients in the large-bore (LB) group (Export – 0.87 mm<sup>2</sup>, Hunter – 0.95 mm<sup>2</sup>) and 41 patients in the small-bore (SB) group (Pollux –





0.78 mm<sup>2</sup>, Quickcat – 0.86 mm<sup>2</sup>, Diver – 0.64 mm<sup>2</sup>). The distinction into aspiration catheter lumen reflected the results of *in vitro* tests performed by Rioufol et al. [8]. Myocardial perfusion was visually compared with the myocardial blush grade (MBG), and quantitatively with the on-line software Quantitative myocardial Blush Evaluator (QuBE). The left ventricle ejection fraction (LVEF) at hospital discharge, and long-term all-cause mortality was collected according to data provided by the Silesian Division of the National Health Fund.

All the patients were scored for sex, age, hypertension, diabetes, hyperlipidemia, smoking, family history, creatinine level, Killip class, infarct location, symptom duration, infarct related artery (IRA), initial TIMI flow,

TIMI thrombus grade, administration of glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) inhibitor, intra-aortic balloon pump, temporary pacing, stent and type of stent implantation, final TIMI flow and corrected TIMI frame count (cTFC). A detailed description of the materials and methods was published previously by Tomasik et al. [9]. Statistical analysis was based on non-parametrical, ANOVA and Kaplan-Meier survival analysis.

## RESULTS

Demographic, angiographic, and procedural data are presented in Table I.

Table I. Demographic, angiographic, and procedural data				
Tabela I. Dane demograficzne, angiograficzne i proceduralne				
Data	Ctrl group n = 586	LB group n = 146	SB group n = 41	P
1	2	3	4	5
Men n (%)	410 (70.0)	103 (70.5)	22 (53.7)	0.045
<b>Age yrs (X ± SD)</b>	<b>62.5 ± 11.0</b>	<b>59.2 ± 11.7</b>	<b>62.0 ± 12.6</b>	0.01 (ANOVA)
Hypertension n (%)	368 (62.8)	83 (56.8)	30 (73.2)	NS
Diabetes n (%)	137 (23.4)	33 (26.4)	13 (31.7)	NS
Hyperlipidemia n (%)	298 (50.9)	84 (57.5)	23 (56.1)	NS
Smoking n (%)	280 (47.8)	72 (49.3)	20 (48.8)	NS
Family history n (%)	163 (27.8)	40 (27.4)	13 (31.7)	NS
<b>Creatinine μmol/L (X ± SD)</b>	<b>82.2 ± 45.0</b>	<b>78.1 ± 23.5</b>	<b>77.8 ± 26.7</b>	NS
Killip class n (%)				NS
I	565 (96.4)	140 (95.9)	39 (95.1)	
II–IV	21 (3.6)	6 (4.1)	2 (4.9)	
Infarct location n (%)				NS
anterior	251 (42.8)	59 (40.4)	15 (36.6)	
inferior	335 (57.2)	87 (59.6)	26 (63.4)	
<b>Symptom duration min (X ± SD)</b>	<b>329 ± 427</b>	<b>344 ± 301</b>	<b>368 ± 282</b>	NS
IRA n (%)				NS
LAD	251 (42.8)	59 (40.4)	15 (36.6)	
Cx	99 (16.9)	10 (6.9)	2 (4.9)	
RCA	236 (40.3)	77 (52.7)	24 (58.5)	
Initial TIMI flow n (%)				
0	218 (37.2)	115 (78.7)	30 (73.1)	0.0000
I	38 (6.5)	8 (5.5)	7 (17.1)	
II	72 (12.3)	3 (2.1)	2 (4.9)	
III	258 (44.0)	20 (13.7)	2 (4.9)	0.0000
TIMI thrombus grade n (%)				
0	92 (15.7)	3 (2.1)	0 (0.0)	
I	128 (21.8)	3 (2.1)	0 (0.0)	
II	79 (13.6)	10 (6.8)	4 (9.8)	
III	46 (7.8)	3 (2.1)	1 (2.4)	
IV	13 (2.2)	12 (8.2)	2 (4.9)	
V	228 (38.9)	115 (78.7)	34 (82.9)	0.0000



cd. tab. I

	1	2	3	4	5
GP IIb/IIIa inh n (%)					
none		402 (68.6)	22 (15.1)	7 (17.1)	0.0000
abciximab		115 (19.6)	87 (59.6)	19 (46.3)	0.0000
integrilin		69 (11.8)	37 (25.3)	15 (36.6)	0.0000
IABP n (%)		14 (2.4)	4 (2.7)	1 (2.4)	NS
Temporary pacing n (%)		13 (2.2)	8 (5.5)	2 (4.9)	NS
Stent implantation n (%)					
BMS		433 (73.9)	99 (67.8)	26 (63.4)	
DES		99 (16.9)	15 (10.3)	10 (24.4)	0.037
Final TIMI flow n (%)					NS
0		13 (2.2)	1 (0.7)	0 (0.0)	
I		8 (1.4)	13 (8.8)	2 (4.9)	
II		53 (9.0)	23 (15.8)	3 (7.3)	
III		512 (87.4)	109 (74.7)	36 (87.8)	
cTFC n (X ± SD)		<b>30.4 ± 19.5</b>	<b>33.9 ± 23.5</b>	<b>33.4 ± 25.6</b>	NS

Ctrl – control; LB – large-bore; SB – small-bore; P – test probability; X – variable; SD – standard deviation; IRA – infarct related artery; LAD – left anterior descending artery; Cx – circumflex artery; RCA – right coronary artery; TIMI – Thrombolysis in Myocardial Infarction; GP – glycoprotein; IABP – intra-aortic balloon pump; BMS – bare metal stent; DES – drug-eluting stent; cTFC – corrected TIMI frame count; NS – not significant.

The groups were significantly biased with respect to the demographics and angiographic presentation of myocardial infarction. Thrombectomy was performed in younger patients mostly. The mean age was  $59.2 \pm 11.7$  for LB and  $62.0 \pm 12.6$  for SB compared to  $62.5 \pm 11.0$  for the Ctrl group. The patients selected for thrombectomy had significantly worse epicardial flow graded in the TIMI classification. 78.7% patients of the LB group and 73.1% of the SB patients were classified as TIMI 0. In contrast, the Ctrl group only had 37.2% of patients that scored as 0 in the TIMI classification. A significantly higher thrombus burden as determined by the TIMI thrombus classification was also observed for the thrombectomy group – 78.7% of the patients from the LB group and 82.9% from the SB group scored class V, while the Ctrl group only scored 38.9%. In our study, no statistically significant differences for long-term TIMI flow among the three groups were found. As shown in Table II, there is an insignificant trend towards inferior myocardial perfusion (lower percentage of MBG III and lower QuBE score) in the SB group in comparison with the Ctrl. The LB group had a significantly lower pre-discharge LVEF ( $42.4 \pm 11.0\%$ ) compared to the Ctrl ( $45.2 \pm 10.5\%$ ).

Table II. Myocardial perfusion and OuBE assessment  
Tabela II. Perfuzyja mięśnia sercowego z oceną QuBE

Data	Ctrl group n = 586	LB group n = 146	SB group n = 41	P
MBG n (%)				NS
0	31 (5.3)	6 (4.1)	2 (4.9)	
I	46 (7.8)	28 (19.2)	7 (17.1)	
II	181 (30.9)	43 (29.4)	16 (39.0)	
III	328 (56.0)	69 (47.3)	16 (39.0)	
QuBE score arb. u. (X ± SD)	<b>9.4 ± 4.3</b>	<b>9.4 ± 4.8</b>	<b>8.7 ± 3.0</b>	NS
LVEF % (X ± SD)	<b>45.2 ± 10.5</b>	<b>42.4 ± 11.0</b>	<b>44.5 ± 10.1</b>	0.02

Ctrl – control; LB – large-bore; SB – small-bore; P – test probability; MBG – myocardial blush grade; QuBE – Quantitative myocardial Blush Evaluator; arb. u. – arbitrary unit; X – variable; SD – standard deviation; LVEF – left ventricular ejection fraction; NS – not significant.

There was no increase in the stroke rates during the peri-interventional period. The follow-up time was up to 1590 days. According to the Kaplan-Meier curves shown in Figure 1, the long-term all-cause mortality was comparable across the studied groups.

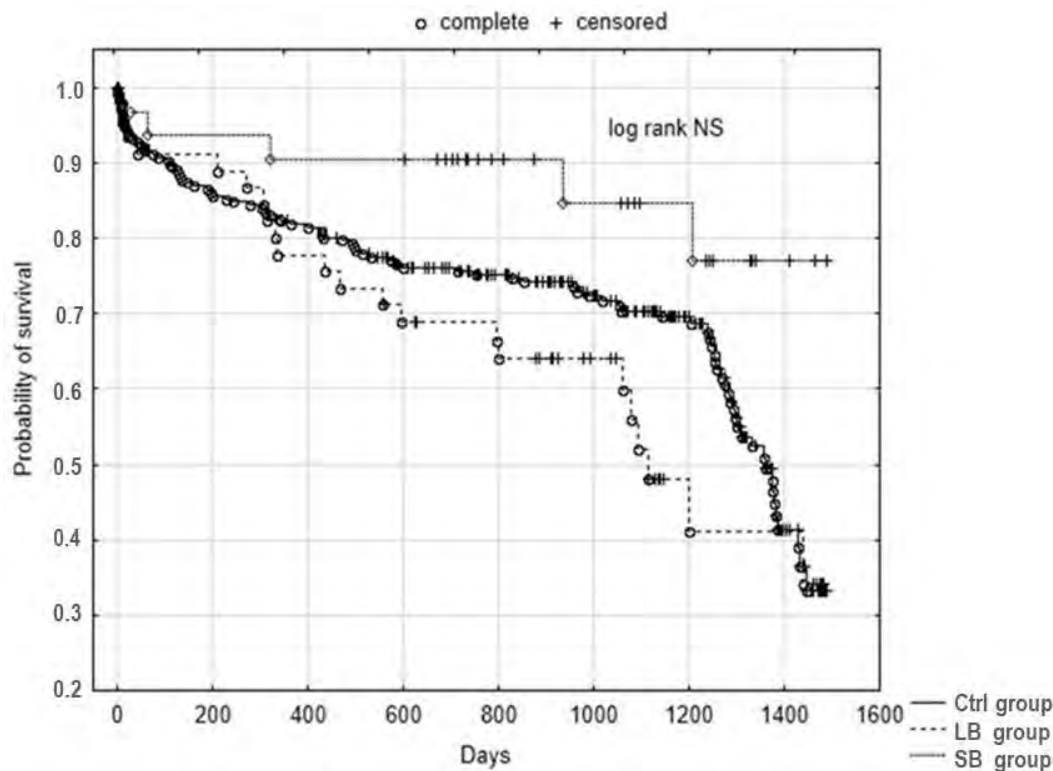


Fig. 1. Kaplan-Meier survival analysis in groups.  
Ryc. 1. Krzywe przeżycia Kaplana i Meiera.

## DISCUSSION

The data collected in this study found was that there is no significant difference between the long-term effects of using large- or small-bore catheters compared to primary PCI. The primary PCI has some limitations. One of them is the fact that insufficient myocardial reperfusion is observed in almost one fourth of the patients who had primary PCI performed [10]. This is the main reason why researchers are looking for alternatives. De Luca et al. [11] proved that the administration of abciximab following primary PCI can reduce the 30-day reinfarction rate and long-term mortality. In the TAPAS study, the authors noted that thrombectomy before stenting the occluded artery improved the 1-year clinical outcome compared to conventional PCI [12]. Bhindi et al. [13] in a substudy of the TOTAL trial proved with use of optical coherence tomography that aspiration thrombectomy does not reduce the thrombus burden before stenting compared to PCI-alone. Fröbert et al. [5] in the TASTE study found that manual thrombectomy does not increase the 30-day mortality as compared to the PCI-alone group. In this study, there was no difference for the stroke rates between the studied groups. In the TROFI study, no significant difference between primary PCI and the combination of primary PCI and

aspiration thrombectomy was found [14]. As shown with optical coherence tomography, a similar flow area was noted in both groups.

Aspiration thrombectomy has limitations as well. In comparison to the TASTE trial, the TOTAL clinical trial found that thrombectomy use was associated with an increased risk of stroke within 30 days [6]. Selection of the most effective aspiration catheter would be the ideal solution. In this study, we searched for a difference between thrombectomies using large- and small-bore catheters. There are studies comparing aspiration thrombectomy with primary PCI, but not many exist evaluating the differences between various types of these devices. To date, only one study – by Vlaar et al. [15] – compared the immediate results of primary PCI with two different aspiration catheters. The authors found no differences either in the myocardial perfusion indices or in the electrocardiographic ST segment elevation resolution. Our study provides some more data on comparable outcomes in long-term follow-up between large- and small-bore aspiration catheters.

Our study has some limitations. It is a retrospective observational study in which we could not have access to all the variables. It was not randomized either, and the number of patients was relatively small. Another limitation is that it was a single center study, indicating a less variable population. There is still a need for more



research relevant to the usage of aspiration thrombectomy catheters in percutaneous coronary interventions.

## CONCLUSIONS

The thrombectomy procedure performed in our study population is safe and the long-term prognosis in these patients is similar to the prognosis observed in patients

who do not have thrombectomy performed. Thus, the study indicates that the individual decision of an interventional cardiologist to perform aspiration thrombectomy in STEMI may be acceptable.

## Funding

The study was supported by Medical University of Silesia grants KNW-1-116/K/7/K, KNW-1-007/K/9/K, and PCN-1-133/K/0/K.

## Author's contribution

Study design – K. Pigoń, A. Tomasik, E. Nowalany-Kozielska

Data collection – K. Pigoń, A. Tomasik, M. Pękała, N. Tomecka, E. Radzik, E. Nowalany-Kozielska

Data interpretation – K. Pigoń, A. Tomasik

Statistical analysis – A. Tomasik

Manuscript preparation – K. Pigoń, A. Tomasik, M. Pękała, N. Tomecka, E. Radzik, E. Nowalany-Kozielska

Literature research – K. Pigoń, A. Tomasik, M. Pękała, N. Tomecka, E. Radzik

## REFERENCES

1. Ibanez B., James S., Agewall S., Antunes M.J., Bucciarelli-Ducci C., Bueno H. et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2018; 39(2): 119–177, doi: 10.1093/eurheartj/ehx393.
2. Keeley E.C., Boura J.A., Grines C.L. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 2003; 361(9351): 13–20, doi: 10.1016/S0140-6736(03)12113-7.
3. Araszkiwicz A., Lesiak M., Grajek S., Prech M., Cieśliński A. Relationship between tissue reperfusion and postinfarction left ventricular remodelling in patients with anterior wall myocardial infarction treated with primary coronary angioplasty. *Kardiol. Pol.* 2006; 64(4): 383–388; discussion 389–390.
4. Niccoli G., Scalone G., Lerman A., Crea F. Coronary microvascular obstruction in acute myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2016; 37(13): 1024–1033, doi: 10.1093/eurheartj/ehv484.
5. Fröbert O., Lagerqvist B., Olivecrona G.K., Omerovic E., Gudnason T., Maeng M. et al. Thrombus aspiration during ST-segment elevation myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(17): 1587–1597, doi: 10.1056/NEJMoa1308789.
6. Jolly S.S., Cairns J.A., Yusuf S., Meeks B., Pogue J., Rokoss M.J. et al. Randomized trial of primary PCI with or without routine manual thrombectomy. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372(15): 1389–1398, doi: 10.1056/NEJMoa1415098.
7. Burzotta F., Trani C., Romagnoli E., Mazzari M.A., Rebuzzi A.G., De Vita M. et al. Manual thrombus-aspiration improves myocardial reperfusion: the randomized evaluation of the effect of mechanical reduction of distal embolization by thrombus-aspiration in primary and rescue angioplasty (REMEDIA) trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 46(2): 371–376, doi: 10.1016/j.jacc.2005.04.057.
8. Rioufol G., Collin B., Vincent-Martin M., Buffet P., Lorgis L., L'Huillier I. et al. Large tube section is the key to successful coronary thrombus aspiration: findings of a standardized bench test. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2006; 67(2): 254–257, doi: 10.1002/ccd.20471.
9. Tomasik A., Młyńczak T., Nowak E., Pigoń K., Iwasieczko A., Opara M. et al. Quantitative myocardial blush score (QuBE) allows the prediction of heart failure development in long-term follow-up in patients with ST-elevation myocardial infarction: Proof of concept study. *Cardiol. J.* 2019; 26(4): 322–332, doi: 10.5603/CJ.a2017.0129.
10. De Luca G., van 't Hof A.W., Ottervanger J.P., Hoorntje J.C., Gosselink A.T., Dambrink J.H. et al. Unsuccessful reperfusion in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated by primary angioplasty. *Am. Heart J.* 2005; 150(3): 557–562, doi: 10.1016/j.ahj.2004.10.044.
11. De Luca G., Suryapranata H., Stone G.W., Antoniucci D., Tcheng J.E., Neumann F.J. et al. Abciximab as adjunctive therapy to reperfusion in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2005; 293(14): 1759–1765, doi: 10.1001/jama.293.14.1759.
12. Vlaar P.J., Svilaas T., van der Horst I.C., Diercks G.F., Fokkema M.L., de Smet B.J. et al. Cardiac death and reinfarction after 1 year in the Thrombus Aspiration during Percutaneous coronary intervention in Acute myocardial infarction Study (TAPAS): a 1-year follow-up study. *Lancet* 2008; 371(9628): 1915–1920, doi: 10.1016/S0140-6736(08)60833-8.
13. Bhandi R., Kajander O.A., Jolly S.S., Kassam S., Lavi S., Niemelä K. et al. Culprit lesion thrombus burden after manual thrombectomy or percutaneous coronary intervention-alone in ST-segment elevation myocardial infarction: the optical coherence tomography sub-study of the TOTAL (Thrombus Aspiration versus PCI Alone) trial. *Eur. Heart J.* 2015; 36(29): 1892–1900, doi: 10.1093/eurheartj/ehv176.
14. Onuma Y., Thuesen L., van Geuns R.J., van der Ent M., Desch S., Fajadet J. et al. Randomized study to assess the effect of thrombus aspiration on flow area in patients with ST-elevation myocardial infarction: an optical frequency domain imaging study—TROFI trial. *Eur. Heart J.* 2013; 34(14): 1050–1060, doi: 10.1093/eurheartj/ehs456.
15. Vlaar P.J., Svilaas T., Vogelzang M., Diercks G.F., de Smet B.J., van den Heuvel A.F. et al. A comparison of 2 thrombus aspiration devices with histopathological analysis of retrieved material in patients presenting with ST-segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovasc. Interv.* 2008; 1(3): 258–264, doi: 10.1016/j.jcin.2008.03.014.



# Przepisy dotyczące zwalczania zagrożeń epidemicznych w Polsce a pandemia COVID-19 – przegląd i ocena wdrażanych rozwiązań

## Regulations on combating epidemic threats in Poland and COVID-19 pandemic – review and assessment of implemented solutions

Klaudia A. Alcer<sup>1,2</sup> , Anita Błachut<sup>2</sup> , Piotr Romaniuk<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Zakład Polityki Zdrowotnej, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Department of Health Policy, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland  
<sup>2</sup>Szkoła Doktorska, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Doctoral School, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### STRESZCZENIE

Pandemia COVID-19 miała duży wpływ na funkcjonowanie całego świata, a konsekwencje tego wydarzenia w dalszym ciągu są widoczne w różnych dziedzinach funkcjonowania państw. W ramach walki z zaistniałym kryzysem Polska wdrożyła regulacje prawne mające pomóc zwalczać negatywne skutki epidemii bądź je minimalizować. Celem pracy jest ocena regulacji dotyczących zwalczania zagrożeń epidemicznych oraz ich zmian w czasie pandemii. Przeglądu ustaw dokonano na podstawie Internetowego Systemu Aktów Prawnych (ISAP) oraz Biuletynu Informacji Publicznej (BIP).

Przepisy odnoszące się do zwalczania zagrożeń epidemicznych w Polsce proponują rozwiązania mogące pomóc w przeciwdziałaniu pandemii zarówno w sferze bezpośrednio związanej z kwestiami medycznymi, jak i społecznymi czy ekonomicznymi. Analiza obowiązujących regulacji oraz piśmiennictwa ujawniła jednak problem niedopasowania istniejących przepisów do faktycznych potrzeb związanych z realnymi zjawiskami epidemiologicznymi, a pierwsze tygodnie pandemii, szczególnie jeśli chodzi o stosowanie tych norm, uwiaryściły duży chaos. Regulacje wprowadzane już w czasie pandemii również cechowały się szeregiem nieścisłości i niejasności. Należy podjąć próbę stworzenia lepiej skoordynowanego planu na wypadek kolejnej pandemii oraz przeprowadzić ewaluację przepisów w razie innych sytuacji kryzysowych, aby uniknąć błędów i chaosu widocznego przy COVID-19.

### SŁOWA KLUCZOWE

COVID-19, epidemia, ustawodawstwo, legislacja

Received: 14.06.2022

Revised: 10.10.2022

Accepted: 11.10.2022

Published online: 22.03.2023

Adres do korespondencji: mgr Klaudia A. Alcer, Zakład Polityki Zdrowotnej, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Piekarska 18, 41-902 Bytom, tel. +48 32 397 65 21, e-mail: alcer.klaudia@gmail.com



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



## ABSTRACT

The COVID-19 pandemic had a major impact on the functioning of the entire world, and the consequences of this event are still visible in various aspects of the functioning of countries. As a countermeasure against such a crisis, Poland implemented regulations to help combat the negative effects or minimize them. The aim of the study is to evaluate the anti-epidemic regulations and their changes during the pandemic. The acts were reviewed by means of the Internet System of Legal Acts (Internetowy System Aktów Prawnych – ISAP) and the Public Information Bulletin (Biuletyn Informacji Publicznej – BIP) database.

The anti-epidemic regulations in Poland propose solutions that may help in counteracting a pandemic both in the sphere directly related to medical aspects, as well as social and entrepreneurial or economic aspects. However, the analysis of relevant regulations and literature revealed a large mismatch between the existing regulations and the actual needs related to real epidemiological phenomena. The first weeks of the pandemic, especially in the area of applying these standards, revealed a great deal of chaos. The standards introduced during the pandemic were also characterised by a number of inaccuracies and ambiguities. An attempt should be made to create a more coordinated plan for an eventual subsequent pandemic and an evaluation of the rules for other emergencies should be undertaken to avoid the mistakes and chaos witnessed in the COVID-19 pandemic.

## KEY WORDS

COVID-19, epidemic, law, legislation

## WPROWADZENIE

Wybuch epidemii COVID-19, która urosła do rangi pandemii, stał się dużym wyzwaniem dla całego świata. Na dzień powstania niniejszego artykułu, tj. 19.05.2022, Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organization – WHO) podaje ponad pół miliarda potwierdzonych przypadków choroby oraz ponad 6 milionów zanotowanych zgonów z powodu COVID-19 [1]. Skala konsekwencji tych wydarzeń jest rozległa i nie ogranicza się jedynie do paraliżu systemu opieki zdrowotnej. Skutki widoczne są również w zakresie dalszej opieki rehabilitacyjnej z powodu powikłań związanych z funkcjonowaniem układu oddechowego, problemów z zaburzeniami psychicznymi czy w sferach mniej związanych ze zdrowiem, jak np. wpływ na środowisko naturalne [2]. W sytuacji gdy państwa stykają się z globalnym problemem, naturalną konsekwencją jest łańcuch zmian w wewnętrznym zarządzaniu krajem. Przed pandemią Polska posiadała regulacje, które nakreślały strategię walki na wypadek pandemii. Praktyka pokazała jednak, że przepisy te nie były wystarczające, a konfrontacja z rzeczywistością pandemiczną uwidoczniła szereg wyzwań i trudności związanych z ich praktycznym stosowaniem.

Celem pracy jest omówienie zmian dokonywanych w przepisach związanych z przeciwdziałaniem epidemii w związku z wybuchem pandemii COVID-19 oraz nowych przepisów wprowadzonych jako bezpośrednia odpowiedź na pandemię COVID-19, a także ocena efektywności działania przedmiotowych przepisów w warunkach faktycznej epidemii.

**Metodologia**

Praca ma charakter przeglądu narracyjnego, analizującego ewolucję rozwiązań legislacyjnych w zakresie

zwalczania chorób zakaźnych w związku z pandemią COVID-19 i w trakcie jej trwania. Dzięki przeglądowi dokonanemu na podstawie Internetowego Systemu Aktów Prawnych (ISAP) oraz Biuletynu Informacji Publicznej (BIP) analizie poddano ustawę funkcjonującą w polskim porządku prawnym uprzednio, tj. Ustawę z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi, a także akty prawne wprowadzone po wybuchu pandemii, a związane z przeciwdziałaniem skutkom pandemii, jak również wprowadzające nowe narzędzia naprawcze i zapobiegawcze – Ustawę z dnia 2 marca 2020 r. o szczególnych rozwiązaniach związanych z zapobieganiem, przeciwdziałaniem i zwalczaniem COVID-19, innych chorób zakaźnych oraz wywołanych nimi sytuacji kryzysowych, wraz ze zmianami sukcesywnie wprowadzonymi do wymienionych aktów. Do analizy nie włączono przepisów o tzw. tarczy antykryzysowej z uwagi na ich ekonomiczną podstawę oraz rozległy charakter wymagający odrębnej analizy. Przegląd obejmuje zmiany wprowadzane w trakcie stanu epidemii w Polsce, tj. od 20.03.2020 r. do 16.05.2020 r. Aktualizacje analizowano wraz z uwzględnieniem komentarzy specjalistów oceniających przedmiotowe nowelizacje. W poszukiwaniu materiałów stanowiących podstawę przeglądu wykorzystano bazy PubMed, Embase, Web of Science, Repozytorium Cyfrowe Instytutów Naukowych (RCIN), Centrum Otwartej Nauki (CeON) oraz Google Scholar. W celu wyszukania pomocnych publikacji używano fraz zgodnych z Medical Subject Headings (MeSH), tj. *law, law changes, pandemics, COVID-19, Poland* oraz ich polskich odpowiedników. Z otrzymanych wyników wybrano wszystkie odnoszące się do zmian, wpływu bądź adekwatności przepisów czy sposobów reagowania poszczególnych państw, ze szczególnym uwzględnieniem publikacji polskich.



## OMÓWIENIE

**Przepisy w razie epidemii obowiązujące przed wybuchem pandemii COVID-19**

Najważniejszy akt prawny regulujący kwestię działań podejmowanych przez władze publiczne w związku z wystąpieniem chorób zakaźnych to Ustawa z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi. Ustawa wskazuje organy odpowiedzialne za postępowanie w przypadku wykrycia chorób zakaźnych (Państwowa Inspekcja Sanitarna, Wojskowa Inspekcja Sanitarna, Inspekcja Weterynaryjna, Inspekcja Ochrony Środowiska oraz inne ośrodki referencyjne i instytuty badawcze). Określa również działania zapobiegające szerzeniu się zachorowań oraz nakłada obowiązek informowania o dodatkich wynikach badań w kierunku chorób zakaźnych ujętych w wykazach. Wskazuje inspektora sanitarnego powiatowego bądź granicznego, odpowiedzialnego za dochodzenia epidemiologiczne w razie uzyskania danych lub innych informacji o podejrzeniach lub przypadkach zakażeń, zachorowań lub zgonów z powodu choroby zakaźnej. Wskazuje, jakie obowiązki mogą zostać nałożone na chorego, oraz określa sytuacje wymagające hospitalizacji, kwarantanny czy użycia środków przymusu bezpośredniego [3].

W Ustawie ujęto także sposoby finansowania świadczeń zdrowotnych udzielanych w celu zwalczania zakażeń i chorób zakaźnych. Znajdują się w niej przepisy wskazujące na współpracę organów krajowych z odpowiednimi organami Unii Europejskiej (UE), tj. Europejskim Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC). W ramach tej współpracy określony jest punkt krajowy, system wczesnego ostrzegania i reagowania dla zapobiegania i kontroli zakażeń oraz chorób zakaźnych.

W rozdziale 8 Ustawy znajdują się trzy artykuły bezpośrednio odnoszące się do sposobów reagowania.

**Artykuł 46** określa zasady postępowania w razie stanu zagrożenia epidemicznego oraz stanu epidemii, ogłaszane w drodze rozporządzenia przez wojewodę na wniosek właściwego terytorialnie wojewódzkiego inspektora sanitarnego bądź – w stanach dotyczących większego terenu – przez ministra właściwego ds. zdrowia na wniosek Głównego Inspektora Sanitarnego. Rozdzielenie kompetencji w podejmowaniu decyzji o wprowadzeniu wspomnianych stanów jest zgodne z zasadą współdziałania, dzięki której minimalizuje się ryzyko błędnej oceny sytuacji i zbyt pochopnego ich wdrażania [4].

Nadanie rozprzestrzeniającej się zachorowalności statusu epidemii niesie za sobą wiele konsekwencji, gdzie ani opieszałość, ani zbyt pochopne podejmowanie decyzji nie jest wskazane. Dnia 11 marca 2020 r. dyrektor

WHO Tedros Adhanom Ghebreyesus w imieniu całej organizacji oświadczył, że „COVID-19 można scharakteryzować jako pandemię” z uwagi na intensywność i szybkość rozprzestrzeniania się. W Polsce stan zagrożenia epidemicznego został wprowadzony 12 marca, natomiast stan epidemii 20 marca 2020 r.

Zgodnie z Ustawą podczas tych stanów można ustanowić:

- 1) czasowe ograniczenie określonego sposobu przemieszczania się,
- 2) czasowe ograniczenie lub zakaz obrotu i używania określonych przedmiotów lub produktów spożywczych,
- 3) czasowe ograniczenie funkcjonowania określonych instytucji lub zakładów pracy,
- 4) zakaz organizowania widowisk i innych zgromadzeń ludności,
- 5) obowiązek wykonania określonych zabiegów sanitarnych, jeżeli wykonanie ich wiąże się z funkcjonowaniem określonych obiektów produkcyjnych, usługowych, handlowych lub innych obiektów,
- 6) nakaz udostępnienia nieruchomości, lokali, terenów i dostarczenia środków transportu do działań przeciwepidemicznych przewidzianych planami przeciwepidemicznymi,
- 7) obowiązek przeprowadzenia szczepień ochronnych, o których mowa w ust. 3, oraz grupy osób podlegające tym szczepieniom, rodzaj przeprowadzanych szczepień ochronnych [5].

Epidemia COVID-19 wymusiła wprowadzenie zmian w niniejszej Ustawie, w tym w art. 46a, ba, c, d, gdzie poszerzono możliwości podejmowania działań naprawczych bezpośrednio przez Radę Ministrów. W razie pandemii zmiany pozwalają również uprościć rodzaje i zakres dokumentacji medycznej, sposób jej przetwarzania oraz przechowywania. Uproszczono także przepisy o charakterze remontowo-budowlanym, jeżeli dotyczą obiektów przeznaczonych do działań związanych z przeciwdziałaniem epidemii, rezygnując – w niektórych przypadkach – ze stosowania przepisów o zamówieniach publicznych. Poszerzono również możliwości i zalecenia dla Agencji Rezerw Materiałowych. Zgodnie ze wspomnianymi przepisami może również zostać nałożony obowiązek szczepień.

**Artykuł 47** Ustawy określa sposób pracy przy zwalczaniu pandemii. Kadry medyczne oraz inne osoby zgodnie z potrzebami mogą być skierowane do pracy przy zwalczaniu epidemii (z odstępstwem dla pewnych grup) na podstawie decyzji wojewody lub ministra. Decyzja taka zobowiązuje do pracy do trzech miesięcy we wskazanym podmiocie. W aktualnym miejscu pracy osoby te otrzymują bezpłatny urlop, w nowym zaś miejscu podpisują umowę na określoną kwotę wraz ze zwrotem kosztów przejazdu, zakwaterowania i wyżywienia (finansowane z budżetu). Pracownik nie może zwolnić się w trakcie takiego powołania.



Zmiany wprowadzone w życie po wybuchu pandemii COVID-19 doprecyzowały te wytyczne, dając bardziej precyzyjną odpowiedź na pytania:

- Kto może otrzymać powołanie do pracy przy zwalczaniu skutków pandemii?
- Jak tworzyć listę osób do tej pracy?
- Kto nie podlega obowiązkowi pracy?
- Kto do tej pracy powołuje?
- Jakie są sposoby odwołania od przymusu pracy?
- Jakie są dodatkowe formy ochrony dla powołanych pracowników?
- Kto może wykonywać testy diagnostyczne w kierunku SARS-CoV-2?

Ponadto została zwiększona stawka wynagrodzenia zasadniczego przysługującego za okres wykonywania pracy w ramach przedmiotowego skierowania.

W sytuacji szczególnej, w tym niesubordynacji względem aktualnych przepisów i poleceń, minister właściwy ds. zdrowia może zawiesić kierownika podmiotu leczniczego w wykonywaniu praw i obowiązków oraz wyznaczyć pełnomocnika na to stanowisko.

**Artykuł 48** wskazuje, iż pracownikom podmiotów leczniczych i innym osobom, które podejmują działania w celu zapobiegania i zwalczania chorób zakaźnych i zakażeń u ludzi, przysługuje ochrona prawna należąca funkcjonariuszowi publicznemu. Niedostosowanie się do wymienionych przepisów podlega sankcjom karnym.

Ustawa z dnia 5 grudnia 2008 r. w art. 44 określa również obowiązek stworzenia wojewódzkiego planu działania na wypadek epidemii; zostaje on sporządzony na okres trzech lat przez wojewodów poszczególnych województw. Z założenia powinien obejmować charakterystykę potencjalnych zagrożeń razem z analizą ryzyka, wykazem zakładów leczniczych i obiektów, które mogą zostać przeznaczone na leczenie, izolowanie, wraz z informacją, ile pomieszczą osób. Powinien również zawierać listy kadr, mogące zostać powołane do pomocy, oraz wszelkie inne niezbędne informacje. Plan przekazywany jest przez wojewodę do informacji publicznej w BIP-ie, z wykluczeniem danych wrażliwych.

#### **Ustawa z dnia 2 marca 2020 r. o szczególnych rozwiązaniach związanych z zapobieganiem, przeciwdziałaniem i zwalczaniem COVID-19, innych chorób zakaźnych oraz wywołanych nimi sytuacji kryzysowych**

Wraz z wybuchem pandemii ustawodawca został zmuszony do uzupełnienia luk i nieścisłości w istniejących przepisach przeciwepidemicznych. Zwiększająca się liczba nowych przypadków choroby w Polsce wymagała podjęcia specyficznych działań, których zakres przekraczał obowiązujące wówczas normy ustawowe. Uchwalono zatem nową ustawę, która w pierwotnej

formie zawierała 37 artykułów. W art. 3 i 4 określono dodatkowe prawa dla osób pracujących, dotyczące sposobu wykonywania pracy czy możliwości zwolnienia z pracy w celu opieki na dzieckiem w momencie zamknięcia placówek opieki. Artykuł 5 odnosi się do specyficznych zasad kontroli bezpieczeństwa na lotniskach oraz szczególnych świadczeń opieki zdrowotnej związanych z transportem. W art. 6 wyłączono przepisy ustawy Prawo zamówień publicznych w stosunku do zamówień, których przedmiotem są towary lub usługi niezbędne do przeciwdziałania COVID-19. W art. 7, 8 i 9 Ustawa reguluje ocenę produktów leczniczych, wyrobów medycznych i środków spożywczych specjalnego przeznaczenia oraz świadczeń medycznych, które mogą być użyte do przeciwdziałania COVID-19. W art. 10 i 11 daje prawo Prezesowi Rady Ministrów, na wniosek właściwego ministra ds. zdrowia, nakładać dodatkowe obowiązki na jednostki samorządu terytorialnego w związku z przeciwdziałaniem COVID-19. Z kolei minister ds. zdrowia zyskał możliwość nakładania dodatkowych obowiązków na podmioty lecznicze, np. samodzielne publiczne zakłady opieki zdrowotnej lub jednostki budżetowe. Artykuł 12 pozwala na odstępianie od norm Prawa budowlanego w razie konieczności poszerzenia bazy do udzielania świadczeń zdrowotnych w związku z przeciwdziałaniem COVID-19. W art. 13 i 14 Ustawa daje ochronę biuram podróży, organizatorom turystycznym oraz przewoźnikom. Pozwala również farmaceutom wystawiać receptę farmaceutyczną w przypadku zagrożenia życia (art. 15).

Ustawa wprowadziła również zmiany w 15 innych ustawach:

- Ustawie z dnia 23 stycznia 2020 r. o zmianie ustawy o Państwowej Inspekcji Sanitarnej oraz niektórych innych ustaw
- Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce
- Ustawie z dnia 14 grudnia 2016 r. – Prawo oświatowe
- Ustawie z dnia 29 października 2010 r. o rezerwach strategicznych
- Ustawie z dnia 27 sierpnia 2009 r. o finansach publicznych
- Ustawie z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi
- Ustawie z dnia 26 kwietnia 2007 r. o zarządzaniu kryzysowym
- Ustawie z dnia 8 września 2006 r. o Państwowym Ratownictwie Medycznym
- Ustawie z dnia 16 lipca 2004 r. – Prawo telekomunikacyjne
- Ustawie z dnia 13 listopada 2003 r. o dochodach jednostek samorządu terytorialnego
- Ustawie z dnia 6 września 2001 r. – Prawo farmaceutyczne





- Ustawie z dnia 23 sierpnia 2001 r. o organizowaniu zadań na rzecz obronności państwa realizowanych przez przedsiębiorców
  - Ustawie z dnia 29 sierpnia 1997 r. o usługach hotelarskich oraz usługach pilotów wycieczek i przewodników turystycznych
  - Ustawie z dnia 14 marca 1985 r. o Państwowej Inspekcji Sanitarnej
  - Ustawie z dnia 21 listopada 1967 r. o powszechnym obowiązku obrony Rzeczypospolitej Polskiej [6].
- Ordynacja na dzień 9 listopada 2021 r. posiada 62 akty zmieniające. Ostatni datowany na 4 maja 2023 r. [6]<sup>1</sup>.

### Kontrowersje dotyczące przeciwepidemicznych przepisów prawnych

W 2020 r. został wydany pierwszy komentarz do ustawy o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi, który m.in. analizuje zmiany wprowadzane do ustawy po wybuchu pandemii oraz zawiera bardzo cenne uwagi co do nowszych regulacji, tzw. ustaw covidowych. Oprócz omówienia poszczególnych przepisów zawiera także analizę problemów dogmatycznych i praktycznych w stosowaniu uregulowań. Komentarz jest więc istotnym wsparciem dla prawidłowego stosowania nowych regulacji. Wskazuje na błędy zawarte w przedmiotowych ustawach (np. wadliwa numeracja czy problematyka zasady wymierzania kar pieniężnych wynikających z niesubordynacji), które stanowią potwierdzenie zdania innych specjalistów, iż zmiany wprowadzane w trakcie pandemii były pośpieszne, a w konsekwencji często nieprzemyślane [7,8]. Przykładem takiej sytuacji może być tzw. klauzula dobrego samarytanina, która powstała w celu zapewnienia ochrony prawnej lekarzy bądź innych specjalistów medycznych walczących z przypadkami COVID-19, zawarta w art. 24 Ustawy z dnia 28 października 2020 r. o zmianie niektórych ustaw w związku z przeciwdziałaniem sytuacjom kryzysowym związanym z wystąpieniem COVID-19. Zgodnie z przytoczonym przepisem „Nie popełnia przestępstwa, o którym mowa w art. 155, art. 156 § 2, art. 157 § 3 lub art. 160 § 3 ustawy z dnia 6 czerwca 1997 r. – Kodeks karny (Dz. U. z 2020 r. poz. 1444 i 1517), ten, kto w okresie ogłoszenia stanu zagrożenia epidemicznego albo stanu epidemii, udzielając świadczeń zdrowotnych na podstawie ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentystry (Dz. U. z 2020 r. poz. 514, 567, 1291 i 1493), ustawy z dnia 20 lipca 1950 r. o zawodzie felczera (Dz. U. z 2018 r. poz. 2150 oraz z 2020 r. poz. 1291), ustawy z dnia 15 lipca 2011 r. o zawodach pielęgniarki i położnej (Dz. U. z 2020 r. poz. 562, 567, 945 i 1493), ustawy z dnia 8 września 2006 r. o Państwowym Ratownictwie Medycznym (Dz.U. z 2020 r. poz. 882 i 2112) albo ustawy z dnia

5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi w ramach zapobiegania, rozpoznawania lub leczenia COVID-19 i działając w szczególnych okolicznościach, dopuścił się czynu zabronionego, chyba że spowodowany skutek był wynikiem rażącego niezachowania ostrożności wymaganej w danych okolicznościach” [9]. Treść cytowanego przepisu oceniana jest jako nieostra, niedookreślona czy stopniowalna, co w podsumowaniu nie pozwala na jednoznaczne określenie, które konkretnie sytuacje będą stanowiły podstawę do zwolnienia z odpowiedzialności karnej za ewentualne błędy medyczne [10].

Wojewódzkie plany działania na wypadek epidemii pokazują z kolei, iż nawet wymagania dotyczące działania prewencyjnego czy przygotowawczego obowiązujące już przed COVID-19 nie spełniły swojej roli. Z założeń plan winien być gotową instrukcją działania w sytuacjach kryzysowych, jednak według informacji zawartych w biuletynach 14 województw swoje plany bądź załączniki do nich zaktualizowało już w czasie zmagania się kraju z COVID-19 (tab. I). Oznacza to, że w większości województw plan był reakcją na zastaną rzeczywistość, a nie narzędziem perspektywicznym. Ów brak wybiegającego w przyszłość modelu działania był widoczny w obszarze utrzymania odpowiedniego poziomu zasobów czy w kontekście tożsamyh procedur działania zarówno między instytucjami, jak i w przypadku indywidualnych zachorowań [11].

Tabela I. Daty aktualizacji wojewódzkich planów działania w razie epidemii według województw (oprac. własne autorów)  
Table I. Dates of updating voivodship plans of action in event of epidemic according to voivodeships (author's own study)

Województwo	Data aktualizacji wojewódzkich planów działania na wypadek epidemii
Dolnośląskie	lipiec 2021 r.
Kujawsko-pomorskie	grudzień 2020 r.
Lubelskie	marzec 2020 r.
Lubuskie	lipiec 2021 r.
Łódzkie	kwiecień 2020 r.
Małopolskie	maj 2021 r.
Mazowieckie	marzec 2020 r.
Opolskie	maj 2020 r.
Podkarpackie	kwiecień 2020 r.
Podlaskie	kwiecień 2021 r.
Pomorskie	maj 2019 r.
Śląskie	luty 2020 r.
Świętokrzyskie	lipiec 2019 r.
Warmińsko-mazurskie	2017 r. (aktualizacja załączników: marzec 2020 r.)
Wielkopolskie	sierpień 2021 r.
Zachodniopomorskie	maj 2018 r. (aktualizacja załączników: maj 2021 r.)

<sup>1</sup> Dane zebrane przez autorów do dnia publikacji pracy.



Pandemia ukazała również kilka niedoskonałości w przepisach międzynarodowych UE, dotyczących przeciwepidemicznej współpracy międzynarodowej. Mimo iż Komisja Europejska spełniła swoją rolę koordynatora i wspierała w miarę możliwości państwa członkowskie, komunikacja między krajami była po wolna i mało skuteczna. Eksperti sugerowali zwiększenie roli ECDC, zwiększenie kompetencji UE w zakresie zarządzania kryzysowego, opracowanie zestawu znormalizowanych wytycznych w celu uniknięcia w przyszłości niespójności pomiędzy krajami, wprowadzenie bardziej merytorycznej i lepszej polityki zdrowotnej wraz ze zwiększeniem jej finansowania oraz zgromadzenie zapasów sprzętu ochronnego na wypadek przyszłych sytuacji kryzysowych [12].

Wśród wprowadzanych zmian istnieją przepisy, które wzbudzały wyjątkowo duże kontrowersje. Pierwszy z nich to nałożenie obowiązku szczepień, co jest klasycznym przykładem konfliktu wartości konstytucyjnych. Zgodnie z art. 68 ust. 4 Konstytucji RP władze publiczne są obowiązane do zwalczania chorób epidemicznych, z drugiej jednak strony w art. 41 i 47 Konstytucji zagwarantowane są nietykalność i wolność osobista oraz prawna ochrona życia prywatnego, rodzinnego, czci i dobrego imienia, a także prawo decydowania o swoim życiu osobistym. W sytuacji będącej konsekwencją wybuchu pandemii COVID-19, gdy na organach władzy publicznej spoczął bezwzględny obowiązek stworzenia systemu skutecznego zapobiegania szerzeniu się chorób zakaźnych oraz ich leczenia, kontrowersyjne stało się prawo do wyrażania zgody (lub sprzeciwu) na udzielanie świadczeń zdrowotnych. Zgodnie z Ustawą z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi możliwe jest nałożenie przymusu szczepień w celu zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego innych obywateli. Przymus ten był jednak wielokrotnie podważany już przed pandemią COVID-19, np. przez rodziców kwestionujących obowiązek szczepień dzieci [13,14].

Kolejny problematyczny element regulacji przeciwepidemicznych to przepis wprowadzający obowiązek zasłaniania ust i nosa. Podważano podstawę prawną tego przepisu, co w konsekwencji wpłynęło na trudności w jego egzekwowaniu. Gdy osoby odmawiały przyjęcia mandatu, sprawy trafiały do rozpatrzenia przez sąd, gdzie z kolei powszechna była praktyka umarzania postępowań, uzasadniana brakiem adekwatnej regulacji w ustawie o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi, do której odwoływało się rozporządzenie wprowadzające wspomniany obowiązek. Z racji podnoszonego przez sądy braku właściwej podstawy ustawowej przedmiotowej regulacji dokonanej w drodze rozporządzenia, taką praktykę można uznać za wynikającą z zasady *lex superior derogat legi inferiori*, czyli sytuacji, w której należy

stosować normę zawartą w ustawie jako akcie wyższego rzędu.

Kontrowersje budził również zakaz zgromadzeń większych niż 5 osób w miejscach publicznych. Przepis ten ogranicza wolność obywatelską wynikającą z art. 57 Konstytucji, zgodnie z którym „Każdemu zapewnia się wolność organizowania pokojowych zgromadzeń i uczestniczenia w nich (...)”, ograniczenia tej wolności może zaś określać jedynie ustawa.

Inne kontrowersyjne ograniczenia sprzeczne z konstytucyjnymi wolnościami zawartymi w art. 20 i 22 dotyczyły zakazu prowadzenia określonych rodzajów działalności gospodarczej [15].

W ocenie opisanych regulacji należy jednak wziąć pod uwagę motywację organów władzy publicznej, mianowicie próbę powstrzymania rozprzestrzeniania się zakażeń, co niewątpliwie jest działaniem w interesie publicznym. Na aspekt ów zwraca uwagę L. Morawski, który podkreśla, iż: „Wykładnia prawa nie może także ignorować intencji normodawcy, celów, jakie sobie stawiał, nie może być również obojętna wobec konsekwencji, do jakich prowadzi określone rozumienie przepisu (...)” [16].

Niejasności w przepisach prawnych można również odnaleźć w kwestiach związanych z pracownikami/pracownicami ochrony zdrowia. Największe kontrowersje budzi przymusowe kierowanie do pracy, co przede wszystkim jest sprzeczne z prawem konstytucyjnym i prawem pracowniczym (w szczególności art. 2 Konstytucji, opisujący zasadę funkcjonowania demokratycznego państwa prawa). Niejasna pozostaje także kwestia związana z ochroną i powoływaniem pracowników, którzy nie są zatrudnieni na podstawie stosunku pracy, lecz w oparciu o np. formułę kontraktu, która w sektorze ochrony zdrowia jest stosowana w bardzo dużej skali. Osobom takim przepisy nie zapewniały należytej ochrony i zabezpieczenia w przypadku powołania do pracy [17]. W kontekście społecznego postrzegania pracowników sektora ochrony zdrowia pandemia uwidoczniała również dużą nieprzychylność względem tychże ze strony pacjentów i otoczenia społecznego, gdzie obawy o zarażenie wirusem SARS-CoV-2 skutkowały często wrogością czy wręcz zachowaniami agresywnymi. W pierwszych miesiącach pandemii zabrakło wyraźnego przeciwdziałania takiej dyskryminacji. Podobnych sytuacji nie powinno się bagatelizować w przyszłości, należy też utrzymywać wysoki poziom zaufania społecznego dla pracowników ochrony zdrowia. Polska jest wyjątkowym krajem, w którym zaufanie do opinii rodziny bądź znajomych jest większe niż do opinii lekarza/lekarzki czy pielęgniarka/pielęgniarki. Wśród aktualnie narastającego sprzeciwu wobec podporządkowania się działaniom mającym na celu zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności z powodu COVID-19 należałoby priorytetowo dążyć do zmiany tych proporcji [18].



## Problemy ogólnosystemowe i dotyczące organizacji opieki zdrowotnej

W świetle wszystkich wspomnianych wcześniej trudności kluczowymi i jednocześnie leżącymi u podstaw większości problemów związanych ze zwalczaniem epidemii COVID-19 są znaczące deficyty kadrowe w polskim systemie opieki zdrowotnej, będące rezultatem wieloletnich zaniedbań. Deficyt ten nie dotyczy jedynie zawodów bezpośrednio związanych z leczeniem, lecz również kadr z obszaru zdrowia publicznego, w tym ze sfery administracyjnej, odpowiedzialnej za monitorowanie i kontrolowanie sytuacji epidemicznej oraz zarządzanie nią. Wszelkie programy naprawcze na wypadek pandemii są niedostateczne, gdyż ich efekty będą widoczne dopiero w perspektywie kilku lat. Aktualne działania winny się koncentrować na alokacji dostępnych zasobów – ludzkich, technicznych, informatycznych – oraz zwiększeniu poziomu wynagrodzeń, co jest m.in. elementem determinującym atrakcyjność danego rodzaju pracy [18].

Z uwagi na specyfikę zachorowalności i przebiegu COVID-19 szczególnie problematyczna staje się kwestia struktury demograficznej kraju. Duża liczba osób starszych, w tym przebywających w placówkach opieki długoterminowej, sprawia, że jest to grupa wymagająca szczególnej uwagi i ochrony również poprzez odpowiednie regulacje prawne. Podnoszone są głosy o konieczności skoordynowanego zarządzania wszystkimi domami opieki na wypadek pandemii, obejmującego powołanie zespołów inspekcyjnych w całym kraju. Rozwiązania takie znalazły już zastosowanie w innych państwach. Nie wolno również pomijać kwestii zagwarantowania odpowiednich zasobów dla tych osób bądź placówek (właściwa opieka, infrastruktura, środki ochrony osobistej czy dostęp do badań i testów). Rozważając wprowadzenie nowych regulacji w tym zakresie, należy również zadbać o utrzymanie należytego wynagrodzenia dla osób zajmujących się osobami w wieku podeszłym. Trzeba jednak nadmienić, że mimo iż struktura demograficzna jest kwestią problematyczną, to społeczeństwo polskie jest młodsze niż w wielu innych krajach zachodnioeuropejskich [19,20].

Analiza zmian w przepisach dotyczących zwalczania chorób zakaźnych, w tym przeciwdziałania ewentualnym pandemiom oraz sposobu radzenia sobie podczas takich sytuacji, wykazała problem niedopasowania istniejących przepisów do faktycznych potrzeb związanych z realnymi zjawiskami epidemiologicznymi. Pod względem zaplecza instytucjonalnego przebieg pandemii COVID-19 uwidocznił ogromne braki. Przepisy przeciwepidemiczne obciążały nowymi obowiązkami instytucje, których przepisy wewnętrzne są niejasne, a dodatkowo brak koordynacji ich działań i współpracy między nimi. Sytuacja jeszcze mocniej uwidoczniła potrzebę powołania kompleksowej instytucji, która mo-

głaby skutecznie przeciwstawić się pandemii, ale również stworzyć system działania na wypadek innych zdarzeń tego typu. Dla wdrożenia pewnych i popartych naukowo działań ważne jest również powołanie instytucji naukowo-badawczej tworzącej merytoryczny fundament dla decyzji politycznych i administracyjnych [11].

W obszarach stosowania właściwych procedur praktyka pierwszych tygodni pandemii uwidoczniła duży chaos. Niejasne były sposoby postępowania klinicznego w przypadku stwierdzenia zachorowania oraz sposoby rejestracji i monitorowania zakażeń [21]. Dogłębnej analizie należy również poddać skutki wprowadzania obostrzeń. Pomimo iż w pierwszej fali pandemii szybka i ostra reakcja rządzących może przynieść korzyści w postaci niskiego współczynnika rozprzestrzeniania się choroby, w długotrwałym rozrachunku jest dużym obciążeniem dla ekonomicznie efektywnego funkcjonowania państwa [22].

## PODSUMOWANIE

Pandemia COVID-19 stanowiła praktyczną weryfikację przepisów ustanowionych na wypadek zagrożenia zdrowia publicznego. Weryfikacja ta uwidoczniła szereg niespójności w obowiązujących przepisach oraz ich nieadekwatności do realnych zjawisk epidemiologicznych, a także wynikających z nich zjawisk społeczno-ekonomicznych. Nie bez znaczenia pozostają elementy dominującego paradygmatu orzeczniczego i dotyczącego zasad wykładni prawa, który może w istotny sposób wpłynąć na stosowanie tworzonych przepisów i, jak się wydaje, winien być również brany pod uwagę w procesie ich redagowania.

Jedną z konsekwencji zidentyfikowanych luk regulacyjnych była konieczność tworzenia nowych przepisów w trybie ad hoc jako odpowiedź na wynikającą z sytuacji epidemiologicznej nagłą potrzebę, co z kolei wiązało się z niedoskonałością przepisów powstających w pośpiechu i bez odpowiedniego rozpoznania okoliczności, tak formalnych, jak i dotyczących specyfiki życia społecznego. Ustawa z dnia 2 marca 2020 r. o szczególnych rozwiązaniach związanych z zapobieganiem, przeciwdziałaniem i zwalczaniem COVID-19, innych chorób zakaźnych oraz wywołanych nimi sytuacji kryzysowych oraz jej późniejsze nowelizacje wprowadzały dodatkowo zmiany w ogromnej liczbie odrębnych uregulowań, co pogłębiło legislacyjny chaos i zwiększyło ryzyko dezorientacji zainteresowanych podmiotów. Obserwacja ta skłania do rozważenia możliwości wprowadzania zmian na wypadek pandemii bądź podobnych sytuacji w inny sposób:

1) odrębnie – dla każdego ministerstwa osobno, z dokładniejszym uwzględnieniem specyfiki danego re-sortu,



2) w razie ognisk lokalnych – uwzględniając aktualny system decentralizacji administracji publicznej, która pozwala jednostkom niższego szczebla na bardziej efektywne zarządzanie swoimi zasobami również w czasie kryzysowym, jednak z równoczesnym utrzymaniem i poszanowaniem centralnych kompetencji w zakresie działań przeciwpandemicznych.

Zasadne wydaje się również przeprowadzenie audytu regulacji prawnych w obrębie innych sytuacji kryzysowych w celu weryfikacji ich zasadności oraz możliwości praktycznego wykorzystania i egzekwowania, z uwzględnieniem doświadczeń towarzyszących pandemii COVID-19.

---

#### Author's contribution

Study design – K.A. Alcer, P. Romaniuk

Data collection – K.A. Alcer, A. Blachut

Manuscript preparation – K.A. Alcer, A. Blachut, P. Romaniuk

Literature research – K.A. Alcer, P. Romaniuk

Final approval of the version to be published – P. Romaniuk

---

## PIŚMIENNICTWO

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. World Health Organization, 2022 [online] <https://covid19.who.int/> [dostęp: 19.05.2022].
2. Singh S.K. COVID-19: A master stroke of Nature. *AIMS Public Health* 2020; 7(2): 393–402, doi: 10.3934/publichealth.2020033.
3. Romaniuk P. Organizacja bezpieczeństwa państwa w perspektywie zagrożeń zdrowotnych. W: Holeccki T. [red.]. *Bezpieczeństwo zdrowotne obywateli w kontekście europeizacji zjawisk społecznych*. Wyd. Wyższej Szkoły Bezpieczeństwa. Poznań 2013, s. 7–20.
4. Karpiuk M. Zasady postępowania podczas stanu epidemii wprowadzonego w związku z zakażeniami wirusem SARS-CoV-2. *Wiedza Obron.* 2020; 272(3): 9–22, doi: 10.34752/vs7h-g941.
5. Ustawa z dnia 5 grudnia 2008 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi. ISAP – Internetowy System Aktów Prawnych [online] <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=wdu20082341570> [dostęp: 19.05.2022].
6. Ustawa z dnia 2 marca 2020 r. o szczególnych rozwiązaniach związanych z zapobieganiem, przeciwdziałaniem i zwalczaniem COVID-19, innych chorób zakaźnych oraz wywołanych nimi sytuacji kryzysowych. ISAP – Internetowy System Aktów Prawnych [online] <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU20200000374> [dostęp: 20.03.2023].
7. Ustawa o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi: komentarz. L. Bosek [red.]. C.H. Beck. Warszawa 2020.
8. Kubiak R. Pierwszy komentarz do ustawy o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi. *Forum Prawnicze* 2021; 65(3): 99–122, doi: 10.32082/fp.3(65).2021.507.
9. Ustawa z dnia 28 października 2020 r. o zmianie niektórych ustaw w związku z przeciwdziałaniem sytuacjom kryzysowym związanym z wystąpieniem COVID-19. ISAP – Internetowy System Aktów Prawnych [online] <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU20200002112> [dostęp: 19.05.2022].
10. Tomczak M. Wyłączenie odpowiedzialności karnej za błąd medyczny w czasie pandemii COVID-19. *Kortowski Przegląd Prawniczy* 2021; 3: 49–58, doi: 10.31648/kpp.7116.
11. Golinowska S., Kowalska-Bobko I., Sowada C., Włodarczyk W.C., Woynarowska B., Zabdyr-Jamróż M. Alert zdrowotny 2: Zdrowie publiczne w świetle epidemii COVID-19 [pdf]. Wyd. Fundacji Gospodarki i Administracji Publicznej (Open Eyes Economy Summit) [online], 09.05.2020. Dostępny w internecie: <https://oees.pl/download/1495088/> [dostęp: 13.03.2023].
12. Gontariuk M., Krafft T., Rehbock C., Townend D., Van der Auwermeulen L., Pilot E. The European Union and Public Health Emergencies: Expert Opinions on the Management of the First Wave of the COVID-19 Pandemic and Suggestions for Future Emergencies. *Front Public Health* 2021; 9: 698995, doi: 10.3389/fpubh.2021.698995.
13. Michalska-Sieniawska D. Obowiązek szczepień – nowe wyzwanie dla praw człowieka. *Med. Wokanda* 2020; 14: 49–62, doi: 10.32055/mw.2020.14.4.
14. Fiolek A. Obowiązek szczepień a obowiązkowe szczepienia ochronne – podstawy prawne oraz środki egzekucji. *Acta Iurid Resoviensia* 2021; 30(112): 105–122, doi: 10.15584/znrprawo.2020.30.6.
15. Wąsikowski A. Prawa i wolności obywatelskie w warunkach epidemii COVID-19. *Zbliżenia Cywilizacyjne* 2021; 17(1): 11–32, doi: 10.21784/ZC.2021.002.
16. Morawski L. Wykładnia prawa. W: *Wstęp do prawoznawstwa*. Wyd. 15. TNOiK. Toruń 2014, s. 137.
17. Waszak M. Skierowanie do pracy przy zwalczaniu epidemii. Blaski i cienie regulacji. *Med. Wokanda* 2020; 14: 93–106, doi: 10.32055/mw.2020.14.7.
18. Bociąga-Jasik M., Domagała A., Gaciong Z., Golinowska S., Grodzicki T., Haber M. i wsp. Alert zdrowotny 4: Zawody medyczne i inne zawody ochrony zdrowia w świetle pandemii COVID-19 [pdf]. Wyd. Fundacji Gospodarki i Administracji Publicznej (Open Eyes Economy Summit) [online], 14.09.2020. Dostępny w internecie: <https://oees.pl/wp-content/uploads/2020/09/Alert-zdrowotny-4.pdf> [dostęp: 13.03.2023].
19. Bielska I., Błędowski P., Golinowska S., Łuczak P., Mrożek-Gąsiorowska M., Sowa-Kofta A. i wsp. Alert zdrowotny 3: Bezpieczeństwo zdrowotne w opiece długoterminowej w kontekście pandemii COVID-19 [pdf]. Wyd. Fundacji Gospodarki i Administracji Publicznej (Open Eyes Economy Summit) [online], 01.07.2020. Dostępny w internecie: <https://oees.pl/download/1495070/> [dostęp: 13.03.2023].
20. Gruszczynski L., Zatoński M., McKee M. Do regulations matter in fighting the COVID-19 pandemic? Lessons from Poland. *Eur. J. Risk Regul.* 2021; 12: 739–757, doi: 10.1017/err.2021.53.
21. Cofta S., Domagała A., Dubas-Jakóbczyk K., Gerber P., Golinowska S., Haber M. i wsp. Alert zdrowotny 1: Szpitale w czasie pandemii i po jej zakończeniu [pdf]. Wyd. Fundacji Gospodarki i Administracji Publicznej (Open Eyes Economy Summit) [online], 25.04.2020. Dostępny w internecie: <https://oees.pl/download/1495106/> [dostęp: 13.03.2023].
22. Biró A., Kollányi Z., Romaniuk P., Smolić Š. Health and social security. W: Máttyás L. [red.]. *Emerging European Economies after the Pandemic. Contributions to Economics*. Springer, Cham 2022, pp. 365–413, doi: 10.1007/978-3-030-93963-2\_8.



## Osobowość typu D u pacjentów z rakiem jelita grubego

### Type D personality in patients with colorectal cancer

Angelina Kaleta-Pilarska 

Katedra i Zakład Epidemiologii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach /  
Department of Epidemiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Ze względu na znaczenie problemu dla zdrowia publicznego oraz dotychczasowy brak zgodności w opublikowanych badaniach dotyczących typu osobowości, który może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na nowotwory, zrealizowano badanie, którego celem była ocena częstości oraz podstawowych demograficznych, społecznych i zdrowotnych okoliczności występowania osobowości typu D i jej diagnostycznych składowych u chorych z rakiem jelita grubego w okresie bezpośrednio poprzedzającym interwencję chirurgiczną.

**MATERIAŁ I METODY:** W badaniu kwestionariuszowym wzięło udział 200 pacjentów z rozpoznaniem rakiem jelita grubego. W celu zidentyfikowania ostatecznych predyktorów mających wpływ na występowanie osobowości typu D i jej diagnostycznych składowych wykonano analizę regresji logistycznej wraz z weryfikującą parametryzacją za pomocą automatycznej selekcji wstecznej.

**WYNIKI:** W całej grupie cechy osobowości typu D miało 55% badanych. Wśród uwarunkowań mających wpływ na występowanie osobowości typu D były zmienne: płeć, wykształcenie, zadowolenie z opieki medycznej, występowanie chorób przewlekłych oraz stan sprawności pacjenta. Do wymiaru negatywna emocjonalność (NE) zakwalifikowano 89,5% badanych, natomiast do wymiaru hamowanie społeczne (HS) 57,5% badanych. Wśród uwarunkowań mających wpływ na występowanie NE były zmienne: religia, sytuacja finansowa oraz choroby przewlekłe. Z kolei na występowanie HS wpływ miały zmienne: płeć, wykształcenie, zadowolenie z opieki medycznej oraz stan sprawności pacjenta.

**WNIOSKI:** Osobowość typu D występuje częściej u kobiet, u pacjentów z wykształceniem niższym niż średnie oraz u pacjentów z chorobami przewlekłymi. Kwalifikacja do wymiaru NE jest częstsza w przypadku występowania chorób przewlekłych, zadowolenia z sytuacji finansowej oraz deklarowanej religijności. Kwalifikacja do wymiaru HS jest częstsza u kobiet oraz u pacjentów z wykształceniem niższym niż średnie.

#### SŁOWA KLUCZOWE

rak jelita grubego, osobowość typu D, negatywna emocjonalność, hamowanie społeczne

Received: 11.07.2022

Revised: 27.10.2022

Accepted: 31.10.2022

Published online: 31.03.2023

Adres do korespondencji: dr n. o zdr. Angelina Kaleta-Pilarska, Katedra i Zakład Epidemiologii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice, tel. +48 32 208 87 82, e-mail: akaleta@sum.edu.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Due to the importance of the problem for public health and the current lack of agreement between published observations regarding the type of personality that may be associated with an increased risk of cancer, a study was carried out to assess the incidence and basic demographic, social and health circumstances of the presence of type D personality and its diagnostic components in patients with colorectal cancer.

**MATERIAL AND METHODS:** 200 patients diagnosed with colorectal cancer participated in the questionnaire study. In order to identify the final predictors influencing the incidence of type D personality and its diagnostic components, a logistic regression analysis was performed, along with verification of the parameterization using the automatic backward selection method.

**RESULTS:** 55% of the respondents in the study group had type D personality traits. Among the determinants influencing the incidence of type D personality, the following variables were: gender, education, satisfaction with medical care, the presence of chronic diseases and the patient's physical fitness. 89.5% of the respondents were qualified to the negative affectivity (*negatywna emocjonalność* – NE) dimension, and 57.5% of the respondents met the criteria of the social inhibition (*hamowanie społeczne* – HS) dimension. Among the determinants influencing the incidence of the NE dimension there were the following variables: religion, financial situation and the presence of chronic diseases. The incidence of the HS dimension was influenced by the following variables: gender, education, satisfaction with medical care and the patient's physical fitness.

**CONCLUSIONS:** Type D personality is more common in women, among patients with lower than secondary education and among patients with chronic diseases. The NE dimension is more frequent in patients with chronic diseases, satisfied with their financial situation and declaring religious values. The HS dimension is more frequent in women and among patients with a lower than secondary education.

## KEY WORDS

colorectal cancer, type D personality, negative affectivity, social inhibition

## WSTĘP

Od wielu lat przedmiotem badań naukowych jest określenie znaczenia osobowości pośród okoliczności, które kształtują ryzyko powstawania zaburzeń stanu zdrowia, w tym chorób przewlekłych. Szczególne znaczenie przypisuje się w tym przypadku osobowości typu D.

Po raz pierwszy osobowość tego typu została opisana w 1995 r. przez J. Denolleta z Uniwersytetu w Tilburgu (Holandia). Przeprowadzał on badania nad osobowością typu D u osób z chorobą wieńcową oraz z innymi chorobami układu krążenia [1,2,3,4]. W ślad za tymi doniesieniami osobowość typu D – osobowość stresowa (*distressed personality*) – jest analizowana pod kątem kształtowania ryzyka powstawania chorób psychosomatycznych.

Na osobowość typu D składają się dwa wymiary: negatywna emocjonalność (*negative affectivity*) i hamowanie społeczne (*social inhibition*). Negatywna emocjonalność (NE) charakteryzuje się skłonnością do przeżywania przez jednostkę silnych emocji, np. gniewu, irytacji, wrogości czy lęku. Wymiar ten łączy się z tendencją do widzenia rzeczywistości w sposób katastroficzny. Osoby ze skłonnościami do silnego przeżywania negatywnych emocji mają skłonność do załamывania się i zamartwiania. Hamowanie społeczne (HS) jest natomiast związane ze skłonnością osobniczą do powstrzymywania się od wyrażania emocji negatywnych i zachowań powiązanych z takimi emocjami. Powstrzymywanie się przed ujawnieniem emocji jest świadome i podejmowane głównie z obawy przed odrzuceniem ze

strony społeczeństwa. Osoby takie cechują się niskim poczuciem własnej wartości, zmniejszoną skłonnością do zawierania znajomości czy słabszą jakością kontaktów ze społeczeństwem [5].

Szczególne zainteresowanie relacją pomiędzy osobowością i przewlekłymi zaburzeniami stanu zdrowia dotyczy – poza chorobami układu krążenia – chorób nowotworowych. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer – IARC) klasyfikuje czynniki rakotwórcze w czterech kategoriach. Od 1971 r. ocenionych zostało ponad 1000 czynników, z których ponad 400 uznawanych jest za rakotwórcze, prawdopodobnie lub przypuszczalnie rakotwórcze [6]. Na liście czynników rakotwórczych dotychczas nie zostały ujęte czynniki psychologiczne, jednakże w literaturze przedmiotu osobowość jest rozpatrywana jako czynnik predysponujący do rozwoju chorób onkologicznych [7,8,9].

Ze względu na znaczenie problemu dla zdrowia publicznego oraz dotychczasowy brak zgodności w opublikowanych badaniach dotyczących typu osobowości, który może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na nowotwory, zaczęto podejmować badania nad osobowością typu D w tej grupie pacjentów. Badania dotyczą zarówno czynników ryzyka, jak i czynników prognostycznych. Szczególnie istotna jest kwestia interakcji pomiędzy osobowością typu D a przeżywalnością w chorobach nowotworowych [10, 11,12,13].

W związku z tym, iż rak jelita grubego w Polsce jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych u obu płci, a także stanowi jedną z najczęstszych przyczyn zgonów nowotworowych, istotne



z punktu widzenia zdrowia publicznego jest poznanie czynników psychologicznych mogących mieć znaczenie dla powstania i przebiegu choroby. Określenie wśród tych czynników typu osobowości, zwłaszcza zaś znaczenia osobowości typu D w odniesieniu do raka jelita grubego może mieć nie tylko walory poznawcze, ale także praktyczny wymiar w postaci doskonalenia metod monitorowania stanu zdrowia w przebiegu raka jelita grubego, a być może też doskonalenia zaleceń profilaktycznych [13].

Wychodząc naprzeciw potrzebom badawczym, zaplanowano badanie, którego celem była ocena częstości oraz podstawowych demograficznych, społecznych i zdrowotnych okoliczności występowania osobowości typu D i jej diagnostycznych składowych u chorych z rakiem jelita grubego w okresie bezpośrednio poprzedzającym interwencję chirurgiczną.

## MATERIAŁ I METODY

Dla realizacji zadań związanych z celem pracy zaplanowano kwestionariuszowe badanie 200 pacjentów z rozpoznaniem rakiem jelita grubego. Zakwalifikowani do badania pacjenci przebywali na Oddziale Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej oraz na Oddziale Chirurgii Onkologicznej w Zagłębiowskim Centrum Onkologii – Szpital Specjalistyczny im. Szymona Starkiewicza w Dąbrowie Górniczej. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę placówki medycznej. Uczestnictwo było dobrowolne i anonimowe. Badanie polegało na udzieleniu odpowiedzi na pytania zawarte w kwestionariuszach. Analizą statystyczną objęto dane zgromadzone od chorych w wieku 24–85 lat. Badanie prowadzono od maja 2018 r. do lipca 2020 r. Protokół badania uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (decyzja KNW/0022/KB59/18 z dnia 17.04.2018 r.).

Kryteria włączenia do badania kwestionariuszowego były następujące:

- rozpoznany rak jelita grubego,
- hospitalizacja na ww. oddziale w związku z zaplanowanym chirurgicznym zabiegiem usunięcia nowotworu,
- wyrażona dobrowolna i świadoma zgoda pacjenta na udział w badaniu.

Kryteriami wyłączenia z grupy badanej było niespełnienie któregokolwiek z kryteriów włączenia.

Badanie odbyło się w bezpośrednim kontakcie respondenta z ankieterem w miejscu hospitalizacji. Pacjenci, udzielając odpowiedzi na pytania zawarte w kwestionariuszach, przebywali w pomieszczeniu wyłącznie z ankieterem. Badanie przeprowadzano wśród pacjentów z rozpoznaniem rakiem jelita grubego w okresie bezpośrednio poprzedzającym interwencję chirurgiczną.

Wykorzystano autorski kwestionariusz osobowy oraz polską wersję kwestionariusza do identyfikacji osobowości typu D (DS-14).

Autorski kwestionariusz osobowy składał się z 26 pytań dotyczących danych antropometrycznych i społeczno-ekonomicznych, jak również okoliczności towarzyszących podejrzeniu i rozpoznaniu raka jelita grubego.

Praktycznym narzędziem służącym do identyfikacji osobowości typu D jest kwestionariusz DS-14 [14,15], opracowany w wersji polskiej w 2005 r. przez Ogińską-Bulik i Juczyńskiego [16]. Składa się on z 14 stwierdzeń [4]. W każdym z nich respondent posługuje się 5-stopniową skalą odpowiedzi (0 – fałszywe, 1 – raczej fałszywe, 2 – trudno powiedzieć, 3 – raczej prawdziwe, 4 – prawdziwe).

Jak wspomniano, na osobowość typu D składają się dwa wymiary: NE i HS [17]. Spośród 14 stwierdzeń kwestionariusza 7 określa wymiar NE oraz 7 wymiar HS. Oddzielnie obliczana jest suma wyników dla NE i HS. Uzyskanie minimum 10 pkt w danym wymiarze jest podstawą do zakwalifikowania badanego do danej kategorii. Uzyskanie w obydwu wymiarach minimum 10 pkt uzasadnia rozpoznanie osobowości typu D [10,18].

Analiza statystyczna danych objęła metody statystyki opisowej i analitycznej. W zakresie statystyki opisowej przedstawiono rozkłady poszczególnych zmiennych. W przypadku zmiennych ilościowych obliczono średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe, wartość środkową i zakres. Charakter rozkładu zmiennych ilościowych oceniono na podstawie wyniku testu Shapiro i Wilka. W przypadku zmiennych jakościowych przedstawiono częstość poszczególnych wartości. W badaniu oceniono statystyczną znamienność różnic w zakresie cech antropometrycznych i społeczno-ekonomicznych, stosując kryterium  $p < 0,05$ . W tym celu do analizy zmiennych ilościowych wykonano test U Manna i Whitneya, natomiast do analizy zmiennych jakościowych test  $\chi^2$ , test  $\chi^2$  z poprawką Yatesa oraz dokładny test Fishera. Nieparametryczny test U Manna i Whitneya zastosowano z uwagi na fakt, iż rozkład analizowanych w badaniu zmiennych ilościowych odbiegał od rozkładu normalnego (wynik testu Shapiro i Wilka).

Wyniki analiz prostych zweryfikowano stosując analizę regresji logistycznej. W odniesieniu do każdej zmiennej niezależnej w każdym modelu obliczono współczynniki regresji oraz wartość  $p$ . Kompletny model regresji logistycznej poddano weryfikującej parametryzacji za pomocą automatycznej selekcji wstecznej zmiennych niezależnych. W analizie tej predyktory zmiennej zależnej identyfikowano stosując kryterium statystycznej znamienności na poziomie  $p < 0,1$ .

Wszystkie analizy statystyczne wykonano za pomocą pakietu statystycznego SAS 9.4.



## WYNIKI

Analizie poddano obserwacje przeprowadzone u 200 osób (89 kobiet i 111 mężczyzn) w wieku  $65,0 \pm 11,3$  roku (24–85 lat) z rozpoznaniem raka jelita grubego. Średni wiek w chwili rozpoznania choroby wynosił  $64,6 \pm 11,4$  roku. W tabeli I przedstawiono charakte-

rystykę badanych z uwzględnieniem cech antropometrycznych.

Kobiety i mężczyźni uczestniczący w badaniu nie różnili się w zakresie rozkładu wieku i wskaźnika masy ciała (*body mass index* – BMI). Statystycznie znamiennej różnicę stwierdzono w przypadku wieku w momencie rozpoznania raka jelita grubego ( $p = 0,04$ ), masy ciała ( $p < 0,001$ ) oraz wysokości ciała ( $p < 0,001$ ).

Tabela I. Charakterystyka grupy badanej z uwzględnieniem wieku, masy ciała i wzrostu badanych  
Table I. Characteristics of studied group, taking into account age, weight and height of subjects

Zmienna	Średnia arytmetyczna i odchylenie standardowe		Mediana		Zakres		Wartość p (wynik testu U Manna i Whitneya)
	kobiety	mężczyźni	kobiety	mężczyźni	kobiety	mężczyźni	
Wiek (lata)	$63,4 \pm 12,4$	$66,3 \pm 10,3$	64,0	69,0	24,0–85,0	32,0–82,0	0,06
Wiek w momencie rozpoznania raka jelita grubego (lata)	$62,8 \pm 12,4$	$66,0 \pm 10,3$	64,0	69,0	24,0–85,0	29,0–82,0	0,04
Masa ciała (kg)	$68,8 \pm 15,2$	$79,1 \pm 15,6$	68,0	82,0	42,0–105,0	44,0–120,0	< 0,001
Wzrost (cm)	$164,4 \pm 5,7$	$173,0 \pm 5,2$	165,0	173,0	15,0–175,0	157,0–190,0	< 0,001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$25,5 \pm 5,7$	$26,3 \pm 4,7$	24,6	26,9	15,2–41,1	15,2–37,5	0,1

BMI – wskaźnik masy ciała (*body mass index*)

Większość badanych stanowili mężczyźni (55,5%). Zdecydowana większość osób to mieszkańcy miast (91,0%). Najczęściej deklarowano wykształcenie średnie (41,0%). U większości osób biorących udział w badaniu (54,5%) wykrycie choroby nowotworowej nastąpiło poprzez zgłoszenie się do lekarza w związku z zauważeniem niepokojących objawów choroby. U prawie połowy badanych (43,5%) rak jelita grubego nie występował w rodzinie. Przewlekłe choroby układu krążenia

były najczęściej wskazywaną przez respondentów chorobą współistniejącą (43,0%).

W całej grupie ponad połowa badanych (55,0%) z rozpoznaniem rakiem jelita grubego posiadała cechy osobowości typu D. W tabeli II przedstawiono stan antropometryczny badanych w zależności od osobowości typu D. Statystycznie znamiennej różnicę stwierdzono wyłącznie w zakresie rozkładu wysokości ciała badanych ( $p = 0,04$ ).

Tabela II. Stan antropometryczny a osobowość typu D  
Table II. Anthropometric state and type D personality

Zmienna	Średnia arytmetyczna i odchylenie standardowe		Mediana		Zakres		Wartość p (wynik testu U Manna i Whitneya)
	badani z osobo- wością typu D	badani z osobo- wością typu nie D	badani z osobo- wością typu D	badani z osobo- wością typu nie D	badani z osobo- wością typu D	badani z osobo- wością typu nie D	
Wiek (lata)	$64,7 \pm 12,0$	$65,3 \pm 10,4$	66,5	66,0	24,0–85,0	32,0–81,0	0,9
Wiek w momencie rozpoznania raka jelita grubego (lata)	$64,3 \pm 12,0$	$64,9 \pm 10,6$	66,5	65,0	24,0–85,0	29,0–81,0	0,9
Masa ciała (kg)	$73,6 \pm 16,4$	$75,6 \pm 15,9$	74,0	75,0	42,0–108,0	46,0–120,0	0,5
Wzrost (cm)	$168,4 \pm 6,9$	$170,1 \pm 6,9$	169,5	170,5	150,0–190,0	150,0–189,0	0,04
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$25,9 \pm 5,6$	$26,0 \pm 4,6$	25,4	26,0	15,2–41,1	15,9–38,7	0,8

BMI – wskaźnik masy ciała (*body mass index*)

Wśród okoliczności towarzyszących obecności osobowości typu D znamiennej różnicę statystyczną uzyskano dla zmiennych: płeć ( $p = 0,04$ ), wykształcenie ( $p = 0,007$ ), warunki mieszkaniowe ( $p = 0,04$ ), okoliczności podejrzenia choroby nowotworowej ( $p = 0,02$ ), zadowolenie z opieki medycznej ( $p < 0,001$ ), występowanie chorób przewlekłych (bez uwzględnienia zaburzeń psychicznych;  $p = 0,05$ ) oraz stan sprawności ( $p < 0,001$ ). Po-

zostałe zmienne nie miały istotnego statystycznie związku z występowaniem osobowości typu D.

Wyniki analiz prostych zweryfikowano stosując analizę wielu zmiennych, w modelu regresji logistycznej, w odniesieniu do zdefiniowanej zmiennej zależnej osobowość typu D.

W tabeli III przedstawiono wyniki analizy kompletnego modelu regresji logistycznej.





Tabela III. Wyniki analizy kompletnego modelu regresji logistycznej dla okoliczności towarzyszących obecności osobowości typu D  
Table III. Results of analysis of complete logistic regression model for circumstances surrounding presence of type D personality

Zmienna	Współczynnik regresji	Wartość p
Płeć	0,5	0,02
Miejsce zamieszkania	-0,2	0,4
Wykształcenie	0,5	0,01
Stan cywilny	0,4	0,4
Zatrudnienie	-0,02	0,9
Religia	0,3	0,2
Warunki mieszkaniowe	0,6	0,3
Wsparcie ze strony rodziny	0,4	0,3
Sytuacja finansowa	0,5	0,2
Okoliczności podejrzenia choroby nowotworowej	-0,1	0,6
Występowanie raka jelita grubego w rodzinie	-0,2	0,3
Zadowolenie z opieki medycznej	-1,5	0,01
Występowanie chorób przewlekłych (bez uwzględnienia zaburzeń psychicznych)	0,4	0,1
Występowanie innych chorób nowotworowych	-0,4	0,3
Stan sprawności	-0,7	0,003
Stan odżywienia	-0,2	0,4
Palenie tytoniu przed rozpoznaniem choroby nowotworowej	-0,1	0,6
Spożywanie alkoholu przed rozpoznaniem choroby nowotworowej	0,1	0,7

Znamienną statystyczną w analizie kompletnego modelu regresji logistycznej dla okoliczności towarzyszących obecności osobowości typu D wykazano dla zmiennych: płeć ( $p = 0,02$ ), wykształcenie ( $p = 0,01$ ), zadowolenie z opieki medycznej ( $p = 0,01$ ) oraz stan sprawności ( $p = 0,003$ ).

Kompletny model analizy wielu zmiennych poddano weryfikującej parametryzacji z użyciem automatycznej procedury tzw. selekcji wstecznej. Przyjęto kryterium statystycznej znamienności na poziomie  $p < 0,1$ . Zidentyfikowano ostateczne predyktory zmiennej zależnej, takie jak: płeć (kobieta vs mężczyzna) – iloraz szans (IS) = 3,1 (95% przedział ufności (PU): 1,5–6,3), wy-

kształcenie (poniżej średniego vs średnie i wyższe) – IS = 2,7 (95% PU: 1,3–5,4), zadowolenie z opieki medycznej (tak vs nie) – IS = 0,1 (95% PU: 0,01–0,6), występowanie chorób przewlekłych (tak vs nie) – IS = 2,4 (95% PU: 1,1–5,2) oraz stan sprawności (niepogorszony vs pogorszony) – IS = 0,3 (95% PU: 0,2–0,7).

Do wymiaru NE zostało zakwalifikowanych 89,5% wszystkich badanych, natomiast do wymiaru HS 57,5%. W tabeli IV przedstawiono stan antropometryczny badanych w zależności od wymiaru NE. Wykazano, iż badani różnili się wyłącznie w zakresie rozkładu wieku w momencie rozpoznania raka jelita grubego ( $p = 0,04$ ).

Tabela IV. Stan antropometryczny a negatywna emocjonalność  
Table IV. Anthropometric state and negative emotionality

Zmienna	Średnia arytmetyczna i odchylenie standardowe		Mediana		Zakres		Wartość p (wynik testu U Manna i Whitney)
	badani NE(+)	badani NE(-)	badani NE(+)	badani NE(-)	badani NE(+)	badani NE(-)	
Wiek (lata)	65,4 ± 11,3	61,6 ± 10,7	68,0	62,0	24,0–85,0	32,0–80,0	0,09
Wiek w momencie rozpoznania raka jelita grubego (lata)	65,1 ± 11,3	60,2 ± 11,0	67,0	61,0	24,0–85,0	29,0–79,0	0,04
Masa ciała (kg)	75,0 ± 16,2	70,3 ± 15,4	75,0	69,0	42,0–120,0	48,0–99,0	0,2
Wzrost (cm)	169,4 ± 6,8	167,0 ± 7,6	170,0	167,0	150,0–190,0	150,0–180,0	0,2
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,0 ± 5,1	25,2 ± 5,4	26,0	23,7	15,2–41,1	17,6–38,7	0,3

NE – negatywna emocjonalność; BMI – wskaźnik masy ciała (*body mass index*)

Wśród okoliczności towarzyszących NE znamienność statystyczną uzyskano dla zmiennych religia ( $p = 0,009$ ) oraz sytuacja finansowa ( $p = 0,02$ ). Pozostałe zmienne nie miały istotnego związku z występowaniem NE.

Wyniki analiz prostych zweryfikowano stosując analizę wielu zmiennych, w modelu regresji logistycznej, w odniesieniu do zdefiniowanej zmiennej zależnej NE. W tabeli V przedstawiono wyniki analizy kompletnego modelu regresji logistycznej



Tabela V. Wyniki analizy kompletnego modelu regresji logistycznej dla okoliczności towarzyszących obecności negatywnej emocjonalności  
Table V. Results of analysis of complete logistic regression model for circumstances accompanying presence of negative emotionality

Zmienna	Współczynnik regresji	Wartość p
Płeć	-0,4	0,3
Miejsce zamieszkania	-0,3	0,6
Wykształcenie	0,2	0,6
Stan cywilny	0,4	0,5
Zatrudnienie	0,1	0,7
Religia	1,2	0,006
Warunki mieszkaniowe	0,8	0,2
Wsparcie ze strony rodziny	0,1	0,8
Sytuacja finansowa	1,1	0,1
Okoliczności podejrzenia choroby nowotworowej	-0,2	0,6
Występowanie raka jelita grubego w rodzinie	0,4	0,4
Zadowolenie z opieki medycznej	-6,9	0,9
Występowanie chorób przewlekłych (bez uwzględnienia zaburzeń psychicznych)	0,7	0,04
Występowanie innych chorób nowotworowych	0,3	0,7
Stan sprawności	-0,1	0,8
Stan odżywienia	0,4	0,2
Palenie tytoniu przed rozpoznaniem choroby nowotworowej	-0,3	0,5
Spożywanie alkoholu przed rozpoznaniem choroby nowotworowej	-0,7	0,1

Znamienną statystyczną w analizie kompletnego modelu regresji logistycznej dla okoliczności towarzyszących NE wykazano dla zmiennych religia ( $p = 0,006$ ) oraz występowanie chorób przewlekłych ( $p = 0,04$ ). Kompletny model analizy wielu zmiennych poddano weryfikującej parametryzacji z użyciem automatycznej procedury tzw. selekcji wstecznej. Przyjęto kryterium statystycznej znamienności na poziomie  $p < 0,1$ . Zidentyfikowano ostateczne predyktory zmiennej zależnej,

takie jak: religia (osoba wierząca vs osoba niewierząca) – IS = 5,4 (95% PU: 1,8–16,2), sytuacja finansowa (zadowolająca vs niezadowolająca) – IS = 5,9 (95% PU: 1,6–22,0), występowanie chorób przewlekłych (tak vs nie) – IS = 2,6 (95% PU: 0,9–7,5).

W tabeli VI przedstawiono stan antropometryczny badanych w zależności od wymiaru HS. Wykazano, iż badani różnili się wyłącznie w zakresie rozkładu wysokości ciała ( $p = 0,03$ ).

Tabela VI. Stan antropometryczny a hamowanie społeczne  
Table VI. Anthropometric status and social inhibition

Zmienna	Średnia arytmetyczna i odchylenie standardowe		Mediana		Zakres		Wartość p (wynik testu U Manna i Whitneya)
	badani HS(+)	badani HS(-)	badani HS(+)	badani HS(-)	badani HS(+)	badani HS(-)	
Wiek (lata)	64,5 ± 11,8	65,7 ± 10,6	66,0	32,0	24,0–85,0	29,0–81,0	0,6
Wiek w momencie rozpoznania raka jelita grubego (lata)	64,1 ± 11,8	65,2 ± 10,8	66,0	29,0	24,0–85,0	32,0–81,0	0,6
Masa ciała (kg)	73,3 ± 16,4	76,2 ± 15,38	73,0	46,0	42,0–108,0	46,0–120,0	0,3
Wzrost (cm)	168,4 ± 6,9	170,3 ± 6,8	169,0	150,0	150,0–190,0	150,0–189,0	0,03
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,8 ± 5,6	26,1 ± 4,6	25,2	15,9	15,2–41,1	15,9–38,7	0,6

HS – hamowanie społeczne; BMI – wskaźnik masy ciała (*body mass index*)

Wśród okoliczności towarzyszących HS znamienność statystyczną uzyskano dla zmiennych: płeć ( $p = 0,01$ ), wykształcenie ( $p = 0,008$ ), stan cywilny ( $p = 0,02$ ), warunki mieszkaniowe ( $p = 0,02$ ), okoliczności podejrzenia choroby nowotworowej ( $p = 0,03$ ), zadowolenie z opieki medycznej ( $p < 0,001$ ), stan sprawności ( $p < 0,001$ ) oraz spożywanie alkoholu przed rozpoznaniem choroby nowotworowej ( $p = 0,01$ ). Pozostałe

zmienne nie miały istotnego statystycznie związku z występowaniem HS.

Wyniki analiz prostych zweryfikowano stosując analizę wielu zmiennych, w modelu regresji logistycznej, w odniesieniu do zdefiniowanej zmiennej zależnej HS. W tabeli VII przedstawiono wyniki analizy kompletnego modelu regresji logistycznej.



Tabela VII. Wyniki analizy kompletnego modelu regresji logistycznej dla okoliczności towarzyszących obecności hamowania społecznego  
Table VII. Results of analysis of complete logistic regression model for circumstances accompanying presence of social inhibition

Zmienna	Współczynnik regresji	Wartość p
Płeć	0,5	0,02
Miejsce zamieszkania	-0,2	0,6
Wykształcenie	0,5	0,008
Stan cywilny	0,1	0,9
Zatrudnienie	-0,04	0,9
Religia	0,2	0,4
Warunki mieszkaniowe	0,3	0,6
Wsparcie ze strony rodziny	0,5	0,2
Sytuacja finansowa	0,6	0,1
Okoliczności podejrzenia choroby nowotworowej	-0,04	0,8
Występowanie raka jelita grubego w rodzinie	-0,2	0,5
Zadowolenie z opieki medycznej	-1,2	0,03
Występowanie chorób przewlekłych (bez uwzględnienia zaburzeń psychicznych)	0,1	0,5
Występowanie innych chorób nowotworowych	-0,2	0,6
Stan sprawności	-0,7	0,006
Stan odżywienia	-0,1	0,5
Palenie tytoniu przed rozpoznaniem choroby nowotworowej	-0,1	0,6
Spożywanie alkoholu przed rozpoznaniem choroby nowotworowej	0,6	0,09

Znamienną statystycznie w analizie kompletnego modelu regresji logistycznej dla okoliczności towarzyszących HS wykazano dla zmiennych: płeć ( $p = 0,02$ ), wykształcenie ( $p = 0,008$ ), zadowolenie z opieki medycznej ( $p = 0,03$ ) oraz stan sprawności ( $p = 0,006$ ).

Kompletny model analizy wielu zmiennych poddano weryfikującej parametryzacji z użyciem automatycznej procedury tzw. selekcji wstecznej. Przyjęto kryterium statystycznej znamienności na poziomie  $p < 0,1$ . Zidentyfikowano ostateczne predyktory zmiennej zależnej, takie jak: płeć (kobieta vs mężczyzna) – IS = 3,4 (95% PU: 1,7–7,0), wykształcenie (poniżej średniego vs średnie i wyższe) – IS = 3,1 (95% PU: 1,5–6,3), zadowolenie z opieki medycznej (tak vs nie) – IS = 0,1 (95% PU: 0,01–0,8) oraz stan sprawności (niepogorszony vs pogorszony) – IS = 0,3 (95% PU: 0,1–0,7).

## DYSKUSJA

Uzyskane wyniki wskazują, iż ponad połowa badanych (55,0%) posiada cechy osobowości typu D. Wykazano, iż w analizowanej grupie ryzyko występowania osobowości typu D było ponad 3-krotnie wyższe u kobiet (IS = 3,1). Istotnie statystycznie związki potwierdzono również u osób z wykształceniem niższym niż średnie (IS = 2,7) oraz u osób chorujących przewlekle (IS = 2,4). Z drugiej strony, deklarowane zadowolenie z opieki medycznej oraz niepogorszony stan sprawności to czynniki chroniące przed występowaniem cech osobowości typu D (odpowiednio IS = 0,1 oraz IS = 0,3).

Ogińska-Bulik i Juczyński [18] zaobserwowali cechy osobowości typu D u 12% pacjentów onkologicznych. W innej pracy tych samych autorów cechy osobowości typu D wykazano u 19% pacjentów onkologicznych [10]. Badanie własne przeprowadzono wyłącznie w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego w okresie bezpośrednio poprzedzającym interwencję chirurgiczną, co mogło wpłynąć na zaobserwowanie cech osobowości stresowej u większej grupy osób niż w badaniach Ogińskiej-Bulik i Juczyńskiego.

W badaniu własnym wykazano, iż występowanie osobowości typu D istotnie częściej dotyczyło kobiet. Do takiego samego wniosku doszli autorzy holenderskiego prospektywnego badania populacyjnego przeprowadzonego w grupie pacjentów z rakiem jelita grubego [19]. Ponadto autorzy zaobserwowali, że osobowość typu D częściej występowała u osób z niższym wykształceniem oraz u osób z chorobami współistniejącymi. Obie te obserwacje potwierdzono w badaniu własnym.

W pracy własnej do wymiaru NE zostało zakwalifikowanych 89,5% badanych. Wykazano, iż ryzyko kwalifikacji do wymiaru NE było ponad 5-krotnie wyższe u osób wierzących (IS = 5,4), prawie 6-krotnie wyższe u osób deklarujących zadowalającą sytuację finansową (IS = 5,9) i prawie 3-krotnie wyższe u osób chorujących przewlekle (IS = 2,6). Do wymiaru HS zakwalifikowano z kolei 57,5% wszystkich badanych. Ryzyko kwalifikacji do wymiaru HS było ponad 3-krotnie wyższe w grupie kobiet (IS = 3,4) oraz w grupie osób z wykształceniem niższym niż średnie (IS = 3,1). Deklarowane zadowolenie z opieki medycznej oraz niepogorszony stan sprawności były czynnikami chroniącymi przed występowaniem cech kwalifikujących do wymiaru HS (odpowiednio IS = 0,1 oraz IS = 0,3).

Autorzy holenderskiego badania wykazali, iż w przypadku pacjentów, którzy reprezentowali wyłącznie cechy kwalifikujące do wymiaru NE, występowanie chorób współistniejących było częstsze [18], co zostało potwierdzone również w pracy własnej. W badaniu wła-



snym wśród 149 badanych deklarujących występowanie chorób współistniejących zakwalifikowanych do wymiaru NE (jednocześnie niekwalifikujących się do wymiaru HS) było 49 osób (32,9%). Dla porównania badani zakwalifikowani do wymiaru HS (jednocześnie niekwalifikujący się do wymiaru NE) stanowili 0,6% (1 osoba).

Częstsze występowanie cech związanych z NE u kobiet zostało zauważone przez autorów japońskiego badania przeprowadzonego w grupie 1306 osób (497 pacjentów z rakiem jelita grubego oraz 809 osób zdrowych) [20]. W badaniu własnym nie potwierdzono istotnego znaczenia płci dla częstości kwalifikacji pacjentów do tego wymiaru.

Pacjenci ze zdiagnozowanym rakiem jelita grubego, a charakteryzujący się cechami należącymi do wymiaru NE, częściej deklarują gorszy stan zdrowia niż pacjenci, którzy nie wykazują cech kwalifikujących do wymiaru NE. W związku z tym w badaniach dotyczących osobowości typu D u osób chorujących na raka jelita grubego uwaga powinna być skupiona głównie na wymiarze NE, ponieważ wymiar ten może mieć wpływ zarówno na wskaźnik umieralności, jak i na jakość życia pacjentów. Z uwagi na fakt, iż NE jest stabilną cechą osobowości, wszelkie interwencje powinny skupiać się na zdobywaniu umiejętności radzenia sobie z trudnościami, jakie wiążą się z tą cechą, nie zaś na jej zmianie [21].

Przeprowadzone badanie, podobnie jak inne badania kwestionariuszowe, nie jest pozbawione słabych stron. Spośród potencjalnych mankamentów można wymienić ograniczoną reprezentatywność grupy pacjentów z rakiem jelita grubego. Wynika to z faktu, iż rekrutacja do badania była prowadzona tylko w jednym szpitalu i nie była ona losowa. Zbadani zostali wyłącznie pacjenci, którzy oczekiwali na chirurgiczny zabieg usunięcia nowotworu i wyrazili zgodę na udział w badaniu. Jest to jednak ograniczenie spotykane w podobnych tego typu analizach, związane z przedmiotem i protokołem badania.

Wśród mocnych stron badania można wskazać na pełną zwrotność kwestionariuszy, wynikającą z bezpośredniego kontaktu respondenta z ankieterem w miejscu hospitalizacji. Pacjenci, udzielając odpowiedzi na pytania, przebywali w pomieszczeniu wyłącznie z ankieterem, w związku z czym zniwelowano ewentualne zakłócenia wyników spowodowane obecnością osób trzecich, ograniczono również możliwość niezrozumienia danego zagadnienia przez pacjenta. Ponadto w badaniu posłużono się zwalidowanym kwestionariuszem powszechnie wykorzystywanym do badań w Polsce. Jest to w tym przypadku jedyne narzędzie badawcze, jakie może być wykorzystane w tego typu badaniu.

Do badania udało się zakwalifikować zbliżoną liczbę kobiet i mężczyzn (odpowiednio 89 i 111), nieróżniących się istotnie statystycznie w zakresie wieku. Ponadto istotny jest fakt, iż w badaniu własnym wykorzystano analizę wielu zmiennych, umożliwiającą kontrolę czynników zakłócających. Procedura ta bywa pomijana w pracach innych autorów. Wreszcie publikacje innych autorów dotyczące osobowości typu D u pacjentów z rakiem jelita grubego opierają się na badaniach niewielkich grup, podczas gdy badanie własne odznaczało się stosunkowo dużą grupą pacjentów. Dlatego istnieją przesłanki do przyjęcia, że przeprowadzone badanie stanowi istotne poszerzenie stanu wiedzy na temat częstości i okoliczności występowania osobowości typu D u pacjentów z rakiem jelita grubego.

Wyniki uzyskane w pracy własnej mają istotne z punktu widzenia zdrowia publicznego znaczenie poznawcze w postaci oceny częstości występowania cech osobowości stresowej u pacjentów z rakiem jelita grubego, wymagających interwencji chirurgicznej. Mogą także być wykorzystane przy planowaniu i prowadzeniu opieki psychologicznej u pacjentów z rakiem jelita grubego, zakwalifikowanych do zabiegu operacyjnego. Pacjenci z cechami osobowości typu D są bowiem gorzej przystosowani do choroby i tym samym wykazują większe poczucie dyskomfortu psychicznego, co może sugerować zintensyfikowaną potrzebę indywidualnego wsparcia psychologicznego, mogącego poprawić nastawienie pacjenta.

## WNIOSKI

1. Osobowość typu D występuje częściej u kobiet, u pacjentów z wykształceniem niższym niż średnie oraz u pacjentów z chorobami przewlekłymi.
2. Kwalifikacja do wymiaru NE jest częstsza w przypadku występowania u pacjenta chorób przewlekłych, zadowolenia z sytuacji finansowej oraz deklarowanej religijności, natomiast kwalifikacja do wymiaru HS jest częstsza u kobiet oraz u pacjentów z wykształceniem niższym niż średnie.

## Finansowanie

Praca sfinansowana w ramach pracy naukowo-badawczej realizowanej przez Młodego Naukowca ze środków Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (nr umowy KNW-2-Z17/N/9/N pt. „Wpływ typu osobowości na poziom akceptacji choroby nowotworowej jelita grubego”).



## PIŚMIENNICTWO

1. Denollet J., Sys S.U., Brutsaert D.L. Personality and mortality after myocardial infarction. *Psychosom. Med.* 1995; 57(6): 582–591, doi: 10.1097/00006842-199511000-00011.
2. Denollet J. Personality, emotional distress and coronary heart disease. *Eur. J. Pers.* 1997; 11(5): 343–358.
3. Denollet J., Schiffer A.A., Kwajtaal M., Hooijkaas H., Hendriks E.H., Widdershoven J.W. i wsp. Usefulness of Type D personality and kidney dysfunction as predictors of interpatient variability in inflammatory activation in chronic heart failure. *Am. J. Cardiol.* 2009; 103(3): 399–404, doi: 10.1016/j.amjcard.2008.09.096.
4. Denollet J., Vaes J., Brutsaert D.L. Inadequate response to treatment in coronary heart disease: adverse effects of type D personality and younger age on 5-year prognosis and quality of life. *Circulation* 2000; 102(6): 630–635, doi: 10.1161/01.cir.102.6.630.
5. Nowak G., Żelazko A., Rogalska A., Nowak D., Pawlas K. Badanie zachowań zdrowotnych i osobowości typu D wśród studentek dietyki. *Med. Og. Nauk Zdr.* 2016; 22(2): 129–134, doi: 10.5604/20834543.1208218.
6. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–133. International Agency for Research on Cancer [online], last update: 24 March 2023. Dostępny w internecie: <<https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/>> [dostęp: 30.03.2023].
7. Wojciechowska I., Pawłowski T. Rola osobowości w patogenezie i progresji chorób nowotworowych. *Med. Rodz.* 2017; 20(3): 206–210, doi: 10.25121/MR.2017.20.3.206.
8. Kissen D.M., Eysenck H.J. Personality in male lung cancer patients. *J. Psychosom. Res.* 1962; 6(2): 123–127, doi: 10.1016/0022-3999(62)90062-4.
9. Dahl A.A. Link between personality and cancer. *Future Oncol.* 2010; 6(5): 691–707, doi: 10.2217/fon.10.31.
10. Ogińska-Bulik N., Juczyński Z. Właściwości osobowości sprzyjające chorobom somatycznym – rola typu D. *Psychoonkologia* 2008; 12(1): 7–13.
11. Jokela M., Batty G.D., Hintsala T., Elovainio M., Hakulinen C., Kivimäki M. Is personality associated with cancer incidence and mortality? An individual-participant meta-analysis of 2156 incident cancer cases among 42,843 men and women. *Br. J. Cancer* 2014; 110(7): 1820–1824, doi: 10.1038/bjc.2014.58.
12. Hislop T.G., Waxler N.E., Coldman A.J., Elwood J.M., Kan L. The prognostic significance of psychosocial factors in women with breast cancer. *J. Chronic Dis.* 1987; 40(7): 729–735, doi: 10.1016/0021-9681(87)90110-x.
13. Kozak G. Osobowość stresowa (typ D), a strategie zmagania się z chorobą nowotworową. *Pol. J. Health Fitness* 2016; 1: 1–11.
14. Denollet J. DS14: standard assessment of negative affectivity, social inhibition, and Type D personality. *Psychosom. Med.* 2005; 67(1): 89–97, doi: 10.1097/01.psy.0000149256.81953.49.
15. Pedersen S.S., Denollet J. Validity of the Type D personality construct in Danish post-MI patients and healthy controls. *J. Psychosom. Res.* 2004; 57(3): 265–272, doi: 10.1016/S0022-3999(03)00614-7.
16. Ogińska-Bulik N., Juczyński Z., Denollet J. Skala do pomiaru typu D – DS14. W: Juczyński Z., Ogińska-Bulik N. Narzędzia pomiaru stresu i radzenia sobie ze stresem. Pracownia Testów Psychologicznych Polskiego Towarzystwa Psychologicznego. Warszawa 2009, s. 71–85.
17. Ogińska-Bulik N. Osobowość typu D a ryzyko uzależnienia od czynności. *Psychiatria* 2010; 7(1): 11–24.
18. Ogińska-Bulik N., Juczyński Z. Osobowość stresowa (typ D) a ryzyko występowania chorób układu krążenia. W: Kosińska-Dec K., Szewczyk L. [red.]. *Rozwój, zdrowie, choroba. Aktualne problemy psychosomatyki.* BEL Studio. Warszawa 2004, s. 5–17.
19. Husson O., Vissers P.A.J., Denollet J., Mols F. The role of personality in the course of health-related quality of life and disease-specific health status among colorectal cancer survivors: A prospective population-based study from the PROFILES registry. *Acta Oncologica* 2015; 54(5): 669–677, doi: 10.3109/0284186X.2014.996663.
20. Nagano J., Kono S., Toyomura K., Mizoue T., Yin G., Mibu R. i wsp. Personality and colorectal cancer: the Fukuoka colorectal cancer study. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2008; 38(8): 553–561, doi: 10.1093/jjco/hyn067.
21. Schoormans D., Husson O., Denollet J., Mols F. Is Type D personality a risk factor for all-cause mortality? A prospective population-based study among 2625 colorectal cancer survivors from the PROFILES registry. *J. Psychosom. Res.* 2017; 96: 76–83, doi: 10.1016/j.jpsychores.2017.03.004.



# Profilaktyka powikłań zakrzepowo-zatorowych u pacjentów z migotaniem przedsionków i otyłością

## Prevention of thromboembolic complications in patients with atrial fibrillation and obesity

Izabela Kolasa<sup>1</sup>, Beata Średniawa<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup> Oddział Kardiologii i Angiologii, Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrze / 1<sup>st</sup> Department of Cardiology and Angiology, Silesian Center for Heart Diseases in Zabrze

<sup>2</sup> Katedra Kardiologii, Wrodzonych Wad Serca i Elektrotepii, Oddział Kliniczny Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### STRESZCZENIE

Migotanie przedsionków (*atrial fibrillation* – AF) jest arytmia występującą u 1–2% populacji. Aby zapobiec powikłaniom zakrzepowo-zatorowym w grupie chorych z AF, zaleca się stosowanie przewlekłego, doustnego leczenia przeciwkrzepliwego. Otyłość jest czynnikiem przyczyniającym się do rozwoju i progresji AF, a stosowanie doustnych antykoagulantów u chorych z nadmiernym poziomem tkanki tłuszczowej może sprawiać trudności.

Powszechnie stosowane są antagonisty witaminy K (*vitamin K antagonist* – VKA) oraz doustne antykoagulanty niebędące antagonistami witaminy K (*non-vitamin K antagonist oral anticoagulants* – NOAC). W przypadku VKA u pacjentów otyłych należy spodziewać się dłuższego czasu oczekiwania oraz zastosowania wyższej dawki leków do osiągnięcia docelowych wartości międzynarodowego współczynnika znormalizowanego (*international normalized ratio* – INR). Nie zostało poznane, czy zakres terapeutyczny INR powinien zmieniać się w zależności od wskaźnika masy ciała (*body mass index* – BMI) lub masy ciała.

Do NOAC należą inhibitory czynnika Xa oraz bezpośrednie inhibitory trombiny. Dowiedziono, że stosowanie NOAC u otyłych pacjentów jest skuteczne i bezpieczne. W grupie chorych z AF i otyłością olbrzymią lub z masą ciała > 120 kg w prewencji powikłań zakrzepowo-zatorowych należy rozważyć stosowanie VKA lub oznaczanie stężenia substancji w osoczu ze względu na ograniczoną ilość danych.

### SŁOWA KLUCZOWE

migotanie przedsionków, otyłość, powikłania zakrzepowo-zatorowe, antagonisty witaminy K, doustne antykoagulanty niebędące antagonistami witaminy K

Received: 18.09.2022

Revised: 23.12.2022

Accepted: 23.12.2022

Published online: 25.04.2023

Adres do korespondencji: lek. med. Izabela Kolasa, I Oddział Kardiologii i Angiologii, Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrze, ul. Marii Curie-Skłodowskiej 9, 41-800 Zabrze, tel. +48 32 271 34 14, e-mail: i.kolasa@sccs.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



## ABSTRACT

Atrial fibrillation (AF) is an arrhythmia that occurs in 1–2% of the population. Chronic oral anticoagulation is recommended in the group of patients with AF to prevent thromboembolic complications. Obesity is a factor contributing to the development and progression of AF, and the use of oral anticoagulants in patients with excess body fat may be difficult.

Vitamin K antagonist (VKA) and non-vitamin K antagonist oral anticoagulants (NOAC) are commonly used. For VKA in obese patients, a longer time and a higher dose of drugs should be expected to achieve the target international normalized ratio (INR) values. It is not known whether the therapeutic range of INR should change with the body mass index (BMI) or body weight.

NOACs include factor Xa inhibitors and direct thrombin inhibitors. The use of NOAC in obese patients has been proven to be effective and safe. In the group of patients with AF and morbid obesity or with a body weight > 120 kg, the use of VKA or determination of the plasma concentration should be considered in the prevention of thromboembolic complications due to the limited amount of data.

## KEY WORDS

atrial fibrillation, obesity, thromboembolic complications, vitamin K antagonists, non-vitamin K antagonists oral anticoagulants

## WSTĘP

Otyłość jako istotny problem zdrowotny uznawana jest za chorobę cywilizacyjną. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization – WHO) z 2010 r. nadwagę miało 39% populacji osób dorosłych na świecie, a 13% chorowało na otyłość [1]. W Polsce średnio co druga osoba ma problem z nadmierną masą ciała [2]. Migotanie przedsionków (*atrial fibrillation* – AF) jest arytmia występującą u 1–2% populacji [3]. Według danych szacunkowych w Polsce na AF choruje około 1 200 000 pacjentów w grupie osób starszych [4]. U pacjentów z AF zwiększa się ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych, a udary mózgu występują 5 razy częściej. Aby im zapobiec, zaleca się stosowanie przewlekłego, doustnego leczenia przeciwkrzepliwego u chorych z wynikiem  $\geq 2$  u mężczyzn lub  $\geq 3$  u kobiet w skali CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc. Otyłość jest jednym z modyfikowalnych czynników ryzyka, przyczyniającym się do rozwoju i progresji AF [5].

## OMÓWIENIE

**Wskaźniki stosowane w klasyfikacji otyłości, przydatne w optymalizacji leczenia przeciwzakrzepowego**

Podstawowym wskaźnikiem służącym do rozpoznania i oceny stopnia otyłości jest wskaźnik masy ciała (*body mass index* – BMI), zwany inaczej wskaźnikiem Queteleta II. Oblicza się go, dzieląc masę ciała wyrażoną w kilogramach przez kwadrat wzrostu w metrach. Wskaźnik jest obciążony pewnymi ograniczeniami. Nie doszacowuje zawartości tkanki tłuszczowej, zwłaszcza u osób ze zwiększoną masą mięśniową, a także nie pozwala na wyodrębnienie typów otyłości. Według WHO prawidłowa masa ciała mieści się w zakresie 18,5–24,99 kg/m<sup>2</sup>, nadwaga zaś 25,00–29,99 kg/m<sup>2</sup>. U osób z BMI powyżej 30 kg/m<sup>2</sup> roz-

poznaje się otyłość. Wyróżnia się otyłość I stopnia (BMI 30–34,99 kg/m<sup>2</sup>), II stopnia (BMI 35–39,99 kg/m<sup>2</sup>) oraz III stopnia, zwaną też otyłością olbrzymią (BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup>).

Innym popularnym wskaźnikiem jest wskaźnik talia-biodra (*waist-hip ratio* – WHR), czyli stosunek obwodu talii do obwodu bioder. Norma różni się w zależności od płci: dla kobiet  $\leq 0,8$ , dla mężczyzn  $\leq 0,95$ . Przekroczenie tych wartości oznacza otyłość androidalną, czyli brzuszczą.

Do mniej popularnych wskaźników należą obwód talii (*waist circumference* – WC), pomiar grubości fałdu skórno-tłuszczowego lub analiza bioimpedancji elektrycznej (*bioelectric impedance analysis* – BIA) [6,7]. Pomimo dostępności licznych pośrednich mierników masy ciała to waga pacjenta jest niezbędna dla oszacowania dawkowania leków.

**Incydenty zakrzepowe w otyłości**

Otyłość jest związana ze stanem prozakrzepowym. U osób z BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> w porównaniu z grupą z prawidłową masą ciała zwiększa się ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych. Wiąże się to z efektem hiperkoagulacyjnym, występującym przy nadmiernym poziomie tkanki tłuszczowej. Do zaburzeń hemostazy prowadzi złożony proces związany z zaburzeniami metabolicznymi, hormonalnymi i środowiskowymi. Dochodzi m.in. do wzrostu stężenia i aktywności osoczowych czynników krzepnięcia, zwiększenia stężenia fibrynogenu i upośledzenia aktywności fibrynolitycznej osocza. Przekłada się to na 2,5-krotny wzrost ryzyka incydentów zakrzepicy żył głębokich i 2,9-krotny wzrost ryzyka incydentów zatorowości płucnej. Ponadto u chorych z otyłością wzrasta śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych [8,9].

**Powikłania krwotoczne w otyłości**

Otyłość – mimo udowodnionego efektu prozakrzepowego – wiąże się również z prawdopodobieństwem wystąpienia krwawień śródmózgowych. Ryzyko



krwawienia rośnie 1,53 razy przy wzroście masy ciała o każde 5 kg/m<sup>2</sup>. Przy zabiegach inwazyjnych pojawia się ryzyko powikłań krwotocznych, dlatego też warto je oszacować indywidualnie przed rozpoczęciem procedury. U pacjentów poddanych przezskórnej angioplastyce wieńcowej częstość ich występowania ma charakter U-kształtny. Zwiększone ryzyko krwawienia występuje u chorych ze wskaźnikiem BMI < 18,5 oraz ≥ 40 kg/m<sup>2</sup>. Dlatego aby zminimalizować liczbę powikłań u pacjentów z otyłością III stopnia, preferowany jest dostęp z tętnicy promieniowej [9].

### Antagonisty witaminy K

Wytworzenie czynnych postaci protrombiny oraz czynników krzepnięcia VII, IX i X jest zależne od obecności witaminy K. Pochodne kumaryny będące antagonistami witaminy K (*vitamin K antagonists* – VKA) są pośrednimi antykoagulantami blokującymi ich syntezę w wątrobie. Używany w Polsce substancjami z tej grupy są warfaryna i acenokumarol. Efekt przeciwkrzepliwy zostaje osiągnięty po upływie 3–5 dni od rozpoczęcia stosowania leku. Do monitorowania leczenia i ustalenia indywidualnego dawkowania stosuje się międzynarodowy współczynnik znormalizowany (*international normalized ratio* – INR) [10].

W przypadku VKA u pacjentów otyłych należy spodziewać się dłuższego czasu oczekiwania oraz zastosowania wyższej dawki leków do osiągnięcia docelowych wartości INR. Może być także potrzebna wyższa dawka substancji w celu utrzymania zakresu terapeutycznego INR. Wykazano zależność pomiędzy wielkością dawki podtrzymującej warfaryny a BMI. Średnią tygodniową dawkę warfaryny zwiększa się o 0,69 mg na każdy 1 kg/m<sup>2</sup>. W razie konieczności nagłego odwrócenia działania doustnych antykoagulantów za pomocą koncentratu czynników zespołu protrombiny BMI > 30 kg/m<sup>2</sup> jest niezależnym predyktorem oporności na jego działanie [9,11]. Leczenie preparatami VKA wiąże się z wieloma niedogodnościami dla pacjentów, jak również z ryzykiem powikłań klinicznych, w tym krwawień. Początek działania leków jest wolny. Ponadto istnieje możliwość licznych interakcji, zarówno międzylekowych, jak i z pożywieniem. Efekt przeciwkrzepliwy ustaje powoli [12]. Nie zostało poznane, czy zakres terapeutyczny INR powinien zmieniać się w zależności od BMI lub masy ciała.

### Doustne antykoagulanty niebędące antagonistami witaminy K

Do grupy doustnych antykoagulantów niebędących antagonistami witaminy K (*non-vitamin K antagonist oral anticoagulants* – NOAC) należą inhibitory czynnika Xa (rywaroksaban, apiksaban, edoksaban) oraz bezpośrednie inhibitory trombiny (dabigatran). Wskazaniem do ich stosowania jest m.in. profilaktyka powikłań zakrzepowo-zatorowych u pacjentów z AF. W porównaniu z VKA są łatwiejsze w dawkowaniu i nie

wymagają monitorowania skutków prowadzonego leczenia [13].

### Inhibitory czynnika Xa

Rywaroksaban to doustny lek, którego działanie polega na bezpośrednim hamowaniu aktywności czynnika Xa. Uniemożliwia to wytworzenie aktywnej trombiny z protrombiny, co wpływa na tor kaskady krzepnięcia i hamuje powstanie skrzepu. Substancję charakteryzuje wysoka biodostępność, szybki początek działania i utrzymywanie się efektu przeciwkrzepliwego przez 24 godziny. Nie ma konieczności monitorowania stężenia substancji we krwi ani parametrów krzepnięcia podczas terapii. W przypadku niewydolności nerek zwiększa się stężenie leku we krwi, co powoduje konieczność modyfikacji dawkowania leku z 20 do 15 mg zażywanych 1 raz dziennie w prewencji udaru mózgu u chorych z AF [12].

Przeprowadzono wiele badań porównujących skuteczność rywaroksabanu i VKA w redukowaniu powikłań zakrzepowo-zatorowych. Jednym z nich jest randomizowane badanie ROCKET-AF (*The Rivaroxaban Once Daily Oral Direct Factor Xa Inhibition Compared with Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation*). Do analizy włączono 14 264 pacjentów z AF wymagających leczenia przeciwkrzepliwego. Wykazano, że zażywanie rywaroksabanu jest równie skuteczne co stosowanie warfaryny w zapobieganiu udarowi mózgu i zatorowości systemowej w przyjętej grupie chorych [14]. Farmakokinetyka rywaroksabanu nie różni się istotnie u osób z otyłością. Masa ciała ma nieznaczny wpływ na stężenie substancji w osoczu. U pacjentów ze skrajnymi wartościami, tj. < 50 kg oraz > 120 kg zmiany wynoszą około 25%. Nie wpływa to na skuteczność leczenia przeciwkrzepliwego, nie należy też modyfikować dawki preparatu [15]. Aby ocenić skuteczność i bezpieczeństwo rywaroksabanu w odniesieniu do warfaryny w poszczególnych przedziałach BMI przeprowadzono dodatkową analizę z badania ROCKET-AF. Wykazała ona, że doustne leki przeciwzakrzepowe rozpatrywane w badaniu skutecznie redukują ryzyko udaru mózgu we wszystkich zakresach BMI, w tym u pacjentów z otyłością olbrzymią. Oceniając bezpieczeństwo stosowania rywaroksabanu, częstość krwawień różni się istotnie w zależności od masy ciała; najwięcej tych powikłań wystąpiło u chorych z nadwagą. W obu grupach, zarówno leczonej VKA, jak i rywaroksabanem, u chorych z nadmierną masą ciała występowało mniejsze ryzyko udaru mózgu. Największą korzyść z leczenia pod względem redukcji zdarzeń mózgowo-naczyniowych odnieśli pacjenci z otyłością II stopnia, czyli z BMI w zakresie 35–39,99 kg/m<sup>2</sup>, oraz pacjenci z otyłością ekstremalną (BMI ≥ 40 kg/m<sup>2</sup>) [16]. W populacji chorych z otyłością olbrzymią stosowanie rywaroksabanu lub warfaryny wiąże się z podobnym ryzykiem udaru mózgu, zatorowości obwodowej oraz poważnych





krwawień [17]. Podobnych wniosków dostarcza badanie, do którego włączono 71 225 otyłych pacjentów z niezastawkowym AF zażywających warfarynę lub rywaroksaban jako profilaktykę udaru i zatorowości obwodowej. Wykazano, że stosowanie NOAC w porównaniu z warfaryną w populacji chorych z BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> było związane z redukcją ryzyka udaru mózgu i zatorowości systemowej o 17% i poważnych powikłań krwotocznych o 18% [18].

Apiksaban jest kolejnym lekiem z grupy NOAC. Biodostępność substancji jest wysoka, wynosi 60–70%. Ma potwierdzoną skuteczność w zapobieganiu udarowi mózgu u pacjentów z AF. Z klinicznego punktu widzenia jest lekiem bezpiecznym. W czasie stosowania substancji nie jest konieczne monitorowanie parametrów krzepnięcia. U chorych w podeszłym wieku i z niewydolnością nerek stwierdza się wyższe stężenie substancji we krwi. Dlatego też u osób z AF przyjmujących apiksaban w celu zapobiegania incydentom zakrzepowo-zatorowym i spełniających dwa z trzech kryteriów: poziom kreatyniny w surowicy  $\geq 133$   $\mu$ mol/l (1,5 mg/dl), masa ciała  $\leq 60$  kg, wiek  $\geq 80$  lat, należy zmniejszyć dawkę apiksabanu o połowę. Konieczność redukcji dawki do 2,5 mg podawanej 2 razy dziennie zachodzi także u chorych z klirensem kreatyniny w przedziale 15–29 ml/min [13,19].

Aby poznać wpływ masy ciała na farmakokinetykę i farmakodynamikę apiksabanu, przeprowadzono badania u 54 zdrowych ochotników. Po podaniu pojedynczej dawki 10 mg apiksabanu oznaczono jego maksymalne stężenie oraz aktywność anty-Xa w zależności od trzech przedziałów masy ciała: niskiej ( $\leq 50$  kg), pośredniej (65–85 kg) i wysokiej ( $\geq 120$  kg). W ostatniej grupie stwierdzono o 31% niższe stężenie maksymalne substancji we krwi w porównaniu z grupą referencyjną, czyli z pośrednią wagą. Aktywność anty-Xa wykazywała zależność liniową ze stężeniem apiksabanu w osoczu. Osoby z ciężką otyłością miały najniższe stężenia i najniższą aktywność anty-Xa. Różnice w tych parametrach oceniono jako łagodne, z małym prawdopodobieństwem znaczenia klinicznego. Stwierdzono, iż nie ma konieczności dostosowywania dawki apiksabanu jedynie na podstawie masy ciała [20].

Badaniem porównującym terapię apiksabanem z warfaryną jest randomizowane badanie ARISTOTLE (*Apixaban for Reduction in Stroke and Other Thromboembolic Events in Atrial Fibrillation*). Wykazano zmniejszenie przez apiksaban częstości udaru mózgu lub zatorowości systemowej o 21%, ciężkiego krwawienia o 31% oraz zgonu o 11% u pacjentów z AF obciążonych co najmniej jednym dodatkowym czynnikiem udaru [21]. Jedną z dodatkowych analiz ARISTOTLE dotyczyła skuteczności i bezpieczeństwa apiksabanu w poszczególnych zakresach masy ciała. Do badania włączono 18 139 chorych, których podzielono na trzy grupy w zależności od masy ciała. Do pierwszej przydzielono 1985 chorych (10,9%) z masą

ciała  $\leq 60$  kg, do drugiej 15 172 chorych (83,6%) z masą 60–120 kg, do trzeciej 982 chorych (5,4%) z masą ciała  $> 120$  kg. Stwierdzono, że apiksaban jest skutecznym i bezpiecznym lekiem niezależnie od masy ciała. Wyniki dla chorych z ekstremalną wagą  $> 120$  kg są zbieżne z głównymi wnioskami w badaniu ARISTOTLE – w porównaniu z warfaryną apiksaban zmniejsza częstość udarów mózgu, rzadziej dochodzi też do krwawień oraz zgonów [22]. Zaobserwowano również tzw. paradoks otyłości. U chorych z otyłością rzadziej dochodziło do udaru mózgu i zawału serca, niższe było również ryzyko zgonu w porównaniu z grupą osób z normową. Przeżywalność w grupie otyłych pacjentów z AF leczonych przeciwkrzepliwie była wyższa niezależnie od czynników klinicznych i biomarkerów [23].

Edoksaban w prewencji udarów i zatorowości systemowej w niezastawkowym AF należy stosować 1 raz dziennie w dawce 60 mg. Przy upośledzonej czynności nerek z klirensem kreatyniny w zakresie 15–49 ml/min, masą ciała  $\leq 60$  kg lub przy jednoczesnym stosowaniu silnych inhibitorów glikoproteiny P konieczna jest redukcja dawki. Substancja charakteryzuje się biodostępnością wynoszącą 62%. Czas konieczny do osiągnięcia maksymalnego stężenia we krwi to 1–2 godziny [13,24].

Badanie ENGAGE AF-TIMI 48 (*The Effective Anti-coagulation with Factor Xa Next Generation in Atrial Fibrillation–Thrombolysis in Myocardial Infarction 48*) porównuje skuteczność edoksabanu z warfaryną u chorych z AF. Wykazano, że edoksaban ma podobną skuteczność co warfaryna w zapobieganiu udarowi mózgu i zatorowości systemowej, a wiąże się ze zmniejszonym ryzykiem krwawień [25]. Do wpływu masy ciała na skuteczność edoksabanu odnosi się subanaliza badania ETNA-AF-Europe. Włączonych do analizy 12 667 pacjentów podzielono na cztery grupy w zależności od masy ciała. Chorzy z wagą 60–80 kg stanowili grupę referencyjną. Dowiedziono, że edoksaban jest lekiem skutecznym, a częstość występowania udarów i krwawień jest niska niezależnie od masy ciała. Ponadto zaobserwowano wyższe ryzyko zgonu w grupach chorych ze skrajnie niską oraz skrajnie wysoką wagą w porównaniu z grupą referencyjną [26].

#### *Bezpośrednie inhibitory trombiny*

Dabigatran to substancja przyjmowana w postaci proleku. Nieaktywny eteksydan dabigatranu z udziałem esterazy ulega przemianie, stając się postacią czynną, działającą hamująco na aktywność trombiny. Po podaniu doustnym biodostępność substancji wynosi około 6,5%, a maksymalne stężenie w osoczu osiąga po upływie 2–6 godzin. Ze względu na możliwość większego stężenia substancji w osoczu u osób w wieku  $\geq 80$  lat lub przy jednoczesnym stosowaniu werapamilu zaleca się redukcję dawki do 110 mg zażywanych 2 razy dziennie [13,15].



W randomizowanym badaniu RE-LY (*The Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy*) przeprowadzono analizę skuteczności dabigatranu jako alternatywy dla VKA. Do badania zostało włączonych 18 113 pacjentów z AF wymagających leczenia przeciwkrzepliwego. Stosowali dabigatran w dawce 150 mg 2 razy na dobę, 110 mg 2 razy na dobę lub warfarynę. Dowiedziono, że stosowanie dabigatranu w dawce 110 mg jest równie skuteczne co warfaryna. W grupie zażywającej NOAC w wyższej dobowej dawce częstość udaru mózgu i zatorów systemowych była istotnie niższa w porównaniu z leczeniem warfaryną, a ryzyko istotnych powikłań krwotocznych porównywalne. W badaniu RE-LY w różnych przedziałach wagowych skuteczność dabigatranu była taka sama. W ten sposób potwierdzono, że zarówno wysoka, jak i niska waga nie mają wpływu na skuteczność leczenia przeciwkrzepliwego [27]. W dodatkowej analizie badania RE-LY wskazano, że częstość występowania udaru niedokrwiennego lub krwawienia podczas terapii dabigatranem wiąże się ze stężeniem substancji w osoczu. Najistotniejszym czynnikiem wpływającym na koncentrację leku był wiek, ponadto istotny wpływ miały czynność nerek, waga oraz płeć żeńska. Chorych podzielono na trzy podgrupy: z niską masą ciała (< 50 kg), dużą masą ciała (> 100 kg) oraz pośrednią masą ciała. Stężenie substancji znormalizowane względem dawki w grupie pacjentów z niską masą ciała było wyższe o około 21% w porównaniu z grupą z masą pośrednią. U pacjentów z masą ciała > 100 kg wykazano spadek stężenia substancji o około 21% [28].

#### Istotne aspekty kliniczne

Podczas leczenia NOAC nie są wymagane kontrolne oznaczenia parametrów krzepnięcia. Jednak zdarzają

się sytuacje, kiedy określenie poziomu antykoagulacji jest niezbędne, np. przy przedawkowaniu antykoagulantów, masywnym krwawieniu czy pilnej interwencji chirurgicznej.

Dabigatran wpływa na czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (*activated partial thromboplastin time* – APTT). Podczas zażywania leku APTT wydłuża się nawet 3-krotnie, ale nie jest to współmierne ze stężeniem substancji czynnej w osoczu. Do ilościowego pomiaru stężenia dabigatranu w osoczu mogą posłużyć rozcieńczony czas trombinowy (*diluted thrombin time* – dTT) i ekarynowy czas krzepnięcia (*ecarin clotting time* – ECT). Do oceny ryzyka krwawienia w sytuacjach nagłych u chorych zażywających dabigatran do szacunkowej oceny działania antykoagulacyjnego leku można użyć parametru przedłużonego aktywowanego czasu krzepnięcia (*activated clotting time* – ACT). Jest on średnio 2–4-krotnie wydłużony podczas stosowania leku.

U chorych leczonych bezpośrednimi inhibitorami czynnika Xa, tj. rywaroksabanem, apiksabanem lub edoksabanem, aby ocenić efekt antykoagulacyjny, możliwy jest pomiar aktywności anty-Xa. W tej grupie chorych APTT również się wydłuża, ale nie łączy się z efektem działania leków [29].

Przedmiotem obserwacji jest wspomniany już paradoks otyłości. Opisuje się korzystny wpływ nadmiernego poziomu tkanki tłuszczowej na rokowanie oraz mniejsze ryzyko zgonu z jakiegokolwiek przyczyny lub z przyczyn sercowo-naczyniowych. Stwierdza się go także w niektórych badaniach randomizowanych NOAC w przypadku udaru mózgu i zdarzeń zakrzepowo-zatorowych. U pacjentów zarówno z nadwagą, jak i otyłością rzadziej dochodziło do tych powikłań [30].

- Prawidłowa masa ciała
- BMI < 40 kg/m<sup>2</sup>
- Waga do 120 kg

**NOAC**  
lub  
**VKA wg INR**

- Otyłość olbrzymia
- Masa ciała > 120 kg

Do rozpatrzenia:  
**NOAC – oznaczenie stężenia substancji w osoczu**  
**VKA – stosowanie zamiast NOAC**

Ryc. 1. Schemat leczenia przeciwkrzepliwego w zależności od masy ciała.  
Fig. 1. Treatment regimen of anticoagulant therapy according to body weight.



## PODSUMOWANIE

W ostatnich latach przybyło danych dotyczących stosowania antykoagulacji u otyłych pacjentów z AF w prewencji powikłań zakrzepowo-zatorowych. Dostarczyły one dowodów na skuteczność i bezpieczeń-

stwo NOAC. Jednak liczba doniesień na temat stosowania NOAC w grupie pacjentów z otyłością olbrzymią, tj. z BMI  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup> lub z masą ciała  $> 120$  kg, jest ograniczona. Dlatego w grupie tej należy rozważyć stosowanie VKA zamiast NOAC lub oznaczenie stężenia substancji w osoczu. W pozostałych grupach chorych nie ma takiej konieczności (ryc. 1) [13].

## Author's contribution

Study design – B. Średniawa, I. Kolasa

Data collection – B. Średniawa, I. Kolasa

Manuscript preparation – I. Kolasa

Literature research – B. Średniawa, I. Kolasa

Final approval of the version to be published – B. Średniawa

## PIŚMIENNICTWO

1. Obesity and overweight. World Health Organization [online], 9 June 2021, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [dostęp: 14 września 2022].
2. Cukier, otyłość – konsekwencje. Przegląd literatury, szacunki dla Polski [pdf]. Narodowy Fundusz Zdrowia, Departament Analiz i Strategii, 21 lutego 2019, [https://ezdrowie.gov.pl/pobierz/raport\\_cukier](https://ezdrowie.gov.pl/pobierz/raport_cukier) [dostęp: 14 września 2022].
3. Pruszczyk P., Stępińska J., Banasiak W., Członkowska A., Opolski G., Niewada M. i wsp. Zastosowanie nowych doustnych leków przeciwkrzepliwych w prewencji powikłań zatorowych u chorych z migotaniem przedsionków. *Kardiol. Pol.* 2012; 70(9): 979–988.
4. Średniawa B., Mitrega K., Stokiszewski J., Sokal A., Boidol J., Wierucki L. i wsp. Screening for atrial fibrillation in subjects aged 65 using a long-term continuous ECG telemonitoring vest: the NONinvasive Monitoring for early detection of atrial fibrillation (NOMED-AF) study. *Eur. Heart J.* 2020; 41(Suppl. 2), doi: 10.1093/ehjci/ehaa946.0503.
5. Hindricks G., Potpara T., Dagres N., Arbelo E., Bax J.J., Blomström-Lundqvist C. i wsp. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *Eur. Heart J.* 2021; 42(5): 373–498, doi: 10.1093/eurheartj/ehaa612.
6. Dyba J., Surdacka A. Otyłość – epidemia XXI wieku. *Dental Forum* 2019; 47(1): 29–35, doi: 10.20883/df.2019.4.
7. Szymocha M., Bryła M., Maniecka-Bryła I. Epidemia otyłości w XXI wieku. *Zdr. Publ.* 2009; 119(2): 207–212.
8. Świętkowska-Stodulska R., Kazimierska E., Sworczak K., Częstochowska E. Zaburzenia hemostazy u osób otyłych. *Wiad. Lek.* 2007; 60(3–4): 185–188.
9. Rocca B., Fox K.A.A., Ajjan R.A., Andreotti F., Baigent C., Collet J.P. i wsp. Antithrombotic therapy and body mass: an expert position paper of the ESC Working Group on Thrombosis. *Eur. Heart J.* 2018; 39(19): 1672–1691, doi: 10.1093/eurheartj/ehy066.
10. Woźnicka-Leśkiewicz L., Wolska-Bułach A., Tykarski A. Interakcje antykoagulantów z lekami i żywnością — wskazówki dla lekarza praktyka. *Chor. Serca Naczyń* 2014; 11(2): 78–90.
11. Mueller J.A., Patel T., Halawa A., Dumitrascu A., Dawson N.L. Warfarin dosing and body mass index. *Ann. Pharmacother.* 2014; 48(5): 584–588, doi: 10.1177/1060028013517541.
12. Drzewoski J., Watała C.: Riwaroksaban i dabigatran — nowe możliwości prewencji żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej i jej powikłań. *Chor. Serca Naczyń* 2011; 8(4): 197–208.
13. Steffel J., Collins R., Antz M., Cornu P., Desteghe L., Haessler K. i wsp. 2021 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Europace* 2021; 23(10): 1612–1676, doi: 10.1093/europace/ehab065.
14. Patel M.R., Mahaffey K.W., Garg J., Pan G., Singer D.E., Hacke W. i wsp. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365(10): 883–891, doi: 10.1056/NEJMoa1009638.
15. Tomkowski W. Nowo zarejestrowane leki przeciwzakrzepowe: rywaroksaban i dabigatran. *Hematologia* 2010; 1(2): 151–156.
16. Balla S.R., Cyr D.D., Lokhnygina Y.L., Becker R.C., Berkowitz S.D., Breithardt G. i wsp. Relation of risk of stroke in patients with atrial fibrillation to body mass index (from patients treated with rivaroxaban and warfarin in the Rivaroxaban Once Daily Oral Direct Factor Xa Inhibition Compared with Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation trial). *Am. J. Cardiol.* 2017; 119(12): 1989–1996, doi: 10.1016/j.amjcard.2017.03.028.
17. Peterson E.D., Ashton V., Chen Y.W., Wu B., Spyropoulos A.C. Comparative effectiveness, safety, and costs of rivaroxaban and warfarin among morbidly obese patients with atrial fibrillation. *Am. Heart J.* 2019; 212: 113–119, doi: 10.1016/j.ahj.2019.02.001.
18. Costa O.S., Beyer-Westendorf J., Ashton V., Milentijevic D., Moore K.T., Bunz T.J. i wsp. Effectiveness and safety of rivaroxaban versus warfarin in obese nonvalvular atrial fibrillation patients: analysis of electronic health record data. *Curr. Med. Res. Opin.* 2020; 36(7): 1081–1088, doi: 10.1080/030077995.2020.1762554.
19. Szpotowicz A., Gorczyca-Michta I., Krzciuk M., Wożakowska-Kapłon B. Apiksaban w codziennej praktyce klinicznej – dla jakiej grupy pacjentów? *Chor. Serca Naczyń* 2016; 13(6): 424–428.
20. Upreti V.V., Wang J., Barrett Y.C., Byon W., Boyd R.A., Pursley J. i wsp. Effect of extremes of body weight on the pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability of apixaban in healthy subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2013; 76(6): 908–916, doi: 10.1111/bcp.12114.
21. Szczerba E. Apiksaban skuteczniejszy i bezpieczniejszy od warfaryny u pacjentów z migotaniem przedsionków: badanie ARISTOTLE. *Kardiol. Pol.* 2012; 70(2): 196–198.
22. Hohnloser S.H., Fudim M., Alexander J.H., Wojdyla D.M., Ezekowitz J.A., Hanna M. i wsp. Efficacy and safety of apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation and extremes in body weight. *Circulation* 2019; 139(20): 2292–2300, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037955.
23. Sandhu R.K., Ezekowitz J.A., Hijazi Z., Westerbergh J., Aulin J., Alexander J.H. i wsp. Obesity paradox on outcome in atrial fibrillation maintained even considering the prognostic influence of biomarkers: insights from the ARISTOTLE trial. *Open Heart* 2018; 5(2): e000908, doi: 10.1136/openhrt-2018-000908.
24. Witkowski M., Witkowska M., Smolewski P. Najnowsze zalecenia dotyczące zastosowania nowych doustnych antykoagulantów w rutynowej praktyce. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2016; 70: 43–55.
25. Giugliano R.P., Ruff C.T., Braunwald E., Murphy S.A., Wiviott S.D., Halperin J.L. i wsp. Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2013; 369(22): 2093–2104, doi: 10.1056/NEJMoa1310907.
26. Boriani G., De Caterina R., Manu M.C., Souza J., Pecun L., Kirchhof P. Impact of weight on clinical outcomes of edoxaban therapy in atrial fibrillation patients included in the ETNA-AF-Europe registry. *J. Clin. Med.* 2021; 10(13): 2879, doi: 10.3390/jcm10132879.
27. Connolly S.J., Ezekowitz M.D., Yusuf S., Eikelboom J., Oldgren J., Parekh A. i wsp. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361(12): 1139–1151, doi: 10.1056/NEJMoa0905561.



28. Reilly P.A., Lehr T., Haertter S., Connolly S.J., Yusuf S., Eikelboom J.W. i wsp. The Effect of dabigatran plasma concentrations and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients: the RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014; 63(4): 321–328, doi: 10.1016/j.jacc.2013.07.104.

29. Kasprzak J.D., Dąbrowski R., Barylski M., Mamcarz A., Welnicki M., Filipiak K.J. i wsp. Doustne antykoagulanty nowej generacji – aspekty

praktyczne. Stanowisko Sekcji Farmakoterapii Sercowo-Naczyniowej Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego. *Folia Cardiol.* 2016; 11(5): 377–393, doi: 10.5603/FC.2016.0064.

30. Proietti M., Guiducci E., Cheli P., Lip G.Y.H. Is there an obesity paradox for outcomes in atrial fibrillation? A systematic review and meta-analysis of Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulant trials. *Stroke* 2017; 48(4): 857–866, doi: 10.1161/STROKEAHA.116.015984.



## Knowledge of students of selected fields of study on specific eating disorders

### Wiedza studentów wybranych kierunków studiów na temat specyficznych zaburzeń odżywiania

Michał Górski<sup>1</sup> , Beata Całyniuk<sup>2</sup> , Jagoda Garbicz<sup>1</sup> , Kamila Szymał<sup>1</sup> ,  
Karolina Górską<sup>3</sup> , Renata Polaniak<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Doctoral School, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Szkoła Doktorska, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup>Department of Human Nutrition, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Zakład Żywności Człowieka, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>3</sup>Students' Scientific Association of Special Pedagogy, Faculty of Special Pedagogy, Pedagogical University of Krakow, Poland / Studenckie Towarzystwo Naukowe Pedagogiki Specjalnej, Wydział Pedagogiki Specjalnej, Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Eating disorders comprise a dynamically developing group of psychiatric disorders. They are characterized by a pathological way of food intake and disturbances in the feelings of hunger and satiety. The clinical picture is dominated by destructive eating behaviours, an abnormal self-image and obsession with controlling body weight. The aim of the study was to assess the knowledge about anorexia nervosa (AN) and bulimia nervosa (BN) among students of selected faculties.

**MATERIAL AND METHODS:** The group of respondents consisted of students of medicine, dentistry, dietetics and psychology. The questionnaire study included 955 respondents (799 women and 156 men). The probability level of 0.05 was assumed in the statistical analyses.

**RESULTS:** More than 85% of the respondents correctly indicated the definition of AN and BN. The knowledge of the risk factors, complications, or diagnostic criteria for these conditions ranged 20–60%. The medical and psychology students had the highest level of knowledge. The respondents who had a history of eating disorders had a higher level of knowledge than those who had never suffered from them.

**CONCLUSIONS:** The knowledge of eating disorders among medical, medical-dental, dietetics and psychology students is selective and insufficient to work with patients with eating disorders. This suggests the need for ongoing education in the researched aspect.

#### KEY WORDS

anorexia nervosa, bulimia nervosa, specific eating disorder

Received: 31.01.2022

Revised: 26.12.2022

Accepted: 26.12.2022

Published online: 27.04.2023

Address for correspondence: mgr Michał Górski, Szkoła Doktorska, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jordana 19, 41-808 Zabrze, tel. +48 32 275 51 95, e-mail: d200893@365.sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Zaburzenia odżywiania to dynamicznie rozwijająca się grupa zaburzeń psychicznych. Charakteryzują się patologicznym sposobem przyjmowania pokarmu oraz zaburzeniami w odczuwaniu głodu i sytości. W obrazie klinicznym dominują destrukcyjne zachowania żywieniowe, nieprawidłowy obraz własnego ciała oraz obsesja dotycząca kontrolowania masy ciała. Celem pracy była ocena wiedzy na temat jadłowstrętu psychicznego (*anorexia nervosa* – AN) i żarłoczności psychicznej (*bulimia nervosa* – BN) wśród studentów wybranych kierunków studiów.

**MATERIAŁ I METODY:** Grupę respondentów stanowili studenci kierunków lekarskiego, lekarsko-dentystycznego, dietetyki i psychologii. Badaniem kwestionariuszowym objęto 955 respondentów (799 kobiet oraz 156 mężczyzn). W analizach statystycznych przyjęto poziom prawdopodobieństwa 0,05.

**WYNIKI:** Ponad 85% badanych prawidłowo wskazało definicję AN i BN. Wiedza na temat czynników ryzyka, powikłań czy kryterium diagnostycznego tych schorzeń wahała się w zakresie 20–60%. Największą wiedzę posiadali studenci kierunków lekarskiego oraz psychologii. Respondenci, którzy chorowali w przeszłości na zaburzenia odżywiania, posiadali większą wiedzę niż osoby nigdy na nie niechorujące.

**WNIOSKI:** Wiedza na temat zaburzeń odżywiania wśród studentów kierunków lekarskiego, lekarsko-dentystycznego, dietetyki oraz psychologii jest wybiórcza i niewystarczająca do pracy z pacjentami chorującymi na zaburzenia odżywiania. Sugeruje to konieczność stałej edukacji w badanym aspekcie.

## SŁOWA KLUCZOWE

jadłowstręt psychiczny, żarłoczność psychiczna, specyficzne zaburzenia odżywiania

## INTRODUCTION

The number of patients diagnosed with mental illnesses is increasing rapidly worldwide [1]. According to World Health Organization (WHO), they occur in 10–20% of children and adolescents, which is the leading cause of disability among young people, regardless of geographical region [2]. A lack of appropriate treatment causes developmental disorders and makes it impossible to lead a fulfilling life in the future [2]. It is also worrying that the incidence of mental disorders is increasing in the elderly group (over 60 years of age) and is currently around 15% [3].

One of the most rapidly growing groups of mental disorders is eating disorders [4]. They are diseases characterized by disturbed food intake and disturbances in the feelings of hunger and satiety. These disorders do not have organic causes; they develop on psychological grounds [5]. The clinical picture is dominated by destructive eating behaviours, an abnormal self-image and obsession with controlling body weight. The patient usually hides the problems from the family and the environment, and in some cases isolates himself from society [4,5,6].

In the literature, eating disorders are divided into two groups. There are specific eating disorders such as anorexia nervosa (AN) and bulimia nervosa (BN) and non-specific eating disorders such as night eating syndrome, orthorexia, bigorexia and pregorexia [4].

These disorders are becoming some of the biggest public health problems. They occur mainly in girls and young women, but their prevalence is increasingly observed in boys, men and older people [5]. It seems that the extent of their prevalence, which was determined at the beginning of the 21st century (at that time eating disorders were observed to be much more common in Western Europe and North America

compared to Eastern Europe, Asia or Africa) [5,6]. Currently, these disorders occur in similar intensity in all geographic regions, and in Africa and Asia, there has been a dynamic increase in their prevalence [4,5,6].

One of the main diseases among this group of disorders is AN. It is a disease characterized by the refusal of food intake or strict dietary restrictions [6]. The affected person has a disturbed self-image (exaggeration of body size), it is often hatred directed towards the body. The patient is accompanied by severe anxiety and a fear of weight gain, even after eating the smallest meal. Body mass index (BMI) is maintained below the lower limit of normal [5]. Long-term starvation leads to cachexia, numerous complications, e.g. menstrual atrophy, bradycardia, anaemia, hair loss, hypothermia, and immunodeficiency [4,5,6]. Affective disorders, including depression, may also occur [5]. The annihilation of the organism leads to significant strain on the body, in many cases ending in death. Anorexia nervosa is a disease with the highest mortality rate of all mental illnesses; about 50% of deaths are due to cachexia, the remaining 50% are associated with suicidal behaviour [7].

Another disease entity is BN, which is characterised by the occurrence of overeating attacks, after which the patient uses compensatory methods [8]. They include provoked vomiting, the use of laxatives, restrictive fasting, diuretics, excessive physical exercise or the use of drugs to speed up the metabolism [7,8,9]. Common complications of BN are perforations of the gastrointestinal tract, damage to tooth enamel, ulcers in the oral cavity, salivary gland enlargement, hormonal disorders, and heart disorders [8,9].

The treatment process of AN and BN is long-lasting and requires the cooperation of many specialists. Patients usually seek help in situations of extreme malnutrition (in the case of AN), with numerous complications [7,8,9]. Treatment includes the help of



a psychologist, psychiatrist, internist, gynaecologist, cardiologist and nutritionist. Depending on the existing complications, other specialists may be involved in the treatment process. The longer the duration of the illness, the worse the prognosis and the less effective the treatment, which is why it is important to diagnose these disorders as soon as possible. It seems that the knowledge of characteristic symptoms, complications and diagnostics will favour their better recognition [5,7,8,9].

To date, research on the knowledge of eating disorders among medical and social science students has been conducted extremely rarely. Only three studies conducted among students can be found in the Polish and foreign literature; more frequently, such studies have been conducted among school students, school employees, and university teachers [10,11,12,13,14, 15,16]. Therefore, it seems interesting to investigate the level of knowledge about eating disorders among students of selected faculties of medical and social science studies.

This study aimed to assess the knowledge of AN and BN among students of selected majors.

## MATERIAL AND METHODS

The group of respondents consisted of students of selected faculties (medicine, dentistry, dietetics, psychology) studying at six Polish universities. The sample size calculator [17] was used to estimate the sample size. The following parameters were kept: estimated fraction size ( $p$ ) – 50%; significance level ( $\alpha$ ) – 0.05; population size ( $N$ ): data based on Central Statistical Office reports [18]: 45327; permissible error ( $e$ ): 5%. Based on the calculator, the sample size for the finite population was determined to be 381 subjects. However, in order to obtain the most accurate data, a much larger group of respondents was examined.

1103 people were invited to participate in the study. During the analysis of the completed questionnaires, 148 questionnaires were rejected (no marked answers, no metric data, empty questionnaires). Finally, 955 respondents were qualified for the study and the study group consisted of: 250 dietetics students, 244 psychology students, 246 medicine students, 215 dentistry students.

The criterion for inclusion in the study was the status of a student of a Polish university and studying one of the following majors: medicine, dentistry, dietetics and psychology. Persons not fulfilling the above-mentioned criteria were excluded from the study.

Participation in the study was voluntary and anonymous. The questionnaires were handed in personally or sent by post. A limitation of the study is the voluntary participation of the interviewees. The

sample was not randomly selected, which may be associated with bias – there is a risk that people related to the subject matter of the study volunteered for it [19]. Thus, the conclusions of this study should be treated with some caution.

According to Polish law, this study was not a medical experiment, therefore it did not require the consent of the Bioethics Committee (Act of December 5, 1996, on the professions of physician and dentist (i.e. Journal of Laws 2019, item 537). Nevertheless, all research standards were observed in the study. It complies with the provisions of the Declaration of Helsinki.

An original questionnaire was used in the study, which was validated on 55 persons. They were asked to fill in the questionnaire twice with an interval of 5 days. The obtained results were statistically analysed to assess the reliability of the developed questionnaire. The internal consistency of the scales was tested using Cronbach's alpha coefficient and by determining the correlation coefficients between the answers to individual questions and the total scale scores. Scale repeatability (test-retest reliability) was determined by comparing the results obtained when the same person completed the same questionnaire twice at an interval of 5 days and by determining the intraclass correlation coefficient (ICC). A significantly high correlation was found between the scores obtained for each question and the total score (in each case  $p < 0.05$ ,  $r > 0.67$ ). The calculated alpha-Cronbach's coefficient was 0.90, indicating the very good internal consistency of the questionnaire.

Reliability analysis of the questionnaire was performed based on questionnaires completed correctly twice. The level of repeatability was determined using the ICC coefficient, which was 0.81. No statistically significant differences were found between the total scores and the scores for individual questions obtained after completing the questionnaire twice (on day 0 and day 5  $p > 0.05$  in each case). Correlation coefficients were determined between answers to individual questions obtained during the first and second filling-out of the questionnaire. A significant, high correlation was found between the results obtained for each question in the case of double questioning ( $p < 0.05$  and  $r > 0.52$  in each case).

The questions on knowledge about eating disorders had a minimum of 5 answer options, one of which was "I don't know". Each of these questions had only one correct answer. The respondents' answers were scored for correctness. A maximum of 14 points could be obtained. Each correct answer was awarded 1 point, each incorrect answer 0 points. Based on the answers, the actual level of knowledge of the respondents was assessed. The data were interpreted according to the following scale: 14–13 points very good knowledge, 12–11 points good knowledge, 10–8 points sufficient knowledge, < 8 points insufficient knowledge.



The Shapiro-Wilk test was used to assess the normality of data distributions. The  $\chi^2$  test was employed to test for the significance of differences. The results for which  $p < 0.05$  were considered statistically significant. Statistical analysis was performed using Statistica 13.3 PL (StatSoft Polska, Kraków, Poland).

## RESULTS

955 respondents participated in the study. The dominant group of respondents was women (52.1%). The statistical structure of the respondents in terms of the place of residence was significantly different. Considering the field of study, the most numerous group was students of dietetics (26.2%), the least numerous group was students of dentistry (22.4%). Additionally, 244 psychology students (25.6%) and

246 medical students (25.8%) participated in the survey. The majority of the respondents were students of the initial period of study (1–3 years). Eating disorders were diagnosed in 3.9% of the respondents.

The vast majority of respondents, from all the majors surveyed, were able to correctly indicate the definition of AN (85.9%). The correct answer regarding the diagnostic criterion was given by far fewer respondents – knowledge of the criterion according to BMI was indicated only 29% of respondents, and the amenorrhoea criterion by 43.2%. Only half of the respondents knew which products are customarily eliminated from the diet of persons suffering from AN. A similar number of respondents (52.8%) was able to indicate the clinical symptoms of this disease. Only every third respondent was able to indicate the complications of AN (Table I).

Table I. Respondents' knowledge about anorexia nervosa  
Tabela I. Wiedza respondentów na temat jadłowstrętu psychicznego

Subject	Correct answer n (%)				
	total students	dietetics	psychology	medicine	dentistry
Knowledge of definition of AN	820 (85.9)	328 (96.2)	166 (67.5)	220 (88.7)	106 (88.3)
Knowledge of diagnostic criterion for BMI	267 (29.0)	101 (29.6)	74 (30.1)	69 (27.8)	23 (19.2)
Knowledge of diagnostic criterion – absence of menstruation	412 (43.2)	174 (51.0)	121 (49.2)	64 (25.7)	53 (44.2)
Knowledge of characteristic dietary behaviour – elimination of fatty products and those containing carbohydrates	480 (50.3)	145 (42.5)	139 (56.5)	140 (56.5)	56 (46.7)
Knowledge of clinical symptoms of AN – constipation, insomnia, syncope, lanugo	504 (52.8)	211 (61.9)	107 (43.5)	109 (44.0)	77 (64.2)
Knowledge of complications of AN – hypothermia, increased cholesterol, infertility	332 (34.8)	139 (40.8)	61 (24.8)	82 (33.1)	50 (41.6)

AN – anorexia nervosa; BMI – body mass index.

The majority of the surveyed students were able to correctly identify the definition of BN (86.5%), the characteristics of overeating attacks (74.8%), the general risk factors (69.1%) and its health complications (55.5%). The other issues of BN were known to respondents to a much lesser extent. Detailed data are presented in Table II.

The majority of the respondents admitted that they gain knowledge about eating disorders via the Internet (55.1%), followed by at university (35.8%). 13.3% of the respondents said they were not interested in eating disorders. Most of the respondents overall (53.3%) rated their knowledge about eating disorders as sufficient. 20.2% of the total students considered their knowledge to be insufficient. The actual level of knowledge of the respondents, determined by the number of points obtained from the questionnaire, indicates that the vast majority of the respondents (86.2%) have insufficient knowledge. None of the respondents received a very good score. Only 4% of the students obtained a good score. Statistical significance

was obtained for the relationship between self-assessment and actual knowledge ( $p < 0.05$ ).

The highest level of knowledge about specific eating disorders was demonstrated by the respondents studying on the faculty of medicine (9 points); a similar result was obtained by the respondents studying on other faculties (8 points). The highest median score, depending on the year of study, was achieved by fourth-year students (10 points), while the lowest knowledge on the subject was characteristic of first and second-year students (7 points). Respondents living in the countryside and not suffering from eating disorders displayed less knowledge than the other groups of respondents from the analysed criteria. Statistical significance was obtained for the number of points obtained depending on the field of study and year of study ( $p < 0.001$ ). People who suffered from eating disorders had greater knowledge than people who did not suffer from these diseases (the differences between the two groups were not statistically significant; Table III).





Table II. Respondents' knowledge of bulimia nervosa  
Tabela II. Wiedza respondentów na temat żarłoczności psychicznej

Subject	Correct answer n (%)				
	total students	dietetics	psychology	medicine	dentistry
Knowledge of definition of BN	826 (86.5)	335 (98.2)	200 (81.3)	195 (78.6)	96 (80)
Knowledge of characteristic features of BN – awareness of the illness, use of compensatory methods	220 (23.0)	64 (18.8)	66 (26.9)	65 (26.2)	25 (20.8)
Knowledge of compensatory methods – provoking vomiting, use of laxatives, excessive physical activity	313 (32.8)	119 (34.8)	88 (35.8)	73 (29.4)	33 (27.5)
Knowledge of characteristics of overeating attacks – loss of control, eating large amounts of food	714 (74.8)	282 (82.7)	196 (79.6)	157 (63.2)	79 (65.8)
Knowledge of general risk factors for BN – female gender, adolescence and early adulthood, Western European society	662 (69.1)	264 (77.4)	140 (56.9)	162 (65.3)	96 (80.0)
Knowledge of specific risk factors for BN – mental disorders, obesity, excessive attention to appearance, early onset of first period	304 (31.8)	117 (34.4)	74 (30.1)	71 (28.6)	42 (35.0)
Knowledge of health complications of BN – arrhythmia, damage to tooth enamel, endocrine disruption	530 (55.5)	209 (61.3)	120 (48.8)	111 (44.7)	90 (75.0)
Knowledge of the "vicious cycle"	249 (26.1)	71 (20.8)	68 (27.6)	87 (35.1)	23 (19.2)

BN – bulimia nervosa.

Table III. Analysis of median scores from questionnaire on specific eating disorders according to selected criterion  
Tabela III. Analiza mediany wyników uzyskanych z kwestionariusza, dotycząca specyficznych zaburzeń odżywiania w zależności od wybranego kryterium

Criterion	Classification	Median score (lower and upper quartiles)	Minimum	Maximum	p*
Field of study	dietetics	8 (6; 9)	1	13	< 0.001
	psychology	8 (7; 10)	2	13	
	medicine	9 (7; 10)	1	13	
	dentistry	8 (7; 9)	5	10	
Year of study	first	7 (5; 8)	1	13	< 0.001
	second	7 (6; 9)	1	13	
	third	8 (6; 9)	2	13	
	fourth	10 (9; 10)	7	11	
	fifth	9 (8; 10)	1	12	
	sixth	9 (8; 10)	5	12	
Place of residence	village	7 (6; 9)	2	12	0.46
	small city	8 (6; 9)	1	12	
	medium-sized city	8 (6; 9)	1	13	
	large city	8 (6; 9)	1	13	
Diagnosis of eating disorders	yes	9 (8; 10)	2	11	0.29
	no	8 (6; 9)	1	13	

\*  $\chi^2$  test

## DISCUSSION

Three factors are the most important in the treatment process of eating disorders: early diagnosis, the patient's consent to start treatment and the motivation to start therapy [11]. The first factor depends on the closest environment of the sick person (family, friends, school environment) and medical professionals

(physicians, nurses, dentists, dieticians, physiotherapists, psychologists), who are the first to have contact with the sick person, and thus can spot disturbing symptoms and start treatment [5,6,20,21]. Early diagnosis is a factor that is relatively easy to modify by introducing appropriate training and disseminating knowledge about eating disorders [11,12]. Clinical practice, as well as numerous scientific publications, point out that the other two factors are difficult to



implement as people with eating disorders often do not want to undertake treatment, deny the illness, or consider it a way of life rather than a pathology leading in some cases to death [6,8,22].

An additional complication is the effective masking of symptoms by patients and the lack of common procedures for early detection of these disorders [11]. Patients with eating disorders usually seek help after a long period of illness [1,20,23,24]. They most often seek help from family physicians or clinical dietitians because they have numerous somatic complications as a consequence of their underlying disease entities [11,25]. During the medical and nutritional interview, patients do not admit their eating problems, moreover, they often deny them [11]. Therefore, it is important to be able to recognize the symptoms of eating disorders at an early stage, even when patients initially deny their occurrence.

In the present study, students of four majors were investigated: medicine, dentistry, dietetics and psychology. These groups of students were chosen because scientific publications [10,12,26,27,28] indicate that patients with eating disorders most often seek help from graduates of these fields of study. A similar study, determining knowledge about eating disorders, was conducted by Godala et al. [24] among students of the Medical University of Łódź. The study involved 200 students of physiotherapy, nursing, medical rescue and public health. Subsequently, in the study conducted by Turk et al. [13] the examined group consisted of 138 sports trainers working at universities. The study by Johansson et al. [10] was carried out among 1726 Norwegian dental practitioners and had the largest group of respondents among the discussed literature. It determined not only knowledge about eating disorders, but also the frequency with which dentists provide health care to people with eating disorders and the type of medical procedures they perform.

In our study, the vast majority of the total number of surveyed students (85.9%) were able to indicate the correct definition of AN. The widest knowledge in this area was possessed by the students of dietetics, 96.2% of whom gave the correct answer. It is interesting, however, that almost 15% of the psychology students answered that AN is a disorder in which the patient maintains his/her body weight above the upper limit of the BMI norm. This response is contrary to the correct definition of AN since a prerequisite for the diagnosis of AN is the maintenance of body weight below the lower limit appropriate for age and sex [29].

The knowledge of the definition of AN among the students partaking in our study can be considered satisfactory, but it was lower than in other works. In the study by Godala et al. [24], the correct definition of AN was indicated by as many as 90% of the surveyed students (in our study – 85.9%). It is also surprising that more students of lower and upper secondary schools

were able to indicate the correct definition of AN than the respondents in our study. In the study by Chwałczyńska and Bembenek [22], as many as 90% of junior high school students knew the concept of AN.

Unfortunately, despite good knowledge of the definition of AN, most respondents could not correctly identify the diagnostic criteria for the disorder. Only 29% of the total number of surveyed students correctly indicated that AN can be diagnosed when the BMI value is less than 17.5 kg/m<sup>2</sup>; less than half of the respondents considered the absence of menstruation as a diagnostic criterion. Similar awareness (42.7%) on the discussed topic was demonstrated by high school students in the study by Żolnierczuk-Kieliszek et al. [30]. In our study, the greatest knowledge in this field was demonstrated by the students of dietetics and psychology, while the lowest was by the students of medicine. This is disturbing information because knowledge of the diagnostic criteria is essential for correct medical diagnosis.

In this study, questions were asked relating to the symptoms that accompany AN. Questions related to psychiatric symptoms (including behavioural changes – changes in behaviour and eating habits) and somatic changes were addressed.

Unfortunately, only slightly more than half of the respondents (50.3%) were able to correctly identify the groups of products that are eliminated from the diet of patients with AN. The students of psychology and medicine had the widest knowledge in this field. Surprisingly, among all the majors, the students of dietetics gave the correct answers with the lowest frequency. Patients, especially in large cities, often turn to a dietician for help before they become aware of the disease and start treatment, hence a dietician must be able to recognize the characteristic eating behaviours that may suggest a problem with eating disorders and pay attention to this fact in further work with the patient [26,31,32,33,34].

A problem for a significant number of subjects was to identify the characteristic somatic symptoms that occur in AN. The results obtained in our work differ from those obtained in other studies. Much better knowledge of AN symptoms was demonstrated by trainers working at universities [12]. Nearly  $\frac{3}{4}$  (73.8%) of them correctly identified the symptoms that occur in this disease entity. This is positive information as such knowledge of symptoms may help in early diagnosis of the disease and encourage treatment. High school students, on the other hand, were characterised by possessing less knowledge of the researched subject. In the study by Szpytman et al. [35], only 13% of the respondents correctly recognised dermatological changes (including the presence of whiteheads on the skin) as a symptom of AN.

As in the case of AN, the vast majority of respondents were able to recognise the definition of BN. As many



as 86.5% of the respondents correctly recognized that bulimia is a disease that “is characterized by eating very large amounts of food, with a loss of self-control, followed by methods leading to weight loss”. This answer was indicated by almost all the surveyed dietetics students (98.2%), who displayed the greatest knowledge in this area. The lowest number correct answers to this question was given by the surveyed medicine and dentistry students. Knowledge of the definition of bulimia, among the students participating in this study, was slightly higher than in the study by Godala et al. [24] (80%). The cited study was also conducted among medical university students, which may suggest that the results obtained in our work are highly reliable. The respondents in our study demonstrated significantly greater knowledge of the definition of bulimia than pregnant women and diabetics [16]. In cited study, BN was correctly defined by only 53% of pregnant women and 39.6% of diabetics. The cited results indicate a higher level of knowledge on the studied topic among medical and social science students than in other population groups.

The occurrence of eating disorders has complex pathogenesis, and it is difficult to determine unequivocally which factor is the direct cause of these disease entities [25,26,36,37,38,39]. Nevertheless, some factors that carry the risk of developing BN have been described in quite some detail in the literature as general factors and specific factors [1,40,41].

Nearly 70% of the respondents were able to identify the general risk factors for bulimia (female gender, adolescence and early adulthood, Western European society). The highest number of correct answers was given by the students of medicine and dentistry (80%), the lowest level of knowledge on this issue was displayed by the students of psychology (56.9%). However, the vast majority of respondents could not identify the specific risk factors for bulimia. The correct answer (mental disorders, obesity, excessive attention to appearance, early onset of the first menstrual period) was given by only 31.8% of the respondents.

The knowledge of BN risk factors of the respondents of the present study was lower than that of sports coaches working at universities in the USA [12]. A study by

Turk et al. [13] found that 80% of coaches were able to correctly identify the risk factors for eating disorders.

This study is intended to draw attention to a topic rarely discussed in the literature – medical students’ knowledge of eating disorders. We are aware that this survey is not perfect and has its drawbacks. They include the selectivity of the questions, but the authors tried to ask about different aspects of AN and BN. The scope of the study may also be a limitation. The survey was conducted only in Poland, which makes it impossible to relate the results to students from other countries. Nonetheless, it is a nationwide survey with a large number of respondents, which makes it possible to relate the results to the level of knowledge about eating disorders among the general population of students in the selected fields of study.

Eating disorders comprise a significant mental health problem. Their treatment requires the cooperation of many different specialists, which is why education in this area is so important. We are convinced that only an interdisciplinary team of specialists, characterized by an appropriate state of knowledge, can adequately fulfil its tasks and treat people suffering from eating disorders. The surveyed students of medicine, dentistry, dietetics and psychology are very likely to encounter the problem of eating disorders among their patients in their future professional work.

## CONCLUSIONS

The conducted study and analysis of available literature show that students of the chosen faculties have selective and insufficient knowledge to work with patients suffering from eating disorders. The students of medicine had the widest knowledge, while the students of dentistry, psychology and dietetics had less knowledge. The study suggests that teaching programmes for eating disorders need to be revised. Due to the increasing incidence of eating disorders, it seems necessary to continue research in this area to raise the awareness of future health professionals about the consequences of eating disorders and to educate them about how to help the ill.

---

### Author's contribution

Study design – M. Górski, B. Całyniuk, K. Górka

Data collection – M. Górski, J. Garbicz, K. Szyal

Data interpretation – K. Szyal, J. Garbicz

Statistical analysis – J. Garbicz, K. Górka

Manuscript preparation – M. Górski, B. Całyniuk, J. Garbicz, R. Polaniak

Literature research – M. Górski, K. Szyal, B. Całyniuk, K. Górka, R. Polaniak

---



## REFERENCES

1. Zdrowie psychiczne Polaków [pdf]. Komunikat z badań BS/132/2012. Oprac. R. Boguszewski. CBOS. Warszawa, październik 2012 <[https://cbos.pl/SPISKOM.POL/2012/K\\_132\\_12.PDF](https://cbos.pl/SPISKOM.POL/2012/K_132_12.PDF)> [accessed on: 22.11.2021].
2. Improving the mental and brain health of children and adolescents. World Health Organization [online] <[http://www.who.int/mental\\_health/maternal-child/child\\_adolescent/en/](http://www.who.int/mental_health/maternal-child/child_adolescent/en/)> [accessed on: 22.11.2021].
3. Mental health of older adults. World Health Organization, 12 December 2017 [online] <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-of-older-adults>> [accessed on: 22.11.2021].
4. Atwood M.E., Friedman A. A systematic review of enhanced cognitive behavioral therapy (CBT-E) for eating disorders. *Int. J. Eat. Disord.* 2020; 53(3): 311–330, doi: 10.1002/eat.23206.
5. Kezelman S., Crosby R.D., Rhodes P., Hunt C., Anderson G., Clarke S. et al. Anorexia nervosa, anxiety, and the clinical implications of rapid refeeding. *Front. Psychol.* 2018; 9: 1097, doi: 10.3389/fpsyg.2018.01097.
6. Galmiche M., Déchelotte P., Lambert G., Tavolacci M.P. Prevalence of eating disorders over the 2000–2018 period: a systematic literature review. *Am. J. Clin. Nutr.* 2019; 109(5): 1402–1413, doi: 10.1093/ajcn/nqy342.
7. Dobrescu S.R., Dinkler L., Gillberg C., Rastam M., Gillberg C., Wentz E. Anorexia nervosa: 30-year outcome. *Br. J. Psychiatry* 2020; 216(2): 97–104, doi: 10.1192/bjp.2019.113.
8. Meule A., Küppers C., Harms L., Friederich H.C., Schmidt U., Blechert J. et al. Food cue-induced craving in individuals with bulimia nervosa and binge-eating disorder. *PLoS ONE* 2018; 13(9): e0204151, doi: 10.1371/journal.pone.0204151.
9. Pike K.M., So M., Hilbert A., Maekawa H., Shimanouchi T., Wilfley D. et al. Risk factors for anorexia nervosa and bulimia nervosa in Japan and compared to a U.S. sample. *Int. J. Eat. Disord.* 2021; 54(2): 155–167, doi: 10.1002/eat.23442.
10. Johansson A.K., Johansson A., Nohler E., Norring C., Åström A.N., Tegelberg A. Eating disorders – knowledge, attitudes, management and clinical experience of Norwegian dentists. *BMC Oral Health* 2015; 15(1): 124, doi: 10.1186/s12903-015-0114-7.
11. Le L.K., Hay P., Mihalopoulos C. A systematic review of cost-effectiveness studies of prevention and treatment for eating disorders. *Aust. N. Z. J. Psychiatry* 2018; 52(4): 328–338, doi: 10.1177/0004867417739690.
12. Lydecker J.A., Grilo C.M. Fathers and mothers with eating-disorder psychopathology: Associations with child eating-disorder behaviors. *J. Psychom. Res.* 2016; 86: 63–69, doi: 10.1016/j.jpsychores.2016.05.006.
13. Turk J.C., Prentice W.E., Chappell S., Shields E.W. Collegiate coaches' knowledge of eating disorders. *J. Athl. Train.* 1999; 34(1): 19–24.
14. Ziara K., Pilarz Ł.B., Sztylc J., Oświećimska J. Ocena stanu wiedzy na temat *anorexia nervosa*. *Endocrinol. Obes. Metab. Disord.* 2009; 5(1): 12–18.
15. Przewoźnik D.A. Wybrane zagadnienia dotyczące neurobiologii jadłowstrętu psychicznego. *Neuropsychiatr. Neuropsychol.* 2013; 8(3–4): 118–122.
16. Pettersen G., Rosenvinge J.H., Bakland M., Wynn R., Mathisen T.F., Sundgot-Borgen J. Patients' and therapists' experiences with a new treatment programme for eating disorders that combines physical exercise and dietary therapy: the PED-t trial. A qualitative study protocol. *BMJ Open* 2018; 8(1): e018708, doi: 10.1136/bmjopen-2017-018708.
17. Kalkulator wielkości próby. Statystyka od A do Z [online] <<https://www.statystyka.az.pl/dobor/kalkulator-wielkosci-proby.php>> [accessed on: 25.03.2022].
18. Szkolnictwo wyższe w roku akademickim 2020/2021 (wyniki wstępne). Główny Urząd Statystyczny, 15.06.2021 [online] <<https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/edukacja/edukacja/szkolnictwo-wyzsze-w-roku-akademickim-20202021-wyniki-wstepne,8,7.html>> [accessed on: 25.03.2022].
19. Shelley A., Horner K. Questionnaire surveys – sources of error and implications for design, reporting and appraisal. *Br. Dent. J.* 2021; 230(4): 251–258, doi: 10.1038/s41415-021-2654-3.
20. Pilarczyk K. Wykorzystanie seksualne w dzieciństwie a zaburzenia odżywiania. *Dziecko Krzywdzone. Teoria, badania, praktyka* 2016; 15(2): 56–72.
21. Bryant-Waugh R. Feeding and eating disorders in children. *Psychiatr. Clin. North Am.* 2019; 42(1): 157–167, doi: 10.1016/j.psc.2018.10.005.
22. Chwałczyńska A., Bembenek A. Ocena świadomości dziewcząt w wieku gimnazjalnym dotycząca jadłowstrętu psychicznego. *Endocrinol. Obes. Metab. Disord.* 2010; 6(3): 118–123.
23. Behar R., Arancibia M., Gaete M.I., Silva H., Meza-Concha N. The delusional dimension of anorexia nervosa: phenomenological, neurobiological and clinical perspectives. *Arch. Clin. Psychiatr.* 2018; 45(1): 15–21, doi: 10.1590/0101-60830000000148.
24. Godala M., Karasińska E., Trafalska E., Kolmaga A., Szatko F. Wiedza studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi na temat zaburzeń odżywiania. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2012; 93(1): 80–85.
25. Myszowska-Ryciak J., Leśniak W., Harton A., Gajewska D., Bawa S. Poziom wiedzy na temat specyficznych zaburzeń odżywiania w wybranych grupach populacyjnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2012; 45(3): 827–832.
26. Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych (ICD-10) – X Rewizja. T. 1. Wydanie 2008. WHO; Centrum Systemów Informacyjnych Ochrony Zdrowia 2012.
27. Cordery H., Waller G. Nutritional knowledge of health care professional working in the eating disorders. *Eur. Eat. Disord. Rev.* 2006; 14(6): 462–467, doi: 10.1002/erv.688.
28. Harshbarger J.L., Ahlers-Schmidt C.R., Atif A., Allred E., Carroll M., Hauser R. School counselors' knowledge of eating disorders. *Eat. Weight Disord.* 2011; 16(2): 131–136, doi: 10.1007/BF03325319.
29. Miles S., Gnatt I., Phillipou A., Nedeljkovic M. Cognitive flexibility in acute anorexia nervosa and after recovery: A systematic review. *Clin. Psychol. Rev.* 2020; 81: 101905, doi: 10.1016/j.cpr.2020.101905.
30. Żolnierczuk-Kieliszek D., Piwko E., Janiszewska M., Kulik T., Pawlikowska-Lagód K., Kryk A. High school students' awareness of anorexia and bulimia threats. *Pol. Nurs.* 2015; 4(58): 403–408.
31. Facts about eating disorders. Eating Disorders Coalition [online] <[https://eatingdisorderscoalition.org/inner\\_template/facts\\_and\\_info/facts-about-eating-disorders.html](https://eatingdisorderscoalition.org/inner_template/facts_and_info/facts-about-eating-disorders.html)> [accessed on: 25.03.2022].
32. Butler R.M., Heimberg R.G. Exposure therapy for eating disorders: A systematic review. *Clin. Psychol. Rev.* 2020; 78: 101851, doi: 10.1016/j.cpr.2020.101851.
33. Meneguzzo P., Tenconi E., Todisco P., Favaro A. Cognitive remediation therapy for anorexia nervosa as a rolling group intervention: Data from a longitudinal study in an eating disorders specialized inpatient unit. *Eur. Eat. Disord. Rev.* 2021; 29(5): 770–782, doi: 10.1002/erv.2848.
34. Jowik K., Tyszkiewicz-Nwafor M., Słopeń A. Anorexia nervosa – what has changed in the state of knowledge about nutritional rehabilitation for patients over the past 10 years? A review of literature. *Nutrients* 2021; 13(11): 3819, doi: 10.3390/nu13113819.
35. Szpytman A., Brukwicka I., Kopański Z., Kollár R., Kollárová M., Bajger B. et al. Młodzież o anoreksji i bulimii – badania ankietowe. *J. Clin. Health.* 2016; 1: 32–37.
36. Touyz S., Lacey H., Hay P. Eating disorders in the time of COVID-19. *J. Eat. Disord.* 2020; 8: 19, doi: 10.1186/s40337-020-00295-3.
37. Mulkens S., Waller G. New developments in cognitive-behavioural therapy for eating disorders (CBT-ED). *Curr. Opin. Psychiatry* 2021; 34(6): 576–583, doi: 10.1097/YCO.0000000000000745.
38. Yan P., Gao B., Wang S., Wang S., Li J., Song M. Association of 5-HT<sub>2A</sub>-1438A/G polymorphism with anorexia nervosa and bulimia nervosa: A meta-analysis. *Neurosci. Lett.* 2021; 755: 135918, doi: 10.1016/j.neulet.2021.135918.
39. Gorwood P., Duriez P., Ramoz N. The BDNF gene as an example of gene x environment interaction in eating disorders. *Nutr. Clin. Métab.* 2020; 34(1): 6–10, doi: 10.1016/j.nupar.2020.02.009.
40. Hagan K.E., Walsh B.T. State of the art: the therapeutic approaches to bulimia nervosa. *Clin. Ther.* 2021; 43(1): 40–49, doi: 10.1016/j.clinthera.2020.10.012.
41. Himmerich H., Kan C., Au K., Treasure J. Pharmacological treatment of eating disorders, comorbid mental health problems, malnutrition and physical health consequences. *Pharmacol. Ther.* 2021; 217: 107667, doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107667.



## Outbreak of *Clostridioides difficile* infection in Silesian district hospital

### Ognisko epidemiczne *Clostridioides difficile* w śląskim szpitalu powiatowym

Klaudia T. Szarek<sup>1</sup>, Monika A. Kabala<sup>1</sup> , Krzysztof Sacha<sup>1</sup> , Franciszek Drzymala<sup>2</sup>, Adam Borek<sup>2</sup>,  
Monika Pomorska-Wesołowska<sup>3</sup> , Małgorzata Aptekorz<sup>1</sup> , Gayane Martirosian<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Medical Microbiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup>Student Research Group, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>3</sup>Department of Microbiology, KORLAB Medical Laboratory, Ruda Śląska, Poland / Pracownia Mikrobiologii, KORLAB Laboratoria Medyczne, Ruda Śląska

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** In order to evaluate a *Clostridioides difficile* infection (CDI) outbreak between December 2018 and February 2019 in the internal medicine ward of a district hospital in Silesia, 6 stools from 5 patients were examined.

**MATERIAL AND METHODS:** *C. difficile* was identified, genes encoding glutamate dehydrogenase (GDH) – *gluD*, A/B – *tcdA/tcdB* and binary – *cdtA/cdtB* toxins, *ermB* were determined by mPCR and antibiotic resistance by means of E-Tests.

**RESULTS:** Women predominated among the patients (4/5). All the 6 *C. difficile* isolates belonged to hyperepidemic ribotype 027, were positive for all genes and were resistant to moxifloxacin, erythromycin, clindamycin, rifampicin, imipenem, and chloramphenicol.

**CONCLUSIONS:** The obtained results indicate that the hyperepidemic *C. difficile* clone is spreading in the ward.

#### KEY WORDS

*Clostridioides difficile* infection, outbreak, *Clostridioides difficile* toxins

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** W celu oceny ogniska zakażenia *Clostridioides difficile* (*Clostridioides difficile* infection – CDI) w okresie od grudnia 2018 r. do lutego 2019 r. na oddziale chorób wewnętrznych szpitala powiatowego na Śląsku objęto badaniem materiały kliniczne od 5 pacjentów (6 stolców).

Received: 30.03.2022

Revised: 03.01.2023

Accepted: 03.01.2023

Published online: 21.06.2023

Address for correspondence: mgr Klaudia T. Szarek, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice, tel. +48 32 208 85 50, e-mail: klaudia.szarek@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



**MATERIAŁ I METODY:** Zidentyfikowano izolaty *C. difficile*, geny kodujące dehydrogenazę glutaminianową (GDH) – *gluD*, toksyny A/B – *tcdA/tcdB* oraz geny *cdtA/cdtB* kodujące toksynę binarną, *ermB* wykryto za pomocą mPCR, a antybiotykooporność za pomocą E-testów.

**WYNIKI:** Wśród pacjentów dominowały kobiety (4/5). Wszystkie szczepy *C. difficile* (6) należały do hiperepidemicznego rybotypu 027, we wszystkich szczepach wykazano obecność badanych genów oraz wykryto oporność na: moksyflokscynę, erytromycynę, klindamycynę, ryfampicynę, imipenem i chloramfenikol.

**WNIOSKI:** Uzyskane wyniki świadczą o szerzeniu się na oddziale hiperepidemicznego klonu *C. difficile* o rybotypie 027.

## SŁOWA KLUCZOWE

zakażenie *Clostridioides difficile*, ognisko epidemiczne, toksyny *Clostridioides difficile*

## INTRODUCTION

According to the reports of the Polish Chief Sanitary Inspectorate in 2020, 41.1% (200/535 except SARS-CoV-2) of the reported outbreaks were caused by *Clostridioides difficile* (*C. difficile*); in 2019 *C. difficile* infection (CDI) accounted for 30% [1].

*Clostridioides difficile* is an anaerobic, Gram-positive spore-forming bacillus. The bacterium produces spores under favorable conditions, e.g. access to oxygen, nutrients, etc. The spores demonstrate resistance to many factors, including alcohol-based disinfectants commonly used in healthcare units [2]. The main risk factor predisposing patients to the development of CDI are: older age, antibiotic usage, especially fluoroquinolones, cephalosporins, clindamycin etc., causing disorders in the intestinal microbiota, promoting the multiplication of *C. difficile* [3].

The clinical symptoms of CDI depend on the toxin production by *C. difficile*: toxin A (*tcdA*) – enterotoxin, toxin B (*tcdB*) – cytotoxin and binary toxin (*cdtA/cdtB*), which is ADP-ribosyltransferase and is produced by about 20% of strains. *Clostridioides difficile* infections are manifested as mild antibiotic-associated diarrhea (defined as 3 or more bowel movements a day) and more severe forms such as pseudomembranous colitis, toxic megacolon, sepsis and death [4]. The hypervirulent epidemic *C. difficile* strain belonging to PCR RT 027 (BI/NAP1/027) is the main cause of severe CDIs due to the increased production of toxins A and B and the production of binary toxin [5]. An increase in severe CDI caused by the *C. difficile* ribotype (RT) 027 strain was reported in Canada and the USA in 2000–2003. During the next 10 years, the dominance of the hyperepidemic strain was noted in European countries, including Poland and on other continents [6,7]. The frequent occurrence of this strain has been observed especially in southern Poland and also in Western Australia, South Korea, Hong Kong and Costa Rica [8].

A proper antibiotic policy plays a leading role in reducing the CDI risk [9,10]. Pharmacotherapy for CDI has changed in recent years. Recommendations for the treatment of CDI have been updated (Europe vs US), e.g. in both Europe and the US metronidazole has been withdrawn based on recent reports of vancomycin superiority to metronidazole. Society for

Healthcare Epidemiology of America/Infectious Diseases Society of America (SHEA/IDSA) recommends starting therapy with fidaxomicin, in special circumstances together with bezlotoxumab [10,11,12].

The aim of the study was to evaluate an epidemic outbreak of CDI, between December 2018 and February 2019 at the internal medicine ward.

## MATERIAL AND METHODS

The outbreak of CDI was noted in the 33-bed internal medicine ward in the Silesian district hospital between December 2018 and February 2019. The outbreak included 5 patients with antibiotic-associated diarrhea. Fecal samples from those patients were collected for testing for CDI (from one patient 2 samples were collected).

The fecal samples were examined in accordance with a two-stage algorithm: first, detecting the *C. difficile* somatic antigen – glutamate dehydrogenase (GDH) and then toxins A/B – (TechLab, Blacksburg, USA) [13]. Next, (in the case of one or both positive results) the stool samples were cultured on chromID *C. difficile* and CLO plates (bioMérieux, Marcy L’Etoile, France), incubated at 37°C under anaerobic conditions (Whitley A35 Workstation, UK) for 48 h. Colonies with characteristic morphology (CDIFF – black colonies, CLO – gray, jagged with yellow-green fluorescence under UV light, and horse odor) were isolated for further biochemical identification (VITEK 2 Compact System, bioMérieux, Marcy L’Etoile, France), antibiotic susceptibility testing and ribotyping [6].

The genes encoding *C. difficile* toxins and GDH were detected by performing the multiplex polymerase chain reaction (mPCR) according to Stubbs, and using the HotStarTaq Plus PCR Master Mix Kit (Qiagen, Germany) [14]. For this purpose, brain-heart infusion culture DNA was isolated from *C. difficile* (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, USA), mPCRs were performed (*gluD*, *tcdA*, *tcdB*, *16S rDNA*), and additional PCR for the *ermB* gene encoding the MLS<sub>B</sub> resistance mechanism (to macrolides, lincosamides and streptogramin B) was done (Table I). The obtained amplicons were subjected to electrophoretic separation. The results were interpreted on the basis of gel visualization in a BOX Chemi XR5 apparatus



(Syngene, UK). Ribotyping of the isolates was performed as described previously [15].

The antibiotic (minimum inhibitory concentration – MIC) susceptibility of the isolated strains was determined by the E-test (bioMérieux, Marcy L’Etoile, France) for 10 antibiotics: metronidazole (range 0.016–256 µg/mL), vancomycin (0.016–256 µg/mL), chloramphenicol (0.016–256 µg/mL), moxifloxacin (0.002–32 µg/mL), piperacillin with tazobactam (0.016–256 µg/mL), erythromycin (0.016–256 µg/mL), clindamycin (0.016–256 µg/mL), benzylpenicillin

(0.016–256 µg/mL), imipenem (0.002–32 µg/mL), rifampicin (0.002–32 µg/mL). The plates were incubated at 37°C for 48 h anaerobically according to the manufacturer’s instructions. The antibiotic susceptibility results were interpreted in accordance with the recommendations of EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Version 10.0, valid 2020.01.01). Interpretations for Gram-positive anaerobes and *C. difficile* were used, and MIC values > 256 µg/ml were considered as resistant to erythromycin [16].

Table I. Primers used in mPCR of *C. difficile* strains isolated during course of outbreak  
Tabela I. Startery *C. difficile* wykorzystane w reakcji mPCR przy opracowaniu ogniska epidemicznego

Gene target	Name	Sequence	Amplicon size [bp]
mPCR			
<i>gluD</i>	908CLD_gluDs	5' – GTCTTGGATGGTTGATGAGTAC – 3'	158
	909CLD_gluDas	5' – TTCCTAATTTAGCAGCAGCTTC – 3'	
<i>tcdA</i>	CD_tcdA-F3345	5' – GCATGATAAGGCCAACTTCAGTGGA – 3'	629
	CD_tcdA-R3969	5' – AGTTCCTCCTGCTCCATCAAATG – 3'	
<i>tcdB</i>	CD_tcdB-F5670	5' – CCAAARTGGAGTGTTACAAACAGGTG – 3'	410
	CD_tcdB-R6079A	5' – GCATTTCTCCATTCTCAGCAAAGTA – 3'	
	CD_tcdB-R6079B	5' – GCATTTCTCCGTTTTTCAGCAAAGTA – 3'	
16S-rDNA	CD_PS13	5' – GGAGGCAGCAGTGGGGAATA – 3'	1062
	CD_PS14	5' – TGACGGGCGGTGTGTACAAG – 3'	
Binary toxin			
<i>cdtA</i>	cdtA-F739A	5' – GGAAGCACTATATTAAGCAGAAGC – 3'	221
	cdtA-F739B	5' – GGGAAACATTATATTAAGCAGAAGC – 3'	
	cdtA-R958	5' – CTGGGTTAGGATTATTTACTGGACCA – 3'	
<i>cdtB</i>	cdtB-F617	5' – TTGACCCAAAGTTGATGTCTGATTG – 3'	262
	cdtB-R878	5' – CGGATCTCTTGCTTCAGTCTTTATAG – 3'	
Mechanism MLS <sub>B</sub>			
<i>ermB</i>	2980	5' – AATAAGTAAACAGGTAACGTT – 3'	688
	2981	5' – GCTCCTTGAAGCTGTCAAGTAG – 3'	

## RESULTS

In the period between December 29, 2018 and February 3, 2019, diarrhea was noted in 5 patients of the internal medicine ward. The infection control team stated a CDI outbreak based on the clinical symptoms of the patients (> 3 bowel movements per day, abdominal pain, malaise, and in some of them fever), and laboratory results. The characteristics of individual patients from this outbreak, as well as the results of microbiological tests are shown in Table II.

Sample numbers 4 and 4a belonged to one patient with the recurrence of diarrhea in the period of 4 weeks after the previous episode. A 68-year-old woman had several accompanying diseases: type 2 diabetes mellitus, hypertension and heart complaints; she had been previously treated surgically in the same hospital. The interview showed that the patient’s previous hospitalization was completed on December 18, 2018. Since the patient was previously treated with an antibiotic (co-amoxiclav), it was decided to test her for antibiotic-associated diarrhea. When CDI was confirmed by the laboratory results, patient treatment



with oral metronidazole (500 mg 3 times daily for 7 days) was started. On the third day of treatment the number of bowel movements was reduced. When metronidazole treatment was finished and the patient's condition improved, the abdominal pain was gone and diarrhea subsided, she was discharged. Her subsequent hospitalization was noted on January 28, 2019 due to resumed diarrhea (7 bowel movements per day), abdominal pain, malaise and weakness. Stool samples were tested for CDI as described above. After confirming positive results for GDH and *C. difficile* A/B toxins, CDI treatment with oral vancomycin (250 mg 4 times daily for 10 days) was started. The patient also received rehydration therapy. After stabilization of the patient's condition and the resolution of diarrhea, she was discharged home on February 9, 2019. During the next 3 months this patient was not hospitalized for treatment of diarrhea.

From the 5 patients' stools, 6 *C. difficile* strains were isolated. All the *C. difficile* isolates belonged to PCR RT 027. The mPCR showed in all the strains the presence of the following genes: *gluD* (encoding GDH

antigen), *tcdA* (toxin A), *tcdB* (toxin B) and *cdtA/cdtB* (responsible for encoding binary toxin), as well as *ermB* – (MLS<sub>B</sub> resistance; Figure 1).

Women (4/5) dominated among the outbreak patients. All the patients lived in the Silesian region of Poland. The age of the patients was in the range of 39–86 years. Between admission to the hospital and receiving positive results for CDI an average of 5 days passed. A high level of C-reactive protein (CRP) was noted in all the 5 patients. Patient no. 5 with diarrhea was initially hospitalized in the internal medicine ward; however, due to the suspicion of appendicitis, she was transferred to the department of surgery.

All the tested *C. difficile* strains demonstrated sensitivity to metronidazole, vancomycin, and piperacillin with tazobactam; 5/6 strains (83.3%) were resistant to penicillin. All the 6 isolates showed resistance to moxifloxacin, chloramphenicol, imipenem, rifampicin, as well as erythromycin and clindamycin (confirmed by the presence of the *ermB* gene). The results of the antibiotic susceptibility testing are presented in Table III.

Table II. Characterization of patients and *C. difficile* isolates during CDI outbreak

Tabela II. Charakterystyka pacjentów oraz izolatów *C. difficile* podczas ogniska CDI

Sample numbers	Gender	Age	Date of stool collection and testing for <i>C. difficile</i>	CRP mg/dl	<i>C. difficile</i> genes			<i>C. difficile</i> ribotype
					GDH	toxins A/B	binary toxin	
1	M	61	2019-01-08	62.6	+	+	+	RT 027
2	W	78	2018-12-29	313.1	+	+	+	RT 027
3	W	86	2018-12-28	41.2	+	+	+	RT 027
4*	W	68	2018-12-29	102.6	+	+	+	RT 027
4a			2019-01-28	52.3	+	+	+	RT 027
5b	W	39	2019-02-03	346	+	+	+	RT 027

\* Isolates no. 4 and 4a are from same patient; b – patient was transferred to surgical ward due to suspicion of appendicitis; CRP – C-reactive protein; GDH – glutamate dehydrogenase; M – man; W – woman; RT 027 – ribotype 027.

Table III. MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, geometric mean of tested *C. difficile* strains derived from 5 patients during studied CDI outbreak

Tabela III. MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> oraz średnia geometryczna badanych szczepów *C. difficile* pochodzących z próbek pacjentów włączonych do ogniska CDI

Antibiotic	<i>Clostridioides difficile</i> isolates (n = 6)					EUCAST $\mu\text{g/mL}^a$
	MIC <sub>50</sub> $\mu\text{g/mL}$	MIC <sub>90</sub> $\mu\text{g/mL}$	GM	Range $\mu\text{g/mL}$	% strains resistant [EUCAST]	
1	2	3	4	5	6	7
Metronidazole	1	1.5	1.16	0.75–1.5	0	> 2
Vancomycin	0.19	0.25	0.18	0.125–0.25	0	> 2
Moxifloxacin <sup>b</sup>	32	32	32	32	100	4
Erythromycin	256	256	256	256	100	IE
Clindamycin <sup>c</sup>	256	256	256	256	100	> 4
Piperacillin/Tazobactam <sup>c</sup>	4	4	3.64	3–4	0	> 16
Imipenem <sup>c</sup>	24	32	25.9	12–32	100	> 4





cd. table III

	1	2	3	4	5	6	7
Benzylpenicillin <sup>c</sup>		0.75	1	0.66	0.25–1	83.3	> 0.5
Chloramphenicol <sup>c</sup>		24	64	26.42	12–64	100	> 8
Rifampicin <sup>b</sup>		32	32	32	32	100	0.004

<sup>a</sup>resistance according EUCAST; <sup>b</sup>Ecoff for *C. difficile* was used because lack of them according EUCAST; <sup>c</sup>MICs for Gram-positive anaerobes were used because lack of them according EUCAST; GM – geometric mean; IE – lack of limit value; Range [ $\mu\text{g/mL}$ ] = range of antibiotic susceptibility test results from minimum to maximum.

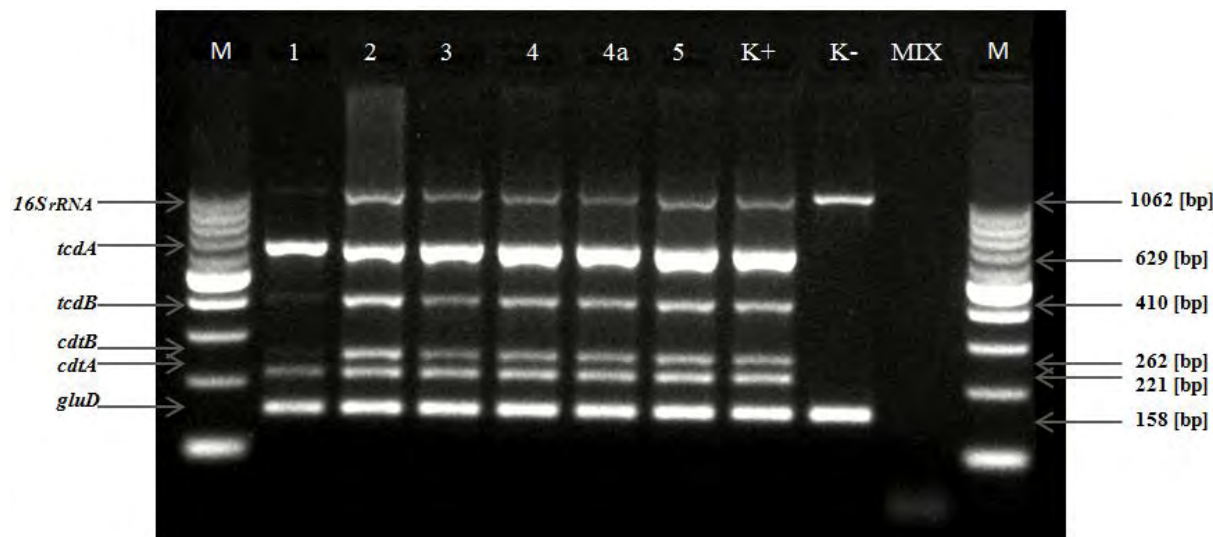


Fig. 1. mPCR results of 6 *C. difficile* isolates from CDI outbreak in internal medicine ward of district hospital in Silesia, PL (separation of PCR products in a 1% agarose gel). Lanes: M – DNA marker; 1–5 – *C. difficile* strains tested; K (+) – positive control *C. difficile* [16S-rDNA – 1062 pz; *tcdA* – 629 pz; *tcdB* – 410 pz; *cdtB* – 262 pz; *cdtA* – 221 bp; *gluD* – 158 pz]; K (-) – negative control; MIX – reaction mix.

Ryc. 1. Wyniki mPCR 6 izolatów *C. difficile* pozyskanych z próbek pacjentów podczas ogniska CDI na oddziale chorób wewnętrznych szpitala powiatowego na Śląsku (produkty PCR w 1-proc. żelu agarozowym). Ścieżki: M – marker DNA; 1–5 – badane szczepy *C. difficile*; K (+) – kontrola pozytywna *C. difficile* [16S-rDNA – 1062 pz; *tcdA* – 629 pz; *tcdB* – 410 pz; *cdtB* – 262 pz; *cdtA* – 221 pz; *gluD* – 158 pz]; K (-) – kontrola negatywna; MIX – mieszanina reakcyjna.

## DISCUSSION

A major contributor to outbreaks and healthcare-associated infections is the hypervirulent *C. difficile* strain RT 027, characterized by multidrug-resistant (MDR-resistant) and an increased ability to produce toxins and spores. The result of a two-year study conducted in 2016 allowed the dominance of *C. difficile* RT 027 (19%) to be determined in the 125 *C. difficile* isolates, derived from various European countries [7]. Aptekorz et al. [5] indicated a significant dominance of *C. difficile* RT 027 among isolates from 15 different hospitals in Silesia. During the presently investigated outbreak, all of the *C. difficile* isolates belonged to PCR RT 027. Infection with a hypervirulent strain of *C. difficile* results in recurrences, estimated at 25–30%. Recurrences of CDI (rCDI) are found in 20–30% of patients within 8 weeks after the first episode. Recurrences of CDI are a major clinical and economic challenge; the estimated costs of treating CDI in the European Union are over €3 billion and in the United

States about \$796 million annually, with an upward trend [17]. The risk factors of rCDI are: age > 65 (20 times more often compared to patients under 20 y/o), a severe course of the first episode of CDI, prolonged hospitalization and long-term antibiotic therapy [18].

During the studied CDI outbreak, one patient demonstrated a recurrence of diarrhea 4 weeks after treatment. In a study by Dharbhamulla et al. [18], a recurrence of CDI within 14 days of the first episode was observed in 22.1% of the respondents. At the same time, from the first episode of CDI (14 days) Cioni et al. [19] observed a recurrence of CDI in 14.6% of patients. Recurrences of CDI are common and as described by Aptekorz et al. [5], in 7 out of the 9 studied patients rCDI was caused by the same strain (one patient from the study group died).

In the treatment of CDI, discontinuation of antibiotic therapy is essential, if possible; also, rehydration and electrolyte supplementation are required. Disturbing information is described by Lee et al. [13], pointing to a decreased sensitivity to metronidazole among 40%



of the tested *C. difficile* strains (also from Poland). By reviewing the literature, Clancy et al. [12] noticed a significant decrease in the effectiveness of metronidazole against CDI over the years (before 2000 – 3% of failures in pharmacotherapy with metronidazole, after 2000 – as much as 18%). Although at this moment according to European and also USA recommendations, metronidazole is not recommended for the treatment of even moderate cases of CDI, at the time (2018/2019) of the studied outbreak, metronidazole was still in use in Poland [10,11].

Among our *C. difficile* isolates, no metronidazole or vancomycin resistant strains were found. In the recommendations of IDSA and SHEA for the treatment of recurrent CDI, the antibiotic next to vancomycin should be rifaximin for multiple recurrences [10]. In the CDI outbreak we investigated, all of the 6 *C. difficile* isolates were resistant to rifampicin; we also demonstrated in a previous study that there is a high percentage of resistance to rifampicin [7].

All the 6 CDI outbreak isolates were resistant to moxifloxacin, chloramphenicol and imipenem. Vernon et al. [20] reported 7/75 *C. difficile* isolates from the hospital environment, resistant to moxifloxacin; in addition there were 3 confirmed cases of patients with toxic megacolon (a severe course of clinical CDI).

The presence of the *ermB* gene determines resistance to erythromycin, clindamycin and streptogramin B [6]. All 6 of our *C. difficile* isolates belonging to RT 027 showed the presence of the *ermB* gene (MLS<sub>B</sub>-type resistance).

All the 6 strains of *C. difficile* from the studied outbreak were sensitive to piperacillin with tazobactam, but only one exhibited sensitivity to penicillin, which is possibly caused by the production of beta-lactamase. Lachowicz

et al. [9] obtained antibiotic susceptibility results similar to ours; 253 isolates were sensitive to metronidazole, vancomycin and 209/253 were sensitive to clindamycin. Only 1 strain possessed reduced sensitivity to metronidazole.

The ribotyping of *C. difficile* isolates showed that all isolates from the epidemic outbreak we investigated belonged to PCR RT 027. Multiplex PCR performed with the above-mentioned strains in order to detect genes encoding toxins A, B and binary, confirmed the toxin profile typical for *C. difficile* RT 027 strains.

The distribution of the *C. difficile* PCR RT 027 strain in Poland is determined at the level of 48% [21]. Such a high spread is related to bacterial virulence factors, but it also results from the negligence of medical staff and the patients themselves. Proper hand hygiene, disinfection by using sporicides and optimization of the treatment can be effective to reduce CDI hospital outbreaks.

## CONCLUSIONS

All the 6 *C. difficile* isolates belonged to the same hyperepidemic PCR RT 027, were MDR-resistant to moxifloxacin, erythromycin, clindamycin, rifampicin, imipenem, and chloramphenicol.

## Acknowledgments

We gratefully acknowledge Prof. Ed Kuijper and Dr Celine Harmanus (Department Of Microbiology, Leiden University Medical Center, The Netherlands) for the *C. difficile* ribotyping.

This study was financed by a grant from the Medical University of Silesia no. PCN-1-126/K/0/I

---

## Author's contribution

Study design – K. Szarek, M. Kabala, G. Martirosian

Data collection – M. Kabala, M. Pomorska-Wesołowska, G. Martirosian

Data interpretation – K. Szarek, M. Kabala, F. Drzymala, A. Borek, M. Aptekorz, G. Martirosian

Statistical analysis – M. Aptekorz, G. Martirosian

Manuscript preparation – K. Szarek, M. Kabala, G. Martirosian

Literature research – K. Szarek, M. Kabala, K. Sacha, G. Martirosian

---

## REFERENCES

1. Stan Sanitarny Kraju w 2020 roku [pdf]. Główny Inspektorat Sanitarny. Warszawa, sierpień 2021 r. [online] <https://www.gov.pl/web/gis/stan-sanitarny-kraju-w-2020-roku> [accessed on 20 June 2021].
2. Marra A.R., Perencevich E.N., Nelson R.E., Samore M., Khader K., Chiang H.Y. et al. Incidence and outcomes associated with *Clostridium difficile* infections: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw. Open* 2020; 3(1): e1917597, doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.17597.
3. Lewandowski K., Rosołowski M., Kaniewska M., Kucha P., Meler A., Wierzbna W., Rydzewska G. *Clostridioides difficile* infection in coronavirus disease 2019 (COVID-19): an underestimated problem? *Pol. Arch. Intern Med.* 2021; 131(2): 121–127, doi: 10.20452/pamw.15715.
4. Czepiel J., Drózd M., Pituch H., Kuijper E.J., Perucki W., Mielimonka A. et al. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2019; 38(7): 1211–1221, doi: 10.1007/s10096-019-03539-6.
5. Aptekorz M., Szczegielniak A., Wiechula B., Harmanus C., Kuijper E., Martirosian G. Occurrence of *Clostridium difficile* ribotype 027 in hospitals of Silesia, Poland. *Anaerobe* 2017; 45: 106–113, doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.02.002.
6. Kabala M., Gofron Z., Aptekorz M., Sacha K., Harmanus C., Kuijper E. et al. *Clostridioides difficile* ribotype 027 (RT027) outbreak investigation due to the emergence of rifampicin resistance using multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA). *Infect. Drug Resist.* 2021; 14: 3247–3254, doi: 10.2147/IDR.S324745.



7. Davies K.A., Ashwin H., Longshaw C.M., Burns D.A., Davis G.L., Wilcox M.H. et al. Diversity of *Clostridium difficile* PCR ribotypes in Europe: results from the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID), 2012 and 2013. *Euro. Surveill.* 2016; 21(29), doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.29.30294.
8. Collins D.A., Riley T.V. *Clostridium difficile* Guidelines. *Clin. Infect. Dis.* 2018; 67(10): 1639, doi: 10.1093/cid/ciy249.
9. Lachowicz D., Pituch H., Wultańska D., Kuijper E., Obuch-Woszczatyński P. Surveillance of antimicrobial susceptibilities reveals high proportions of multidrug resistance in toxigenic *Clostridium difficile* strains in different areas of Poland. *Anaerobe* 2020; 62: 102167, doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102167.
10. van Prehn J., Reigadas E., Vogelzang E.H., Bouza E., Hristea A., Guery B. et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021; 27(Suppl 2): S1–S21, doi: 10.1016/j.cmi.2021.09.038.
11. Johnson S., Lavergne V., Skinner A.M., Gonzales-Luna A.J., Garey K.W., Kelly C.P. et al. Clinical Practice Guideline by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA): 2021 Focused Update Guidelines on Management of *Clostridioides difficile* Infection in Adults. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 73(5): e1029–e1044, doi: 10.1093/cid/ciab549.
12. Clancy C.J., Buehrle D., Vu M., Wagener M.W., Nguyen M.H. Impact of Revised Infectious Diseases Society of America and Society for Healthcare Epidemiology of America Clinical Practice Guidelines on the Treatment of *Clostridium difficile* Infections in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 72(11): 1944–1949, doi: 10.1093/cid/ciaa484.
13. Lee H.S., Plechot K., Gohil S., Le J. *Clostridium difficile*: diagnosis and the consequence of over diagnosis. *Infect. Dis. Ther.* 2021; 10(2): 687–697, doi: 10.1007/s40121-021-00417-7.
14. Stubbs S., Rupnik M., Gibert M., Brazier J., Duerden B., Popoff M. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2000; 186(2): 307–312, doi: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09122.x.
15. Fawley W.N., Knetsch C.W., MacCannell D.R., Harmanus C., Du T., Mulvey M.R. et al. Development and validation of an internationally-standardized, high-resolution capillary gel-based electrophoresis PCR-ribotyping protocol for *Clostridium difficile*. *PLoS One* 2015; 10(2): e0118150, doi: 10.1371/journal.pone.0118150.
16. Clinical breakpoints – bacteria (v10.0) – 2020. EUCAST [online] [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/) [accessed on 12 December 2021].
17. Allegretti J.R., Marcus J., Storm M., Sitko J., Kennedy K., Gerber G.K. et al. Clinical predictors of recurrence after primary *Clostridioides difficile* infection: a prospective cohort study. *Dig. Dis. Sci.* 2020; 65(6): 1761–1766, doi: 10.1007/s10620-019-05900-3.
18. Dharbhamulla N., Abdelhady A., Domadia M., Patel S., Gaughan J., Roy S. Risk factors associated with recurrent *Clostridium difficile* infection. *J. Clin. Med. Res.* 2019; 11(1): 1–6, doi: 10.14740/jocmr3531w.
19. Cioni G., Viale P., Frasson S., Cipolini F., Menichetti F., Petrosillo N. et al. Epidemiology and outcome of *Clostridium difficile* infections in patients hospitalized in Internal Medicine: findings from the nationwide FADOI-PRACTICE study. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16(1): 656, doi: 10.1186/s12879-016-1961-9.
20. Vernon J.J., Wilcox M.H., Freeman J. Antimicrobial resistance progression in the United Kingdom: A temporal comparison of *Clostridioides difficile* antimicrobial susceptibilities. *Anaerobe* 2021; 70: 102385, doi: 10.1016/j.anaerobe.2021.102385.
21. Pituch H., Obuch-Woszczatyński P., Lachowicz D., Kuthan R., Dzierżanowska-Fangrat K., Mikucka A. et al. Prevalence of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhoea: Results of a Polish multicenter, prospective, biannual point-prevalence study. *Adv. Med. Sci.* 2018; 63(2): 290–295, doi: 10.1016/j.advms.2018.03.003.



## Chronic and acute pancreatitis elastography – current knowledge

### Elastografia w przewlekłym i ostrym zapaleniu trzustki – aktualna wiedza

Agnieszka M. Sepioł<sup>1</sup> , Maciej M. Cebula<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Radiology and Nuclear Medicine, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup>Individual Specialist Medical Practice Maciej Cebula, Katowice, Poland / Indywidualna Specjalistyczna Praktyka Lekarska Maciej Cebula, Katowice

#### ABSTRACT

This paper is a review of available studies concerning the topic of ultrasound elastography as a modality for diagnosing chronic or acute pancreatitis. Twenty-eight articles published between 2004 and 2022 containing keywords related to elastography and acute and chronic pancreatitis were reviewed using databases and search engines such as PubMed, Scopus, Google Scholar and Web of Science. Acute and chronic pancreatitis increase the stiffness of the pancreatic parenchyma, which can be measured using strain or shear wave elastography. Numerous studies have shown promising results, and it seems that it is possible to use elastography as a routine technique in the diagnosis of chronic or acute pancreatitis. Nevertheless, certain limitations such as age or body weight, should be considered when performing elastography.

#### KEY WORDS

pancreatitis, elasticity imaging techniques, elastic modulus

#### STRESZCZENIE

Niniejsza praca stanowi przegląd dostępnych badań dotyczących elastografii ultrasonograficznej jako metody diagnostyki przewlekłego lub ostrego zapalenia trzustki. Dokonano przeglądu dwudziestu ośmiu artykułów opublikowanych w latach 2004–2022, zawierających słowa kluczowe związane z elastografią oraz ostrym i przewlekłym zapaleniem trzustki, z wykorzystaniem baz i wyszukiwarek takich jak PubMed, Scopus, Google Scholar i Web of Science. Ostre i przewlekłe zapalenie trzustki powoduje zwiększenie sztywności mięszu trzustki, co można zmierzyć za pomocą ela-

Received: 14.11.2022

Revised: 27.12.2022

Accepted: 16.01.2023

Published online: 21.06.2023

Address for correspondence: lek. Agnieszka M. Sepioł, Katedra Radiologii i Medycyny Nuklearnej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice, tel. +48 531 672 750, e-mail: asepiol@interia.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



stografii odkształceniowej lub fali poprzecznej. Liczne badania przyniosły obiecujące wyniki i wydaje się, że możliwe jest zastosowanie elastografii jako rutynowej techniki w diagnostyce przewlekłego lub ostrego zapalenia trzustki. Niemniej jednak podczas wykonywania elastografii należy wziąć pod uwagę pewne ograniczenia, takie jak wiek czy masa ciała.

## SŁOWA KLUCZOWE

zapalenie trzustki, techniki obrazowania elastyczności, moduł sprężystości

## INTRODUCTION

Elastography is an imaging technique used to measure stiffness in various organs, especially the liver [1]. In recent years, elastography has been tested for evaluating the pancreas. There are two main types of elastography: strain elastography (SE) and shear wave elastography (SWE). Both of them can be used with transabdominal ultrasonography [2]. SE measures the stiffness of the tissue based on the strain generated by external pressure, for example, from the pulsation of the aorta [3]. It has a negative correlation with the elasticity of the tissue – the larger the strain, the softer the tissue. The results are displayed on a B-mode image along with the reference images. The other technique, SWE, generates an acoustic radiation force impulse (ARFI). It uses the speed of sound waves, which depends on the viscoelastic properties of the tissue resulting in its resistance to the waves in order to estimate the stiffness of an organ. There is a positive correlation between the speed of the shear wave and the stiffness of the tissue – the higher the speed, the harder the tissue. The results are usually expressed in m/s or kPa [4]. SE provides semiquantitative or qualitative evaluation, whereas SWE allows qualitative or quantitative assessment [5]. Pancreatic diseases such as acute and chronic pancreatitis change the elasticity of the tissue, creating a diagnostical opportunity for elastography.

## METHODOLOGY

Twenty-eight articles were found, all of which were from the last two decades. The databases and search engines PubMed, Scopus, Google Scholar, and Web of Science were used. Keywords specified in the appropriate section and concentrating on acute and chronic pancreatitis in elastography were employed. This paper mainly focuses on the ARFI technique due to the numerous recent studies.

### Healthy pancreas

Although the Japanese Society of Medical Ultrasonics publishes elastography guidelines for the pancreas, defining a healthy pancreas elasticity value was problematic using elastography to measure the stiffness of the pancreas [5]. A study by Gallotti et al. [6] described the typical value of the shear wave speed for the pancreas to be about 1.40 m/s in young adults.

Another study, by Ozturk et al. [7], also determined the normative values of pancreas stiffness in children and adolescents. Certain factors such as the body mass index (BMI), gender, alcohol, and smoking could influence the elastography results. A study by Stumpf et al. [8] showed that men have lower mean SWE values than women, and increasing age corresponds with higher mean values. However, a higher BMI corresponded with lower mean measurements. It can be attributed to more extensive fat deposits in the pancreatic tissue, which is softer than the pancreatic parenchyma. Moreover, another study also reported lower mean strain values in individuals with a higher BMI and increased pancreas echogenicity [9]. Further research by Janssen and Papavassiliou [10] reported that the value of the strain histogram of a healthy pancreas was lower in people 60 years old or more, in contrast to younger people.

### Acute pancreatitis

Due to the premature activation of pancreatic enzymes, there is damage to pancreatic tissue and initiation of the inflammatory response [11]. This leads to injury of the pancreatic cells and causes a transformation of fibroblasts into myofibroblasts, resulting in fibrosis of the pancreas [12]. Fibrotic changes generate elasticity alterations.

A study by Kaya et al. [13] evaluated the usage of ARFI in the diagnosis of acute pancreatitis (AP). ARFI was performed within 24 hours after admission. Nine shear wave velocity (SWV) measurements were taken; three for each part of the pancreas (tail, body, and head), then the results were averaged. The mean SWV was  $2.43 \pm 0.08$  m/s in the patients with AP. It was determined that the SWV cut-off value of 1.63 m/s was associated with 100% sensitivity and 98% specificity for diagnosing AP. Nevertheless, there was no significant difference in the mean SWV between patients with edematous and necrotizing AP, and ARFI was found inadequate to predict the course of the disease.

Göya et al. [14] compared ARFI to B-mode sonography, finding that ARFI had a higher success rate in diagnosing AP. They also demonstrated that ARFI could detect AP in patients with a normal-appearing pancreas on CT imaging. Two techniques implementing ARFI – virtual touch tissue quantification (VTQ) and virtual touch imaging (VTI) – were evaluated. The main difference between them is that the former provides a quantitative evaluation of tissue stiffness and a qualitative elastography of tissue stiffness. With the cut-off value of 1.63 m/s, 100%



sensitivity and 98% specificity of the VTQ were achieved. The mean VTQ values were  $1.17 \pm 0.24$  m/s in the healthy participants and  $2.14 \pm 0.74$  m/s in the patients with AP. The VTI score is assigned based on the image's color scale. It was shown that the patients with AP had a color score between 3–6, while the control group achieved a score of 1 or 2.

Goertz et al. [15] showed that the ARFI values in the case of AP were lower compared to chronic pancreatitis (CP) but higher than in normal parenchyma. AP and CP were associated with ARFI SWV values of  $1.79 \pm 0.62$  m/s and  $2.13 \pm 0.68$ , respectively. Normal tissue had the SWV of  $1.3 \pm 0.23$ . No correlation between the ARFI values and lipase levels was found. The mean percentage of failed measurements in the head was 8.0% and 14.0% for acute and chronic pancreatitis, respectively.

Mateen et al. [16] used ARFI-VTQ to differentiate inflammatory pancreatic diseases, and the mean values for a normal pancreas were 1.28 m/s, CP – 1.25 m/s, and AP – 3.28 m/s. The difference in elasticity is significant and may be successful in diagnosing AP.

One of the newest studies, conducted by Sezgin et al. [17], proved that pancreatic stiffness elevates during AP and normalizes with clinical improvement. However, even after one month, it is still higher than in healthy individuals.

In the study by Xie et al. [18], the SWV values of a healthy pancreas were  $1.18 \pm 0.23$  m/s in the head and  $1.21 \pm 0.20$  m/s in the body of the pancreas. There was no significant difference between these values and the SWV values in patients with AP. In these participants, the SWV values of the head and body were  $1.18 \pm 0.20$  m/s and  $1.25 \pm 0.19$  m/s, respectively.

Finally, a meta-analysis by Rifu et al. [19] that included eight case-control studies indicated 98.3% sensitivity and 95.5% specificity of ARFI elastography to diagnose AP.

### Chronic pancreatitis

Chronic pancreatitis is a progressive inflammatory disease leading to endocrine and exocrine dysfunction. It involves calcification, parenchyma atrophy, and fibrotic changes [20]. Parenchymal hardness changes are vital for diagnosing CP and establishing its severity [21]. Several studies have been conducted to investigate the usefulness of elastography in this matter.

A study by Yashima et al. [22] reported that using ARFI to diagnose CP is feasible. The SWV measurements are higher in every part of the pancreas in CP than in healthy volunteers. This study did not include AP. Nonetheless, it also showed higher SWV values in individuals with a lower BMI.

Janssen and Papavassiliou [10] researched the effects of aging and chronic diffuse pancreatitis on pancreas elasticity using endosonographic elastography. It was proven that aging causes pancreatic tissue to harden,

but it remains softer than with CP. There was also a cut-off value of 50 suggested for a diagnosis of CP.

Kuwahara et al. [23] proved that pancreatic parenchyma elasticity was elevated in patients with CP, especially with endoscopic ultrasonography features of CP such as hyperechoic foci with shadowing and lobularity with honeycombing. They were also able to calculate the pancreatic elastic modulus in kilopascals with SWE. The mean measurement success rate was  $91.2 \pm 13.7\%$ .

Llamoza-Torres et al. [24] tried to determine the accuracy of ARFI for diagnosing CP. In this study, a significant difference was reported between the mean SWV in the pancreases of healthy individuals (1.27 m/s) and those with CP (1.57 m/s),  $p = 0.037$ . The accuracy of ARFI for the diagnosis of CP was 69.7% for the SWV value of 1.4 m/s in the pancreatic body.

Pozzi et al. [25] used point shear wave elastography (pSWE) to measure pancreatic stiffness. The results of this study proved pSWE to be suitable for diagnosing CP in all the patients except for one. Pancreatic parenchyma hardness was significantly ( $p = 0.001$ ) higher in the CP patients than in the healthy individuals. What is more, higher values were also observed in the patients with a longer course of illness ( $p = 0.01$ ), chronically taking analgesic medications ( $p < 0.05$ ), and with a lower body weight ( $p < 0.05$ ). An overall intraclass correlation coefficient of 0.77 was reported.

In 2019 Yamashita et al. [26] published a study that showed a positive correlation between the SWE values and endoscopic ultrasound (EUS) features of CP and the Rosemont classification, which is generally used to diagnose CP with EUS. However, the Rosemont classification is based on subjective observations, and SWE is an objective tool.

In one of the most recent studies published by the end of 2021, Nakaoka et al. [21] examined the possibility of diagnosing CP using elastography. Diagnosing early CP via SWV elastography had a sensitivity of 76%, a specificity of 88%, and a correct diagnosis rate of 81%. The authors also noted that pancreas hardness increases with age, which needs to be considered in CP diagnosis.

### Acute pancreatitis, chronic pancreatitis, or a neoplasm

Differentiating between acute and chronic pancreatitis or a neoplasm can appear challenging, but Goertz et al. [15] measured the ARFI values in acute and chronic pancreatitis and adenocarcinoma. The results were significantly lower in AP than in CP ( $p = 0.02$ ) and in adenocarcinoma ( $p < 0.001$ ), but there was no significant difference between CP and adenocarcinoma ( $p = 0.43$ ). Nevertheless, the latter's values were the highest of all.

A study by Park et al. [27] also focused on differentiating benign pancreatic lesions from



malignant ones. They concluded that it is possible to distinguish those two pancreatic abnormalities with ARFI-VTI and VTQ.

Mayerle et al. [28] created a study whose aim was to determine whether semiquantitative EUS-elastography is superior to EUS-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) and B-mode EUS in the diagnosis of solid pancreatic lesions. The results demonstrated that the sensitivity of EUS-elastography (96%) was comparable to B-mode EUS (94%), but the specificity for EUS-elastography was much lower (34%) than for B-mode EUS (64%). Nonetheless, the total accuracy of those two modalities was alike (84% vs. 87%). The examination of EUS-FNA proved it to be less sensitive than EUS-elastography (82% vs. 96%), but the specificity reached 100% for the diagnosis of a malignant neoplasm. Also, the total accuracy of EUS-FNA was 85%. The authors of this study agreed that using EUS-elastography only in the differential diagnosis of pancreatic masses is not a better modality compared to B-mode EUS and EUS-FNA.

## CONCLUSIONS

In diagnosing acute and chronic pancreatitis, elastography of the pancreas seems to be a promising modality. It may be done via transabdominal ultrasound performed during a routine check-up. The limitations of the method are the same as those of ordinary ultrasound, and they mainly consist of gas or fluid

obscuration of the pancreas, severe obesity and low tissue translucency. Both SE and SWE provide reliable results. However, nowadays, the ARFI technique is gaining more attention. It is a real-time and radiation-free technique that can help objectively diagnose acute or chronic pancreatitis. Both AP and CP are characterized by high stiffness of the pancreatic parenchyma, and this fact has a positive correlation with the ARFI results.

Nonetheless, this modality has limitations such as advanced age, gender, high or low body weight, analgesic drug intake, and longer illness duration affecting pancreatic parenchyma hardness, which can provide false results. Also, the differentiation between CP, AP, and neoplasms can be challenging, but studies are currently being conducted to examine this matter. To conclude, it can be highly beneficial to use elastography for CP or AP diagnosis, especially by combining it with the patient's medical history, signs and symptoms.

## Conflict of interest

The author(s) declare no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

## Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

---

## Author's contribution

Study design – M. Cebula, A. Sepiol

Data collection – A. Sepiol

Manuscript preparation – M. Cebula, A. Sepiol

Literature research – M. Cebula, A. Sepiol

Final approval of the version to be published – M. Cebula

---

## REFERENCES

1. Kawada N., Tanaka S. Elastography for the pancreas: Current status and future perspective. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(14): 3712–3724, doi: 10.3748/wjg.v22.i14.3712.
2. Hirooka Y., Itoh A., Hashimoto S., Kawashima H., Hara K., Kanamori A. et al. Utility of EUS: Elastography in the diagnosis of pancreatic diseases. *Gastrointest. Endosc.* 2005; 61(5): AB282, doi: 10.1016/S0016-5107(05)01447-1.
3. Shiina T. JSUM ultrasound elastography practice guidelines: basics and terminology. *J. Med. Ultrason.* (2001) 2013; 40(4): 309–323, doi: 10.1007/S10396-013-0490-Z.
4. Dietrich C.F., Barr R.G., Farrokh A., Dighe M., Hocke M., Jenssen C. et al. Strain elastography – how to do it? *Ultrasound Int. Open* 2017; 3(4): E137–E149, doi: 10.1055/S-0043-119412.
5. Hirooka Y., Kuwahara T., Irisawa A., Itokawa F., Uchida H., Sasahira N. et al. JSUM ultrasound elastography practice guidelines: pancreas. *J. Med. Ultrason.* (2001) 2015; 42(2): 151–174, doi: 10.1007/S10396-014-0571-7.
6. Gallotti A., D'Onofrio M., Pozzi Mucelli R. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) technique in ultrasound with Virtual Touch tissue quantification of the upper abdomen. *Radiol. Med.* 2010; 115(6): 889–897, doi: 10.1007/S11547-010-0504-5.
7. Ozturk M., Çalışkan E., Bayramoglu Z., Adaletli I. Normative values of pancreas stiffness by shear wave elastography in healthy children and adolescents. *J. Med. Ultrason.* (2001) 2020; 47(4): 583–589, doi: 10.1007/S10396-020-01039-1.
8. Stumpf S., Jaeger H., Graeter T., Oetzuerk S., Schmidberger J., Haenle M.M. et al. Influence of age, sex, body mass index, alcohol, and smoking on shear wave velocity (p-SWE) of the pancreas. *Abdom. Radiol.* 2016; 41(7): 1310–1316, doi: 10.1007/s00261-016-0661-7.
9. Chantarojanasiri T., Hirooka Y., Kawashima H., Ohno E., Sugimoto H., Hayashi D. et al. Age-related changes in pancreatic elasticity: When should we be concerned about their effect on strain elastography? *Ultrasonics* 2016; 69: 90–96, doi: 10.1016/j.ultras.2016.03.018.
10. Janssen J., Papavassiliou I. Effect of aging and diffuse chronic pancreatitis on pancreas elasticity evaluated using semiquantitative EUS elastography. *Ultraschall Med.* 2014; 35(3): 253–258, doi: 10.1055/s-0033-1355767.
11. Gapp J., Chandra S. Acute Pancreatitis. *StatPearls* [Internet], Jun. 2021 [online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482468/> [accessed on 15 March 2022].



12. Klöppel G., Detlefsen S., Feyerabend B. Fibrosis of the pancreas: the initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Arch.* 2004; 445(1): 1–8, doi: 10.1007/s00428-004-1021-5.
13. Kaya M., Değirmenci S., Göya C., Tuncel E.T., Uçmak F., Kaplan M.A. The importance of acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography in the diagnosis and clinical course of acute pancreatitis. *Turk. J. Gastroenterol.* 2018; 29(3): 342–347, doi: 10.5152/tjg.2018.17338.
14. Göya C., Hamidi C., Hattapoğlu S., Çetinçakmak M.G., Teke M., Degirmenci M.S. et al. Use of acoustic radiation force impulse elastography to diagnose acute pancreatitis at hospital admission: comparison with sonography and computed tomography. *J. Ultrasound Med.* 2014; 33(8): 1453–1460, doi: 10.7863/ultra.33.8.1453.
15. Goertz R.S., Schuderer J., Strobel D., Pfeifer L., Neurath M.F., Wildner D. Acoustic radiation force impulse shear wave elastography (ARFI) of acute and chronic pancreatitis and pancreatic tumor. *Eur. J. Radiol.* 2016; 85(12): 2211–2216, doi: 10.1016/j.ejrad.2016.10.019.
16. Mateen M.A., Muheet K.A., Mohan R.J., Rao P.N., Majaz H.M., Rao G.V. et al. Evaluation of ultrasound based acoustic radiation force impulse (ARFI) and eSie touch sonoelastography for diagnosis of inflammatory pancreatic diseases. *JOP* 2012; 13(1): 36–44.
17. Sezgin O., Yaraş S., Özdoğan O. The course and prognostic value of increased pancreas stiffness detected by ultrasound elastography during acute pancreatitis. *Pancreatology* 2021; 21(7): 1285–1290, doi: 10.1016/j.pan.2021.07.006.
18. Xie J., Zou L., Yao M., Xu G., Zhao L., Xu H. et al. A preliminary investigation of normal pancreas and acute pancreatitis elasticity using virtual touch tissue quantification (VTQ) imaging. *Med. Sci. Monit.* 2015; 21: 1693–1699, doi: 10.12659/MSM.892239.
19. Rifu K., Watanabe J., Sasanuma H., Taniguchi N. Evaluation of the elasticity of the pancreas using acoustic radiation force impulse elastography in patients with acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Med. Biol.* 2022; 48(3): 406–413, doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.11.013.
20. Benjamin O., Lappin S.L. Chronic Pancreatitis. *StatPearls* [Internet], Jun. 2021 [online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482325/> [accessed on 15 March 2022].
21. Nakaoka K., Hashimoto S., Miyahara R., Kawashima H., Ohno E., Ishikawa T. et al. Current status of the diagnosis of chronic pancreatitis by ultrasonographic elastography. *Korean J. Intern. Med.* 2022; 37(1): 27–36, doi: 10.3904/kjim.2021.252.
22. Yashima Y., Sasahira N., Isayama H., Kogure H., Ikeda H., Hirano K. et al. Acoustic radiation force impulse elastography for noninvasive assessment of chronic pancreatitis. *J. Gastroenterol.* 2012; 47(4): 427–432, doi: 10.1007/s00535-011-0491-x.
23. Kuwahara T., Hirooka Y., Kawashima H., Ohno E., Ishikawa T., Yamamura T. et al. Usefulness of shear wave elastography as a quantitative diagnosis of chronic pancreatitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2018; 33(3): 756–761, doi: 10.1111/jgh.13926.
24. Llamaza-Torres C.J., Fuentes-Pardo M., Álvarez-Higueras F.J., Alberca-de-Las-Parras F., Carballo-Álvarez F. Usefulness of percutaneous elastography by acoustic radiation force impulse for the non-invasive diagnosis of chronic pancreatitis. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 2016; 108(8): 450–456, doi: 10.17235/reed.2016.4103/2016.
25. Pozzi R., Parzanese I., Baccarin A., Giunta M., Conti C.B., Cantù P. et al. Point shear-wave elastography in chronic pancreatitis: A promising tool for staging disease severity. *Pancreatology* 2017; 17(6): 905–910, doi: 10.1016/j.pan.2017.10.003.
26. Yamashita Y., Tanioka K., Kawaji Y., Tamura T., Nuta J., Hatamaru K. et al. Utility of elastography with endoscopic ultrasonography shear-wave measurement for diagnosing chronic pancreatitis. *Gut Liver* 2020; 14(5): 659–664, doi: 10.5009/gnl19170.
27. Park M.K., Jo J., Kwon H., Cho J.H., Oh J.Y., Noh M.H. et al. Usefulness of acoustic radiation force impulse elastography in the differential diagnosis of benign and malignant solid pancreatic lesions. *Ultrasonography* 2014; 33(1): 26–33, doi: 10.14366/usg.13017.
28. Mayerle J., Beyer G., Simon P., Dickson E.J., Carter R.C., Duthie F. et al. Prospective cohort study comparing transient EUS guided elastography to EUS-FNA for the diagnosis of solid pancreatic mass lesions. *Pancreatology* 2016; 16(1): 110–114, doi: 10.1016/j.pan.2015.10.003.





## Czynniki wpływające na wybór specjalizacji z psychiatrii wśród studentów uczelni medycznych – przegląd literatury

### Factors influencing the choice of specialization in psychiatry among students of medical universities – a review

Arkadiusz Wilczek<sup>1</sup> , Anna Rogalska<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Ekonomiki i Zarządzania w Ochronie Zdrowia, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Student Research Group, Department of Health Economics and Health Management, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Zakład Ekonomiki i Zarządzania w Ochronie Zdrowia, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Department of Health Economics and Health Management, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Rosnąca liczba osób zmagających się z zaburzeniami psychicznymi negatywnie wpływa na niestabilną sytuację kadrową wśród lekarzy psychiatrów zarówno w Polsce, jak i na świecie. Celem pracy było określenie i zgrupowanie czynników wpływających na wybór specjalizacji z psychiatrii przez studentów medycyny na świecie.

**METODY:** Przeszukano zasoby pięciu internetowych baz danych i serwisów (PubMed, Base, Embase, Google Scholar, ResearchGate) z okresu 2014–2022, wykorzystując następujące słowa kluczowe w języku angielskim: „psychiatry”, „career choice”, „medical student” oraz „attitude to psychiatry”.

**WYNIKI:** Do ostatecznej analizy zakwalifikowano 21 publikacji. Większość z nich (n = 16) stanowiła opis wyników badań wykorzystujących autorskie ankiety i narzędzia walidowane. Wyodrębniono cztery kategorie czynników: osobowościowe i społeczne, związane z psychiatrią na studiach, wynikające z charakteru specjalizacji oraz wynikające z pracy z pacjentami leczonymi psychiatrycznie. Czynniki pozytywnie wpływające na wybór specjalizacji to uczestnictwo w zajęciach dodatkowych z psychiatrii oraz obecność osoby z zaburzeniami psychicznymi w otoczeniu studenta. Czynniki negatywne to stygmatyzacja zaburzeń psychicznych w społeczeństwie i towarzyszący temu negatywny wizerunek specjalizacji.

**WNIOSKI:** Analizując artykuły naukowe w internetowych bazach danych i serwisach, zaobserwowano brak w Polsce badań w tym obszarze. Powinno to skłonić do dalszych analiz i próby podjęcia takich badań w kraju. Umożliwiłoby to poprawę wizerunku specjalizacji, wzrost zainteresowania psychiatrią wśród studentów, a także pełne wykorzystanie miejsc specjalizacyjnych.

#### SŁOWA KLUCZOWE

psychiatria, student medycyny, wybór kariery, stosunek do psychiatrii, stygmatyzacja

Received: 17.06.2022

Revised: 26.12.2022

Accepted: 05.01.2023

Published online: 12.07.2023

Adres do korespondencji: dr n. med. Anna Rogalska, Zakład Ekonomiki i Zarządzania w Ochronie Zdrowia, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Piekarska 18, 41-902 Bytom, tel. +48 32 397 65 37, e-mail: arogalska@sum.edu.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The growing number of people struggling with mental disorders has a negative impact on the unstable staffing situation among psychiatrists both in Poland and in the world. The aim of the study was to identify and group the factors influencing the choice of specialization in psychiatry by students of medical faculties around the world.

**METHODS:** The resources of five internet databases and search engines (PubMed, Base, Embase, Google Scholar, and ResearchGate) from the period 2014–2022 were searched using the following keywords in English: “psychiatry”, “career choice”, “medical student”, and “attitude to psychiatry”.

**RESULTS:** 21 publications were qualified for the final analysis. Among the selected articles, the majority (n = 16) were descriptions of research results using original questionnaires and validated tools. Four categories of factors were distinguished: personality and social factors, related to psychiatry at university, resulting from the nature of the specialization, and resulting from work with psychiatrically treated patients. The factors positively influencing the choice are participation in additional classes in psychiatry and the presence of a mentally ill person in the student’s environment. The negative factors include the stigmatization of mental illnesses in society and the accompanying negative image of the specialization.

**CONCLUSIONS:** When analyzing the articles in the internet databases and search engines, a lack of research in this area was observed in Poland. This should prompt further analyses and attempts to undertake them in terms of the country. This will enable improvement of the image of the specialization and an increase in interest in psychiatry among students, as well as the full use of places in the specialization.

## KEY WORDS

psychiatry, medical student, career choice, attitude to psychiatry, stigmatization

## WSTĘP

Występowanie zaburzeń psychicznych było identyfikowane i dokumentowane już od czasów starożytnych, a pierwsze szpitale psychiatryczne powstały w VIII w. Jednak dopiero na przełomie XVIII i XIX w. opieka nad chorymi psychicznie została zrewolucjonizowana poprzez propagowanie humanitarnego podejścia w tym zakresie [1]. Termin *psychiatria* został wprowadzony do słownika naukowego w 1808 r. przez J. Ch. Reila i oznacza dział medycyny zajmujący się przyczynami, profilaktyką, diagnostyką oraz leczeniem zaburzeń psychicznych i behawioralnych [2,3]. Psychiatria nie prowadzi się do leczenia pojedynczego organu ani do jednej techniki terapeutycznej [4,5]. Dla wielu studentów medycyny specjalizacja ta nie jest też popularną drogą kariery, co ma negatywny wpływ na liczbę psychiatrów na rynku pracy [6]. Biorąc pod uwagę niedobór specjalistów, większość opieki psychiatrycznej na całym świecie świadczona jest przez lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej [7].

Zdrowie psychiczne odgrywa ważną rolę w osiągnięciu globalnych celów rozwojowych, ponieważ jest to stan dobrego samopoczucia, w którym jednostka może realizować role społeczne, rozwijać swój własny potencjał, produktywnie pracować, a także radzić sobie z codziennymi sytuacjami stresowymi [8]. Osoby

z ciężkimi zaburzeniami psychicznymi umierają przedwcześnie – z powodu chorób, którym można zapobiec [9]. Zaburzenia psychiczne dotyczą niemałą część społeczeństwa; w 2019 r. jedna na 8 osób (970 mln) na całym świecie żyła z zaburzeniami psychicznymi [10,11]. Rodzaje i nasilenie problemów ze zdrowiem psychicznym mogą być odmienne u osób z różnymi schorzeniami i rolami społecznymi [12,13]. Szacuje się, że obciążenie zaburzeniami psychicznymi odpowiada za 32,4% lat przeżytych z niepełnosprawnością (*years lived with disability* – YLD) i 13% lat życia skorygowanych niepełnosprawnością (*disability-adjusted life year* – DALY) [14].

Wiele schorzeń psychicznych można skutecznie leczyć stosunkowo niskim kosztem, jednak ze względu na znaczną przepaść między osobami wymagającymi opieki a osobami mającymi do niej dostęp jest to utrudnione. Skuteczny zasięg leczenia pozostaje niezwykle niski [9]. Usługi w zakresie zdrowia psychicznego są niedofinansowane w porównaniu ze świadczeniami w zakresie zdrowia fizycznego [15]. Ponadto nabór na specjalizację z psychiatrii jest niewystarczający do zaspokojenia przewidywanych potrzeb w zakresie zdrowia psychicznego na całym świecie [16]. W 2018 r. liczba psychiatrów w Unii Europejskiej wynosiła ponad 80 tys. Jednak liczba pracujących psychiatrów na świecie na 100 tys. mieszkańców jest dość zróżnicowana – od 52 w Szwajcarii, 27 w Niemczech, 25 w Gre-



cji, po 10 w Bułgarii, 9 w Polsce i 5 w Turcji [17,18]. Liczba międzynarodowych absolwentów medycyny, którzy zamierzają wybrać psychiatrię jako specjalizację, spadła z około 10% w okresie po II wojnie światowej do zaledwie 3–5% w 2002 r. [19,20,21].

Wybór specjalizacji jest wyzwaniem, przed jakim stoją wszyscy studenci medycyny, a determinowany jest przez złożony zestaw czynników. Psychiatria wciąż nie jest popularna wśród studentów, m.in. ze względu na stygmatyzację zaburzeń psychicznych, co z kolei zniechęca studentów do podjęcia decyzji o karierze w psychiatrii [6,22]. Aby zwiększyć rekrutację, konieczne jest zidentyfikowanie „czynników przyciągających”, które mogą zostać wykorzystane do zachęcenia studentów do wyboru tej specjalizacji [23].

W celu określenia czynników motywujących i zniechęcających do wyboru psychiatrii jako specjalizacji dokonano przeglądu literatury.

## METODY

W okresie 1–31.03.2022 r. przeszukano zasoby pięciu internetowych baz danych i serwisów, tj. PubMed, Base, Embase, Google Scholar i ResearchGate, wykorzystując następujące słowa kluczowe w języku angielskim: „psychiatry”, „career choice”, „medical student” oraz „attitude to psychiatry”. Publikacje obejmowały lata 2014–2022. Kryteriami wykluczenia były: (1) brak dostępu do pełnotekstowej publikacji, (2) język inny

niż angielski lub polski, (3) brak bezpośredniego związku z założeniami przeglądu.

## WYNIKI

Wyszukiwanie pozwoliło zidentyfikować 164 rekordy, następnie usunięto duplikaty oraz te artykuły, które nie spełniały kryteriów włączenia. Do ostatecznej analizy zakwalifikowano 21 publikacji naukowych.

Jedną z klasyfikacji czynników, które wpływają na wybór psychiatrii jako specjalizacji, jest podział na dwie grupy: czynniki niezwiązane z procesem kształcenia oraz czynniki związane z procesem kształcenia. Do pierwszej grupy należą: płeć, pochodzenie etniczne oraz osobiste lub rodzinne doświadczenia związane z zaburzeniami psychicznymi, natomiast do drugiej zalicza się: metody nauczania, kontakt z osobami z zaburzeniami psychicznymi w praktyce klinicznej oraz doświadczenia badawcze w psychiatrii i uniwersyteckich klubach psychiatrycznych [16,24,25].

Badania wykazały, że 4–7% (min-max) studentów poważnie myśli o karierze w psychiatrii.

Zestawienie czynników zidentyfikowanych na podstawie przeglądu literatury jako motywujące i zniechęcające do wyboru tej specjalizacji przedstawiono w tabeli I. Jednak nie wszystkie czynniki można jednoznacznie zaklasyfikować do danej grupy, ponieważ dla jednej osoby mogą być zniechęcające, dla innej wręcz odwrotnie, czego przykładem jest kontakt z osobą zmagającą się z zaburzeniami psychicznymi.

Tabela I. Zestawienie wybranych badań dotyczących czynników motywujących i zniechęcających do wyboru psychiatrii jako specjalizacji

Tabela I. Summary of selected research in field of factors motivating students to choose and discouraging students from choosing psychiatry as their specialization

Autor, rok [poz. piśm.]	Grupa badawcza	Rodzaj badania	Czynniki motywujące do wyboru specjalizacji	Czynniki zniechęcające do wyboru specjalizacji
1	2	3	4	5
Farooq i wsp. 2014 [16]	2198 studentów z 46 uczelni medycznych w 20 krajach	badanie przekrojowe	obecność zaburzeń psychicznych w najbliższym otoczeniu dodatkowe zajęcia z dziedziny psychiatrii (koła naukowe, kluby psychiatrii) płeć (więcej kobiet niż mężczyzn wybiera psychiatrię) cechy charakteru: wyższe wyniki neurotyczności i otwartości wśród osób wybierających psychiatrię	stygmatyzacja zaburzeń psychicznych przez społeczeństwo powierzona odpowiedzialność w wyniku pracy z pacjentem psychiatrycznym
Lyons i Janca 2015 [6]	151 studentów medycyny IV roku MBBS na University of Western Australia	2 kwestionariusze: a) Balon Attitudes Towards Psychiatry b) Mental Illness Clinicians Attitudes (MICA)	wpływ rodziców na wybór specjalizacji	stygmatyzacja zaburzeń psychicznych przez społeczeństwo warunki finansowe odmienne w porównaniu z innymi specjalizacjami niski prestiż specjalizacji wśród innych dyscyplin medycznych negatywny charakter pracy z pacjentem psychiatrycznym



1	2	3	4	5
Choudry i Farooq 2017 [26]	27 artykułów (Wielka Brytania)	przeгляд literatury	obecność zaburzeń psychicznych u osób w najbliższym otoczeniu dodatkowe zajęcia z dziedziny psychiatrii (koła naukowe, kluby psychiatrii)	stygmatyzacja psychiatrii opinia o mniej naukowym charakterze specjalizacji negatywny wizerunek specjalizacji, <b>stres związany z pracą</b> negatywny charakter pracy z pacjentem psychiatrycznym – biurokracja
Seow i wsp. 2018 [25]	502 studentów z 2 publicznych uczelni medycznych w Singapurze	przekrojowe badanie online	neurotyczne czynniki osobowościowe dodatkowe zajęcia z dziedziny psychiatrii (koła naukowe, kluby psychiatrii)	stygmatyzacja chorób psychicznych przez społeczeństwo
AlOsaimi i wsp. 2019 [22]	81 studentów ostatniego roku medycyny z Arabii Saudyjskiej	badanie ankietowe	obecność chorób psychicznych u osób w najbliższym otoczeniu	
Agyapong i wsp. 2020 [27]	20 studentów z 4 publicznych uczelni medycznych w Ghanie	przekrojowe badanie jakościowe z danymi zebranymi podczas dyskusji w grupach fokusowych		stygmatyzacja zaburzeń psychicznych przez społeczeństwo długi czas i niepewne rokowania procesu (wy)leczenia <b>problemy z infrastrukturą i finansowaniem</b>
Kochański i Cechnicki 2018 [5]	lekarze ze specjalizacją w dziedzinie psychiatrii	sondaż diagnostyczny w formie kwestionariusza		stygmatyzacja zaburzeń psychicznych przez społeczeństwo negatywny wizerunek specjalizacji negatywny charakter pracy z pacjentem psychiatrycznym
Baminiwatta i wsp. 2020 [28]	727 studentów ostatniego roku z 9 uczelni medycznych na Sri Lance	przekrojowe badanie opisowe	dłuższy kontakt z psychiatrią wiązał się z większą chęcią zostania psychiatrą w przyszłości postawy wobec psychiatrii były bardziej pozytywne wśród osób, które miały bliską osobę z zaburzeniami psychicznymi płeć żeńska, obecność bliskiej osoby z zaburzeniami psychicznymi i dłuższy czas na szkolenie kliniczne z psychiatrii wydają się związane z pozytywnym nastawieniem do tej dyscypliny	
Awais i wsp. 2019 [29]	381 studentów wszystkich lat z Rawalpindi Medical University (Pakistan)	badanie przekrojowe	potrzeba pomocy osobom z zaburzeniami psychicznymi potrzeba większej liczby psychiatrów w Pakistanie zainteresowanie psychiatrią	psychiatria nie pasuje do mojego temperamentu psychiatria może negatywnie wpłynąć na moje zdrowie psychiczne psychiatria nie jest wystarczająco kliniczną dyscypliną
Samari i wsp. 2019 [30]	502 studentów medycyny i 500 studentów pielęgniarstwa z uczelni medycznych w Singapurze	badanie przekrojowe Attitudes towards Psychiatry (ATP-18) scale	kobiety miały bardziej przychylny stosunek do psychiatrii w porównaniu z mężczyznami	postawy negatywne: pacjenci psychiatryczni stawiają swoim lekarzom bardziej emocjonalne wymagania niż pozostali pacjenci; przekonanie, że psychiatrzy to często lekarze, którym się nie powiodło
Agyapong i wsp. 2020 [31]	545 studentów V i VI roku z 4 publicznych uczelni medycznych w Ghanie	przekrojowe badanie z kwestionariuszem	pozytywne doświadczenia z praktyki mogą być jedną z ważniejszych przyczyn zwiększonego zainteresowania psychiatrią	
Kerebih i wsp. 2019 [32]	165 studentów IV roku z Jimma University (Etiopia)	przekrojowe badanie z kwestionariuszem	rodzina historia zaburzeń psychicznych, pozytywne nastawienie do psychiatrii sposób nauczania psychiatrii, satysfakcja z praktycznej i teoretycznej edukacji psychiatrycznej bezpośrednie zaangażowanie w psychiatryczną opiekę nad pacjentem	negatywna presja ze strony rodziny negatywne postawy rówieśników



1	2	3	4	5
Jain i wsp. 2014 [33]	250 studentów prywatnej uczelni medycznej w Mangalore (Indie)	przekrojowe badanie z kwestionariuszem		kontakt z osobą z zaburzeniami psychicznymi miał statystycznie istotny związek z psychiatrią jako wyborem kariery kontakt z pacjentem w praktyce klinicznej zwiększa chęć do rozważenia psychiatrii jako opcji kariery
Borg i wsp. 2020 [34]	396 studentów Uniwersytetu Maltańskiego	Attitudes Toward Psychiatry-30 Scale (ATP 30) oraz Mental Illness: Clinicians' Attitudes Scale (Medical Student Version) (MICA-2)	mężczyźni mieli bardziej pozytywne nastawienie do psychiatrii jako wyboru kariery	studenci, którzy twierdzili, że w jakimś okresie swojego życia cierpieli na zaburzenie psychiczne, mieli bardziej negatywny stosunek do psychiatrii jako zawodu doświadczenie w pracy lub wolontariacie z pacjentami psychiatrycznymi wiązało się z bardziej negatywnymi opiniami na temat skuteczności psychiatrii
Velikić 2021 [35]	42 artykuły	przegląd literatury międzynarodowej	staż psychiatryczny ma korzystny wpływ na ogólny stosunek studentów do psychiatrii	psychiatria uważana za zbyt wymagającą emocjonalnie wśród studentów medycyny panuje bardzo negatywna opinia na temat psychiatrii jako wyboru kariery
Hankir i wsp. 2019 [36]	123 uczestników projektu dla studentów uczelni medycznych (Wielka Brytania)	jednoramienne badanie porównawcze		szkolenia z udziałem ekspertów z osobistymi i zawodowymi doświadczeniami zaburzeń psychicznych (EPPE) mogą wpłynąć na większe zainteresowanie psychiatrią i zwiększenie częstości wyboru tej specjalizacji
Li i wsp. 2022 [37]	369 studentów kierunków psychiatrycznych z Chongqing Medical University (Chiny)	przekrojowe badanie z kwestionariuszem oraz Attitudes Toward Psychiatry-30 items (ATP-30) scales		przychylnie postawy wobec psychiatrii zgłaszało więcej kobiet niż mężczyzn kontakt z pacjentami z zaburzeniami psychicznymi
Janouskova i wsp. 2021 [38]	495 studentów z 3 uczelni medycznych w Republice Czeskiej i w Słowacji	badanie przekrojowe		bardziej pozytywne postawy i mniejszy dystans społeczny wobec osób z zaburzeniami psychicznymi wiąże się z wyższym poziomem znajomości tego problemu i rozważeniem specjalizacji z psychiatrii większa liczba zajęć fakultatywnych na temat zdrowia psychicznego jest predyktorem wyboru psychiatrii
Bankowska Motlova i wsp. 2020 [39]	2418 studentów medycyny z 8 uczelni medycznych w Republice Czeskiej	Attitudes to Psychiatry Scale (APS), Czech version	należałoby wprowadzić jakościowe zmiany w programie nauczania, a także edukację w zakresie komunikacji w latach przedklinikcznych, aby pomóc studentom w budowaniu ich umiejętności komunikacyjnych oraz radzeniu sobie z reakcjami emocjonalnymi w celu zwiększenia pewności siebie w komunikowaniu się z osobami chorymi psychicznie i ich leczeniu pozytywny wizerunek psychiatrii	nie wykazano statystycznie istotnych różnic między uczelniami medycznymi w wyborze specjalizacji
Karukivi 2021 [40]	51 uczestników, w tym studenci medycyny i absolwenci – uczestnicy szkoły letniej z psychiatrii w Satakunta Hospital District (SHD; Finlandia)	4-letnie badanie kontrolne	programy łączące pracę kliniczną, tutoring i nauczanie wieloaspektowe mają większy wpływ na wybór psychiatrii przez studentów niż programy oparte tylko na wiedzy	ogólna wiedza psychiatryczna nie była istotnym predyktorem wyboru kariery w psychiatrii



1	2	3	4	5
Zhang i wsp. 2021 [41]	4610 studentów psychiatrii oraz 3857 medycyny klinicznej z 26 uczelni medycznych w Chinach	badanie przekrojowe	osobiste zainteresowania sugestie członków rodziny doświadczenie problemów psychicznych chęć pomocy sobie lub innym potrzebującym, lub bycie świadkiem funkcjonowania osób z problemami psychicznymi niższe wyniki uniemożliwiające wybór innej specjalizacji	

poz. piśm. – pozycja piśmiennictwa

## DYSKUSJA

Analizując wyselekcjonowane piśmiennictwo, mocno zauważalna jest ograniczona liczba przeglądów literatury na świecie, a także w Polsce, które przedstawiłyby zestawienie najważniejszych badań o różnym charakterze, wskazujących czynniki zarówno negatywnie, jak i pozytywnie wpływające na sytuację psychiatrii w skali świata.

Na wybór zawodu lekarza wpływa szereg motywów, dodatkowo zróżnicowanych w zależności od regionu geograficznego [22]. Jednymi z nich są chęć osiągnięcia statusu społecznego i prestiż zawodu lekarza [42]. Dlatego tak ważnym zadaniem staje się kształtowanie świadomości społeczeństwa na temat psychiatrii, by jej postrzeganie nie stanowiło przesłanki do rezygnacji z wyboru tej specjalizacji. Ponadto należy wspomnieć o cechach osobowości studentów medycyny, które mogą być czynnikiem determinującym wybór specjalizacji z psychiatrii. Potwierdzono to w badaniach naukowych, analizujących wpływ na prawdopodobieństwo wyboru psychiatrii takich cech jak: ekstrawersja, ugodowość, sumienność, neurotyzm i wyobraźnia. To właśnie uległość i neurotyczność, jak wykazali Seow i wsp. [25], okazały się istotnymi statystycznie czynnikami związanymi z wyborem psychiatrii jako kariery. Ponadto Farooq i wsp. [16] oraz Choudry i Farooq [26] podkreślają, że czynnikiem pozytywnie wpływającym na wybór tej specjalizacji są doświadczenia związane z występowaniem zaburzeń psychicznych w rodzinie. Jednak według badań przeprowadzonych wśród studentów medycyny w Arabii Saudyjskiej właśnie ten czynnik u 88,9% badanych negatywnie wpływał na wybór kariery w psychiatrii [22], co prawdopodobnie wynika z różnic kulturowo-społecznych. Podobnie mieszany wpływ czynnika na wybór konkretnej specjalizacji ma miejsce w przypadku posiadania rodziców także wykonujących zawód lekarza [42].

Drugą grupą czynników są te, które zniechęcają do podjęcia specjalizacji z psychiatrii. Podkreślaną w większości analizowanych badań i artykułów przyczyną rezygnacji z psychiatrii jako specjalizacji jest napiętnowanie i stygmatyzacja zaburzeń psychicznych przez społeczeństwo, co z kolei może wpływać na

kształtowanie się negatywnego wizerunku psychiatrii [16,22,26], a tym samym utrudniać studentom postrzeganie psychiatrii jako atrakcyjnego wyboru kariery [6], lub też jest powodem nacisku ze strony rodziny co do wyboru specjalizacji o innym charakterze [16].

Kolejnym demotywatorem w tym zakresie w ujęciu globalnym jest kulturowa stygmatyzacja osób z zaburzeniami psychicznymi. W badaniach przeprowadzonych w Ghanie przez Agyapong i wsp. [27] potwierdzono, że mity oraz piętno związane ze zdrowiem psychicznym, jak również negatywne postrzeganie psychiatrów należą do głównych barier utrudniających studentom medycyny wybór kariery w psychiatrii [27]. Kwestią ściśle powiązaną z wizerunkiem osoby z zaburzeniami psychicznymi jest fakt, że społeczeństwo za podstawową przyczynę choroby uważa problemy o charakterze duchowym, co jeszcze bardziej utrudnia proces leczenia takiego pacjenta [27].

Jak wykazano w badaniach przekrojowych oraz przeglądach literatury, elementy mogące wpłynąć na wybór specjalizacji z psychiatrii, tj. studenckie koła naukowe, uniwersyteckie kluby psychiatrii czy letnie szkoły psychiatrii, to dodatkowe moduły wspierające działania w zakresie psychiatrii [16,22,25]. Jak wspomniano, głównym czynnikiem zniechęcającym do wyboru tej specjalizacji jest napiętnowanie osób z zaburzeniami psychicznymi przez społeczeństwo, a w związku z tym również negatywny wizerunek specjalizacji w społeczeństwie, wśród studentów medycyny oraz w środowisku medycznym [5,6].

Specyfika zawodu psychiatry stanowi duże wyzwanie ze względu na stresory, które są unikalne dla tej specjalizacji. Przede wszystkim charakter pracy z pacjentami psychiatrycznymi może mieć wpływ na postawy studentów medycyny wobec specjalizacji z psychiatrii [6]. Jak wykazali Lyons i Janca [6] oraz Rössler [43], złe rokowania u pacjentów leczonych psychiatrycznie, szczególnie wymagające relacje z pacjentami czy praca powodująca niepokój i emocjonalnie wyczerpująca mogą wpływać na zły stan zdrowia lekarzy psychiatrów, a tym samym wpływać na jakość opieki zdrowotnej w ogóle.

Szereg złożonych warunków – nie tylko specyfika zawodu psychiatry, ale również wieloaspektowe czynniki motywujące i zniechęcające – ma wpływ na liczbę



pracujących psychiatrów. Zgodnie z raportem Głównego Urzędu Statystycznego liczba lekarzy ze specjalizacją z psychiatrii pracujących bezpośrednio z pacjentem wzrosła z 3348 w 2019 r. do 3515 w 2021 r., ale wciąż stanowiła 4% ogółu lekarzy specjalistów. W Polsce w 2022 r. psychiatria znalazła się na liście specjalizacji priorytetowych, czyli dziedzin medycyny uznawanych przez Ministerstwo Zdrowia za najbardziej deficytowe i wymagające uzupełnienia niedoborów kadrowych [44].

## WNIOSKI

Zidentyfikowano następujące grupy czynników wpływających na decyzję o wyborze psychiatrii jako specjalizacji: 1) charakter pracy z pacjentami psychiatrycznymi, 2) oddziaływanie uczelni medycznej i ścieżki kształcenia, 3) czynniki wynikające z charakteru specjalizacji, 4) postrzeganie psychiatrii w rodzinie, wśród rówieśników oraz w społeczeństwie,

5) cechy osobowości, 6) doświadczenia własne lub członków rodziny z zaburzeniami psychicznymi. Niektóre z czynników mogą mieć mieszany wpływ (pozytywny lub negatywny) na podjęcie decyzji o wyborze specjalizacji w zależności od kraju, w którym przeprowadzono badania, co może świadczyć o różnicowaniu determinantów zależnie od uwarunkowań kulturowych. Ponadto, jak wykazano w literaturze, czynniki zniechęcające do wyboru psychiatrii są modyfikowalne. Działania takie jak zwiększanie możliwości dostępu do fakultatywnych kursów z zakresu psychiatrii, kształtowanie empatii w społeczeństwie czy szkolenia z udziałem eksperta z osobistym i zawodowym doświadczeniem zaburzeń psychicznych (Experts by Personal and Professional Experience – EPPE) mogłyby się przyczynić do zwiększenia częstości wyboru tej specjalizacji [36]. Ponadto do walki ze stygmatyzacją zaburzeń psychicznych można wykorzystać technologie cyfrowe, w tym filmy o charakterze edukacyjnym z udziałem osób, które wyzdrowiały [45].

## Author's contribution

Manuscript preparation – A. Wilczek, A. Rogalska

Literature research – A. Wilczek

Final approval of the version to be published – A. Wilczek, A. Rogalska

## PIŚMIENNICTWO

1. Nizamie S.H., Goyal N. History of psychiatry in India. *Indian J. Psychiatry* 2010; 52(Suppl 1): S7–S12, doi: 10.4103/0019-5545.69195.
2. Psychiatry (hasło). W: R. J. Campbell. *Psychiatric dictionary*. 6th ed. New York: Oxford University Press; 1989.
3. Trivedi J.K., Goel D. What psychiatry means to us. *Mens Sana Monogr.* 2006; 4(1): 166–183, doi: 10.4103/0973-1229.27613.
4. Kapusta A. Racjonalność szaleństwa: filozoficzne dyskusje wokół współczesnych koncepcji urojeń. W: Z. Drozdowicz, Z. Melosik, S. Sztajer [red.]. *O racjonalności w nauce i w życiu społecznym*. Wyd. Naukowe Wydziału Nauk Społecznych UAM. Poznań 2009, s. 55–69.
5. Koczański A., Cechnicki A. Opinions of Polish psychiatrists on psychiatry and their own professional role. *Adv. Psychiatry Neurol.* 2018; 27(1): 31–48, doi: 10.5114/ppn.2018.74325.
6. Lyons Z., Janca A. Impact of a psychiatry clerkship on stigma, attitudes towards psychiatry, and psychiatry as a career choice. *BMC Med. Educ.* 2015; 15: 34, doi: 10.1186/s12909-015-0307-4.
7. Huda A.S. The medical model and its application in mental health. *Int. Rev. Psychiatry* 2021; 33(5): 463–470, doi: 10.1080/09540261.2020.1845125.
8. Mental Health. World Health Organization [online] <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/mental-health> [dostęp: 05.05.2022].
9. Cuijpers P., Auerbach R.P., Benjet C., Bruffaerts R., Ebert D., Karyotaki E. i wsp. Introduction to the special issue: The WHO World Mental Health International College Student (WMH-ICS) initiative. *Int. J. Methods Psychiatr. Res.* 2019; 28(2): e1762, doi: 10.1002/mpr.1762.
10. Global Burden of Disease Study (GBD 2019). Cause of death or injury (table). Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) / Global Health Data Exchange (GHDx), 2019 [online] <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/> [dostęp: 12.05.2022].
11. Kessler R.C., Gruber M., Hettema J.M., Hwang I., Sampson N., Yonkers K.A. Co-morbid major depression and generalized anxiety disorders in the National Comorbidity Survey follow-up. *Psychol. Med.* 2008; 38(3): 365–374, doi: 10.1017/S0033291707002012.
12. Tan B.Y.Q., Chew N.W.S., Lee G.K.H., Jing M., Goh Y., Yeo L.L.L. i wsp. Psychological impact of the COVID-19 pandemic on health care workers in Singapore. *Ann. Intern. Med.* 2020; 173(4): 317–320, doi: 10.7326/M20-1083.
13. Wu T., Jia X., Shi H., Niu J., Yin X., Xie J. i wsp. Prevalence of mental health problems during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *J. Affect. Disord.* 2021; 281: 91–98, doi: 10.1016/j.jad.2020.11.117.
14. Vigo D., Thornicroft G., Atun R. Estimating the true global burden of mental illness. *Lancet Psychiatry* 2016; 3(2): 171–178, doi: 10.1016/S2215-0366(15)00505-2.
15. Mitchell A., Hardy S., Shiers D. Parity of esteem: Addressing the inequalities between mental and physical healthcare. *BJPsych Advances* 2017; 23(3): 196–205, doi: 10.1192/apt.bp.114.014266.
16. Farooq K., Lydall G.J., Malik A., Ndetei D.M., ISOSCCIP Group; Bhugra D. Why medical students choose psychiatry – a 20 country cross-sectional survey. *BMC Med. Educ.* 2014; 14: 12, doi: 10.1186/1472-6920-14-12.
17. Mental health and related issues statistics. Eurostat [online] [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Mental\\_health\\_and\\_related\\_issues\\_statistics](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Mental_health_and_related_issues_statistics) [dostęp: 08.05.2022].
18. Number of psychiatrists: how do countries compare? Eurostat [online], 6 May 2020 <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/ddn-20200506-1> [dostęp: 10.05.2022].
19. Malhi G.S., Parker G.B., Parker K., Carr V.J., Kirkby K.C., Yellowlees P. i wsp. Attitudes toward psychiatry among students entering medical school. *Acta Psychiatr. Scand.* 2003; 107(6): 424–429, doi: 10.1034/j.1600-0447.2003.00050.x.
20. Kuhnigk O., Strebel B., Schilauke J., Jueptner M. Attitudes of medical students towards psychiatry: effects of training, courses in psychiatry, psychiatric experience and gender. *Adv. Health Sci. Educ. Theory Pract.* 2007; 12(1): 87–101, doi: 10.1007/s10459-005-5045-7.
21. Tamaskar P., McGinnis R.A. Declining student interest in psychiatry. *JAMA* 2002; 287(14): 1859.



22. AlOsaimi F.M.S., AlShehri H.M., AlHasson W.I., Agha S., Omair A. Why psychiatry as a career: Effect of factors on medical students' motivation. *J. Family Med. Prim. Care* 2019; 8(2): 648–651, doi: 10.4103/jfmpe.jfmpe\_399\_18.
23. Denman M., Oyeboode F., Greening J. Reasons for choosing to specialise in psychiatry: differences between core psychiatry trainees and consultant psychiatrists. *BJPsych. Bull.* 2016; 40(1): 19–23, doi: 10.1192/pb.bp.114.048678.
24. Halder N., Hadjidemetriou C., Pearson R., Farooq K., Lydall G.J., Malik A. i wsp. Student career choice in psychiatry: findings from 18 UK medical schools. *Int. Rev. Psychiatry* 2013; 25(4): 438–444, doi: 10.3109/09540261.2013.824414.
25. Seow L.S.E., Chua B.Y., Mahendran R., Verma S., Ong H.L., Samari E. i wsp. Psychiatry as a career choice among medical students: a cross-sectional study examining school-related and non-school factors. *BMJ Open* 2018; 8(8): e022201, doi: 10.1136/bmjopen-2018-022201.
26. Choudry A., Farooq S. Systematic review into factors associated with the recruitment crisis in psychiatry in the UK: students', trainees' and consultants' views. *BJPsych. Bull.* 2017; 41(6): 345–352, doi: 10.1192/pb.bp.116.055269.
27. Agyapong V.I.O., Ritchie A., Doucet K., Agyapong-Opoku G., Shalaby R., Hrabok M. i wsp. Factors influencing medical students and psychiatry residents in Ghana to consider psychiatry as a career option – a qualitative study. *Glob. Ment. Health (Camb)*. 2020; 7: e31, doi: 10.1017/gmh.2020.24.eCollection 2020.
28. Baminiwatta A.K.A.B., Bandara W.A.V.S., Athurugiriya A.A.I.D., Yangdon T., Cader G.R., Bokalamulla L.A.B. i wsp. A nationwide survey of attitudes towards psychiatry among final-year medical students in Sri Lanka. *Asian J. Psychiatr.* 2020; 52: 102101, doi: 10.1016/j.ajp.2020.102101.
29. Awais A., Nadeem N., Kashif M., Younus A. Psychiatry as a career choice. *J. Rawalpindi Med. Coll.* 2019; 23(S-1): 28–33.
30. Samari E., Seow E., Chua B.Y., Ong H.L., Lau Y.W., Mahendran R. i wsp. Attitudes towards psychiatry amongst medical and nursing students in Singapore. *BMC Med. Educ.* 2019; 19(1): 91, doi: 10.1186/s12909-019-1518-x.
31. Agyapong V.I.O., Shalaby R., Agyapong-Opoku G., Osei A., Ulzen T. The impact of diaspora-based psychiatrists' participation in clinical teaching in a lower middle-income country on interest in psychiatry among medical students and the choice of psychiatry as a career. *Acad. Psychiatry* 2020; 44(6): 756–760, doi: 10.1007/s40596-020-01289-8.
32. Kerebih H., Salelew E., Hailesilassie H. Factors associated with medical students' choice of psychiatry as future specialty: a cross-sectional study. *Adv. Med. Educ. Pract.* 2019; 10: 751–758, doi: 10.2147/AMEP.S210286.
33. Jain A., Kotian M.S., Jain R., Joseph N. Psychiatry as a career choice: Perception of students at a private medical college in South India. *Arch. Med. Health Sci.* 2014; 2(2): 238–242, doi: 10.4103/2321-4848.144362.
34. Borg N., Testa L., Sammut F., Cassar D. Attitudes of medical students in Malta toward psychiatry and mental illness. *Acad. Psychiatry* 2020; 44(6): 709–713, doi: 10.1007/s40596-020-01304-y.
35. Velikić V. Attitudes towards psychiatry among medical students worldwide: A review. *Psychiatr. Danub.* 2021; 33(Suppl 10): 18–24.
36. Hankir A., Mahmood J., Houbby N., Ali S., Carrick F.R., Zaman R. Using Experts by Personal and Professional Experience (EPPE) to increase interest in Psychiatry as a Career at Sixth-Form Level. *Psychiatr. Danub.* 2019; 31(Suppl 3): 242–248.
37. Li X., Ai M., Chen X., Gan Y., He J., Tian Y. i wsp. Attitudes toward psychiatry among medical students with a psychiatric major at Chongqing medical university. *Front. Psychiatry* 2022; 13: 820060, doi: 10.3389/fpsy.2022.820060.
38. Janouskova M., Formanek T., Brazinova A., Milek P., Alexova A., Winkler P. i wsp. Attitudes towards people with mental illness and low interest in psychiatry among medical students in Central and Eastern Europe. *Psychiatr. Q.* 2021; 92(1): 407–418, doi: 10.1007/s11126-020-09817-3.
39. Bankovska Motlova L., Janouskova M., Formanek T., Goetz M., Holub D., Hubenak J. i wsp. Medical students' career choice and attitudes toward psychiatry: Case of the Czech Republic. *Acad. Psychiatry* 2020; 44(6): 751–755, doi: 10.1007/s40596-020-01311-z.
40. Karukivi M. Association of a two-month summer school with a residency in psychiatry – results from a four-year follow-up study. *Psychiatr. Fennica* 2021; 52: 50–59.
41. Zhang Y.J., Yuan K., Chang S.H., Yan W., Que J.Y., Deng J.H. i wsp. Career choice and influential factors among medical students majoring in psychiatry in China. *BMC Med. Educ.* 2021; 21(1): 183, doi: 10.1186/s12909-021-02622-x.
42. Pawełczyk A., Pawełczyk T., Bielecki J. Wpływ wybranych czynników na wybór wąskich specjalizacji medycznych przez studentów wydziałów lekarskich. *Pol. Merk. Lek.* 2007; 22(132): 575–579.
43. Rössler W. Stress, burnout, and job dissatisfaction in mental health workers. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2012; 262 Suppl 2: S65–69, doi: 10.1007/s00406-012-0353-4.
44. Oszacowanie zasobów kadry medycznej w oparciu o źródła administracyjne – lekarze i lekarze dentyści (wyniki eksperymentalnej pracy metodologicznej). Główny Urząd Statystyczny [online], 01.07.2022 <https://stat.gov.pl/statystyki-eksperymentalne/kapital-ludzki/oszacowanie-zasobow-kadry-medycznej-w-oparciu-o-zrodla-administracyjne-lekarze-i-lekarze-dentysci-wyniki-eksperymentalnej-pracy-metodologicznej,14,1.html> [dostęp: 10.05.2022].
45. Hankir A., Ghosh S., Ali S.M., Carrick F.R., Zaman R. Leveraging digital technology to challenge mental health stigma in West Bengal: A protocol. *Psychiatr. Danub.* 2019; 31(Suppl 3): 308–311.





## Zmiany w aktywności metaloproteinaz 2 i 9 w wątrobie szczura w doświadczalnym modelu cholestazy z uwzględnieniem czasu jej trwania, wraz z oceną wybranych jej cech

Changes in activity of metalloproteinases 2 and 9 in rat liver in experimental model of cholestasis taking into account its duration and assessment of selected features

Krzysztof Suszyński<sup>1</sup>, Natalia Białoń<sup>1</sup>, Dariusz Górka<sup>1</sup>, Anna Dolińska<sup>1</sup>, Mikołaj Górka<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Medycyny Sportowej i Fizjologii Wysiłku Fizycznego, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Department of Sports Medicine and Physiology of Physical Effort, Faculty of Health Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Centrum Medycyny Doświadczalnej, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Department of Experimental Medicine, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Cholestaza, inaczej zastój żółci, pojawia się wówczas, gdy dochodzi do zablokowania przepływu żółci. Obecnie wyróżnia się dwa rodzaje cholestazy: zewnątrzwątrobową i wewnątrzwątrobową. Do czynników wywołujących cholestazę zalicza się m.in.: alkoholowe i niealkoholowe stłuszczenia wątroby, infekcje, choroby dróg żółciowych, nowotwory dróg żółciowych czy choroby trzustki. Celem przeprowadzonych badań była ocena cech cholestazy i zmian w aktywności metaloproteinaz 2 i 9.

**MATERIAŁ I METODY:** Materiał badawczy stanowiło 36 szczurów samców szczepu Sprague-Dawley o masie ciała 350–420 g. Zwierzęta podzielono na 3 grupy badane i 3 grupy kontrolne, po 6 zwierząt w każdej. W grupach badanych wywołano model cholestazy zewnątrzwątrobowej. Zwierzęta z grup badanych i kontrolnych reoperowano kolejno po upływie 3, 7 i 14 dni. Aktywność wybranych metaloproteinaz określono metodą zymograficzną. Następnie ocenie mikroskopowej poddano preparaty histopatologiczne, oceniając charakterystyczne dla wątroby szczura cechy cholestazy.

**WYNIKI:** Wszystkie grupy poddano analizie statystycznej z użyciem testu Kruskala i Wallisa dla wartości nieparametrycznych. Komputerowa analiza densytometryczna wyników zymografii uzyskanych z pobranego materiału wykazała aktywność MMP-2 i MMP-9. Znamienne statystycznie różnice oznaczono w przypadku MMP-2, stwierdzając jej podwyższoną aktywność w grupach I C, III C (\*p < 0,05) w porównaniu z grupami kontrolnymi. Zaobserwowano tendencję wzrostową.

Received: 28.09.2022

Revised: 28.11.2022

Accepted: 29.12.2022

Published online: 19.07.2023

Adres do korespondencji: mgr Natalia Białoń, Zakład Medycyny Sportowej i Fizjologii Wysiłku Fizycznego, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Medyków 12, 40-752 Katowice, tel. +48 32 208 87 12, e-mail: d201080@365.sum.edu.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



WNIOSKI: Wraz z upływem czasu trwania cholestazy wzrasta aktywność MMP-2. Wyniki analizy histopatologicznej wybranych cech cholestazy wykazały, iż znamienne wyższe oceny uzyskiwały zwierzęta w doświadczalnym modelu cholestazy.

#### SŁOWA KLUCZOWE

MMP-2, MMP-9, cholestaza zewnątrzwątrobową, metaloproteiny macierzy pozakomórkowej

#### ABSTRACT

INTRODUCTION: Cholestasis, otherwise known as bile stasis, occurs when the flow of bile is blocked. There are currently two types of cholestasis: extrahepatic and intrahepatic. The factors causing cholestasis include alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease, infections, biliary tract disease, biliary tract tumours or pancreatic disease. The aim of this study was to assess the features of cholestasis and changes in the activity of metalloproteinases 2 and 9.

MATERIAL AND METHODS: The study material consisted of 36 male rats of the Sprague-Dawley strain weighing 350–420 g. The animals were divided into 3 study groups and 3 control groups, each with 6 animals. An extrahepatic cholestasis model was induced in the study groups. In both groups, the animals were reoperated on consecutively after 3, 7 and 14 days. The activity of the selected metalloproteinases was assessed by zymography. The histopathological preparations were then assessed microscopically, evaluating the characteristic features of cholestasis in rat liver.

RESULTS: All the groups were statistically analysed using the Kruskal-Wallis test for non-parametric values. Computerised densitometric analysis of the zymography results obtained from the collected material showed the presence of MMP-2 and MMP-9 activity. Statistically significant differences were determined for MMP-2, where its activity was found to be elevated in groups I C, III C (\* $p < 0.05$ ) compared to the control groups. An increasing trend was observed.

CONCLUSIONS: MMP-2 activity increases with the duration of cholestasis. The results of the histopathological analysis of selected features of cholestasis showed that significantly higher scores were obtained by the animals in the experimental cholestasis model.

#### KEY WORDS

MMP-2, MMP-9, extrahepatic cholestasis, extracellular matrix metalloproteinases

#### WSTĘP

Cholestaza (*cholestasis*; zastój żółci) określana jest w medycynie jako zaburzenie wynikające z utrudnionego przepływu żółci lub zahamowania jej wydzielania; uczestniczą w niej hepatocyty i cholangiocyty. Patologia ta charakteryzuje się podwyższonym poziomem kwasu żółciowego w wątrobie i w osoczu, prowadząc do uszkodzenia hepatocytów oraz dróg żółciowych. Występuje w różnych okolicznościach klinicznych, prowadząc do ciężkich zaburzeń czynności wątroby. Drogi żółciowe stanowią integralną, anatomiczną i czynnościową część wątroby [1,2]. Do typowych objawów cholestatycznej choroby wątroby należą: przewlekłe zmęczenie, świąd skóry, zaburzenia syntezy enzymów wątrobowych, ból stawów, zespół suchości błon śluzowych, a także niedobory witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, zwłóknienie, marskość czy nowotwory dróg żółciowych bądź wątroby [1,3]. Konsekwencją cholestazy są zaburzenia w procesach krążenia jelitowo-wątrobowego kwasów żółciowych cholanowych i wchłaniania jelitowego, co może doprowadzić do wtórnego uszkodzenia wątroby [1]. Ze względu na miejsce występowania zaburzenia cholestazę dzieli

się na zewnątrzwątrobową oraz wewnątrzwątrobową [4]. W praktyce klinicznej z cholestazą zewnątrzwątrobową spotykamy się wówczas, gdy dochodzi do mechanicznego zablokowania przepływu żółci, np. wskutek niedrożności dróg żółciowych bądź patologicznego wydzielania żółci i jej uwalniania do dwunastnicy przez wątrobę. Najczęściej występuje u pacjentów z nowotworami pola trzustkowo-dwunastniczego (głowy trzustki, brodawki Vatera i dystalnego odcinka dróg żółciowych), kamicą przewodową i jatrogennymi uszkodzeniami dróg żółciowych. Do rzadszych przyczyn cholestazy zewnątrzwątrobowej zalicza się przewlekłe zapalenie trzustki, zespół Mirizziego i wady rozwojowe dróg żółciowych. Z kolei do cholestazy wewnątrzwątrobowej dochodzi w sytuacji, gdy żółć, nie mogąc wydostać się do przewodu pokarmowego, zaczyna się gromadzić w wątrobie lub przewodach żółciowych. Z czasem powoduje to wzrost ciśnienia w drogach żółciowych, co w konsekwencji może wpłynąć nawet na uszkodzenie hepatocytów. Następnie wzrasta stężenie metabolitów i żółci, co prowadzi do ich odkładania się w skórce, powodując świąd. Dodatkowo rozwija się żółtaczka. W wyniku niedoboru żółci w przewodzie pokarmowym dochodzi do nieprawidłowości w trawieniu tłuszczów oraz wchłanianiu witamin



rozpuszczalnych w tłuszczach (A, D, E i K). Wśród przyczyn cholestazy wewnątrzwątrobowej wyróżnia się: zwężenie wewnątrzwątrobowych dróg żółciowych, choroby zakaźne, niedobór alfa-1-antytrypsyny (choroba dziedziczna), stan po zabiegach operacyjnych, nowotwory, przyjmowanie niektórych leków, ciężę (cholestaza ciężarnych) [1,5].

Większość chorych z żółtaczką mechaniczną na tle pozostałych schorzeń wymaga leczenia operacyjnego [6,7]. Liczne wyniki badań wykazujące szereg zmian patologicznych i upośledzenie funkcji wątroby oraz innych narządów w przypadku cholestazy zewnątrzwątrobowej stały się przesłanką do stosowania u chorych z żółtaczką mechaniczną przedoperacyjnych zabiegów drenażowych [8]. Należy do nich endoskopowe protezowanie dróg żółciowych, przezskórny drenaż przezwątrobowy (*percutaneous transhepatic drainage* – PTD) czy drenaż sposobem Kehra. Od kilku lat dostępna jest nowa technika drenażu dróg żółciowych – drenaż w asyście endosonografii (*endoscopic ultrasound-guided biliary drainage* – EUS-BD), który może być korzystną alternatywą dla drenażu przezskórnego [9]. Badania kliniczne wykazały jednak, że mimo normalizacji wyników badań laboratoryjnych u pacjentów z guzami głowy trzustki odsetek powikłań pooperacyjnych po pankreatoduodenektomii poprzedzonej zabiegiem drenażowym nie jest mniejszy niż u pacjentów operowanych z żółtaczką mechaniczną bez drenażu [10,11,12,13,14]. Zakładając, iż przedoperacyjny drenaż dróg żółciowych nie poprawia wyników operacji, pojawia się pytanie, kiedy chorego należy operować – tak szybko, jak to możliwe, czy po upływie pewnego czasu. W literaturze brakuje prac odpowiadających na pytanie, jaki jest wpływ czasu trwania cholestazy na wyniki leczenia operacyjnego. Poznanie zmian aktywności metaloproteinaz w cholestazie zewnątrzwątrobowej może się przyczynić do lepszego zrozumienia jej patofizjologii. Do oznaczeń wybrano metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej 2 oraz 9 (*matrix metalloproteinase 2* – MMP-2, *matrix metalloproteinase 9* – MMP-9), ponieważ ich aktywacja występuje jako odpowiedź na uszkodzenie wątroby. Aktywność metaloproteinaz regulowana jest na trzech poziomach: transkrypcji genów, potranslacyjnej aktywacji zymogenów oraz interakcji wydzielanych MMP ze specyficznymi inhibitorami TIMPs (*tissue inhibitors of metalloproteinases*; tkankowe inhibitory metaloproteinaz). Wybrane dwie żelatynazy stanowią główny składnik przestrzeni Dissego, opisywanej jako wolna przestrzeń pomiędzy mikrokosmkami hepatocytów a śródbłonkiem sinusoidy. Są szczególnie zaangażowane w degradację kolagenu IV i fibronektyny, dlatego też ich zwiększona aktywność może prowadzić do rozwoju przewlekłych, w tym cholestatycznych chorób wątroby.

Analizując przegląd literatury, autorzy podjęli próbę oceny aktywności MMP-2 i MMP-9, ponieważ w prze-

ciwieniu do pozostałych metaloproteinaz jako jedyne spełniają kryteria i stanowią dobry biomarker do oceny stopnia zaawansowania cholestazy.

Model zwierzęcy wiarygodnie odwzorowuje stan fizjologiczny lub patologiczny zachodzący w innym organizmie, umożliwia też stosunkowo łatwe zbadanie procesów biologicznych, takich jak rozwój czy przebieg chorób. Najczęściej stosowanym modelem zwierzęcym w badaniach naukowych są gryzonie, zwłaszcza szczury (*Rattus norvegicus*) i myszy (*Mus musculus*). W doświadczeniu wykorzystano szczury płci męskiej. Samce szczurów charakteryzują się bardziej stabilnym środowiskiem hormonalnym i mniejszymi wahaniami masy ciała.

Wykorzystano szczury zwierzęcy model szczepu Sprague-Dawley, łatwy w prowadzeniu hodowli i o łagodnym usposobieniu. Zastosowanie w badaniach modeli zwierzęcych pozwala symulować warunki cholestazy, a uzyskane wyniki odnieść do organizmu ludzkiego. Model zwierzęcy umożliwia wielokrotne powtarzanie badań i opracowanie metod najmniej inwazyjnych. Po zabiegu zwierzęta wybudzają się i żyją na tyle długo, aby można było ocenić efekty cholestazy i porównać aktywność wybranych metaloproteinaz.

Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej są grupą enzymów proteolitycznych zdolnych do trawienia składników macierzy pozakomórkowej (*extracellular matrix* – ECM) [15]. Główną rolą metaloproteinaz jest degradacja białek ECM, takich jak kolagen, laminina, proteoglikany i fibronektyny. Działanie to ułatwia migrację komórek, powoduje też uwolnienie czynników wzrostu, oddziałujących na komórki [16]. Dodatkowo metaloproteinazy w warunkach fizjologicznych kontrolują embriogenezę, regulują procesy rozwojowe, począwszy od implantacji zarodka w jamie macicy, poprzez rozwój płodu, poród i dalszy rozwój osobniczy. Decydują o prawidłowej migracji komórek, stymulują wzrost komórek nerwowych, biorą udział w budowie tkanki zrębowej wszystkich narządów oraz w angiogenezie. Uczestniczą w procesie tworzenia receptorów komórkowych, a także w wielu procesach immunologicznych [16]. Metaloproteinazy biorą udział w reakcji zapalnej poprzez degradację składników błony podstawnej naczyń, co umożliwia komórkom odpowiedzi zapalnej przedostanie się do uszkodzonych tkanek. Warunkują prawidłowe gojenie się ran i tworzenie blizn poprzez właściwą odnowę tkanki łącznej. Uczestniczą także w regeneracji nerwów obwodowych [17]. Metaloproteinazy 2 i 9 są żelatynazami należącymi do czwartej klasy MMP. Pierwsza z nich, MMP-2 (żelatynaza A), jest białkiem o masie cząsteczkowej 72 kDa, obecnym w większości komórek organizmu, głównie zaś w układzie nerwowym; jej substratami są liczne białka ECM i białka mieliny. Z kolei MMP-9 (żelatynaza B), o masie cząsteczkowej 92 kDa, jest charakterystyczna dla leukocytów, miocytów, śródbłonka na-



czyn, tkanki nerwowej oraz licznych guzów; do jej substratów zalicza się liczne białka ECM (szczególnie kolageny) oraz białka mieliny [16,18].

Zaburzenia przemian ECM leżą u podstaw wielu schorzeń degeneracyjnych, zapalnych oraz nowotworowych. Aktywność metaloproteinaz zauważono także w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Liczne badania dowodzą, że enzymy te uczestniczą w procesach zapalnych, uszkadzając barierę krew–mózg, a także warunkują zwiększenie napływu leukocytów, uwalnianie cytokin czy czynników wzrostowych [16]. Zwiększoną ekspresję MMP obserwuje się w różnych stanach patologicznych, m.in. w chorobach neurodegeneracyjnych: chorobie Alzheimera, chorobie Parkinsona, stwardnieniu zanikowym bocznym, chorobie Huntingtona, stwardnieniu rozsianym, a także w stanach neurozapalnych, takich jak urazowe uszkodzenie mózgu, zapalenie opon mózgowych i udar. Rozwijające się neurozapalenie stymuluje aktywność MMP w barierach OUN, co przyczynia się do wzrostu przepuszczalności bariery.

Metaloproteinazy mogą być także wykorzystywane w monitorowaniu różnych stanów zapalnych. Cechują się podwyższoną aktywnością związaną ze stanami patologicznymi, m.in. w rozwoju chorób reumatycznych, przewlekłych stanach zapalnych, formowaniu guzów czy chorobach układu krążenia. Żelatynazy A i B są podstawowymi metaloproteinazami opisywanymi w remodelingu serca. Mogą więc pełnić istotną funkcję, przyjmując rolę markera w badaniach terapeutycznych, ponieważ MMP-2 jest proponowana jako potencjalny biomarker we wczesnych zmianach chorobotwórczych w obrębie serca. Ponadto może być wykorzystywana jako biomarker późnego włóknienia i ciężkiej przebudowy serca u pacjentów kardiologicznych [19].

W wyniku uszkodzenia mięśnia szkieletowego spowodowanego degradacją ECM dochodzi do uwolnienia z niej różnych czynników wzrostu, które modyfikują tym samym swój wpływ na mioblasty i włókna mięśniowe. Enzymami zaangażowanymi w przekształcanie struktury macierzy poprzez degradację jej składników są MMP [18]. Jak wynika z przeglądu literatury, podstawową funkcją MMP-9 w uszkodzonym mięśniu na etapie miolizy jest degradacja białek ECM oraz ułatwianie proliferacji bądź migracji mioblastów. Zauważono również, że poziom syntezy MMP-9 w uszkodzonej tkance mięśniowej jest związany z rozwojem stanu zapalnego oraz martwicą włóknien. Z kolei synteza MMP-2 wiąże się z przekształceniem środowiska komórkowego, towarzyszącym powstawaniu nowych włóknien w późniejszych etapach regeneracji [20,21,22].

Wyróżnia się tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs) zdolne do ich inaktywacji. Obecnie znane są cztery izoformy TIMPs (TIMP-1, -2, -3, -4), z których każda jest zdolna do blokowania większości metaloproteinaz. Są to cząsteczki o masie 21–28 kDa, stabilizowane sześcioma wiązaniami disiarczkowymi [23].

Nieswoistym inhibitorem wszystkich metaloproteinaz jest produkowana przez wątrobę  $\alpha$ 2-makroglobulina [16,23]. Zaburzenie stosunku MMPs do TIMPs w ścianach naczyń ma znaczenie w procesie ich niszczenia w przebiegu miażdżycy oraz w patomechanizmie tętniaków. Metaloproteinazy odgrywają istotną rolę w patomechanizmie chorób autoimmunologicznych – układowego toczenia trzewnego, reumatoidalnego zapalenia stawów i in. Podwyższoną aktywność MMPs wykazano również w zmienionych zapalnie odcinkach jelita w chorobie Leśniowskiego i Crohna. Metaloproteinazy biorą istotny udział w rozroście nowotworów. Wydzielane są przez komórki nowotworowe, leukocyty oraz komórki podporowe. Wykazano dodatnią korelację między aktywnością MMPs w guzie nowotworowym a jego skłonnością do naciekania i przerzutów. Zależność taką stwierdzono w przypadku glejaków złośliwych, raka piersi, nerki, jelita grubego, prostaty i pęcherza moczowego. Udział MMPs w szerzeniu się komórek nowotworowych polega na uszkadzaniu ścian naczyń i uwalnianiu czynników wzrostowych. Zaburzenia aktywności MMPs i TIMPs wykazano w marskości wątroby zarówno alkoholowej, jak i pozapalnej, a także w hemochromatozie. Nadmierne włóknienie wątroby w przebiegu marskości spowodowane jest prawdopodobnie niedostateczną degradacją kolagenu, wynikającą ze spadku aktywności MMPs i wzrostu aktywności TIMPs [15,24,25].

Badanie metaloproteinaz w płynach ustrojowych i wyciągach tkankowych polega na oznaczeniu ich aktywności i stężenia. Stężenie określa się za pomocą testu immunoenzymatycznego ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Aktywność natomiast ocenia się metodą zymograficzną, która obejmuje zymograficzny rozdział białek z wizualną identyfikacją enzymatycznej aktywności wybranego białka [26]. Zymografia jest metodą prostą, czułą i półilościową. Dla MMP-2 próg wykrywalności wynosi około 10 pg [27,28].

Celem niniejszej pracy były ocena aktywności MMP-2 i MMP-9 w wątrobie szczura w doświadczalnym modelu cholestazy z uwzględnieniem czasu jej trwania oraz analiza histopatologiczna wybranych, charakterystycznych cech cholestazy z zastosowaniem technik mikroskopowych.

## MATERIAŁ I METODY

Opieka nad zwierzętami i postępowanie z materiałem były zgodne z zasadami 3R (*replacement, reduction, and refinement*). Wszystkie doświadczenia przeprowadzone były zgodnie z obowiązującą Ustawą z dnia 21 stycznia 2005 r. o doświadczeniach na zwierzętach, po wcześniejszym uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Katowicach. Materiał badawczy stanowiło 36 szczurów samców szczepu Sprague-Dawley o masie ciała 350–



–420 g. Wszystkie zwierzęta przez cały czas eksperymentu przebywały w klatkach, w temp. 20°C, wilgotności względnej 59–69% oraz cyklu oświetlenia 12/12. Zwierzęta z grup badanych przed zabiegiem umieszczane były po 5 sztuk w jednej klatce, po zabiegu każdy osobnik przebywał osobno. Zwierzęta karmiono paszą standardową do dnia zabiegu włącznie. Po zabiegu przez 24 godz. otrzymywały jedynie wodę, następnie dalej były karmione paszą standardową. Zwierzęta podzielono na 3 grupy badane oraz 3 grupy kontrolne, po 6 zwierząt w każdej.

Zabiegi operacyjne przeprowadzono w znieczuleniu ogólnym ksylazyną i ketaminą podawanymi domięśniowo w dawkach: ksylazyna 10 mg/kg m.c., ketamina 30 mg/kg m.c. U zwierząt z grup badanych wywołano cholestazę zewnątrzwątrobową poprzez podwiązanie i przecięcie przewodu żółciowego wspólnego. Zabieg wykonywano z cięcia pośrodkowego po uprzednim ogoleniu i odkażeniu pola operacyjnego. Przewód żółciowy wspólny podwiązywano dwiema podwiązkami, następnie przecinano go pomiędzy nimi dla zapewnienia całkowitego przerwania ciągłości. U zwierząt z grup kontrolnych wykonano laparotomię i manipulację na przewodzie żółciowym wspólnym, co polegało na odpreparowaniu przewodu od pozostałych struktur więzadła wątrobowo-dwunastniczego, podobnie jak przed założeniem podwiązek.

Zwierzęta z grup badanych i kontrolnych reoperowano po upływie 3 (I grupa), 7 (II grupa) i 14 dni (III grupa). Zabiegi również wykonywano w znieczuleniu ogólnym ksylazyną i ketaminą, podawanymi domięśniowo w takich samych dawkach jak uprzednio. Po odkażeniu pola operacyjnego jamę brzuszną otwierano z cięcia pośrodkowego przez bliźnię. Zwierzęta poddawano eutanazji przez przedawkowanie pentobarbitalu sodu (200 mg/kg m.c. i.p.).

Pobraną tkankę ważono. Jednorazowo waga tkanki wynosiła około 0,8 g. Do pobranej tkanki dodawano roztwór R1 o składzie 0,01 M CaCl<sub>2</sub>, 0,25-proc. Triton X-100. Całość homogenizowano homogenizatorem ultradźwiękowym (Ultrasonic Processor) przez 1 min w temp. 4°C. Uzyskany homogenat wirowano przez 30 min przy 6000 obr./min. Po odwirowaniu otrzymano supernatant T, gdzie znajdowała się frakcja rozpuszczalna w Tritonie, oraz osad nr 1. Osad umieszczano w buforze do ekstrakcji na ciepło o składzie 0,05 M TRIS, pH 7,4, 0,1 M CaCl<sub>2</sub> i worteksowano. Proces ten zachodził przez 15 min w temp. 60°C. Tak zawieszony osad wirowano przez 30 min przy 10 000 obr./min. W ten sposób otrzymano supernatant HE i osad nr 2. Następnie z supernatantu wytrącano białko. Do tego celu użyto 96-proc. alkoholu etylowego schłodzonego do temp. –70°C. Po wytrąceniu próbkę wirowano przez 5 min. w chłodni przy 15 300 xg. Po usunięciu etanolu otrzymywano osad nr 3. Elektroforezę przeprowadzano w żelu poliakrylamidowym za-

wierającym żelatynę w stężeniu 2 mg/ml żelu. Rozdziały elektroforetyczne przygotowywano w pionowych żelach poliakrylamidowych. Stosowano 12,5-proc. żel rozdzielający (12,1875-proc. akrylamid; 0,3125-proc. N,N'Metylenobisakrylamid; 0,225 M TRIS, pH 8,8; 0,1-proc. sodowy siarczan dodecyłu (SDS); 0,04-proc. nadsiarczan amonu (APS); 0,075-proc. N,N,N',N'-metyleno-etyleno-diamine (TEMED)) oraz 5-proc. żel zagęszczający (4,875-proc. akrylamid; 0,125-proc. N,N'Metylenobisakrylamid; 0,0125 M TRIS, pH 6,8; 0,1-proc. SDS; 0,1-proc. APS; 0,2-proc. TEMED); wszystkie odczynniki firmy Sigma-Aldrich. Komorę o wymiarach 140 × 100 × 1,2 mm wypełniano żelem rozdzielającym. Żel nawarstwiano 1 ml mieszaniny alkoholu butylowego i 0,2-proc. roztworem SDS w stosunku 1 : 1 i pozostawiano na 120 min do polimeryzacji. Następnie наносzono żel zagęszczający, który polimeryzował w czasie 15–20 min. Komorę z żelami umieszczano w zestawie do elektroforezy, który wypełniano buforem przewodzącym (3 g Tris; 14,4 g glicyny; 0,1 g SDS na 1 l buforu). Przed nanoszeniem próbek wykonywano tzw. *pre-run*, poddający żel działaniu prądu stałego o natężeniu 10 mA przez 190 min. Próbkę białka mieszano z buforem do nanoszenia (0,02 M TRIS, pH 8,8; 0,002 M EDTA; 5-proc. SDS; 10-proc. 2-merkapto-etanol; 0,2-proc. błękit bromofenolowy) w stosunku 2 : 1. Następnie наносzono do kieszonki w żelu zagęszczającym wyizolowane frakcje w objętości nieprzekraczającej 40 µl. Elektroforezę prowadzono prądem stałym o natężeniu 5 mA do momentu wejścia błękitu bromofenolowego do żelu rozdzielającego, następnie zwiększano natężenie prądu do 10 mA. Elektroforezę kończono, gdy błękit bromofenolowy znajdował się w odległości około 15 mm od końca żelu. Każdorazowo, obok próbek badanych, наносzono na żel mieszaninę białek wzorcowych MMP-2 i MMP-9. Po zakończeniu elektroforezy żełe płukano 2-krotnie po 15 min w 2,5-proc. Tritonie. Następnie umieszczano w buforze do inkubacji w 37°C na 48 godz. Żele barwiono przez 1 godz. w 0,1-proc. Coomassie Brilliant Blue w 40-proc. propan-2-olu.

W celu uwidocznienia wytrawionych z udziałem żelatynaz prążków żełe odbarwiono w mieszaninie metanolu, lodowatego kwasu octowego i wodzie destylowanej. Metaloproteiny z grupy żelatynaz trawią żelatynę znajdującą się w żelu poliakrylamidowym, pozostawiając biały prążek. Odbarwianie prowadzono do momentu pojawienia się maksymalnego kontrastu między białymi prążkami a niebieskim tłem.

Dokumentację prowadzono każdorazowo po zakończeniu elektroforezy. W tym celu żełe suszono i fotografowano. Analizę rozdziałów elektroforetycznych przeprowadzono za pomocą opracowanego w tym celu programu obliczeniowego do oceny masy molowej białek po rozdzielaniu elektroforetycznych w żelach poliakrylamidowych i agarozowych, wykorzystując oprogramowanie.



mowanie NI Vision for LabWindows/CVI ver. 7.1. Masę cząsteczkową białek obliczono na podstawie wzorców mas cząsteczkowych.

Wycinki przeznaczone do oznaczania aktywności i stężeń metaloproteinaz umieszczono w probówkach Eppendorf w temp.  $-70^{\circ}\text{C}$ . Do badania histopatologicznego pobierano wycinki o objętości około  $1\text{ cm}^3$  z płata pośrodkowego wątroby i zalewano formaliną. Ciała zwierząt umieszczano w przeznaczonych do tego celu pojemnikach, przekazywanych następnie do utylizacji przez spalenie.

Dla określenia adekwatnego testu statystycznego dla prób przeprowadzono test normalności pozwalający na sprawdzenie hipotezy, że populacja ma określony typ rozkładu. W przypadkach gdy wyniki testów wskazywały na odchylenia od rozkładu normalnego, stosowano test U Manna i Whitneya oraz nieparametryczną alternatywę analizy wariancji w postaci testu Kruskala i Wallisa. Testy nieparametryczne wykorzystywane są do weryfikacji nieparametrycznych hipotez. Ocenia się różnice między próbami, co sprawdza hipotezę zerową. Jeśli różnice są duże – wymagają odrzucenia hipotezy zerowej. Dla prób niepowiązanych stosowano test U Manna i Whitneya, z kolei dla powiązanych test Wilcoxon, który bada istotność różnicy sumy rang obserwacji w dwóch próbach. Za pomocą testu Kruskala i Wallisa badano, czy pomiędzy kilkoma grupami istnieją różnice statystycznie istotne. Test nie wymaga założeń co do rozkładu normalnego i homogeniczności wariancji. W przypadku zmiennych powiązanych zastosowano test Friedmana z analizą post-hoc Dunn z korektą/poprawką Bonferroniego.

## WYNIKI

Preparaty do badania histopatologicznego zostały przygotowane w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii i Diagnostyki Molekularnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, a ocenione w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wro-

clawiu. W ocenie mikroskopowej preparatów histopatologicznych zastosowano własną półilościową 4-stopniową skalę punktową, opracowaną na potrzeby niniejszego badania. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono skali spełniającej kryteria, które umożliwiłyby wiarygodne odzwierciedlenie wyników. Stworzona przez autorów skala uwzględnia charakterystyczne dla wątroby szczura cechy cholestazy, oznaczone jako: A – ogniska martwicy z rozproszonym naciekim limfocytarnym, B – naciek limfocytarny niezależny od martwicy, C – proliferacja kanalików żółciowych z poszerzeniem światła, D – rozrost tkanki łącznej włóknistej i siateczki, E – zastój żółci w hepatocytach (tab. I).

Cechy A–C i E opisano za pomocą wspomnianej 4-stopniowej skali, oceniającej stopień rozwoju/zaawansowania danej cechy: 0 – brak zmian, 1 – zmiany małego stopnia, lekkie (*light*), 2 – zmiany umiarkowanego stopnia, średnie (*moderate*), 3 – zmiany dużego stopnia (*significant*). Cechę D opisano jako: 0 – brak włóknienia, 1 – włóknienie wrotne, 2 – włóknienie wrotne i okołowrotne oraz z wypustkami, 3 – włóknienie przesłowe i przegrodowe.

Grupy badane i kontrolne zostały opisane w następujący sposób: I C – grupa z cholestazą po upływie 3 dni, I K – grupa kontrolna po upływie 3 dni, II C – grupa z cholestazą po upływie 7 dni, II K – grupa kontrolna po upływie 7 dni, III C – grupa z cholestazą po upływie 14 dni, III K – grupa kontrolna po upływie 14 dni.

Wszystkie dane poddano analizie statystycznej testem Kruskala i Wallisa dla wartości nieparametrycznych. W tabelach II–VII przedstawiono wyniki tej analizy z zaznaczeniem znamienności statystycznej dla wybranych grup.

Komputerowa analiza densytometryczna wyników zy-mografii wykazała aktywności MMP-2 i MMP-9. Znamienne statystycznie różnice oznaczono w przypadku MMP-2, stwierdzając większą jej aktywność w grupach I C, III C (tab. IV i V) w porównaniu z grupami kontrolnymi, przy czym tendencja ta nasilała się wraz z upływem czasu cholestazy. Istotnie znamienne różnice zauważono również pomiędzy grupami I C, II C (tab. II), II C, III C (tab. III) oraz I C, III C (tab. VII).



Tabela I. Wyniki badania histopatologicznego badanych grup z uwzględnieniem stopnia zaawansowania każdej cechy (A–E)  
 Tabela I. Results of histopathological examination of examined groups, taking into account severity of each feature (A–E)

Grupa	Numer preparatu	Stopień zaawansowania cechy																				
		A			B			C			D			E								
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	
I C	1	X				X				X				X				X				
	2	X				X				X				X				X				
	3		X			X				X				X				X				
	4	X				X				X				X				X				
	5			X		X				X				X				X				
	6		X			X				X				X				X				
I K	1	X				X				X				X				X				
	2		X			X				X				X				X				
	3			X		X				X				X				X				
	4	X				X				X				X				X				
	5	X				X				X				X				X				
	6	X				X				X				X		X		X				
II C	1			X		X				X				X				X				
	2		X				X			X				X				X				
	3		X				X			X				X				X				
	4			X			X			X				X				X				
	5		X			X				X					X			X				
	6			X			X				X			X				X				
II K	1	X				X				X				X	X			X				
	2		X			X				X				X				X				
	3	X				X				X				X		X		X				
	4	X				X				X				X				X				
	5		X			X				X				X				X				
	6	X				X				X				X				X				
III C	1		X				X				X			X				X				
	2	X					X	X			X	X		X				X			X	
	3		X				X	X			X	X		X				X		X		
	4		X				X	X			X	X		X	X			X		X		
	5			X			X	X			X	X		X		X		X		X		
	6		X				X				X			X			X		X			
III K	1	X				X				X				X	X			X				
	2	X				X				X				X				X				
	3		X			X				X				X				X				
	4	X				X				X				X				X				
	5	X				X				X				X				X				
	6	X				X				X				X				X				

Tabela II. Wartości średnich i odchylenia standardowego przy porównaniu grup I C i II C  
Table II. Values of means and standard deviation when comparing groups I C and II C

Grupa	Średnia	Odchylenie standardowe
I C	75,00	9,1
II C	60,01	8,1

$p < 0,05$

Tabela III. Wartości średnich i odchylenia standardowego przy porównaniu grup II C i III C  
Table III. Values of means and standard deviation when comparing groups II C and III C

Grupa	Średnia	Odchylenie standardowe
II C	60,01	8,6
III C	96,00	12,4

$p < 0,05$

Tabela IV. Wartości średnich i odchylenia standardowego przy porównaniu grup III C i K  
Table IV. Values of means and standard deviation when comparing groups III C and K

Grupa	Średnia	Odchylenie standardowe
III C	96,00	9,1
K	58,06	8,5

$p < 0,05$

Tabela V. Wartości średnich i odchylenia standardowego przy porównaniu grup I C i K  
Table V. Values of means and standard deviation when comparing groups I C and K

Grupa	Średnia	Odchylenie standardowe
I C	75,00	9,1
K	58,06	8,5

$p < 0,05$

Tabela VI. Wartości średnich i odchylenia standardowego przy porównaniu grup II C i K  
Table VI. Values of means and standard deviation when comparing groups II C and K

Grupa	Średnia	Odchylenie standardowe
II C	60,01	8,1
K	58,06	8,5

$p = 0,7$

Tabela VII. Wartości średnich i odchylenia standardowego przy porównaniu grup I C i III C  
Table VII. Values of means and standard deviation when comparing groups I C and III C

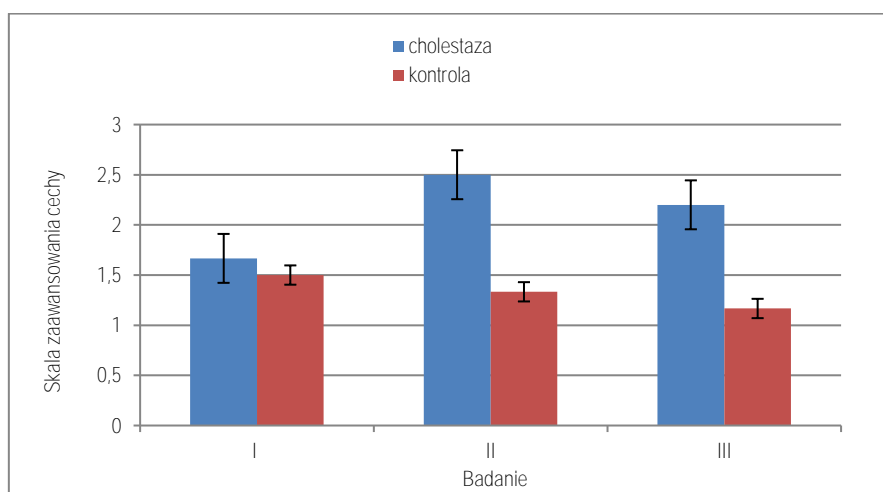
Grupa	Średnia	Odchylenie standardowe
I C	75,00	9,1
III C	96,00	12,4

$p < 0,05$

### Wyniki analizy histopatologicznej

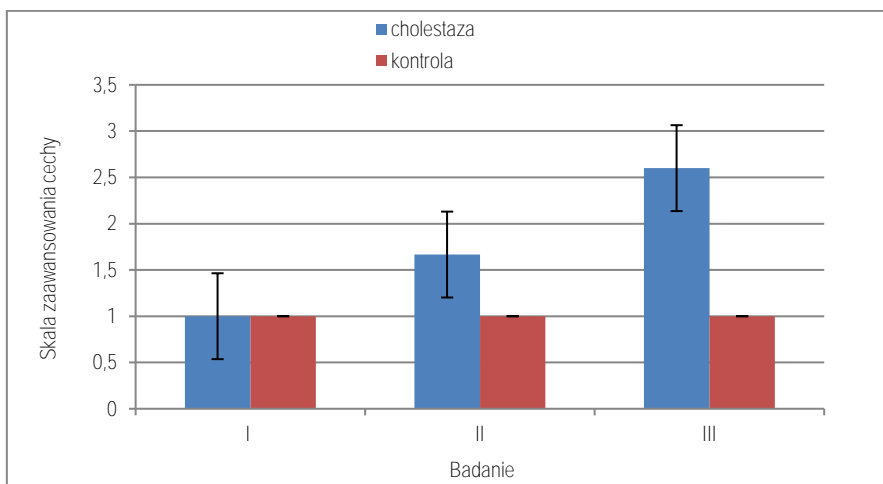
Ryciny 1–5 ilustrują wyniki ocen preparatów histopatologicznych dla wybranych cech cholestazy (oznaczonych jako A–E) w zależności od czasu jej trwania, z zaznaczeniem odchylenia standardowego.

Analizując uzyskane wyniki dla cech A–D, znamienne wyższe oceny w skali uzyskały szczury z grup badanych. Dla cechy A wartość  $p$  wynosi 0,0112, natomiast dla cechy B 0,0005. Uzyskane wyniki w grupie szczurów z cholestazą cechują się istotnością statystyczną. Znamienne wyższe oceny w porównaniu z grupami kontrolnymi uzyskały także cechy cholestazy: C –  $p = 0,004$  oraz D –  $p = 0,0078$ . Cecha E wykazała brak istotnych różnic statystycznych.

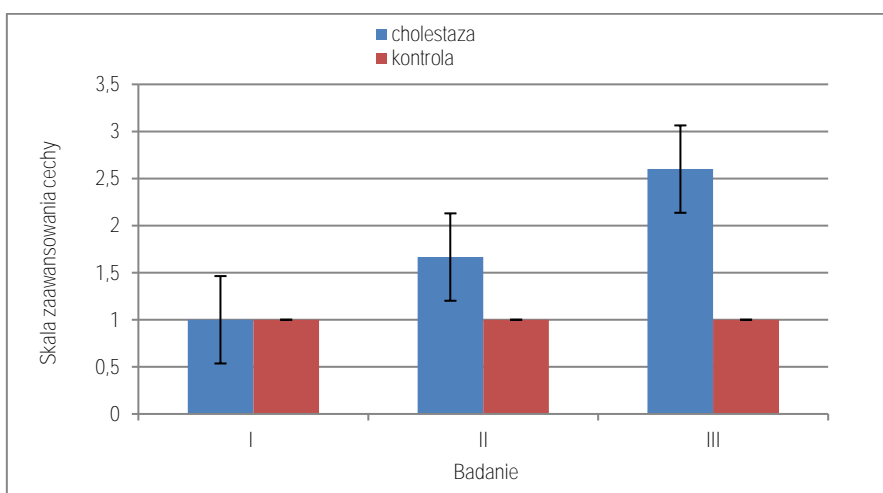


Ryc. 1. Wyniki oceny ognisk martwicy z rozproszonym naciekiem limfocytarnym w kolejnych badaniach (cecha A).  
Fig. 1. Results of assessment of necrotic foci with diffuse lymphocytic infiltration in subsequent examinations (feature A).

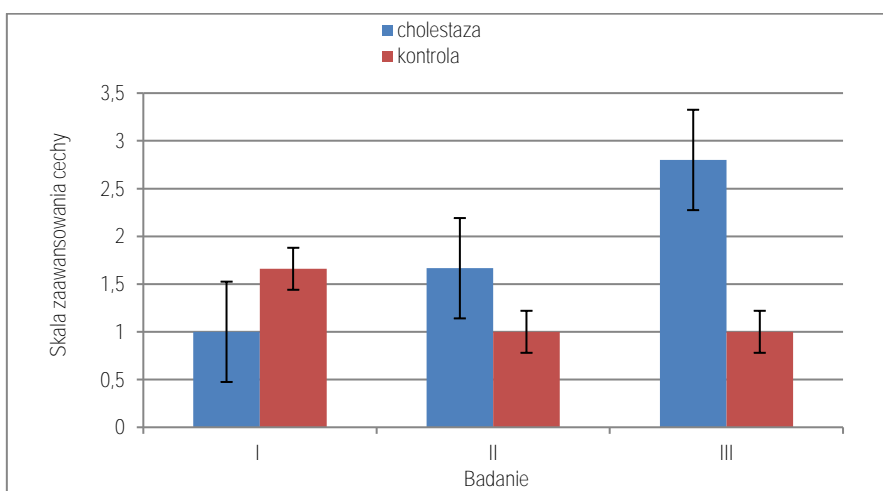




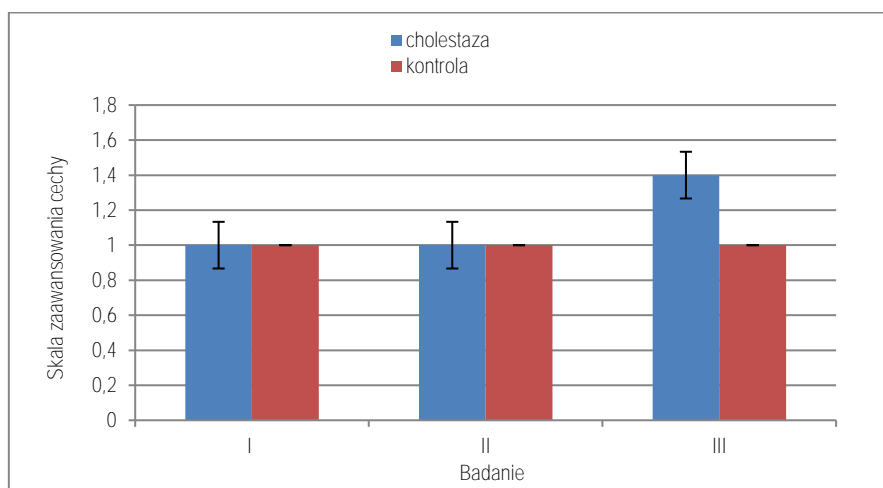
Ryc. 2. Wyniki oceny nacieków limfocytarnych niezależnych od martwicy w kolejnych badaniach (cecha B).  
Fig. 2. Results of assessment of lymphocytic infiltrations independent of necrosis in subsequent examinations (feature B).



Ryc. 3. Wyniki oceny proliferacji kanalików żółciowych z poszerzeniem światła w kolejnych badaniach (cecha C).  
Fig. 3. Results of assessment of bile duct proliferation with dilated lumen in subsequent examinations (feature C).



Ryc. 4. Wyniki oceny rozrostu tkanki łącznej włóknistej i siateczki w kolejnych badaniach (cecha D).  
Fig. 4. Results of assessment of hyperplasia of fibrous connective tissue and reticulum in subsequent examinations (feature D).



Ryc. 5. Wyniki oceny zastoju żółci w hepatocytach w kolejnych badaniach (cecha E).

Fig. 5. Results of assessment of bile stasis in hepatocytes in subsequent examinations (feature E).

## DYSKUSJA

Doświadczenia polegające na wywołaniu cholestazy zewnątrzwątrobowej u zwierząt przez podwiązanie przewodu żółciowego wspólnego w celu badania zaburzeń różnych funkcji wątroby i innych narządów oraz oceny wpływu wybranych substancji na rozwój cholestazy były już wykonywane i opisywane w literaturze. Modele zwierzęce często wykorzystuje się w badaniach naukowych w celu zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw ostrego i przewlekłego uszkodzenia wątroby. Większość tego typu badań została przeprowadzona na szczurach [29,30,31,32].

Jak wynika z przeglądu literatury, istnieją także prace dotyczące oceny stężenia wybranych metaloproteinaz w osoczu pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym [15]. Ocenie poddano również aktywność MMP w chorobach neurodegeneracyjnych OUN [33]. Lucas-Grzelczyk i wsp. [34] wykazali korelację między zwiększoną ekspresją MMP-2 w tkance guza a stanem klinicznym czy występowaniem przerzutów. W literaturze naukowej wciąż jednak niewiele jest doniesień na temat oceny aktywności metaloproteinaz w cholestazie. To temat, który nadal wymaga dokładnego poznania.

Badania Guedesa i wsp. [35] potwierdziły, że w wyniku cholestazy pojawiają się modyfikacje i zmiany w ścianie pęcherzyka żółciowego. Przewody odprowadzające żółć stają się cienkie i sztywne, dochodzi do rozwoju martwicy o charakterze ogniskowym, co przyczynia się do wycieku toksycznych substancji. Wydzielają się hydrofobowe kwasy żółciowe, wywołując uszkodzenia wątroby. W wyniku nagromadzenia soli żółciowych błony hepatocytów zostają uszkodzone, co powoduje wzrost poziomu aminotransferaz w osoczu. Dodatkowo w grupie badanych szczurów, u których wywołano

cholestazę zewnątrzwątrobową poprzez podwiązanie dróg żółciowych, autorzy zaobserwowali także wyższą aktywność MMP-2 w porównaniu z grupą kontrolną. Udowodniono to również w naszym badaniu. We włóknieniu wątroby MMP-2 wykazuje ekspresję w miofibroblastach i może pełnić rolę profibrogenną [36].

Wzrost stężenia MMP-2 może być spowodowany aktywacją komórek gwiaździstych wątroby (*hepatic stellate cells* – HSCs), które w przypadku uszkodzenia wątroby przechodzą z fazy spoczynku do fazy aktywacji. Dlatego też patofizjologia włóknienia wątroby pozostaje w ścisłym związku z procesem aktywacji HSCs [35,37]. Proces ten składa się z dwóch etapów: inicjacji, określanej także fazą przedzapalną, oraz rozwinięcia i podtrzymywania aktywacji, kończącego się fazą rezolucji w okresie, gdy choroba wątroby wygasa [38].

W zdrowej wątrobie homeostaza ECM jest precyzyjnie regulowana stałą przemianą kierowaną przez grupę enzymów MMP oraz ich specyficznych inhibitorów – TIMPs. W razie przewlekłego uszkodzenia tkanki wątrobowej HSCs ulegają aktywacji i różnicują się do fenotypu fibroblastów. W aktywowanych HSCs ekspresja TIMP-1 jest szczególnie podwyższona, co prowadzi do zahamowania aktywności MMP, a następnie nagromadzenia białek macierzy w przestrzeni pozakomórkowej. W zdrowej tkance wątroby istnieje równowaga między TIMP a MMP, które kontrolują usuwanie i składanie ECM. W trakcie fibrogenyzy równowaga ta zostaje zaburzona, co powoduje wzrost ekspresji TIMPs i MMPs z nadmiarem TIMPs i tym samym zahamowaniem degradacji macierzy. Zatem aktywowane HSCs mogą również wpływać na regresję włóknienia poprzez uwalnianie proteaz degradujących ECM [39]. Proces włóknienia wątroby jest związany z zaburzeniem dynamicznej równowagi między syntezą a degradacją prawidłowych białek ECM. Rozwija się w wyniku przewlekłego uszkodzenia wątroby, które może



być wywołane czynnikami toksycznymi, zaburzeniami metabolicznymi lub procesami autoimmunologicznymi [40]. Dodatkowo obserwuje się także typowe cechy histopatologiczne u zwierząt poddanych podwiązaniu dróg żółciowych. W wyniku odkładania się ECM rozwija się przegroda włóknista z obecnością złogów, co indukuje zwłóknienie tkanki [4,35,41]. Obecnie w celu oceny stopnia zwłóknienia wątroby oprócz biopsji wykorzystuje się elastografię – prostą, nieinwazyjną metodę diagnostyczną, stosowaną także u pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi i cholestatycznymi wątroby [42].

W badaniach własnych zaobserwowano m.in. rozrost tkanki łącznej włóknistej i siateczki, istotnie wyższy statystycznie w zwierzęcym modelu cholestazy. Zmiany dotyczyły także innych badanych cech cholestazy, tj. proliferacji kanalików żółciowych, nacieku limfocytarnego niezależnego od martwicy czy rozwoju ogniska martwicy, które w modelu badawczym cechowały się znamiennej wyższą oceną. W praktyce klinicznej cholestatyczne choroby wątroby nadal pozostają głównym problemem dla pediatrów [43,44,45], choć choroby te występują również u kobiet ciężarnych [46,47,48,49,50,51].

Diagnostyka różnicowa cholestazy jest trudna z uwagi na mnogość przyczyn, dlatego niejednokrotnie stanowi wyzwanie diagnostyczno-terapeutyczne. Mimo iż żółtaczka cholestatyczna występuje u niemowląt dosyć rzadko (1 na 2500 żywo urodzonych dzieci), stanowi bardzo ważne zagadnienie w pediatrii z powodu szybko postępujących nieodwracalnych zmian destrukcyjnych w obrębie wątroby i dróg żółciowych. U niemowląt już 1-miesięczny zastój żółci może przyczynić się do żółciowej marskości wątroby. Niezdiagnozowane choroby metaboliczne, mogące być przyczyną cholestazy, prowadzą do niedorozwoju psychoruchowego dzieci; w wielu przypadkach można temu zapobiec, stosując np. odpowiednią dietę eliminacyjną. U pacjentów pediatrycznych w okresie niemowlęcym bardzo trudno różnicować cholestazę wewnątrz- i zewnątrzwątrobową na podstawie nieprawidłowości w badaniach biochemicznych [52].

U dorosłych częstość występowania pierwotnego zapalenia dróg żółciowych (*primary biliary cholangitis* – PBC) wykazuje zróżnicowanie geograficzne, z najwyższą zapadalnością w USA, a najniższą w Australii. W krajach zachodnich zachorowalność na PBC wynosi 0,3–5,8 na 100 000 osób, chorobowość 1,9–40,2 na 100 000 osób, z wyraźną dominacją kobiet w wieku 40–60 lat [1]. Przyczyny prowadzące do rozwoju cholestazy w wieku niemowlęcym obejmują: deficyt cytryny, postępującą rodzinną cholestazę wewnątrzwątrobową typu 4, utratę ekspresji receptora farnesoidowego X, deficyt aktywności kortyzolu bądź rodzinną hipercholanemię [43]. W obowiązującej dotychczas definicji jako przyczynę cholestazy przyjmowano zmniejszoną syntezę i sekrecję żółci do dwunastnicy. Definicja wymaga jednak modyfikacji, ponieważ w patogenezie cholestazy coraz częściej podkreśla się rolę zaburzonego metabolizmu bądź transportu kwasów żółciowych w obrębie hepatocytów [43].

Warto podkreślić, że nie brano pod uwagę symulacji cholestazy u pacjentów pediatrycznych. Jeśli zabieg wykonywano by na szczurach, których waga byłaby odzwierciedleniem wagi noworodka, mogłoby dojść do większej śmiertelności szczurów i problemu z ich wybudzeniem ze względu na niską wagę.

Poznanie aktywności wybranych enzymów oraz wiedza na temat rozwoju zmian histopatologicznych w obrębie badanych tkanek pozwalają na dobór odpowiedniego postępowania terapeutycznego u pacjentów z ciężkimi zaburzeniami czynności wątroby, co może stanowić obiecującą perspektywę leczenia.

## WNIOSKI

1. Wraz z upływem czasu cholestazy wzrasta aktywność MMP-2.
2. Rozrost tkanki łącznej włóknistej i siateczki jest istotnie wyższy statystycznie u zwierząt w doświadczalnym modelu cholestazy w porównaniu z grupami kontrolnymi.

---

### Author's contribution

Study design – K. Suszyński, D. Górka

Data collection – K. Suszyński, D. Górka

Data interpretation – K. Suszyński, N. Białoń

Statistical analysis – K. Suszyński, D. Górka, A. Dolińska

Manuscript preparation – N. Białoń, M. Górka

Literature research – M. Górka, A. Dolińska

---

## PIŚMIENNICTWO

1. Hartleb M., Krawczyk M., Wunsch E., Raszeja-Wyszomirska J., Cichoż-Lach H., Żoński M. i wsp. Choroby cholestatyczne u dorosłych – wytyczne postępowania Sekcji Hepatologicznej Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii (PTG-E). *Gastroenterol. Prakt.* 2018; 2: 5–32.
2. Li M., Cai S.Y., Boyer J.L. Mechanisms of bile acid mediated inflammation in the liver. *Mol. Aspects Med.* 2017; 56: 45–53, doi: 10.1016/j.mam.2017.06.001.
3. Pollock G., Minuk G.Y. Diagnostic considerations for cholestatic liver disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 32(7): 1303–1309, doi: 10.1111/jgh.13738.
4. Shah R., John S. Cholestatic Jaundice. *StatPearls [Internet]*, 2021 Jul 19. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
5. Romański K. Cholestaza u człowieka i zwierząt: występowanie, przyczyny, mechanizmy. *Życie Wet.* 2010; 85(1): 56–59.
6. Kozicki I. Chirurgia dróg żółciowych. Postępy w chirurgii w 2011 roku. *Med. Prakt. Chir.* 2012; 2: 19–25.
7. Mortelé K.J., Wiesner W., Cantisani V., Silverman S.G., Ros P.R. Usual and unusual causes of extrahepatic cholestasis: assessment with magnetic resonance cholangiography and fast MRI. *Abdom. Imaging* 2004; 29(1): 87–99, doi: 10.1007/s00261-003-0062-6.
8. Padillo J., Puente J., Gómez M., Dios F., Naranjo A., Vallejo J.A. i wsp. Improved cardiac function in patients with obstructive jaundice after internal biliary drainage: hemodynamic and hormonal assessment. *Ann. Surg.* 2001; 234(5): 652–656, doi: 10.1097/0000658-200111000-00010.
9. Krupa Ł., Staroń R., Gutkowski K. Drenaż dróg żółciowych w asyście endosonografii – review. *Gastroenterol. Klin.* 2019; 11(1): 29–32.
10. Chu J., He S., Ke Y., Liu X., Wang P., Zhang W. i wsp. The effect of preoperative biliary drainage with or without pancreatic stenting on complications after pancreatoduodenectomy: a retrospective cohort study. *Biomed Res. Int.* 2021; 2021: 5572395, doi: 10.1155/2021/5572395.
11. Duan F., Cui L., Bai Y., Li X., Yan J., Liu X. Comparison of efficacy and complications of endoscopic and percutaneous biliary drainage in malignant obstructive jaundice: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Imaging* 2017; 17(1): 27, doi: 10.1186/s40644-017-0129-1.
12. Pisters P.W., Hudec W.A., Hess K.R., Lee J.E., Vauthey J.N., Lahoti S. i wsp. Effect of preoperative biliary decompression on pancreatoduodenectomy-associated morbidity in 300 consecutive patients. *Ann. Surg.* 2001; 234(1): 47–55, doi: 10.1097/0000658-200107000-00008.
13. Srivastava S., Sikora S.S., Kumar A., Saxena R., Kapoor V.K. Outcome following pancreatoduodenectomy in patients undergoing preoperative biliary drainage. *Dig. Surg.* 2001; 18(5): 381–387, doi: 10.1159/000050178.
14. Sugara M., Peruvaje V., Krishnamurthy S., Kumar K.V.V., Chowdappa R. Effect of preoperative biliary stenting on outcomes of pancreatoduodenectomy. *Indian J. Surg. Oncol.* 2021; 12(3): 554–560, doi: 10.1007/s13193-021-01387-5.
15. Baszczuk A., Koczyński Z., Thielemann A., Musiałik K., Koczyński J., Bielawska L. i wsp. Ocena stężenia metaloproteiny 2 (MMP-2) i metaloproteiny 9 (MMP-9) w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze. *Forum Zab. Metab.* 2015; 6(2): 74–84.
16. Wysocka A., Giziński S., Lechowski R. Metaloproteiny macierzy – ich struktura oraz znaczenie. *Życie Wet.* 2014; 89(3): 223–227.
17. Woszczycka-Korczyńska I., Górka D., Matuszek I., Pietrucha-Dutczak M., Lewin-Kowalik J. Aktywność metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9) w odcinkach dystalnych przeciętych nerwów kulszowych dorosłych szczurów. *Wiad. Lek.* 2005; 58: 411–414.
18. Trojanek J. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej i ich tkankowe inhibitory. *Post. Bioch.* 2012; 58(3): 353–362.
19. Medeiros N.I., Gomes J.A.S., Fiuza J.A., Sousa G.R., Almeida E.F., Novaes R.O. i wsp. MMP-2 and MMP-9 plasma levels are potential biomarkers for indeterminate and cardiac clinical forms progression in chronic Chagas disease. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 14170, doi: 10.1038/s41598-019-50791-z.
20. Kherif S., Lafuma C., Dehaupas M., Lachkar S., Fournier J.G., Verdière-Sahuqué M. i wsp. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in regenerating skeletal muscle: a study in experimentally injured and mdx muscles. *Dev. Biol.* 1999; 205(1): 158–170, doi: 10.1006/dbio.1998.9107.
21. Zimowska M., Brzoska E., Swierczyńska M., Stremińska W., Moraczewski J. Distinct patterns of MMP-9 and MMP-2 activity in slow and fast twitch skeletal muscle regeneration in vivo. *Int. J. Dev. Biol.* 2008; 52(2–3): 307–314, doi: 10.1387/jdb.072331mz.
22. Frisdal E., Teiger E., Lefaucheur J.P., Adnot S., Planus E., Lafuma C., D'Ortho M.P. Increased expression of gelatinases and alteration of basement membrane in rat soleus muscle following femoral artery ligation. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2000; 26(1): 11–21, doi: 10.1046/j.1365-2990.2000.00210.x.
23. Jung P., Zimowska M. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej w rozwoju, fizjologii i procesach degeneracyjnych mięśni szkieletowych. *Post. Bioch.* 2016; 62(1): 25–35.
24. Karowicz-Bilińska A., Kowalska-Koprek U., Estemberg D., Sikora-Szuberbert A. Ocena stężeń tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 w III trymestrze ciąży. *Ginekol. Pol.* 2015; 86: 737–741, doi: 10.17772/gp/59364.
25. Śliwowska I., Koczyński Z. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej – charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartości oznaczania u chorych na raka piersi. *Współcz. Onkol.* 2005; 9(8): 327–335.
26. Bogusiewicz M., Stryjecka-Zimmer M., Rechberger T. Aktywność metaloproteaz macierzy -2 i -9 (MMP-2 i MMP-9) oraz zawartość ich tkankowych inhibitorów w raku błony śluzowej macicy – doniesienie wstępne. *Ginekol. Pol.* 2007; 78: 366–372.
27. Pietrzak J., Wodziński D., Franiak-Pietryga I., Mirowski M. Charakterystyka elektroforetyczna aktywności metaloproteiny surowicy pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową – badania wstępne. *Folia Med. Lodz.* 2015; 42(1): 49–62.
28. Chen S., Meng F., Chen Z., Tomlinson B.N., Wesley J.M., Sun G.Y. i wsp. Two-dimensional zymography differentiates gelatinase isozymes in stimulated microglial cells and in brain tissues of acute brain injuries. *PLoS One* 2015; 10(4): e0123852, doi: 10.1371/journal.pone.0123852.
29. Xu F., Liu X., Wang C., Dai C. Prostaglandin E1 preconditioning attenuates liver ischemia reperfusion injury in a rat model of extrahepatic cholestasis. *Biomed Res. Int.* 2018; 2018: 3812424, doi: 10.1155/2018/3812424.
30. Lin S.Y., Wang Y.Y., Chen W.Y., Liao S.L., Chou S.T., Yang C.P. i wsp. Hepatoprotective activities of rosmarinic acid against extrahepatic cholestasis in rats. *Food Chem. Toxicol.* 2017; 108(Pt A): 214–223, doi: 10.1016/j.fct.2017.08.005.
31. Bebiashvili I.S., Kakabadze M.S., Gvidiani S.M., Tsomaia K.B., Gusev S.A., Kordzaia D.J. Features of ductular reaction in rats with extrahepatic cholestasis. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022; 172(6): 770–774, doi: 10.1007/s10517-022-05475-6.
32. Zhang Z., Miao Y., Xu M., Cheng W., Yang C., She X. i wsp. TianJiu therapy for  $\alpha$ -naphthyl isothiocyanate-induced intrahepatic cholestasis in rats treated with fresh *Ranunculus sceleratus* L. *J. Ethnopharmacol.* 2020; 248: 112310, doi: 10.1016/j.jep.2019.112310.
33. Tylec A., Skalecki M., Kocot J., Kurzepa J. Aktywność wybranych metaloproteinaz w chorobach neurodegeneracyjnych ośrodkowego układu nerwowego na przykładzie otępienia i schizofrenii. *Psychiatr. Pol.* 2021; 55(6): 1221–1233, doi: 10.12740/PP/126662.
34. Lucas-Grzelczyk W., Szemraj J., Józefowicz-Korczyńska M. Metaloproteiny w raku krtni. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2016; 70: 1190–1197.
35. Guedes P.L., Castañón M.C., Nagaoka M.R., Aguiar J.A. Increase of glycosaminoglycans and metalloproteinases 2 and 9 in liver extracellular matrix on early stages of extrahepatic cholestasis. *Arq. Gastroenterol.* 2014; 51(4): 309–315, doi: 10.1590/S0004-28032014000400008.
36. Préaux A.M., Mallat A., Nhieu J.T., D'Ortho M.P., Hembry R.M., Mavier P. Matrix metalloproteinase-2 activation in human hepatic fibrosis regulation by cell-matrix interactions. *Hepatology* 1999; 30(4): 944–950, doi: 10.1002/hep.510300432.
37. Liu R., Li X., Zhu W., Wang Y., Zhao D., Wang X. i wsp. Cholangiocyte-derived exosomal long noncoding RNA H19 promotes hepatic stellate cell activation and cholestatic liver fibrosis. *Hepatology* 2019; 70(4): 1317–1335, doi: 10.1002/hep.30662.
38. Cichoż-Lach H., Prozorow-Król B., Buk L., Swatek J., Celiński K., Słomka M. i wsp. Diagnostyka zmian ogniskowych wątroby – badania obrazowe czy biopsja? Doświadczenia własne. *Post. Nauk Med.* 2010; 1: 15–20.
39. Roeb E. Matrix metalloproteinases and liver fibrosis (translational aspects). *Matrix Biol.* 2018; 68–69: 463–473, doi: 10.1016/j.matbio.2017.12.012.
40. Yoshino K., Taura K., Iwasako K., Masano Y., Uemoto Y., Kimura Y. i wsp. Novel mouse model for cholestasis-induced liver fibrosis resolution by cholecystojejunostomy. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2021; 36(9): 2493–2500, doi: 10.1111/jgh.15406.
41. Gabriel A., Radłowski P., Kukla M. Odwracalność włóknienia u chorych na przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C. Cechy morfologiczne i ich ewolucja. *Hepatologia* 2017; 17: 72–78.
42. Milkiewicz P. Elastografia wątroby w codziennej praktyce klinicznej. *Gastroenterol. Klin.* 2017; 9(1): 1–6.
43. Lipiński P., Jankowska I. Co nowego w cholestazie – część I. Cholestaza z prawidłową aktywnością gamma-glutamylotranspeptydazy. *Pediatr. Pol.* 2017; 92(4): 366–372.








44. Feldman A.G., Sokol R.J. Recent developments in diagnostics and treatment of neonatal cholestasis. *Semin. Pediatr. Surg.* 2020; 29(4): 150945, doi: 10.1016/j.sempedsurg.2020.150945.
45. Feldman A.G., Sokol R.J. Neonatal cholestasis: updates on diagnostics, therapeutics, and prevention. *Neoreviews* 2021; 22(12): e819–e836, doi: 10.1542/neo.22-12-e819.
46. Zhang M., Xu M. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates intrahepatic cholestasis of pregnancy by inhibiting matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2017; 31(5): 526–533, doi: 10.1111/fcp.12294.
47. Chen Z., Shen Z., Hu L., Lu M., Feng Y. Identification of matrix metalloproteinase-2 and 9 as biomarker of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Ann. Hepatol.* 2017; 16(2): 291–296, doi: 10.5604/16652681.1231589.
48. Lipiński P., Jankowska I. Postępująca rodzinna cholestaza wewnątrzrotnowa typu 3. *Dev. Period. Med.* 2018; 22(4): 385–389, doi: 10.34763/devperiodmed.20182204.385389.
49. Karowicz-Bilińska A. Cholestaza wewnątrzrotnowa w ciąży. *Gin. Perinat. Prakt.* 2019; 4(1): 16–22.
50. Wang X., Khalil R.A. Matrix metalloproteinases, vascular remodeling, and vascular disease. *Adv. Pharmacol.* 2018; 81: 241–330, doi: 10.1016/bs.apha.2017.08.002.
51. Lee M.H., Shin H.J., Yoon H., Han S.J., Koh H., Lee M.J. Periportal thickening on magnetic resonance imaging for hepatic fibrosis in infantile cholestasis. *World J. Gastroenterol.* 2020; 26(21): 2821–2830, doi: 10.3748/wjg.v26.i21.2821.
52. Hozyasz K., Rowicka G. Cholestazy u dzieci. *Patofizjologia, diagnostyka i leczenie. Med. Rodz.* 1999; 4: 22–27.



## Manifestacje okulistyczne w zespole Sjögrena – czy nieszczęścia chodzą parami? Opis przypadku

### Ocular manifestations in Sjögren's syndrome – it never rains but it pours? Case report

Anna M. Hitnarowicz<sup>1</sup> , Aleksandra Janocha<sup>1</sup> , Zuzanna Wielgos<sup>1</sup> , Monika Sarnat-Kucharczyk<sup>2,3</sup> ,  
Dorota Pojda-Wilczek<sup>2,3</sup> 

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Okulistyki Katedry Okulistyki, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup>Klinika Okulistyki, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>3</sup>Oddział Okulistyki Dorosłych, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne im. prof. K. Gibińskiego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

#### STRESZCZENIE

Zespół Sjögrena (*Sjögren's syndrome* – SS) jest przewlekłą, autoimmunologiczną chorobą układową o charakterze zapalnym. Występują w nim limfocytarne nacieki zapalne w gruczołach wydzielania zewnętrznego, co prowadzi do ich znacznej dysfunkcji i zniszczenia. Stan chorobowy najczęściej obejmuje gruczoły łzowe i ślinianki, co powoduje suchość oczu i suchość w jamie ustnej. W pracy opisano przypadek 64-letniej kobiety, która od 6 lat odczuwała dyskomfort w prawym oku. Okulista rozpoznał zaćmę początkową obu oczu, owrzodzenie rogówki oka prawego i podwinięcie powieki dolnej prawej wymagające interwencji chirurgicznej. Pomimo udanego zabiegu rzęsy zaczęły nieprawidłowo odrastać i podrażniać rogówkę. W krótkim czasie problem nieprawidłowo rosnących rzęs objął również powieki lewego oka. Rzęsy powiek obu oczu wielokrotnie usuwano mechanicznie. Na podstawie objawów, dodatniego wyniku testu Schirmera oraz obecności przeciwciał SS-A rozpoznano SS. W kolejnych latach w obu oczach pacjentki rozwinęły się keratopatia wraz z ubytkami nabłonka rogówki, zaawansowana zaćma, podwinięcie górnych powiek oraz związany z tym nieprawidłowy wzrost rzęs. Stany te wymagały intensywnego leczenia farmakologicznego oraz chirurgicznego, w tym naszczenia błony owodniowej na powierzchni oka prawego, plastyki powiek, zamknięcia punktów łzowych i operacji zaćmy. Pomimo leczenia u pacjentki występują obecnie liczne zrosty spojówkowe oraz unaczynione bielmo rogówki prawego oka. Oprócz objawów ocznych pacjentka wykazuje objawy ze strony innych narządów.

#### SŁOWA KLUCZOWE

zespół Sjögrena, manifestacje okulistyczne, objawy ogólne, zespół suchego oka, zaćma, przewlekła obturacyjna choroba płuc, choroba refluksowa przełyku

Received: 29.04.2022

Revised: 06.05.2022

Accepted: 21.01.2023

Published online: 21.07.2023

Adres do korespondencji: Anna M. Hitnarowicz, Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Okulistyki Katedry Okulistyki, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Ceglana 35, 40-514 Katowice, tel. +48 32 358 12 27, e-mail: hitwicz98@wp.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



## ABSTRACT

Sjögren's syndrome (SS) is a chronic, systemic, autoimmune inflammatory disease. It is characterized by inflammatory lymphocytic infiltration of exocrine glands, leading to their significant dysfunction and destruction. Lacrimal and salivary glands are commonly affected, causing dryness of the eyes and mouth. The subject of the study is a case report of a 64-year-old woman who had been suffering from discomfort in her right eye for 6 years. Early stage cataract in both eyes, corneal ulceration of the right eye, and a right lower eyelid entropion requiring surgical intervention, were diagnosed at that time. Despite successful treatment, the eyelashes began to grow improperly again and irritated the cornea. Subsequently, the problem of trichiasis also affected the eyelid of the left eye. The eyelashes of both eyes were removed mechanically many times. Sjögren's syndrome was diagnosed on the basis of the symptoms, a positive Schirmer test and the presence of SS-A antibodies. In the following years, the patient developed keratopathy with corneal epithelial defects, advanced stage cataract, and upper eyelid entropion with associated trichiasis in both eyes. These conditions required both intensive pharmacological and surgical treatment, including an amniotic membrane transplant onto the surface of the right eye, blepharoplasty, lacrimal puncta closure and cataract surgery. Despite the treatment, the patient currently has numerous conjunctival adhesions and vascularized corneal leucoma of the right eye. In addition to the ocular symptoms, the patient has presented other systemic signs.

## KEY WORDS

Sjögren's syndrome, ocular manifestations, systemic manifestations, dry eye syndrome, cataract, chronic obstructive pulmonary disease, gastroesophageal reflux disease

## WPROWADZENIE

Zespół Sjögrena (*Sjögren's syndrome* – SS) to autoimmunologiczna choroba układowa o charakterze zapalnym i przewlekłym przebiegu. Charakteryzuje się limfocytarnymi naciekami zapalnymi w gruczołach wydzielania zewnętrznego – najczęściej w śliniankach i gruczołach łzowych – prowadzącymi do zniszczenia i znacznej dysfunkcji tych gruczołów. Objawy podmiotowe, będące następstwem wspomnianych procesów, to suchość w jamie ustnej wynikająca z braku śliny oraz szereg objawów okulistycznych. Ponieważ suchość jamy ustnej i suchość oczu to dwa najważniejsze objawy, SS nazywany jest inaczej zespołem suchości [1,2].

Pod względem częstości występowania SS zajmuje drugie miejsce wśród autoimmunologicznych chorób reumatycznych [1]. Występuje u 2–3% dorosłej populacji [3], w USA choruje na nią 4 mln Amerykanów [4]. Najbardziej rozpowszechniona jest jednak w Europie [5]. Uważa się, że ze względu na heterogeny i niespecyficzny charakter pierwotnych objawów SS jest to zjawisko niedoszacowane i nierozpoznawane nawet w połowie przypadków [6].

Schorzenie znacznie częściej dotyka kobiet niż mężczyzn, stosunek wynosi 9 : 1. Zespół suchości może wystąpić w każdym wieku, jednak najwięcej zachorowań obserwuje się u osób między 30 a 55 rokiem życia [2,7]. Objawy choroby ujawniające się najwcześniej i występujące u zdecydowanej większości pacjentów mają związek ze stanem zapalnym gruczołów zewnątrzwydzielniczych. Objawy podmiotowe związane z niedoczynnością ślinianek to suchość w jamie ustnej,

trudności w połykaniu pokarmu, konieczność kilkukrotnego budzenia się w nocy w celu wypicia łyku wody czy trudności w mowie. W badaniu przedmiotowym błony śluzowe są suche i zaczerwienione, ślinianki mogą być powiększone. Często rozwija się próchnica zębów w nietypowych dla tego schorzenia miejscach [2].

Objawy towarzyszące zmianom w gruczołach łzowych to dyskomfort, pieczenie, uczucie ciała obcego w oku – często opisywane jako piasek pod powiekami – zaczerwienienie z widocznym poszerzeniem naczyń spojówkowych gałki ocznej, a także nadwrażliwość na światło. Rozwija się suchy stan zapalny rogówki i spojówki z erozjami oraz owrzodzeniami rogówki [1,2]. Objawy suchości mogą obejmować również nos, górną część gardła oraz układ oddechowy, a są nimi przewlekła chrypka oraz kaszel. U kobiet występuje też suchość pochwy.

U 50–60% pacjentów SS ze względu na układowy charakter dotyka również innych narządów, takich jak stawy, płuca, nerki czy skóra. Dodatkowo istnieje zwiększone ryzyko wystąpienia chłoniaka; częstość jego występowania szacuje się na 5–10% [2,7,8]. Zespół Sjögrena często współistnieje z innymi chorobami układowymi, takimi jak reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układowy czy twardzina układowa. Określa się go wtedy jako wtórny SS [9].

Zespół suchości, niezależnie od intensywności leczenia, może prowadzić do niezwykle ciężkich powikłań okulistycznych, których konsekwencje często nie są utożsamiane z występowaniem tej choroby, w związku z tym bywają bagatelizowane przez klinicystów [4,6,10,11].



## OPIS PRZYPADKU

Pacjentka, 64-letnia, zgłosiła się do okulisty z powodu bólu i zaczerwienienia prawego oka. Została przyjęta na oddział okulistyki, gdzie rozpoznano podwinięcie powieki dolnej prawej, owrzodzenie rogówki prawego oka oraz zaćmę początkową obu oczu. Zastosowano leczenie zachowawcze. Miejscowo do prawego oka podano antybiotyki, atropinę i deksantanol oraz poleceno zastosowanie soczewki opatrunkowej nagałkowej. Zarówno przy przyjęciu, jak i przy wypisie oraz podczas kolejnych hospitalizacji ciśnienie wewnątrzgałkowe obu oczu wynosiło 16–19 mm Hg.

Miesiąc później wykonano plastykę powieki dolnej prawej, jednak po zabiegu oko nadal pozostawało zaczerwienione i bolesne.

Pacjentka miała wielokrotnie usuwane rzęsy, które nieprawidłowo rosnąc, drażniły rogówkę i powodowały znaczny dyskomfort. Objawy te zaniepokoiły okulistów. Pacjentka została skierowana na oddział reumatologiczny, gdzie wykryto obecność przeciwciał przeciwjądrowych SS-A w surowicy krwi. Wykonano także test Schirmera – wydzielanie łez w obu oczach wynosiło 0 mm w ciągu 5 minut. Suma punktów uzyskanych przez pacjentkę na podstawie kryteriów klasyfikacyjnych wg American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) z 2016 r. [12] wyniosła 4, co dało podstawę do rozpoznania SS.

Pacjentka została skierowana na oddział dermatologii z podejrzeniem pemfigoidu bliznowaciejącego. Badania immunofluorescencji bezpośredniej (*direct immunofluorescence* – DIF) oraz pośredniej (*indirect*

*immunofluorescence* – IIF) wycinka skóry okazały się ujemne i diagnozę odrzucono. Po około dwóch latach od pojawienia się pierwszych objawów u pacjentki ostatecznie rozpoznano SS. Chorobie towarzyszyło zapalenie stawów i bóle mięśni. Wdrożono leczenie farmakologiczne metotreksatem, kwasem foliowym i metyloprednizolonem.

W listopadzie 2016 r. pacjentka po raz pierwszy została przyjęta na oddział okulistyki Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego im. prof. K. Gibińskiego SUM w Katowicach w celu pobrania wycinków ze spojówki powieki górnej i dolnej prawego oka oraz dalszego leczenia. Badanie histopatologiczne wykazało przewlekły proces zapalny.

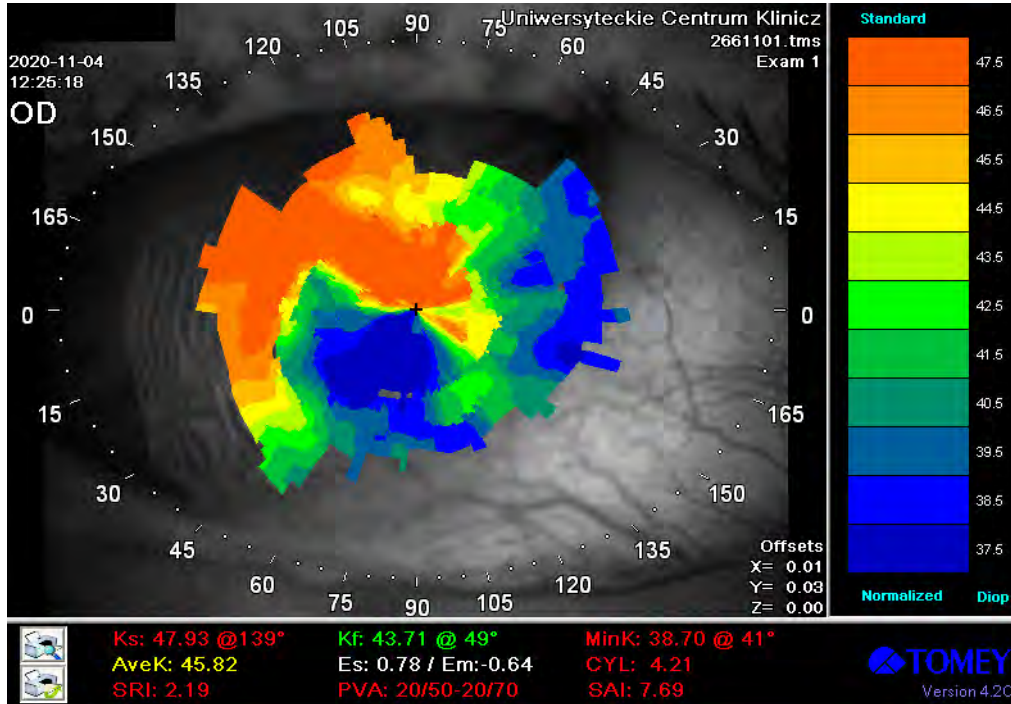
W kolejnych latach u pacjentki wykonano następujące zabiegi prawego oka: fakoemulsyfikację zaćmy ze wszczepem sztucznej soczewki wewnątrzgałkowej, zamknięcie punktów łzowych, nasycenie błony owodniowej, plastykę górnej powieki. Następnie u pacjentki przeprowadzono zabiegi na lewym oku: fakoemulsyfikację zaćmy ze wszczepem sztucznej soczewki wewnątrzgałkowej, zamknięcie punktów łzowych oraz plastykę podwiniętego brzegu górnej powieki. W związku z dalszym podrażnieniem rogówki przez nieprawidłowo rosnące rzęsy u pacjentki wykonano plastykę brzegu powieki górnej lewej z krioaplikacją cebulek rzęsowych. Leki stosowane u pacjentki zostały wymienione w tabeli I (dane na czas przesłania artykułu do redakcji).

Zaawansowane zaburzenia powierzchni oka mają odzwierciedlenie również na mapie rogówki (ryc. 1 i 2). Na rycinie 3 uwidoczono keratopatię prawego oka w postaci unaczynionego bielma rogówki.

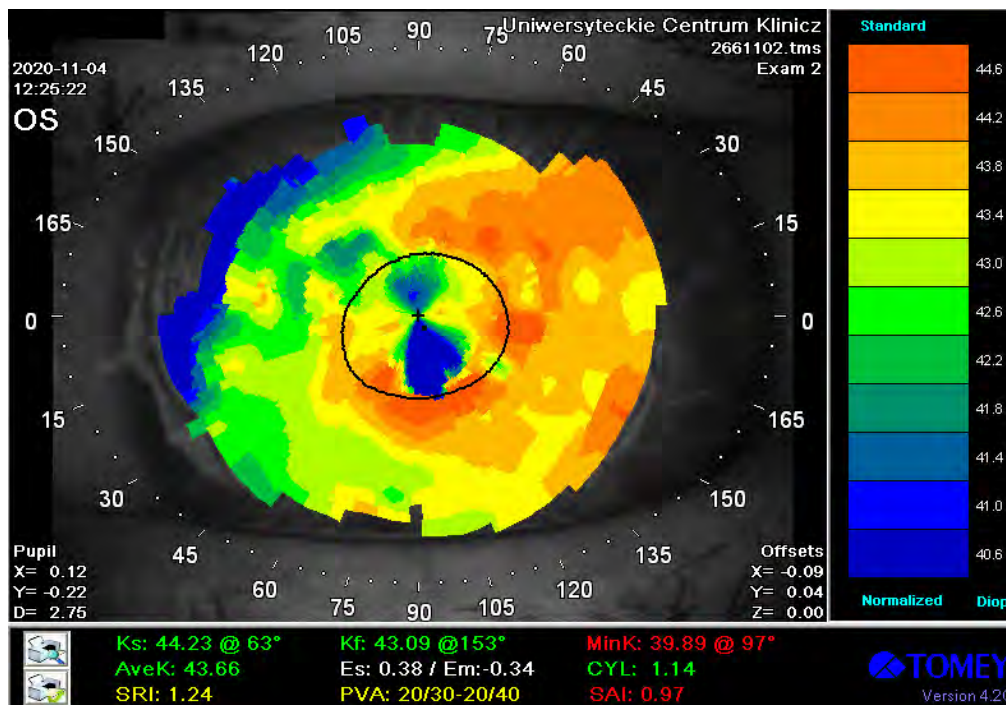
Tabela I. Leki stosowane u pacjentki  
Tabela I. Medications used by patient

Leki stosowane <b>ogólnie</b>	Leki stosowane miejscowo (do obu oczu)
metotreksat 25 mg/tydzień	kwas hialuronowy + trehaloza (Thealoz Duo) do 15 razy/dzień
metyloprednizolon (Metypred) 4 mg/dzień	Xilidra – krople do oczu, 2–3 razy/dzień
kwas foliowy 15 mg/tydzień	
witamina D 1000 j./dzień	
beklometazon + formoterol + glikopironium	
Trimbow – wziewnie, 2 inhalacje 2 razy/dzień	
bisoprolol (Bisocard) 2,5 mg/dzień	

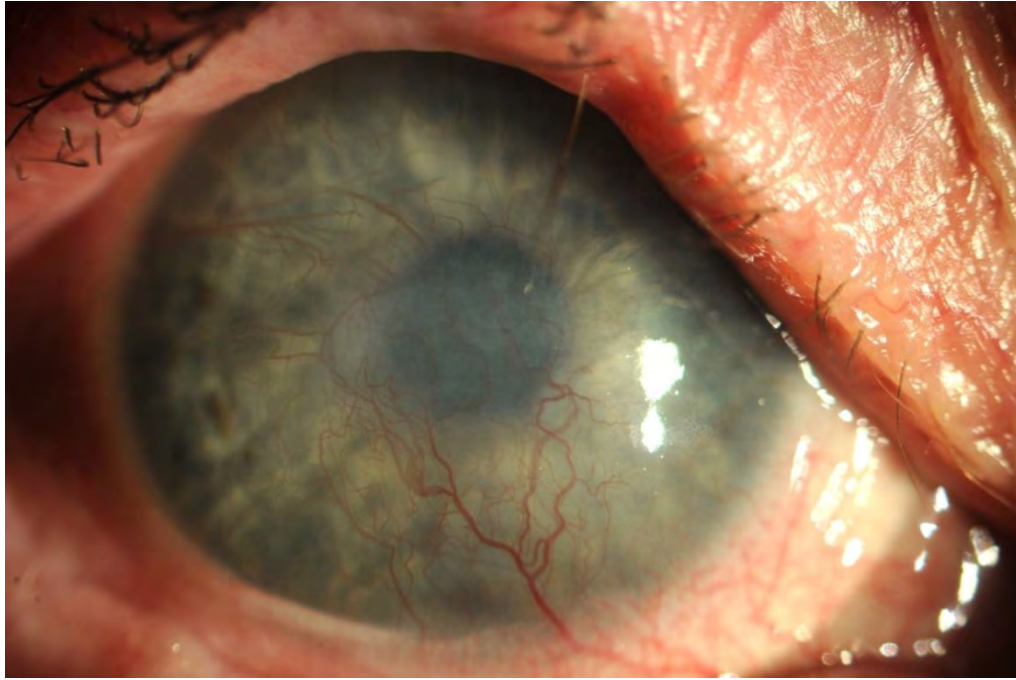




Ryc. 1. Mapa rogówki prawego oka: na całej powierzchni widoczna nieregularna niezborność.  
Fig. 1. Corneal topography of right eye; visible irregular astigmatism all over eye surface.



Ryc. 2. Mapa rogówki lewego oka: niezborność nieregularna.  
Fig. 2. Corneal topography of left eye; irregular astigmatism.



Ryc. 3. Prawe oko pacjentki: keratopatia w postaci unaczynionego bielma rogówki.  
Fig. 3. Right eye of patient: keratopathy in form of vascularized keratoleukoma.

Oprócz objawów ocznych u pacjentki występuje szereg schorzeń i dolegliwości ze strony innych układów. Wiele z nich może mieć związek z chorobą podstawową.

Objawy związane z niedoczynnością zewnątrzwydzielniczą ślinianek u pacjentki to suchość w ustach, trudności w przełykaniu, wymuszające konieczność nawet kilkukrotnego wybudzenia w nocy w celu wypicia tyku wody. W badaniu endoskopowym przełyku i żołądka rozpoznano niedomogę wpustu z niedomykalnością dolnego zwieracza przełyku i zdiagnozowano chorobę refluksową przełyku (*gastroesophageal reflux disease* – GERD).

Objawami podmiotowymi ze strony układu oddechowego były suchy kaszel, utrzymujący się od kilku lat, z odkrztuszaniem ropnej wydzieliny oraz zmniejszona tolerancja wysiłku. Ponieważ badanie spirometryczne wykazało ciężką nieodwracalną obturację, a próba rozkurczowa była ujemna, rozpoznano przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (POChP). W bronchoskopii stwierdzono ropne zapalenie oskrzeli, szczególnie górnych partii, a w tomografii komputerowej zobrazowano przestrzenie rozedmowe oraz zmiany włóknisto-guzkowe.

## DYSKUSJA

Postawienie pewnej diagnozy SS u prezentowanej pacjentki nie było łatwym zadaniem. Cały proces zajął klinicystom około dwóch lat. Rozpoznanie nie było

jednak bardzo opóźnione, gdyż szacuje się, iż czas ten wynosi średnio 6–10 lat [6]. Prawidłowe i szybkie postawienie diagnozy jest niezwykle ważne, ponieważ nawet u 42% pacjentów z pierwotną postacią SS mogą się rozwinąć objawy systemowe [6] oraz istotnie częściej niż w populacji ogólnej obserwuje się u nich występowanie chłoniaków [2,7,8]. Pierwszymi zauważalnymi i znaczącymi dla pacjentki dolegliwościami były objawy okulistyczne – dyskomfort oraz uczucie piasku pod powiekami – dlatego rozpoznano pierwotny SS. U 24% chorych z pierwotnym SS pierwszymi objawami są manifestacje okulistyczne [6]. Z relacji pacjentki wynika, że objawy systemowe rozwinęły się w późniejszym okresie. Istnieje jednak możliwość, iż objawy systemowe były obecne przed wystąpieniem problemów ocznych, ale nie były one istotne dla pacjentki.

Dysfunkcja gruczołów łzowych, a w konsekwencji brak łez, prowadzi nie tylko do uczucia dyskomfortu, ale również do poważniejszych powikłań – zmętnienia oraz owrzodzenia rogówki [4,6,10,11]. W długoterminowym badaniu kohortowym u 4,3% pacjentów już na początku choroby występowało zmętnienie rogówki, a u kolejnych 1,4% rozwinęło się w jej trakcie. Natomiast owrzodzenie rogówki występowało początkowo u 0,6%, a w trakcie rozwoju choroby pojawiło się u 0,7% pacjentów z pierwotnym SS [6]. Pomimo iż wymienione manifestacje okulistyczne w pierwotnym SS są opisywane w literaturze [6,10,13] i mogą być bardzo poważne, do tej pory nie oszacowano, z jaką częstością występują w populacji. Wyniki wspomnianego badania kohortowego wykazały, że u 13% pacjentów z pierwot-



nym SS rozwijają się objawy grożące utratą wzroku [6]. W celu uniknięcia perforacji rogówki początkowe zmętnienie, a następnie owrzodzenie rogówki prawego oka u przedstawionej pacjentki wymagało naszcycia błony owodniowej. Obecnie ostrość wzroku w prawym oku jest na poziomie ruchów ręki. U pacjentów z SS bardzo często występuje przewlekłe zapalenie spojówek. Dodatkowo w literaturze opisywane są przypadki pacjentów z SS oraz perforacją rogówki, zapaleniem twardówki, błony naczyniowej, naczyń siatkówki oraz nerwu wzrokowego, prowadzące do osłabienia ostrości wzroku, a nawet ślepoty [4,6,10].

U pacjentki konieczna była fakoemulsyfikacja zaćmy ze wszczepem sztucznej soczewki w obu oczach. Warto zwrócić uwagę na kortykosteroidy stosowane miejscowo do oczu oraz systemowo w terapii SS. Zbyt długie i częste stosowanie kortykosteroidów zwiększa ryzyko wystąpienia zaćmy [14].

Prezentowane objawy niedoczynności zewnątrzwydzielniczej ślinianek u pacjentki, m.in. zmniejszona produkcja śliny, ma związek z zaburzeniem odruchu przelykowo-ślinowego i może być przyczyną chorób przelyku [15].

W badaniu endoskopowym przelyku i żołądka rozpoznano GERD. Badania wskazują na 2,41 razy większe ryzyko GERD u chorych z SS w stosunku do populacji ogólnej [16]. Ze względu na dużą ogólną częstość występowania choroby należy zwrócić szczególną uwagę na objawy dyspeptyczne u chorych z SS oraz poinformować pacjentów o zwiększonym ryzyku wystąpienia refluksu żołądkowo-przelykowego. Ma to na celu zapobieganie rozwojowi choroby oraz wczesne wdrożenie leczenia w przypadku jej rozpoznania.

Zarówno objawy ze strony układu oddechowego, jak i badania obrazowe były podstawą do rozpoznania POChP. Badania wykazują, że u 9–22% chorych z SS dochodzi do zajęcia płuc, co definiowane jest jako obecność objawów ze strony układu oddechowego, zmian w badaniach obrazowych lub testach czynnościowych. U takich pacjentów wyniki w kwestionariuszach oceny jakości życia (*health-related quality of life* – HRQL) są gorsze, a śmiertelność większa [17]. W tajwańskim badaniu kohortowym oceniającym ryzyko wystąpienia POChP u osób z SS wykazano, że zapadalność na POChP jest 1,4 razy większa niż w grupie kontrolnej. Natomiast w innym badaniu 41% spośród

chorych z SS miało również POChP, w tym 30% było niepalących [18].

W diagnostyce różnicowej SS należy uwzględnić współistnienie chorób autoimmunologicznych (*multiple autoimmune syndrome* – MAS), czyli sytuację, gdy u jednego chorego występują jednocześnie co najmniej trzy choroby z autoagresji.

Ze względu na podobieństwo objawów ocznych u pacjentki przeprowadzono diagnostykę różnicową w kierunku pemfigoidu bliznowaciejącego ocznego, lecz rozpoznania nie potwierdzono. W lutym 2021 r. po raz pierwszy opisano przypadek innej pacjentki, u której współwystępował pemfigoid bliznowaciejący oczny, SS oraz choroba Hashimoto [19]. U chorych z SS należy brać pod uwagę większe ryzyko wstąpienia innych chorób autoimmunizacyjnych, które mogą się składać na MAS. W diagnostyce chorych z SS duże znaczenie ma interdyscyplinarność, która może zapewnić lepszą kontrolę oraz leczenie choroby pierwotnej, a także chorób współistniejących.

Aktualnie zwraca się uwagę na brak odpowiednich narzędzi do oceny stopnia nasilenia objawów okulistycznych w pierwotnym SS. Skala służąca do oceny zajęcia narządowego w pierwotnym SS – EULAR Sjögren's Syndrome Disease Activity Index (ESSDAI) [20] – nie wyróżnia domeny okulistycznej, określającej objawy suchości oczu i wynikających z tego ciężkich powikłań [10]. Z kolei EULAR Sjögren's Syndrome Patient Reported Index (ESSPRI) [21] odnosi się jedynie do ogólnego pojęcia suchości, bez uwzględnienia suchości oczu i zaburzeń widzenia oraz związanego z tym wpływu na jakość życia pacjenta [5,10].

## PODSUMOWANIE

Opisany przypadek ma zwrócić uwagę klinicystów, jak ciężkie i zróżnicowane mogą być powikłania okulistyczne SS. Zespół suchego oka może być jednym z pierwszych objawów przewlekłej choroby układowej i nie należy poprzestawać na leczeniu objawowym, lecz pogłębić diagnostykę. Pomimo intensywnego leczenia farmakologicznego i operacyjnego w ciężkich manifestacjach ocznych SS obserwuje się ciągły postęp choroby o charakterze destrukcyjnym. Wczesne rozpoznanie i leczenie SS może ograniczyć rozległość nieodwracalnych zmian w obrębie narządu wzroku.

### Author's contribution

Study design – A.M. Hitnarowicz, D. Pojda-Wilczek

Manuscript preparation – A.M. Hitnarowicz, A. Janocha, Z. Wielgos, M. Sarnat-Kucharczyk

Literature research – A.M. Hitnarowicz, A. Janocha, Z. Wielgos

Final approval of the version to be published – D. Pojda-Wilczek



## PIŚMIENNICTWO

1. Thorne I., Sutcliffe N. Sjögren's syndrome. *Br. J. Hosp. Med. (Lond)*. 2017; 78(8): 438–442, doi: 10.12968/hmed.2017.78.8.438.
2. Brito-Zerón P., Baldini C., Bootsma H., Bowman S.J., Jonsson R., Mariette X. i wsp. Sjögren syndrome. *Nat. Rev. Dis. Primers* 2016; 2: 16047, doi: 10.1038/nrdp.2016.47.
3. Ejma M., Madetko N., Waliszewska-Prosiół M. Neurologiczne powikłania zespołu Sjögrena. *Pol. Przegl. Neurol.* 2017; 13(3): 120–131.
4. Saldanha I.J., Bunya V.Y., McCoy S.S., Makara M., Baer A.N., Akpek E.K. Ocular manifestations and burden related to Sjögren's syndrome: Results of a patient survey. *Am. J. Ophthalmol.* 2020; 219: 40–48, doi: 10.1016/j.ajo.2020.05.043.
5. Stefanski A.L., Tomiak C., Pleyer U., Dietrich T., Burmester G.R., Dörner T. The diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2017; 114(20): 354–361, doi: 10.3238/arztebl.2017.0354.
6. Akpek E.K., Mathews P., Hahn S., Hessen M., Kim J., Grader-Beck T. i wsp. Ocular and systemic morbidity in a longitudinal cohort of Sjögren's syndrome. *Ophthalmology* 2015; 122(1): 56–61, doi: 10.1016/j.ophtha.2014.07.026.
7. Vivino F.B. Sjogren's syndrome: Clinical aspects. *Clin. Immunol.* 2017; 182: 48–54, doi: 10.1016/j.clim.2017.04.005.
8. Nocturne G. Sjögren's syndrome update: Clinical and therapeutic aspects. [Article in French]. *Rev. Med. Interne.* 2019; 40(7): 433–439, doi: 10.1016/j.revmed.2019.03.329.
9. Kucharz E.J. Zespół Sjögrena. W: M. Olesińska [red.]. *Reumatologia w gabinecie lekarza Podstawowej Opieki Zdrowotnej*. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2020, s. 359–367.
10. Akpek E.K., Bunya V.Y., Saldanha I.J. Sjögren's syndrome: More than just dry eye. *Cornea* 2019; 38(5): 658–661, doi: 10.1097/ICO.0000000000001865.
11. Wasielica-Poslednik J., Pfeiffer N., Gericke A. Fluocinolone acetonide intravitreal implant as a therapeutic option for severe Sjögren's syndrome-related keratopathy: a case report. *J. Med. Case Rep.* 2019; 13(1): 21, doi: 10.1186/s13256-018-1916-4.
12. Shiboski C.H., Shiboski S.C., Seror R., Criswell L.A., Labetoulle M., Lietman T.M. i wsp. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Arthritis Rheumatol.* 2017; 69(1): 35–45, doi: 10.1002/art.39859.
13. Murtagh P., Comer R., Fahy G. Corneal perforation in undiagnosed Sjögren's syndrome following topical NSAID and steroid drops post routine cataract extraction. *BMJ Case Rep.* 2018; 2018: bcr2018225428, doi: 10.1136/bcr-2018-225428.
14. Gonzales J.A., Lietman T.M. Ocular involvement in Sjögren's syndrome: Advances in therapy. *Curr. Treat. Options Rheum.* 2018; 4: 99–109, doi: 10.1007/s40674-018-0084-4.
15. Shafik A., El-Sibai O., Shafik A.A., Mostafa R. Effect of topical esophageal acidification on salivary secretion: identification of the mechanism of action. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2005; 20(12): 1935–1939, doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.04005.x.
16. Chang C.S., Liao C.H., Muo C.H., Kao C.H. Increased risk of concurrent gastroesophageal reflux disease among patients with Sjögren's syndrome: A nationwide population-based study. *Eur. J. Intern. Med.* 2016; 31: 73–78, doi: 10.1016/j.ejim.2016.01.014.
17. Natalini J.G., Johr C., Kreider M. Pulmonary involvement in Sjögren syndrome. *Clin. Chest Med.* 2019; 40(3): 531–544, doi: 10.1016/j.ccm.2019.05.002.
18. Chung A., Wilgus M.L., Fishbein G., Lynch J.P. 3rd. Pulmonary and bronchiolar involvement in Sjogren's syndrome. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 40(2): 235–254, doi: 10.1055/s-0039-1688448.
19. Cifuentes-González C., Amaris-Martínez S., Reyes-Guanes J., Uribe-Reina P., de-la-Torre A. Ocular Cicatricial Pemphigoid, Sjögren's Syndrome, and Hashimoto's Thyroiditis as a Multiple Autoimmune Syndrome: A case report. *Eur. J. Ophthalmol.* 2022; 32(4): NP52–NP55, doi: 10.1177/1120672121996637.
20. Seror R., Bowman S.J., Brito-Zeron P., Theander E., Bootsma H., Tzioufas A. i wsp. EULAR Sjögren's syndrome disease activity index (ESSDAI): a user guide. *RMD Open* 2015; 1(1): e000022, doi: 10.1136/rmdopen-2014-000022.
21. Seror R., Ravaud P., Mariette X., Bootsma H., Theander E., Hansen A. i wsp. EULAR Sjogren's Syndrome Patient Reported Index (ESSPRI): development of a consensus patient index for primary Sjogren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 2011; 70(6): 968–972, doi: 10.1136/ard.2010.143743.



## Wybrane zmiany fenotypowe oraz funkcjonalne zachodzące w komórkach raka jajnika poddanych *in vitro* terapii kombinowanej z zastosowaniem cisplatyny oraz hipertermii

Selected phenotypic and functional changes in ovarian cancer cells treated *in vitro* with combined therapy using cisplatin and hyperthermia

Aleksandra Zoń , Ilona Bednarek 

Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Department of Biotechnology and Genetic Engineering, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Typową strategią leczenia raka jajnika jest operacja chirurgiczna oraz podawana po niej chemioterapia wykorzystująca leki cytostatyczne, w tym cisplatynę. Niestety u większości pacjentek dochodzi do nawrotu choroby, którego głównym powodem jest wykształcanie przez komórki nowotworowe oporności na cisplatynę. Z tego względu intensywnie poszukuje się nowych rozwiązań terapeutycznych, m.in. terapii skojarzonej, której przykładem jest jednoczesne traktowanie komórek lekiem cytostatycznym oraz hipertermią. Celem pracy była ocena zmian fenotypowych oraz funkcjonalnych w komórkach raka jajnika poddanych działaniu cisplatyny i/lub umiarkowanej hipertermii.

**MATERIAŁ I METODY:** Linie komórek raka jajnika SKOV-3 [ATCC: HTB-77] oraz TOV-21G [ATCC: CRL-11730] stymulowano do apoptozy z wykorzystaniem dichlorku cis-diamino platyny (II). Następnie komórki poddawano działaniu umiarkowanej hipertermii poprzez umieszczenie w temperaturach 39°C i 40°C oraz w temperaturze standardowej 37°C. Zmiany fenotypowe w obrębie badanych komórek weryfikowano z wykorzystaniem barwienia fluorescencyjnego z użyciem oranżu akrydyny, bromku etydyny oraz DAPI (4',6-diamidyno-2-fenylindol). Zmiany funkcjonalne odnoszące się do migracji *in vitro* komórek analizowano testem zarastania rany (*wound healing assay*).

**WYNIKI:** Wykazano, że działanie na komórki cisplatyną indukowało śmierć komórek o charakterze apoptotycznym, przy czym zauważono efekt potencjalizacji działania cytostatyku na komórki poprzez zastosowanie umiarkowanej hipertermii (39°C oraz 40°C). Dodatkowo, w przypadku komórek linii SKOV-3 traktowanych wspomnianymi czynnikami, zaobserwowano istotny statystycznie spadek migracji komórek *in vitro* w odniesieniu do populacji komórek kontrolnych.

Received: 21.11.2022

Revised: 12.01.2023

Accepted: 13.01.2023

Published online: 28.07.2023

Adres do korespondencji: mgr Aleksandra Zoń, Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec, tel. +48 32 364 12 57, e-mail: aleksandra.zon@sum.edu.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach





WNIOSKI: Traktowanie komórek raka jajnika cisplatyną oraz umiarkowaną hipertermią prowadzi do zmian fenotypowych, charakterystycznych dla procesów apoptozy. Dodatkowo zastosowanie obu tych czynników indukuje takie zmiany w komórkach, które zmniejszają migrację komórek, a tym samym wpływają na zmniejszenie potencjału metastatycznego komórek raka jajnika.

#### SŁOWA KLUCZOWE

rak jajnika, hipertermia, apoptoza, cisplatyna, zmiany morfologiczne, test migracji komórek in vitro

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The typical treatment strategy used for ovarian cancer is surgery followed by chemotherapy using cytostatic drugs, including cisplatin. Unfortunately, the majority of patients experience a relapse of the disease, the main reason for which is the development of cisplatin resistance. Due to this, new treatment strategies are being sought, including combination therapy, an example of which is the simultaneous treatment of cells with a cytostatic drug and hyperthermia. The aim of the study was to assess the occurrence of phenotypic and functional changes in ovarian cancer cells treated with cisplatin and/or moderate hyperthermia.

**MATERIAL AND METHODS:** Ovarian cancer cell lines SKOV-3 and TOV-21G were stimulated to apoptosis using cis-diammineplatinum(II) dichloride. Subsequently, the cells were subjected to hyperthermia by placing them in temperatures of 39°C, 40°C and a standard temperature of 37°C. Phenotypic changes within the cells were verified by fluorescent staining with acridine orange, ethidium bromide and DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole). Functional changes related to in vitro cell migration were analyzed with the wound healing assay.

**RESULTS:** It was shown that the effect of cisplatin on the cells led to death by apoptosis, whereby the effect of potentiating the action of the cytostatic agent by the use of moderate hyperthermia was noticed. In addition, in the case of cells of the SKOV-3 line treated with the aforementioned agents, a statistically significant decrease in cell migration was observed in relation to the population of control cells.

**CONCLUSIONS:** The obtained results indicate that the treatment of ovarian cancer cells with cisplatin and moderate hyperthermia leads to the appearance of phenotypic changes in these cells, characteristic of apoptotic processes. In addition, the application of both agents induces such changes in the cells that reduce cell migration, thereby reducing the metastatic potential of ovarian cancer cells.

#### KEY WORDS

ovarian cancer, hyperthermia, apoptosis, cisplatin, morphological changes, wound healing assay

#### WSTĘP

Rak jajnika staje się coraz poważniejszym problemem wśród Polek. W ciągu ostatnich 20 lat liczba nowych przypadków tej choroby w naszym kraju wzrosła o ponad 40% (z 2033 odnotowanych przypadków w 2000 r. do 4669 w 2020 r.) i jak pokazują dane szacunkowe, w kolejnych latach nadal będzie wzrastać [1,2]. Biorąc pod uwagę wszystkie rodzaje nowotworów, rak jajnika jest piątym najczęściej występującym i czwartym najbardziej śmiertelnym nowotworem u polskich kobiet [1]. Wysoka śmiertelność wynika przede wszystkim z bardzo późnego wykrywania choroby, co spowodowane jest głównie niejednoznacznymi objawami oraz brakiem wysoko specyficznego badania przesiewowego, pozwalającego z całkowitą pewnością stwierdzić występowanie raka jajnika. Z tego też powodu większość pacjentek trafia do gabinetu lekarza, gdy choroba osiągnie stan zaawansowany [3,4]. Typową terapią stosowaną w przypadku takich pacjentek jest operacja chirurgiczna polegająca na wycięciu guza oraz tuż po niej

chemioterapia wykorzystująca leki cytostatyczne – przede wszystkim cisplatynę lub karboksyplatynę, podawaną jednocześnie z paklitakselem [5]. Duża część pacjentek dobrze odpowiada na terapię, osiągając pełną odpowiedź na leczenie; niestety po pewnym czasie u większości z nich dochodzi do nawrotu choroby, w głównej mierze spowodowanego wykształcaniem mechanizmów oporności na cisplatynę przez traktowane nią komórki [5]. Ze względu na rosnący problem cisplatinooporności intensywnie poszukuje się nowych strategii leczenia, które znacząco poprawiłyby efektywność i skuteczność działania cisplatyny, zmniejszając w ten sposób rozwój oporności na lek. Coraz częstszą strategią naukowców pozwalającą na osiągnięcie tego celu jest stosowanie terapii skojarzonej, polegającej na jednoczesnym zastosowaniu kilku czynników wykazujących działanie przeciwnowotworowe. Przykładem terapii skojarzonej jest m.in. jednoczesne traktowanie komórek nowotworowych lekiem cytostatycznym oraz hipertermią, na czym skupiono się w niniejszej pracy. Celem badań była ocena indukcji zmian fenotypowych w zakresie morfologii i zmian funkcjonalnych w od-



niesieniu do zdolności do migracji *in vitro* komórek raka jajnika poddanych działaniu cisplatyny i umiarkowanej hipertermii.

## MATERIAŁ I METODY

### Hodowla komórek

Linie komórek reprezentujących raka jajnika – cisplatinoooporna linia SKOV-3 [ATCC: HTB-77] oraz cisplatinowrażliwa linia TOV-21G [ATCC: CRL-11730] – hodowano w pożywce DMEM + GlutaMAX-I (Gibco) z 10-proc. zawartością bydlęcej surowicy płodowej (PAN-Biotech) oraz dodatkiem antybiotyku (gentamycyna; Sigma), w standardowych warunkach środowiska: temperatura 37°C, wilgotność powietrza 95%, zawartość dwutlenku węgla 5%.

Stymulację komórek do apoptozy przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu cisplatyny (Sigma) w stężeniu końcowym 50 nM dla linii SKOV-3 oraz 5 nM dla linii TOV-21G. Wybrane stężenia cisplatyny wystandardyzowano we wcześniejszych badaniach [6,7]. Komórki poddawano działaniu hipertermii, stosując godziną inkubację w temperaturach 39°C i 40°C. Po godzinnej inkubacji komórki przeniesiono do standardowej temperatury 37°C, po czym hodowano je w standardowych warunkach w kolejnych interwałach czasowych (24 godz. oraz dodatkowo 48 i 72 godz.) przy analizie migracji komórek.

### Analiza zmian fenotypowych

Zmiany fenotypowe w obrębie jądra i cytoplazmy badanych komórek weryfikowano na podstawie oceny obrazów mikroskopowych z zastosowaniem mikroskopu fluorescencyjnego (Eclipse Ti2-E Nikon). Komórki wybarwiano oranżem akrydyny (Invitrogen by ThermoFisher; 10 µg/ml), DAPI (4',6-diamidyno-2-fenylindol; Invitrogen by ThermoFisher; 300 nM) i/lub mieszaniną bromek etydyny/oranż akrydyny (Invitrogen by ThermoFisher/Sigma; 100 µg/ml/10 µg/ml).

Dla każdej z prób wykonano zdjęcia z zastosowaniem powiększenia 10- oraz 20-krotnego.

Wyszukiwano zmiany morfologiczne w obrębie jądra komórkowego oraz cytoplazmy wskazujące na aktywny proces apoptozy w komórkach; dla każdej z prób wyznaczono średnią procentową liczbę komórek apoptotycznych.

### Analiza zmian funkcjonalnych

Weryfikację zmian funkcjonalnych, zachodzących pod wpływem cisplatyny i hipertermii, polegających na zmianach w zdolności komórek do migracji, analizowano z wykorzystaniem testu migracji komórek *in vitro* (*wound healing assay*). W przypadku obu linii komórkowych – po przeprowadzeniu stymulacji apoptozy –

w każdym z dołków płytek 6-dołkowych wykonano rysę przebiegającą przez jego środek. Następnie komórki inkubowano w standardowych warunkach środowiska przez 72 godz. Od momentu wykonania rysy co 24 godz. prowadzono jej obserwację i wykonywano dokumentację zdjęciową z wykorzystaniem mikroskopu odwróconego (Axiovert 40 CFL Zeiss).

Ocenę zmian w zdolnościach migracyjnych komórek przeprowadzono na podstawie parametru określanego jako procent zamknięcia rany. Parametr ten weryfikowano z zastosowaniem programu ImageJ poprzez automatyczne wyznaczenie końcowej krawędzi wykonanego zarysowania, a następnie obliczenie jego powierzchni. Procent zamknięcia rany obliczono za pomocą algorytmu: procent zamknięcia rany (%) =  $[O(0) - O(t)/O(0)] \times 100\%$ , gdzie  $O(0)$  to obszar zarysowania w czasie 0, a  $O(t)$  to obszar zarysowania po danym czasie inkubacji, przy założeniu, że obszar zmierzony w czasie 0 wynosi 0%.

### Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu Statistica (Wersja 13.3, Tipco Software, USA). W trakcie analizy zmian fenotypowych badanych komórek, aby porównać średnie wartości zmiennych pomiędzy próbami, wykonano analizę wariancji ANOVA. W przypadku analizy zmian funkcjonalnych wyniki dla prób badanych porównano z wynikami dla prób kontrolnych za pomocą testu t-Studenta dla prób niezależnych. W obu przypadkach dane ilościowe przedstawiono w postaci średniej wraz z odchyleniem standardowym. Jako wyniki istotne statystycznie uznano te o wartości prawdopodobieństwa testowego  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

### Analiza zmian fenotypowych

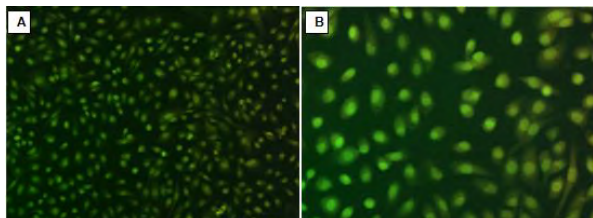
#### Komórki linii SKOV-3

Komórki stanowiące próbę kontrolną badania (nie-tractowane cisplatiną, hodowane w temperaturze 37°C) wykazywały morfologię typową dla komórek prawidłowych – miały okrągły, regularny kształt, jądra komórkowe znajdowały się w centralnej części komórki i wykazywały umiarkowaną zieloną fluorescencję w przypadku barwienia oranżem akrydyny (ryc. 1) lub umiarkowaną jasnoniebieską fluorescencję w przypadku barwienia DAPI (ryc. 2).

Komórki stanowiące próbę badaną (tractowane cisplatiną, poddane działaniu hipertermii) wykazywały znaczące zmiany w morfologii, wskazujące na procesy wczesnej i późnej apoptozy (ryc. 3 i 4). Komórki zaliczone do grupy wczesnoapoptotycznych charakteryzowały się znaczącym zmniejszeniem objętości, konden-

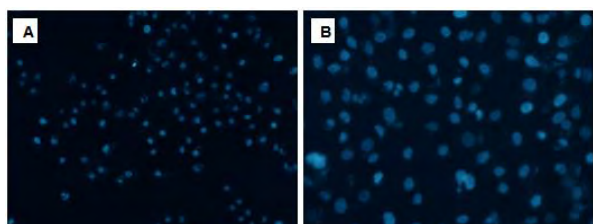


sacją jądra komórkowego i emisją silnej zielono-żółtej (oranż akrydyny) lub niebieskiej (DAPI) fluorescencji. Komórki późnoapoptyczne cechowały się jeszcze większą kondensacją, a także fragmentacją jądra komórkowego oraz emisją silnie zielonej fluorescencji (oranż akrydyny) lub silnie niebieskiej fluorescencji (DAPI). W puli ocenianych komórek można było także zaobserwować obecność ciałek apoptotycznych.



Ryc. 1. Próba kontrolna – komórki linii SKOV-3 hodowane w temperaturze 37°C, nietraktowane cisplatyną, wybarwione oranżem akrydyny; A) komórki linii SKOV-3 stanowiące kontrolę (10 × 10), B) komórki linii SKOV-3 stanowiące kontrolę (10 × 20).

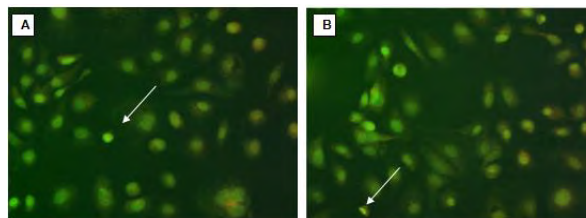
Fig. 1. Control sample – SKOV-3 cells cultured at 37°C, not treated with cisplatin, stained with acridine orange; A) SKOV-3 control cells (10 × 10), B) SKOV-3 control cells (10 × 20).



Ryc. 2. Próba kontrolna – komórki linii SKOV-3 hodowane w temperaturze 37°C, nietraktowane cisplatyną, wybarwione DAPI; A) komórki linii SKOV-3 stanowiące kontrolę (10 × 10), B) komórki linii SKOV-3 stanowiące kontrolę (10 × 20).

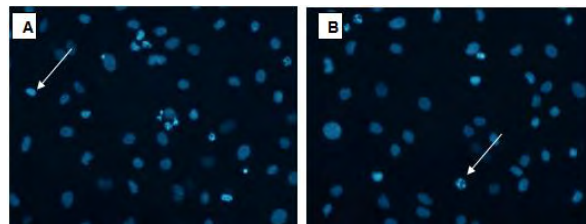
Fig. 2. Control sample – SKOV-3 cells cultured at 37°C, not treated with cisplatin, stained with DAPI; A) SKOV-3 control cells (10 × 10), B) SKOV-3 control cells (10 × 20).

Działanie na komórki cisplatyną w stężeniu 50 nM oraz traktowanie ich temperaturami 37°C, 39°C oraz 40°C doprowadziło do śmierci komórek na drodze apoptozy (ryc. 3 i 4). W stosunku do populacji komórek stanowiących kontrolę liczba komórek apoptotycznych w populacjach traktowanych cisplatyną oraz poddanych działaniu hipertermii była znacząco wyższa ( $p < 0,01$ ; tab. I i II).



Ryc. 3. Komórki linii SKOV-3 traktowane cisplatyną w stężeniu 50 nM oraz poddane działaniu hipertermii, wybarwione oranżem akrydyny; A) komórki w fazie wczesnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 20), B) komórki w fazie późnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 20).

Fig. 3. SKOV-3 cells treated with cisplatin at concentration of 50 nM and subjected to hyperthermia, stained with acridine orange; A) cells in early apoptosis phase – example marked with arrow (10 × 20), B) cells in late apoptosis phase – example marked with arrow (10 × 20).



Ryc. 4. Komórki linii SKOV-3 traktowane cisplatyną w stężeniu 50 nM oraz poddane działaniu hipertermii, wybarwione DAPI; A) komórki w fazie wczesnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 20), B) komórki w fazie późnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 20).

Fig. 4. SKOV-3 cells treated with cisplatin at concentration of 50 nM and subjected to hyperthermia, stained with DAPI; A) cells in early apoptosis phase – example marked with arrow (10 × 20), B) late apoptotic cells – example marked with arrow (10 × 20).

Tabela I. Zestawienie średniego odsetka komórek apoptotycznych linii SKOV-3 poddanej działaniu cisplatyny w stężeniu 50 nM oraz czynnika termicznego  
Table I. Summary of average percentage of apoptotic cells of SKOV-3 line treated with cisplatin at concentration of 50 nM and thermal agent

	Kontrola	37°C + cisplatyna (50 nM)	39°C + cisplatyna (50 nM)	40°C + cisplatyna (50 nM)	Wartość testu analizy wariancji ANOVA
Średnia procentowa liczba komórek apoptotycznych	5,96 ± 0,97	16,08 ± 0,23	20,25 ± 3,43	14,00 ± 1,51	p < 0,05

Tabela II. Wartości p testu analizy wariancji ANOVA dla porównywanych prób  
Table II. ANOVA p-values for compared samples

Kontrola vs 37°C + cisplatyna (50 nM)	Kontrola vs 39°C + cisplatyna (50 nM)	Kontrola vs 40°C + cisplatyna (50 nM)
p < 0,01	p < 0,001	p < 0,01





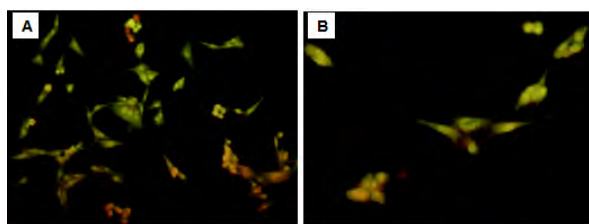
### Komórki linii TOV-21G

Dla populacji komórek kontrolnych, analogicznie do linii SKOV-3, obserwowano przeważnie morfologię typową dla komórek prawidłowych – regularny, nieco wydłużony kształt o okrągłych i centralnie ułożonych jądrach komórkowych. Cytoplazma komórek wybarwiała się jednorodnie, komórki wykazywały umiarkowaną zieloną fluorescencję oranżu akrydyny (ryc. 5) lub umiarkowaną jasnoniebieską fluorescencję w przypadku barwienia DAPI (ryc. 6).

Po potraktowaniu komórek cisplatyną/hipertermią obserwowano w ich morfologii zmiany, które wskazywały na procesy wczesnej i późnej apoptozy (ryc. 7 i 8). Komórki zaliczone do grupy wczesnoapoptotycznych charakteryzowały się zmniejszeniem objętości, kondensacją jądra komórkowego i emisją bardzo silnej zielono-żółtej (oranż akrydyny/bromek etydyny) lub silnej niebieskiej (DAPI) fluorescencji. Komórki późnoapoptotyczne cechowały się jeszcze większą kondensacją, a także fragmentacją jądra komórkowego, położonego w komórce asymetrycznie. Dodatkowo zaobserwowano, że wykazywały one pomarańczowo-

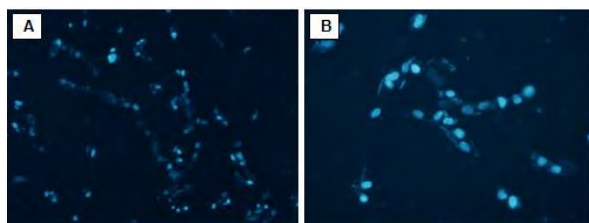
-czerwoną fluorescencję, związaną z przenikaniem do ich wnętrza bromku etydyny poprzez uszkodzenia błony komórkowej. W przypadku barwienia DAPI obserwowano silną niebieską fluorescencję jądra komórkowego, można było także zaobserwować obecność ciałek apoptotycznych.

Działanie na komórki linii TOV-21G cisplatyną w stężeniu 5 nM oraz traktowanie ich temperaturami 37°C, 39°C i 40°C doprowadziło do śmierci komórek na drodze apoptozy (ryc. 7 i 8). W stosunku do populacji komórek stanowiących kontrolę (komórki hodowane w temperaturze 37°C, nietraktowane cisplatyną) liczba komórek apoptotycznych w populacjach traktowanych cisplatyną oraz poddanych działaniu temperatur 39°C i 40°C była wyższa (tab. III i IV). Zaobserwowane różnice w liczbie komórek apoptotycznych były istotne statystycznie ( $p < 0,01$  oraz  $p < 0,05$ ). Mimo zaobserwowanych różnic w liczbie komórek apoptotycznych dla populacji komórek traktowanych cisplatyną oraz temperaturą 37°C w stosunku do populacji komórek stanowiącej kontrolę różnice te nie wykazały istotności statystycznej ( $p = 0,36$ ).



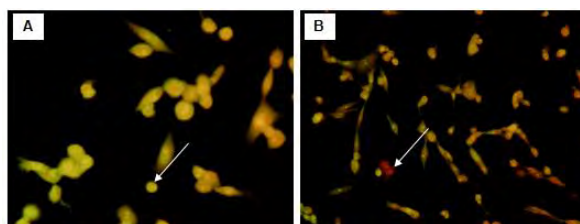
Ryc. 5. Próba kontrolna – komórki linii TOV-21G hodowane w temperaturze 37°C, nietraktowane cisplatyną, wybarwione oranżem akrydyny i bromkiem etydyny; A) komórki linii TOV-21G stanowiące kontrolę (10 × 10), B) komórki linii TOV-21G stanowiące kontrolę (10 × 20).

Fig. 5. Control sample – TOV-21G cells cultured at 37°C, not treated with cisplatin, stained with acridine orange and ethidium bromide: A) TOV-21G control cells (10 × 10), B) TOV-21G control cells (10 × 20).



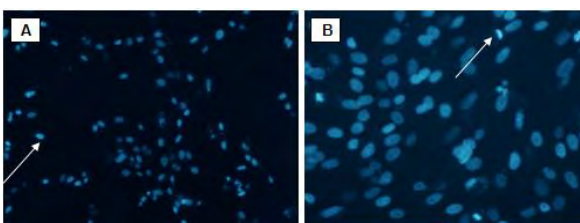
Ryc. 6. Próba kontrolna – komórki linii TOV-21G hodowane w temperaturze 37°C, nietraktowane cisplatyną, wybarwione DAPI; A) komórki linii TOV-21G stanowiące kontrolę (10 × 10), B) komórki linii TOV-21G stanowiące kontrolę (10 × 20).

Fig. 6. Control sample – TOV-21G cells cultured at 37°C, not treated with cisplatin, stained with DAPI; A) TOV-21G control cells (10 × 10), B) TOV-21G control cells (10 × 20).



Ryc. 7. Komórki linii TOV-21G traktowane cisplatyną w stężeniu 5 nM oraz poddane działaniu hipertermii, wybarwione oranżem akrydyny i bromkiem etydyny; A) komórki w fazie wczesnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 20), B) komórki w fazie późnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 10).

Fig. 7. TOV-21G cells treated with 5 nM cisplatin and hyperthermia, stained with acridine orange and ethidium bromide: A) cells in early apoptosis phase – example marked with arrow (10 × 20), B) late apoptotic cells – example marked with arrow (10 × 10).



Ryc. 8. Komórki linii TOV-21G traktowane cisplatyną w stężeniu 5 nM oraz poddane działaniu hipertermii, wybarwione DAPI; A) komórki w fazie wczesnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 10), B) komórki w fazie późnej apoptozy – przykład zaznaczony strzałką (10 × 20).

Fig. 8. TOV-21G cells treated with cisplatin at concentration of 5 nM and subjected to hyperthermia, stained with DAPI; A) cells in early apoptosis phase – example marked with arrow (10 × 10), B) late apoptotic cells – example marked with arrow (10 × 20).



Tabela III. Zestawienie średniego odsetka komórek apoptotycznych linii TOV-21G poddanej działaniu cisplatyny w stężeniu 5 nM oraz czynnika termicznego  
 Table III. Summary of average percentage of apoptotic cells of TOV-21G line treated with cisplatin at concentration of 5 nM and thermal agent

	Kontrola	37°C + cisplatyna (5 nM)	39°C + cisplatyna (5 nM)	40°C + cisplatyna (5 nM)	Wartość testu analizy wariancji ANOVA
Średnia procentowa liczba komórek apoptotycznych	7,80 ± 0,88	19,12 ± 4,13	62,37 ± 10,77	40,18 ± 10,88	p < 0,001

Tabela IV. Wartości p testu analizy wariancji ANOVA dla porównywanych prób  
 Table IV. ANOVA p-values for compared samples

Kontrola vs 37°C + cisplatyna (5 nM)	Kontrola vs 39°C + cisplatyna (5 nM)	Kontrola vs 40°C + cisplatyna (5 nM)
p = 0,36	p < 0,001	p < 0,05

## Analiza zmian funkcjonalnych

### Komórki linii SKOV-3

W ramach analizy zmian funkcjonalnych komórek poddanych działaniu cisplatyny oraz hipertermii, polegających na zmianie szybkości migracji komórek raka jajnika, przeprowadzono test migracji komórek *in vitro*. Test prowadzono z zastosowaniem temperatur 37°C, 39°C i 40°C oraz cisplatyny w stężeniu równym 50 nM.

W każdym z analizowanych przypadków zaobserwowano znaczący, hamujący wpływ wymienionych czynników na zdolność komórek nowotworowych do migracji, w porównaniu z komórkami niepoddanymi działaniu wspomnianych czynników, jednak najistotniejsze zahamowanie tempa migracji wystąpiło w przypadku traktowania komórek cisplatyną oraz temperaturą 39°C (tab. V–VIII).

Tabela V. Wyniki testu t Studenta dla pomiaru po 24 h  
 Table V. Student's t-test results for measurement after 24 h

	Kontrola 24 h	Cisplatyna + 39°C 24 h	t	p
Procent zamknięcia rany	35,3 ± 1,51	4,15 ± 1,71	23,63	p < 0,001

Tabela VI. Wyniki testu t Studenta dla pomiaru po 48 h  
 Table VI. Student's t-test results for measurement after 48 h

	Kontrola 48 h	Cisplatyna + 39°C 48 h	t	p
Procent zamknięcia rany	42,17 ± 0,19	5,42 ± 1,81	34,91	p < 0,001

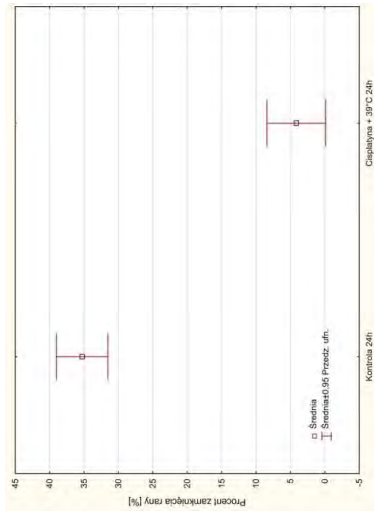
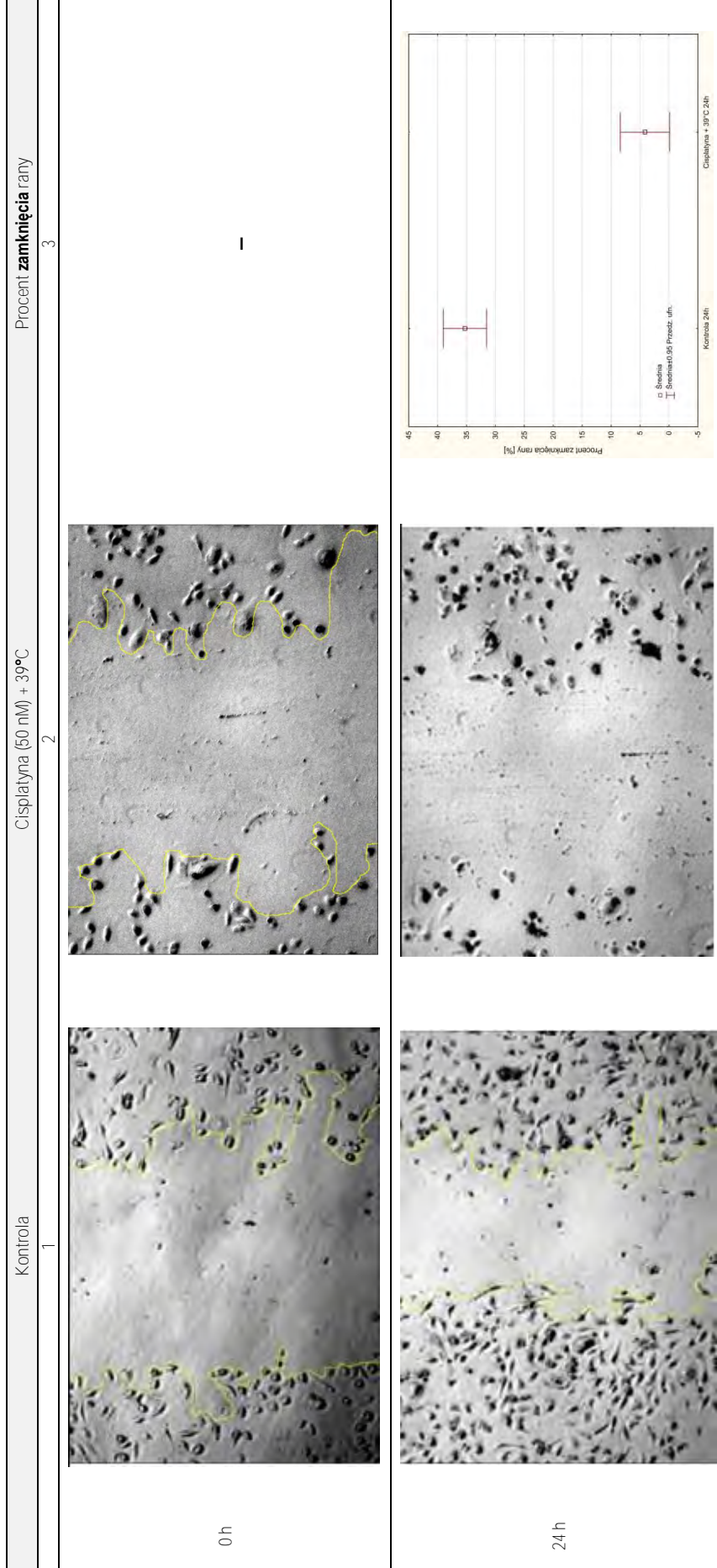
Tabela VII. Wyniki testu t Studenta dla pomiaru po 72 h  
 Table VII. Student's t-test results for measurement after 72 h

	Kontrola 72 h	Cisplatyna + 39°C 72 h	t	p
Procent zamknięcia rany	71,75 ± 0,33	1,81 ± 2,47	48,60	p < 0,001



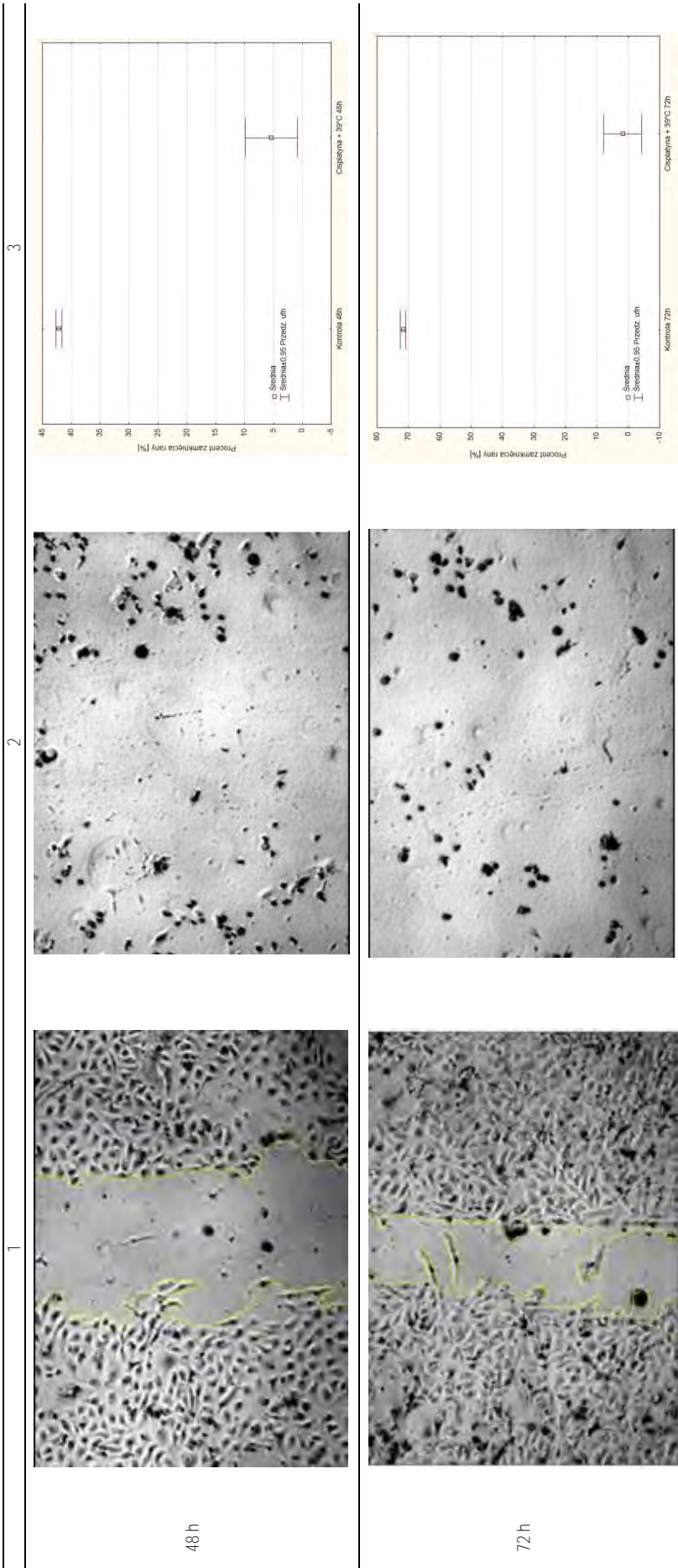
Tabela VIII. Wyniki testu migracji komórek in vitro dla komórek linii SKOV-3 – komórki stanowiące kontrolę (nieotraktowane lekami, hodowane w temperaturze 37°C) oraz komórki traktowane cisplatyną w stężeniu 50 nM, poddane działaniu temperatury 39°C

Table VIII. In vitro cell migration assay results for SKOV-3 cells – control cells (untreated, cultured at 37°C) and cells treated with 50 nM cisplatin, exposed to 39°C





cd. tab. VIII





### Komórki linii TOV-21G

W ramach analizy zmian funkcjonalnych komórek poddanych działaniu cisplatyny oraz hipertermii, polegających na zmianie szybkości migracji komórek raka jajnika, przeprowadzono test migracji komórek in vitro. Test prowadzono analogicznie do warunków termicznych stosowanych dla linii SKOV-3, ale z indukcją cisplatyną o stężeniu 5 nM.

Znaczący wpływ wymienionych czynników na zdolność komórek nowotworowych do migracji, w porównaniu z komórkami niepoddanymi działaniu tych czynników, zaobserwowano jedynie podczas traktowania komórek cisplatyną oraz temperaturą 40°C (tab. IX–XII). W przypadku traktowania komórek temperaturami 37°C oraz 39°C nie zaobserwowano znaczących różnic w zdolności komórek do migracji.

Tabela IX. Wyniki testu t Studenta dla pomiaru po 24 h  
Table IX. Student's t-test results for measurement after 24 h

	Kontrola 24 h	Cisplatyna + 40°C 24 h	t	p
Procent zamknięcia rany	34,16 ± 1,88	21,01 ± 2,59	7,11	p < 0,05

Tabela X. Wyniki testu t Studenta dla pomiaru po 48 h  
Table X. Student's t-test results for measurement after 48 h

	Kontrola 48 h	Cisplatyna + 40°C 48 h	t	p
Procent zamknięcia rany	76,21 ± 0,91	35,80 ± 1,06	49,94	p < 0,001

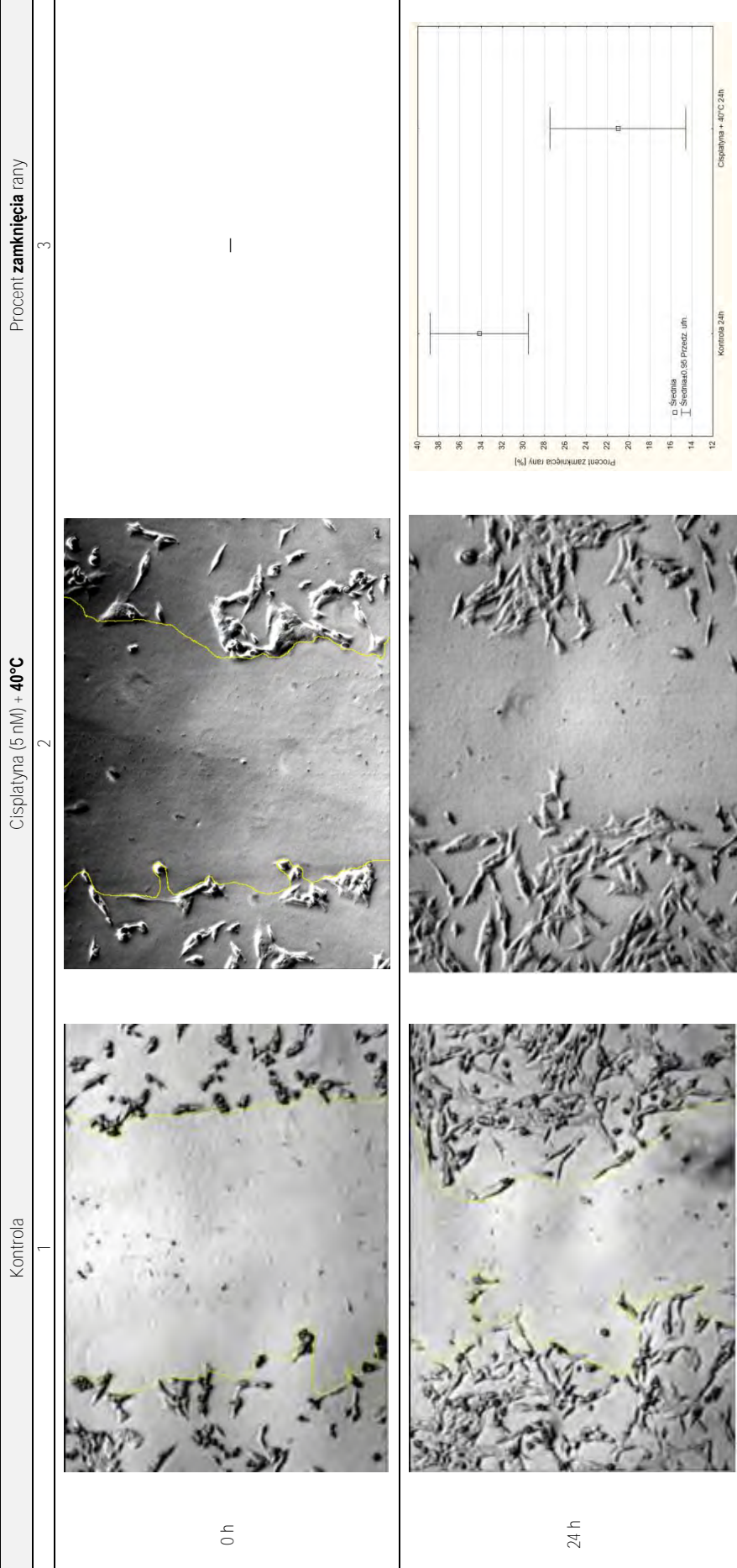
Tabela XI. Wyniki testu t Studenta dla pomiaru po 72 h  
Table XI. Student's t-test results for measurement after 72 h

	Kontrola 72 h	Cisplatyna + 40°C 72 h	t	p
Procent zamknięcia rany	82,02 ± 0,20	65,09 ± 1,90	15,33	p < 0,05



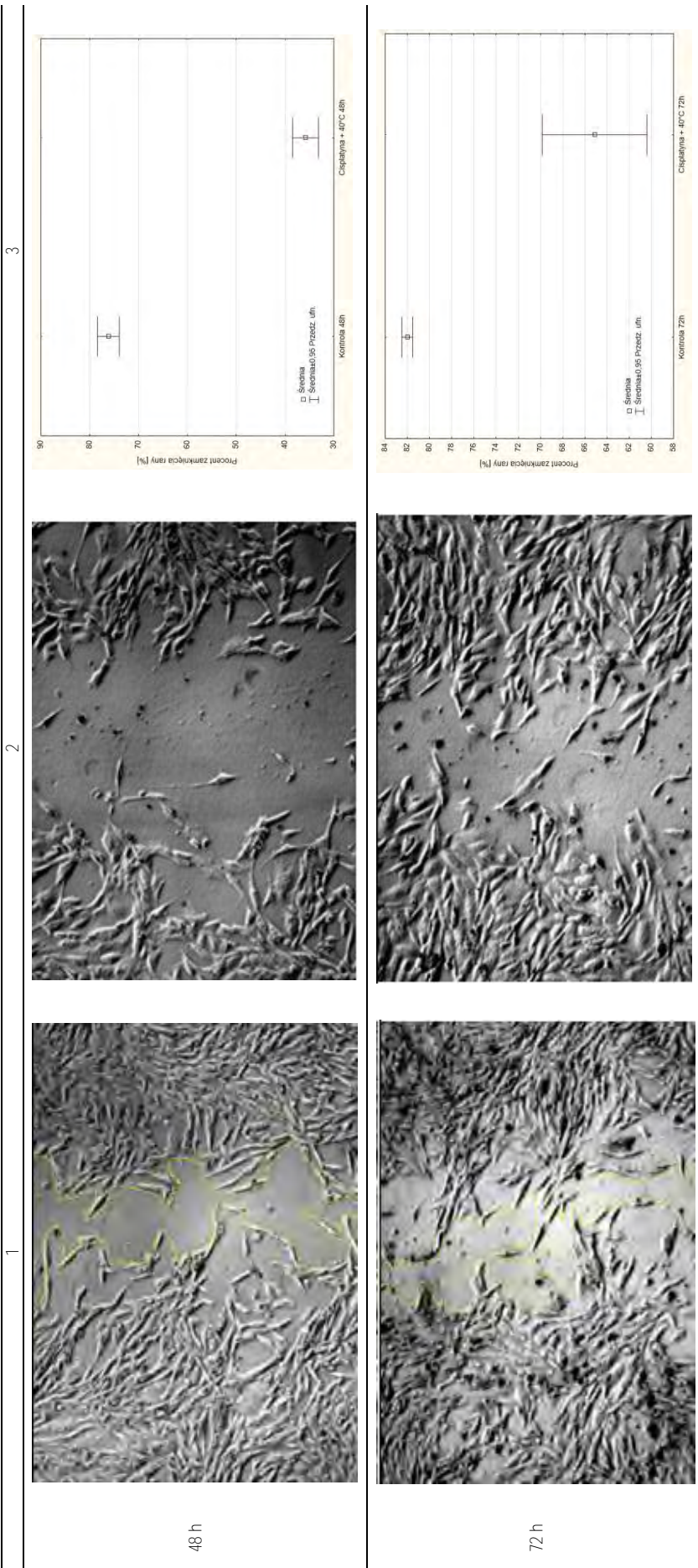


Tabela XII. Wyniki testu migracji komórek in vitro dla komórek linii TOV-21G – komórki stanowiące kontrolę (nieotraktowane lekami, hodowane w temperaturze 37°C) oraz komórki traktowane cisplatyną w stężeniu 5 nM, poddane działaniu temperatury 40°C  
Table XII. In vitro cell migration assay results for TOV-21G cells – control cells (untreated, cultured at 37°C) and cells treated with 5 nM cisplatin, exposed to 40°C





cd. lab. XII





## DYSKUSJA

Wykształcanie oporności na cisplatynę przez komórki nowotworowe staje się coraz poważniejszym problemem, który znacząco utrudnia proces leczenia chorych z rakiem jajnika. Cisplatyna została wprowadzona do stosowania terapeutycznego w 1978 r. jako lek o wyjątkowo efektywnym działaniu cytostatycznym w przypadku wielu rodzajów nowotworów, m.in.: raka głowy i szyi, raka jądra, raka jajnika czy raka pęcherza moczowego [8]. Tak szeroki zakres nowotworów możliwych do leczenia z zastosowaniem opisywanego leku wynika z wielokierunkowego mechanizmu jego cytotoksycznego działania [8]. Najważniejszym celem działania cisplatyny jest genomowe DNA – po wnikięciu do komórki lek wiąże się z zasadami azotowymi w DNA, prowadząc do powstania wewnątrznicowych adduktów oraz międzyciniowych wiązań krzyżowych [9]. Powstawanie wspomnianych uszkodzeń prowadzi do uszkodzenia materiału genetycznego, co z kolei wywołuje aktywację mechanizmów naprawy DNA, przede wszystkim mechanizmu naprawy przez wycinanie nukleotydu (*nucleotide excision repair* – NER) oraz naprawy niesparowanych zasad (*mismatch repair* – MMR). Gdy mechanizmy te okażą się nieskuteczne, w komórce dochodzi do aktywacji procesu apoptozy i w konsekwencji śmierci komórki [9].

Dodatkowo cisplatyna wywołuje w komórkach stan stresu oksydacyjnego poprzez zwiększenie intensywności produkcji reaktywnych form tlenu, które powodując oksydacyjne uszkodzenia białek, lipidów i DNA, prowadzą do apoptozy komórek nowotworowych [8,10].

Cisplatyna wywołuje także uszkodzenia mitochondrialnego DNA, skutkujące uwolnieniem z tego organelum cytochromu C oraz prokaspazy 9. Uwolnione składniki łączą się z czynnikiem Apaf-1 (*apoptotic protease activating factor 1*) oraz ATP (adenozyno-5'-trifosforan), tworząc apoptosom, który następnie aktywuje kaspazę 9. Aktywowana kaspaza 9, oddziałując z kolejnymi kaspazami, prowadzi do aktywacji kaspaz 3, 6 i 7, które indukują apoptozę komórki [8,10].

Pomimo tak szerokiego spektrum działania cisplatyny komórki nowotworowe zdołały wykształcić szereg mechanizmów pozwalających im na uniknięcie cytotoksycznego działania leku. Do przykładowych mechanizmów cisplatinooporności zalicza się zmiany w funkcjonowaniu transporterów błonowych, wewnątrzkomórkową inaktywację cisplatyny czy też wzrost efektywności działania mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA [11,12].

Ze względu na rosnący problem cisplatinooporności intensywnie poszukuje się nowych metod terapii raka jajnika, spośród których szczególnie zainteresowanie wzbudza terapia skojarzona, czyli terapia polegająca na

jednoczesnym zastosowaniu kilku czynników wykazujących działanie przeciwnowotworowe. Przykładem tego rodzaju leczenia jest opisywana w niniejszej pracy, a także przez innych autorów [13] terapia polegająca na jednoczesnym stosowaniu leku cytostatycznego oraz hipertermii.

Jak wykazała analiza zdjęć wykonanych w trakcie badań, jednoczesne traktowanie komórek linii nowotworowych raka jajnika cisplatyną oraz podwyższoną temperaturą prowadzi do znaczącego wzrostu liczby komórek apoptotycznych w porównaniu z komórkami kontrolnymi (niepoddanymi działaniu leku, hodowanymi w temperaturze 37°C). Zarówno dla linii SKOV-3, jak i TOV-21G największy wzrost skuteczności cytotoksycznego działania cisplatyny zaobserwowano w przypadku połączenia jej stosowania z traktowaniem komórek temperaturą 39°C. W warunkach tych średnia procentowa liczba komórek apoptotycznych w przypadku linii SKOV-3 wynosiła 20,25%, co stanowiło wzrost o 14,29% w stosunku do komórek stanowiących kontrolę. W przypadku linii TOV-21G średnia procentowa liczba komórek apoptotycznych wynosiła 62,37%, co stanowiło wzrost aż o 54,57% w stosunku do próby kontrolnej.

Ponadto w trakcie badań dokonano weryfikacji wpływu terapii kombinowanej, łączącej działanie cisplatyny z hipertermią, na zdolność komórek raka jajnika do migracji. Zdolność komórek do migracji regulowana jest przez liczne białka cytoszkieletu. Ustalono, że w komórkach nowotworowych dochodzi do szeregu zmian w aktywności tych białek, m.in. profiliny, kofiliny, filaminy A czy radyksyny, co w konsekwencji powoduje zmiany w zdolnościach migracyjnych komórek, przyczyniając się do procesu przerzutowania [14,15]. Ze względu na obecność licznych zmian ułatwiających komórkom nowotworowym procesy migracji obniżanie zdolności migracyjnych tych komórek jest ważnym zadaniem leków przeciwnowotworowych.

Analizę wpływu cisplatyny oraz hipertermii na komórki raka jajnika przeprowadzono z wykorzystaniem testu migracji komórek *in vitro*. Szczególnie obiecujące wyniki uzyskano w przypadku traktowania komórek linii SKOV-3 cisplatyną oraz temperaturą 39°C. W przypadku linii komórek TOV-21G największe zahamowanie migracji komórek osiągnięto w przypadku traktowania ich cisplatyną oraz temperaturą 40°C, jednak wyniki te nie były tak obiecujące jak w przypadku linii SKOV-3.

Przeprowadzone w niniejszej pracy badania potwierdzają wzrost efektywności cytotoksycznego działania cisplatyny wobec komórek raka jajnika podczas stosowania leku w połączeniu z łagodną hipertermią – w trakcie badań najlepsze wyniki zaobserwowano dla połączenia cisplatyny i temperatury 39°C. Terapia skojarzona może się okazać skutecznym środkiem umożliwiającym leczenie nowotworu jajnika, nadal jednak





istnieje konieczność dalszych badań w tym zakresie, tak aby możliwe było jej bezpieczne stosowanie u pacjentek.

## WNIOSKI

Uzyskane wyniki wskazują, że jednoczesne traktowanie komórek raka jajnika linii SKOV-3 oraz TOV-21G cisplatyną oraz łagodną hipertermią prowadzi do licznych zmian fenotypowych w komórkach, wskazujących na procesy apoptozy. Zmiany te dotyczyły przede wszystkim struktury, rozmiarów i położenia jądra komórkowego, a także struktury cytoplazmy badanych komórek. Ustalono także, iż jednoczesne działanie na

komórki badanymi czynnikami prowadzi do zmian funkcjonalnych, polegających na hamowaniu ich zdolności do migracji. Hamujący efekt czynników był znacznie silniejszy w stosunku do linii SKOV-3 niż TOV-21G. Uzyskane wyniki sugerują pozytywny wpływ jednoczesnego stosowania hipertermii oraz cisplatyny na skuteczność działania przeciwnowotworowej terapii.

## Finasowanie

Praca została sfinansowana ze środków PCN-1-087/N/1/I oraz PCN-1-87/K/2/I.

## Author's contribution

Study design – I. Bednarek

Data collection – A. Zoń

Data interpretation – I. Bednarek, A. Zoń

Statistical analysis – A. Zoń

Manuscript preparation – A. Zoń, I. Bednarek

Literature research – A. Zoń

## PIŚMIENNICTWO

1. Global Cancer Observatory: Cancer Today, 2020. J. Ferlay, M. Ervik, F. Lam, M. Colombet, L. Mery, M. Piñeros, A. Znaor, I. Soerjomataram, F. Bray [red.] [online] <https://gco.iarc.fr/today> [dostęp: 15.11.2022].
2. Global Cancer Observatory: Cancer Tomorrow, 2020. J. Ferlay, M. Laversanne, M. Ervik, F. Lam, M. Colombet, L. Mery, M. Piñeros, A. Znaor, I. Soerjomataram, F. Bray [red.] [online] <https://gco.iarc.fr/tomorrow> [dostęp: 15.11.2022].
3. Stewart C., Ralyea C., Lockwood S. Ovarian cancer: an integrated review. *Semin. Oncol. Nurs.* 2019; 35(2): 151–156, doi: 10.1016/j.soncn.2019.02.001.
4. Chandra A., Pius C., Nabeel M., Nair M., Vishwanatha J.K., Ahmad S., Basha R. Ovarian cancer: Current status and strategies for improving therapeutic outcomes. *Cancer Med.* 2019; 8(16): 7018–7031, doi: 10.1002/cam4.2560.
5. Cortez A.J., Tudrej P., Kujawa K.A., Lisowska K.M. Advances in ovarian cancer therapy. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2018; 81(1): 17–38, doi: 10.1007/s00280-017-3501-8.
6. Bieg D., Sypniewski D., Nowak E., Bednarek I. MiR-424-3p suppresses galectin-3 expression and sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2019; 299(4): 1077–1087, doi: 10.1007/s00404-018-4999-7.
7. Bieg D., Sypniewski D., Nowak E., Bednarek I. Morin decreases galectin-3 expression and sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2018; 298(6): 1181–1194, doi: 10.1007/s00404-018-4912-4.
8. Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg. Chem.* 2019; 88: 102925, doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102925.
9. Rocha C.R.R., Silva M.M., Quinet A., Cabral-Neto J.B., Menck C.F.M. DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics (Sao Paulo)* 2018; 73(suppl 1): e478s, doi: 10.6061/clinics/2018/e478s.
10. Makovec T. Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. *Radiol. Oncol.* 2019; 53(2): 148–158, doi: 10.2478/raon-2019-0018.
11. Ortiz M., Wabel E., Mitchell K., Horibata S. Mechanisms of chemotherapy resistance in ovarian cancer. *Cancer Drug Resist.* 2022; 5(2): 304–316, doi: 10.20517/cdr.2021.147.
12. Borkar P., Bhandari P., Yadav S., Prabhu A. Cisplatin resistance in ovarian cancer: classical outlook and newer perspective. *Biomed. Pharmacol. J.* 2021; 14(4): 1993–2005, doi: 10.13005/bpj/2297.
13. Shetake N.G., Pandey B.N. Hyperthermia therapy of cancer: need for deeper biological insights for improved therapeutic outcome. *J. Radiat. Cancer Res.* 2019; 10(4): 170–173, doi: 10.4103/jrcr.jrcr.2.20.
14. Aseervatham J. Cytoskeletal remodeling in cancer. *Biology* 2020; 9(11): 385, doi: 10.3390/biology9110385.
15. Shimizu T., Fujii T., Sakai H. The relationship between actin cytoskeleton and membrane transporters in cisplatin resistance of cancer cells. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020; 8: 597835, doi: 10.3389/fcell.2020.597835.



## Electrocardiographic history of pulmonary arterial hypertension – from diagnosis, through pregnancy, to lung transplantation

### Obraz elektrokardiograficzny tętniczego nadciśnienia płucnego – od diagnozy poprzez ciążę do przeszczepienia płuc

Karolina Bula , Marek Grabka , Katarzyna Mizia-Stec 

1<sup>st</sup> Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

The frequency and nature of electrocardiographic changes in patients with pulmonary hypertension varies significantly depending on the severity of the illness. In mild cases, electrocardiogram (ECG) may be normal. We present the consecutive ECGs of a patient with pulmonary arterial hypertension (PAH) in the 5-year course of the disease – from diagnosis to lung transplantation. The described case shows the variability of ECG changes in correlation with the clinical state of the patient. The observed ECG abnormalities in PAH are reversible and in the presented case ECG normalized after lung transplantation.

#### KEYWORDS

electrocardiography, pulmonary arterial hypertension, right ventricular hypertrophy

#### STRESZCZENIE

Częstość i charakter zmian w zapisach elektrokardiograficznych u pacjentów z nadciśnieniem płucnym znacząco różni się zależnie od ciężkości choroby. U pacjentów z łagodnym nadciśnieniem płucnym zapis elektrokardiograficzny (EKG) może być prawidłowy. W niniejszej pracy prezentujemy kolejne zapisy EKG pacjentki z tętnicznym nadciśnieniem płucnym (*pulmonary arterial hypertension* – PAH) w 5-letnim okresie choroby – od postawienia diagnozy aż do przeszczepienia płuc. Opisany przypadek pokazuje różnorodność zmian w zapisach EKG, których nasilenie korelowało ze stanem klinicznym pacjentki. Obserwowane nieprawidłowości w zapisach EKG w przypadku PAH są odwracalne i w prezentowanym przypadku doszło do ich normalizacji po przeszczepieniu płuc.

#### SŁOWA KLUCZOWE

elektrokardiografia, tętnicze nadciśnienie płucne, przerost prawej komory serca

Received: 27.11.2022

Revised: 31.01.2023

Accepted: 09.02.2023

Published online: 17.08.2023

Address for correspondence: lek. Karolina Bula, Doctoral School, 1<sup>st</sup> Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland, ul. **Ziółowa 47**, 40-635 Katowice, tel. +48 32 359 88 90, e-mail: karolina.bula@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## INTRODUCTION

The electrocardiographic changes in patients with pulmonary arterial hypertension (PAH) may vary depending on the severity of the illness. In mild cases, electrocardiogram (ECG) may be normal. The most common findings in moderate and severe cases are right atrial and/or right ventricular hypertrophy (RVH), right ventricular (RV) strain, right axis deviation, right bundle branch block (RBBB), corrected QT (QTc) interval prolongation, sinus tachycardia and atrial arrhythmias [1]. We present the consecutive ECGs of a patient with PAH in the 5-year course of the disease.

## MATERIAL AND METHODS

Standard 12-lead ECGs at rest, two-dimensional and Doppler transthoracic echocardiography (TTE) were performed on admission to hospital. The ECG recordings and TTE were assessed by an experienced cardiologist. There are several ECG parameters used to assess RVH. To evaluate the RVH features in the ECG of the presented patient, we used six well-known criteria [2,3,4]:

- R wave in aVR  $\geq 0.5$  mV
- R wave in V1  $\geq 0.7$  mV
- rSR' pattern in V1–R'  $> 1$ mV (QRS  $< 120$  ms)

- S wave in V5  $> 1$  mV
  - S wave in V6  $> 0.3$  mV
  - R wave in V1 + S wave in V5 or V6  $> 1.05$  mV.
- RV strain was defined as T-wave inversion in the right precordial leads (V1-V3  $\pm$  V4) or inferior leads (II, III, aVF) or a S1Q3T3 pattern (a large S wave in lead I, a Q wave in lead III, and an inverted T wave in lead III).

## CASE REPORT

A 30-year-old female was admitted to hospital due to dyspnoea at rest. Pneumonia, other pulmonary diseases, acute pulmonary embolism and connective tissue disorders were excluded. Sinus rhythm with right axis deviation, RVH and RV strain were present in the ECG at admission (Figure 1).

TTE showed a high probability of pulmonary hypertension. Right heart catheterisation confirmed the diagnosis of severe PAH with a positive response to vasoreactivity testing. Sildenafil and diltiazem were administered and led to improvement in the clinical condition of the patient. After 2-months of treatment the patient was in stable condition, but also 8-weeks pregnant. Our patient decided to maintain the pregnancy. After 6 months from diagnosis, at 25 weeks pregnant, she was in good condition, with no symptoms. The ECG is shown in Figure 2.

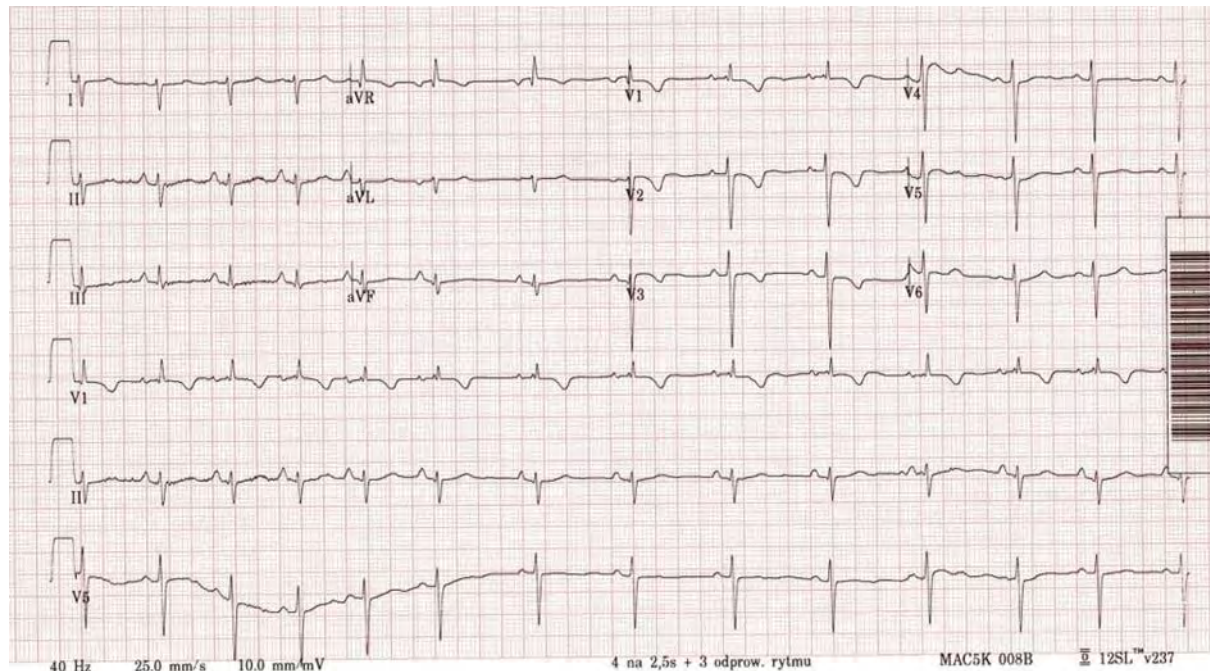


Fig. 1. Electrocardiogram (ECG) at diagnosis.

Ryc. 1. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) w momencie rozpoznania.





The patient was in optimal clinical condition at 30 weeks of gestation. She was admitted to the hospital in the 31<sup>st</sup> week of gestation due to rapid clinical deterioration – rest dyspnoea and low blood pressure. In the ECG, we found sinus tachycardia, features of RVH and RV strain and slight prolongation of the QTc interval (Figure 3). TTE showed severe RV pressure overload. Right heart catheterisation revealed the progression of PAH and negative vasoreactivity testing.

The patient also developed pneumonia. Antibiotics and epoprostenol were administered. An urgent caesarean delivery was necessary 4 days after admission due to bleeding from the genital tract. After delivery the patient was in a critical state, was treated with arteriovenous extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) for 7 days due to deterioration of heart and respiratory failure. After 18 days in the intensive care

unit the patient returned to the cardiology ward, where a Hickman tunnelled catheter was implanted for epoprostenol administration [5]. The ECGs after delivery are presented in Figures 4 and 5.

Two years after the initial diagnosis, the patient was in optimal condition – the World Health Organization functional class I (WHO-FC). Right axis deviation and incomplete RBBB were observed in the ECG without signs of RVH and RV strain (Figure 6).

Four years after diagnosis the patient started to rapidly deteriorate despite optimal treatment. Signs of RVH and RV strain appeared again in the ECG (Figure 7).

The patient met the criteria for lung transplantation (LTx). The procedure was performed 6 months after qualification. Normalization of the ECG was observed after the procedure (Figure 8). A summary of the ECG analyses, TTE parameters and haemodynamic features are shown in Table I.

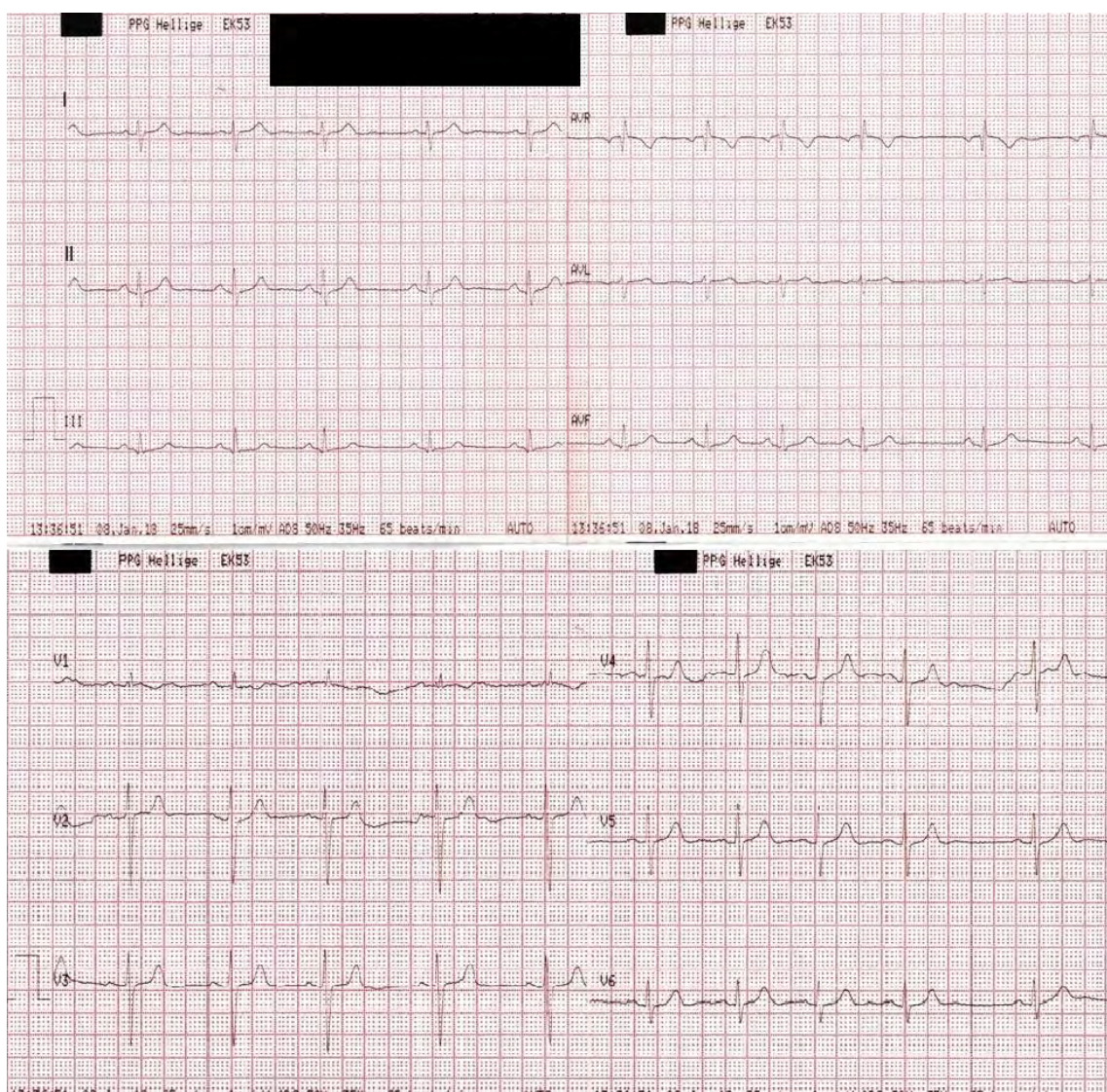


Fig. 2. Electrocardiogram (ECG) at 25-weeks of gestation.  
Ryc. 2. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) w 25. tygodniu ciąży.



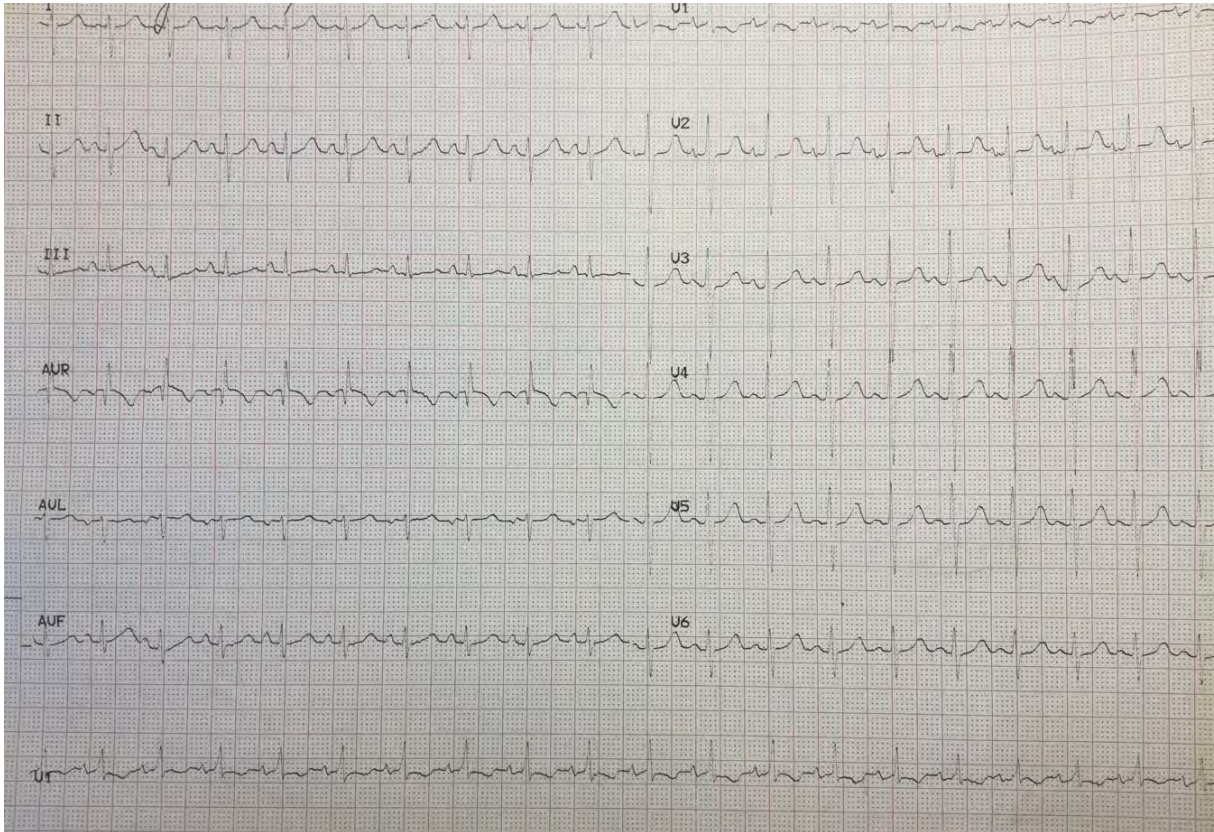


Fig. 3. Electrocardiogram (ECG) at 31<sup>st</sup> week of gestation.

Ryc. 3. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) w 31. tygodniu ciąży.

Raport EKG 12 odprow. (EASI)

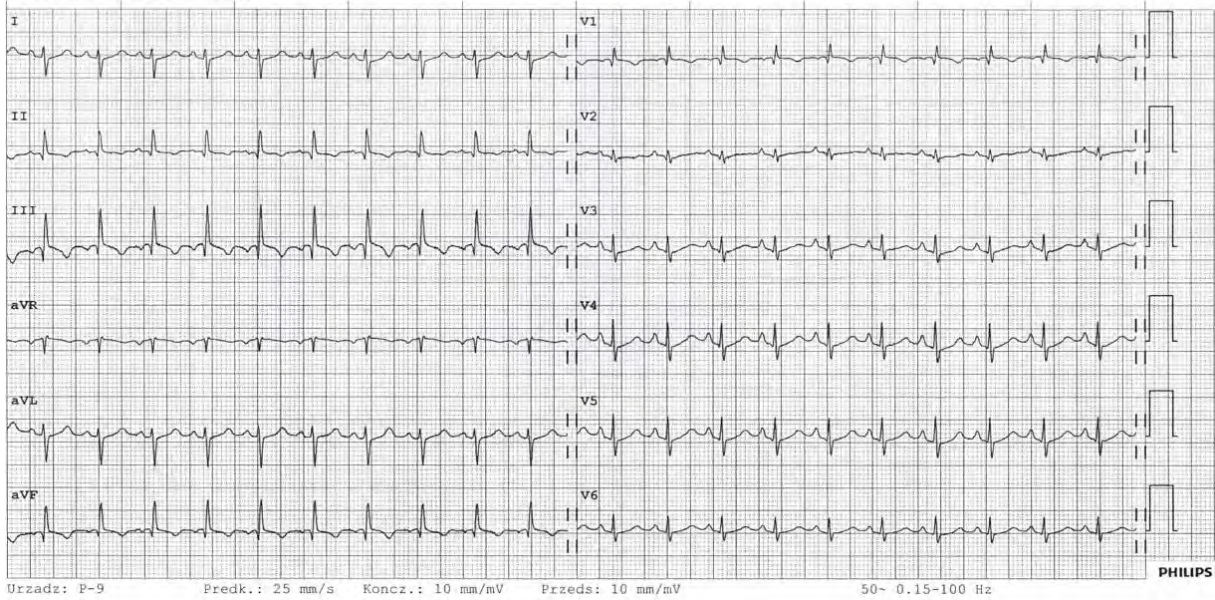


Fig. 4. Electrocardiogram (ECG) 2 days after delivery.

Ryc. 4. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) 2 dni po porodzie.



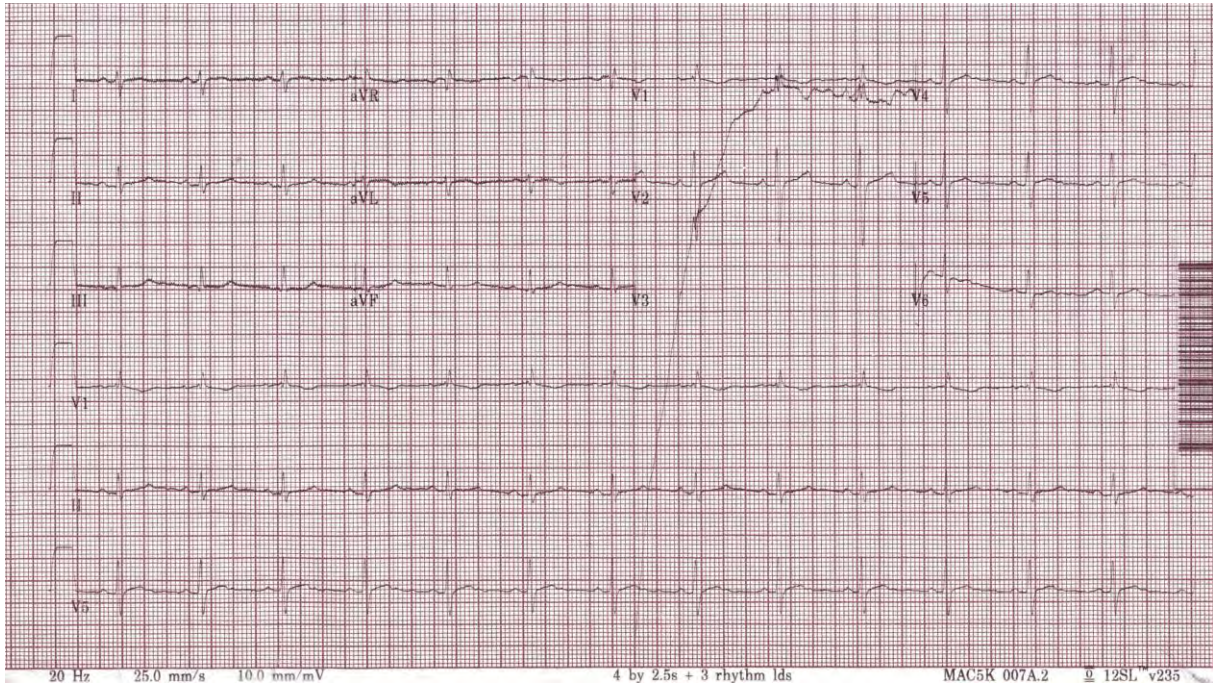


Fig. 5. Electrocardiogram (ECG) 1 month after delivery.  
Ryc. 5. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) miesiąc po porodzie.

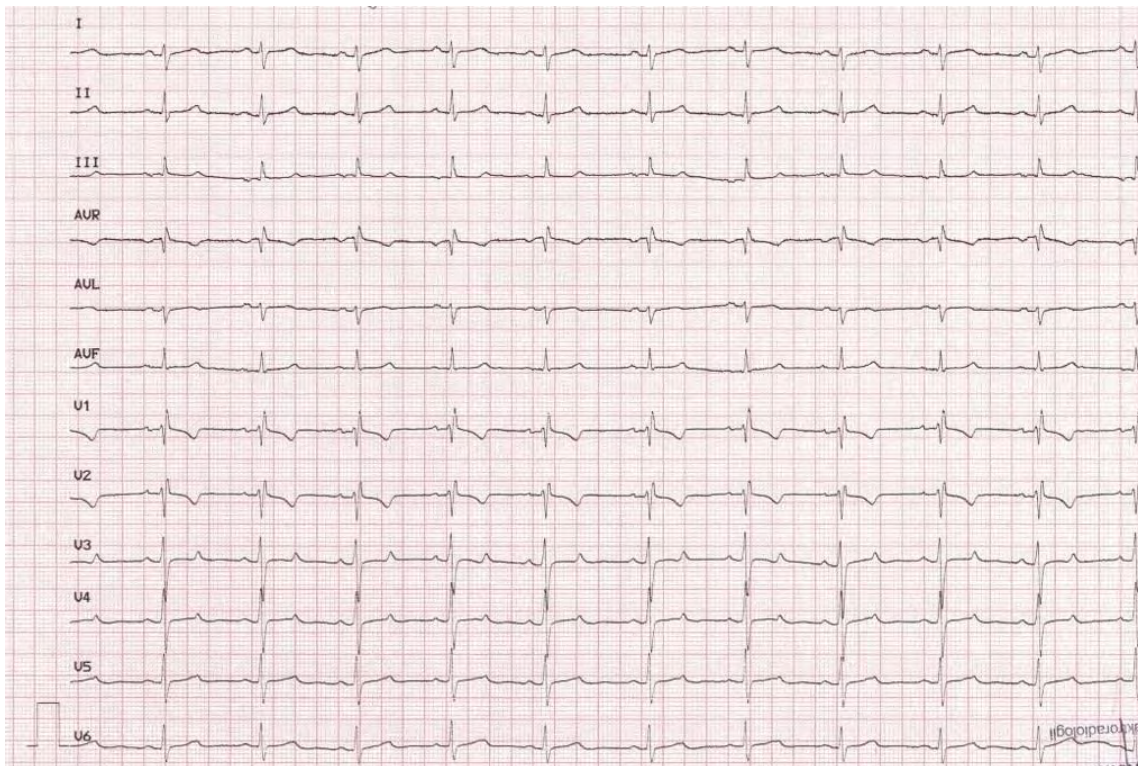


Fig. 6. Electrocardiogram (ECG) 2 years after diagnosis.  
Ryc. 6. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) 2 lata od rozpoznania.



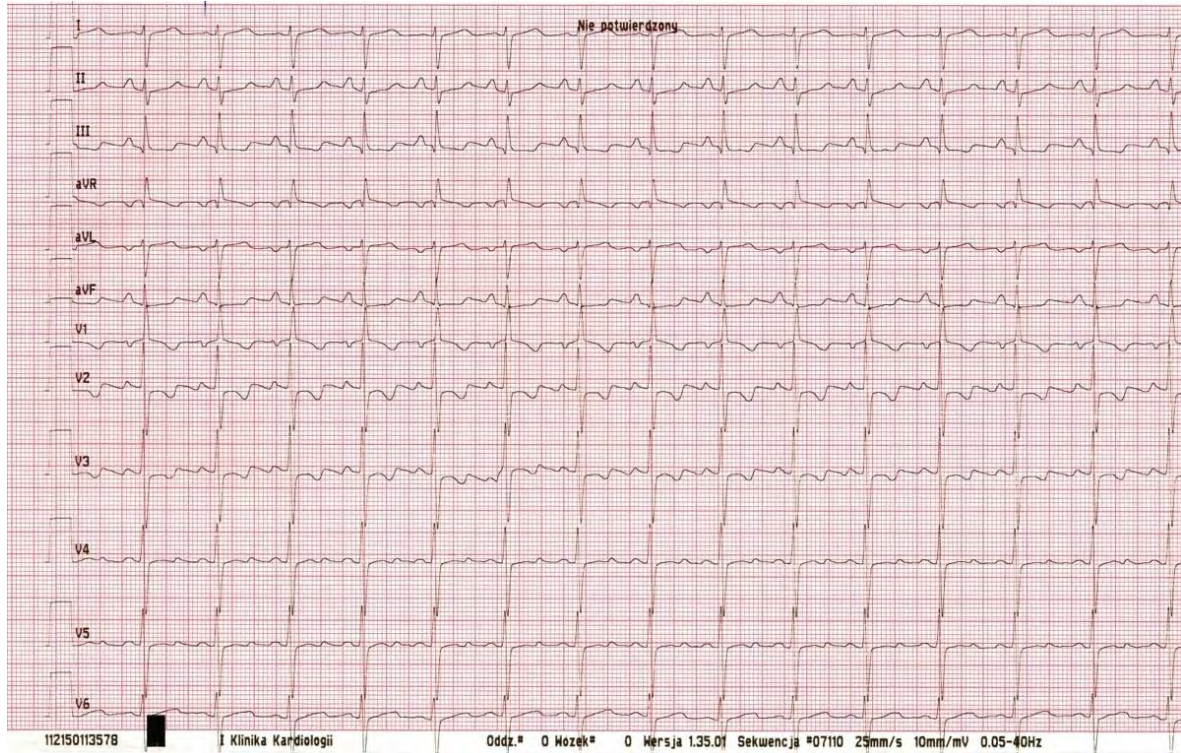


Fig. 7. Electrocardiogram (ECG) 4 years after diagnosis.  
Ryc. 7. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) 4 lata od rozpoznania.

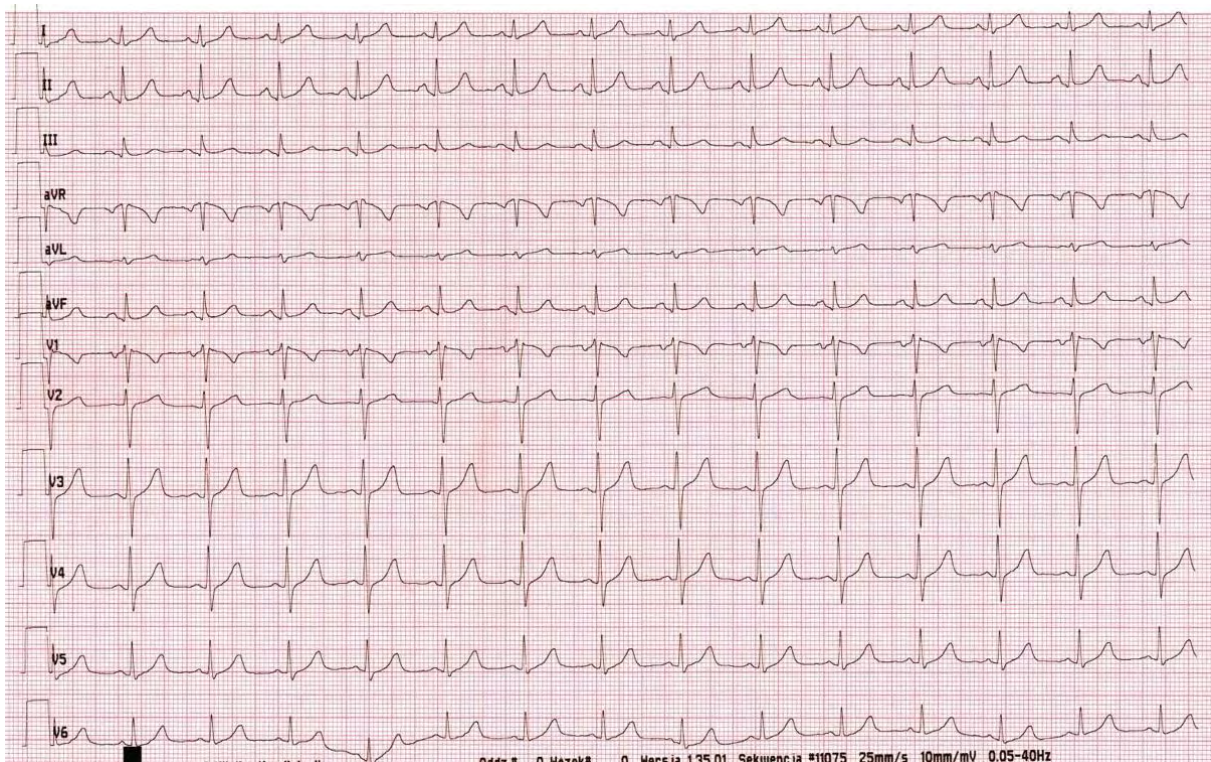


Fig. 8. Electrocardiogram (ECG) 4 months after lung transplantation.  
Ryc. 8. Zapis elektrokardiograficzny (EKG) 4 miesiące po przeszczepieniu płuc.



Table I. Comparison of clinical, echocardiographic, haemodynamic and electrocardiographic features in course of disease  
 Tabela I. Porównanie parametrów klinicznych, echokardiograficznych i elektrokardiograficznych w przebiegu choroby

Variable	Diagnosis	25 wks (6 months after diagnosis)	31 wks	2 days after delivery	1 month after delivery	2 years after diagnosis	4 years after diagnosis	4 month after LTx
WHO-FC	IV	I	IV	IV	III	I	III	I
NT-proBNP (pg/ml)	1835	86	1579	NA	507	166	1638	NA
RHC								
mPAP (mm Hg)	56*	NA	54	61*	32	NA	74	NA
PVR (Wood Unit)	6.7	NA	11.4	NA	–	NA	15.4	NA
TTE								
RAA (cm <sup>2</sup> )	13	14	19	20	17	15	23	12
TAPSE (mm)	16	–	13	12	–	17	15	20
RVSP (mm Hg)	108	78	115	120	87	62	114	NA
Pericardial effusion	no	no	no	no	yes	no	no	no
6 MWT (m)	0	570	NA	NA	NA	400	20	NA
ECG								
HR (bpm)	79	65	130	127	81	66	90	86
Axis	right	right	right	right	right	right	right	normal
1. P wave > 0.25 mV in lead II	no	no	no	no	no	no	no	no
2. Initial positivity of P wave in V1 or V2 ≥ 0.15 mV	no	no	no	yes	no	no	no	no
RVH parameters								
R wave in aVR ≥ 0.5 mV	yes	no	yes	no	no	no	yes	no
R wave in V1 ≥ 0.7 mV	no	no	yes	no	no	no	yes	no
rSR' in V1–R' > 1 mV (QRS < 120 ms)	no	no	–	–	no	no	–	no
S wave in V5 > 1 mV	yes	no	no	no	no	no	yes	no
S wave in V6 > 0.3 mV	yes	yes	yes	no	yes	no	yes	no
R in V1 + S in V5 or V6 > 1.05 mV	yes	no	yes	no	no	no	yes	no
Features of RV strain	yes	no	yes	yes	no	no	yes	no
IRBBB or RBBB	no	no	no	no	no	yes	no	no
QTc (N: ≤ 460 ms)	409	400	464	424	423	425	440	440
AF/AFI/AT	no	no	no	no	no	no	no	no

\* vasoreactive; # via Swan-Ganz catheter

6MWT – six-minute walk test; AF – atrial fibrillation, AFI – atrial flutter; AT – atrial tachycardia; bpm – beats per minutes; ECG – electrocardiogram; wks – weeks of gestation; HR – heart rate; IRBBB – incomplete right bundle branch block; LTx – lung transplantation; mPAP – mean pulmonary artery pressure; NA – not available; NT-proBNP – N-terminal pro-brain natriuretic peptide; PVR – pulmonary vascular resistance; QTc – corrected QT interval; RAA – right atrial area; RBBB – right bundle branch block; RHC – right heart catheterisation; RV – right ventricular; RVH – right ventricular hypertrophy; RVSP – right ventricular systolic pressure; TAPSE – tricuspid annular plane systolic excursion; TTE – transthoracic echocardiography; WHO-FC – the World Health Organization functional class.

## DISCUSSION

The present case focused on the electrocardiographic changes in a patient with PAH in the course of the disease – from diagnosis to LTx. It shows the dynamic ECG changes in correlation with the clinical state of the patient. Right axis deviation was present in all the ECGs until the LTx was performed. The presence of the features of RVH, RV strain and right atrial enlargement seems to be dependent on pulmonary haemodynamics.

There were no significant atrial or ventricular arrhythmia during the observation.

ECG changes are not specific for PAH, however, several studies show a predictive value of ECG in adult PAH patients [6,7,8,9,10,11,12]. Igata et al. [6] demonstrate that the amplitude of RV1+SV5/6 inversely correlates with mean pulmonary artery pressure (mPAP) and right ventricular ejection fraction and patients with an amplitude greater than 16.4 mm had a worse prognosis during follow-up. The study on chronic thromboembolic pulmonary hypertension





patients revealed that the S waves in V5, R waves in V1 + S waves in V5, S waves in I, and the QRS axis were predictors of mPAP  $\geq 30$  mm Hg [7]. Change in mPAP was associated with a change in the amplitudes in the ECG after balloon pulmonary angioplasty (BPA) and improvement in an R in V1 + S in V5 predicts a lower functional class in a 6-month follow-up. The correlation between ECG changes after BPA and haemodynamics was also found in a study by Piłka et al. [13]. Other studies revealed that a decrease in the amplitude of the R wave in V1 during treatment indicates patients with better prognosis [8,10]. Michalski et al. [11] found a correlation with the ECG parameters during six-minute walk test (6MWT), echocardiographic and haemodynamic features of PAH. One study compared the initial ECG with the ECG close to death in patients with PAH, and similar to our presented case, significant progression of changes in the ECG was found [14]. In a study focused on patients with PAH secondary to connective tissue disease, up to 13% of the patients had normal ECG [12]. ECG changes in the paediatric PAH population also are related to the haemodynamic status and long-term prognosis [16]. ECG abnormalities are common in this population and features of RVH and right axis deviation correlated with pulmonary vascular resistance (PVR) and the transpulmonary gradient. ECG evolution after LTx has not been extensively investigated. Most of the studies have focused on arrhythmias after the procedure and their prognostic

values [17,18,19,20,21,22]. Atrial arrhythmias (atrial fibrillation, atrial flutter and atrial tachycardia) occurred in 11–30% of patients after LTx. Kim et al. [17] reported a worse one-year survival in those patients. In a case study of 4 patients with pulmonary hypertension after LTx, a leftward shift in the QRS axis, a decrease in the P-wave amplitude and a reduction in the RV force were observed [23]. Similar findings were described in another case report [24]. ECG is widely accessible, but its prognostic value in PAH patients is underestimated. ECG cannot be used as a screening tool for detecting PAH, because it may be normal, when mild elevation of mPAP is observed.

## CONCLUSIONS

This case shows the variability of ECG changes in correlation with the clinical state of the patient. ECG abnormalities are not specific for PAH; nevertheless, they reflect the severity of RV pressure overload. ECG changes in PAH are reversible and in the presented case, ECG normalization was observed after LTx.

## Funding

This research received no external funding.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

## Author's contribution

Study design – K. Mizia-Stec, K. Bula

Manuscript preparation – K. Bula, K. Mizia-Stec

Literature research – K. Bula, K. Mizia-Stec, M. Grabka

Final approval of the version to be published – K. Mizia-Stec, K. Bula, M. Grabka

## REFERENCES

1. Humbert M., Kovacs G., Hoeper M.M., Badagliacca R., Berger R.M.F., Bida M. et al. 2022 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. *Eur. Heart J.* 2022; 43(38): 3618–3731, doi: 10.1093/eurheartj/ehac237.
2. Myers G.B., Klein H.A., Stofor B.E. The electrocardiographic diagnosis of right ventricular hypertrophy. *Am. Heart J.* 1948; 35(1): 1–40, doi: 10.1016/0002-8703(48)90182-3.
3. Sokolow M., Lyon T.P. The ventricular complex in left ventricular hypertrophy as obtained by unipolar precordial and limb leads. *Am. Heart J.* 1949; 37(2): 161–186, doi: 10.1016/0002-8703(49)90562-1.
4. Zalecenia dotyczące stosowania rozpoznania elektrokardiograficznych. Red.: R. Baranowski, D. Wojciechowski, M. Maciejewska. *Kardiol. Pol.* 2010; 68(supl. IV): 1–56.
5. Glowacki K., Grabka M., Myszor J., Maciejewski T., Witek A., Kuciewicz-Czech E. et al. Pregnant 30-year-old with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Ginekol. Pol.* 2021; 92(3): 252–253, doi: 10.5603/GP.a2020.0156.
6. Igata S., Tahara N., Sugiyama Y., Bekki M., Kumanomido J., Tahara A. et al. Utility of the amplitude of RV1+SV5/6 in assessment of pulmonary hypertension. *PLoS One* 2018; 13(11): e0206856, doi: 10.1371/journal.pone.0206856.
7. Nishiyama T., Takatsuki S., Kawakami T., Katsumata Y., Kimura T., Kataoka M. et al. Improvement in the electrocardiograms associated with right ventricular hypertrophy after balloon pulmonary angioplasty in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2018; 19: 75–82, doi: 10.1016/j.ijcha.2018.05.003.
8. Sato S., Ogawa A., Matsubara H. Change in R wave in lead V1 predicts survival of patients with pulmonary arterial hypertension. *Pulm. Circ.* 2018; 8(2): 2045894018776496, doi: 10.1177/2045894018776496.
9. Bossone E., Paciocco G., Iarussi D., Agretto A., Iacono A., Gillespie B.W. et al. The prognostic role of the ECG in primary pulmonary hypertension. *Chest* 2002; 121(2): 513–518, doi: 10.1378/chest.121.2.513.
10. Waligóra M., Tyrka A., Podolec P., Kopeć G. ECG Markers of hemodynamic improvement in patients with pulmonary hypertension [published correction appears in *Biomed. Res. Int.* 2018; 2018: 1541709]. *Biomed. Res. Int.* 2018; 2018: 4606053, doi: 10.1155/2018/4606053.
11. Michalski T.A., Pszczola J., Lisowska A., Knapp M., Sobkowicz B., Kaminski K. et al. ECG in the clinical and prognostic evaluation of patients with pulmonary arterial hypertension: an underestimated value. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2022; 16: 17534666221087846, doi: 10.1177/17534666221087846.
12. Cheng X.L., He J.G., Liu Z.H., Gu Q., Ni X.H., Zhao Z.H. et al. The value of the electrocardiogram for evaluating prognosis in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Lung* 2017; 195(1): 139–146, doi: 10.1007/s00408-016-9967-z.
13. Piłka M., Darocha S., Banaszekiewicz M., Florczyk M., Wieteska M., Dobosiewicz A. et al. The evolution of electrocardiographic signs of right









- ventricular overload after balloon pulmonary angioplasty in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Pol. Arch. Intern. Med.* 2019; 129(7–8): 451–459, doi: 10.20452/pamw.14877.
14. Tonelli A.R., Baumgartner M., Alkukhun L., Minai O.A., Dweik R.A. Electrocardiography at diagnosis and close to the time of death in pulmonary arterial hypertension. *Ann. Noninvasive Electrocardiol.* 2014; 19(3): 258–265, doi: 10.1111/anec.12125.
15. Ahearn G.S., Tapson V.F., Rebeiz A., Greenfield J.C. Jr. Electrocardiography to define clinical status in primary pulmonary hypertension and pulmonary arterial hypertension secondary to collagen vascular disease. *Chest* 2002; 122(2): 524–527, doi: 10.1378/chest.122.2.524.
16. Lau K.C., Frank D.B., Hanna B.D., Patel A.R. Utility of electrocardiogram in the assessment and monitoring of pulmonary hypertension (idiopathic or secondary to pulmonary developmental abnormalities) in patients  $\leq$  18 years of age. *Am. J. Cardiol.* 2014; 114(2): 294–299, doi: 10.1016/j.amjcard.2014.04.039.
17. Kim B.G., Uhm J.S., Yang P.S., Yu H.T., Kim T.H., Joung B. et al. Clinical significance of postoperative atrial arrhythmias in patients who underwent lung transplantation. *Korean J. Intern. Med.* 2020; 35(4): 897–905, doi: 10.3904/kjim.2018.326.
18. Gandhi S.K., Bromberg B.I., Mallory G.B., Huddleston C.B. Atrial flutter: a newly recognized complication of pediatric lung transplantation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1996; 112(4): 984–991, doi: 10.1016/S0022-5223(96)70099-5.
19. Azadani P.N., Kumar U.N., Yang Y., Scheinman M.M., Hoopes C.W., Marcus G.M. et al. Frequency of atrial flutter after adult lung transplantation. *Am. J. Cardiol.* 2011; 107(6): 922–926, doi: 10.1016/j.amjcard.2010.10.076.
20. Orrego C.M., Cordero-Reyes A.M., Estep J.D., Seethamraju H., Scheinin S., Loebe M. et al. Atrial arrhythmias after lung transplant: underlying mechanisms, risk factors, and prognosis. *J. Heart Lung Transplant.* 2014; 33(7): 734–740, doi: 10.1016/j.healun.2014.02.032.
21. Malik A., Hsu J.C., Hoopes C., Itinarelli G., Marcus G.M. Elevated pulmonary artery systolic pressures are associated with a lower risk of atrial fibrillation following lung transplantation. *J. Electrocardiol.* 2013; 46(1): 38–42, doi:10.1016/j.jelectrocard.2012.07.014.
22. Henri C., Giraldeau G., Dorais M., Cloutier A.S., Girard F., Noiseux N. et al. Atrial fibrillation after pulmonary transplantation: incidence, impact on mortality, treatment effectiveness, and risk factors. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2012; 5(1): 61–67, doi: 10.1161/CIRCEP.111.964569.
23. Kramer M.R., Valentine H.A., Marshall S.E., Starnes V.A., Theodore J. Recovery of the right ventricle after single-lung transplantation in pulmonary hypertension. *Am. J. Cardiol.* 1994; 73(7): 494–500, doi: 10.1016/0002-9149(94)90681-5.
24. Kusano K.F., Date H., Fujio H., Miyaji K., Matsubara H., Nagahiro I. et al. Recovery of cardiac function after living-donor lung transplantation in a patient with primary pulmonary hypertension. *Circ. J.* 2002; 66(3): 294–296, doi: 10.1253/circj.66.294.



## Cardiotoxicity of immunotherapy in lung cancer in light of new ESC guidelines

### Kardiotoksyczność immunoterapii w raku płuca w świetle nowych wytycznych ESC

Gabriela B. Orzeł<sup>1</sup> , Maciej Łydka<sup>2</sup> , Justyna Lewandowska<sup>2</sup> , Julia Stachowiak<sup>2</sup> , Ewelina Szymańska<sup>1</sup> ,  
Katarzyna Mizia-Stec<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>1<sup>st</sup> Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland  
<sup>2</sup>Students' Scientific Club, 1<sup>st</sup> Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

There has been rapid development of anticancer therapies involving monoclonal antibodies targeting immune checkpoints of the immune response. One of them is pembrolizumab (the anti-programmed death receptor 1 ligand – anti-PD-1) used in the treatment of malignant melanoma, non-small cell lung cancer, or triple-negative breast cancer, among others. The case presented in this paper refers to a patient suffering from adenocarcinoma of the lung with multiple metastases and associated diseases. During immunotherapy with pembrolizumab, acute myocarditis was diagnosed. The clinical course of this case study specifically demonstrates how important, in the context of oncology patients treated with immunotherapy, the continuous evaluation and control are of the occurrence of adverse toxic effects associated with anticancer treatment. First of all, potential PD-1 inhibitor cardiotoxicity is rare in patients undergoing therapy with this drug, which significantly hinders accurate differential diagnosis in this direction. Second, this adverse effect, although relatively rare, is often fatal. The following case study describes how, with high doses of glucocorticosteroids, the effects of pembrolizumab-induced toxicity can be effectively muted.

#### KEYWORDS

pembrolizumab, immune inhibitors, acute myocarditis, cardiovascular toxicity

Received: 29.12.2022

Revised: 28.01.2023

Accepted: 13.03.2023

Published online: 18.08.2023

Address for correspondence: **Gabriela B. Orzeł**, 1<sup>st</sup> Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Leszek Giec Upper-Silesian Medical Centre of the Medical University of Silesia in Katowice, ul. Ziołowa 45/47, 40-635 Katowice, tel. +48 511 430 475, e-mail: gabrielaorzel.lekarz@gmail.com



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

Obserwuje się dynamiczny rozwój terapii przeciwnowotworowej z udziałem przeciwciał monoklonalnych ukierunkowanych na odpornościowe punkty kontroli odpowiedzi immunologicznej. Jednym z nich jest pembrolizumab (humanizowane przeciwciało skierowane przeciwko receptorowi programowanej śmierci komórki 1 – anty-PD-1), stosowany w leczeniu m.in. czerniaka złośliwego, niedrobnokomórkowego raka płuc czy potrójnie ujemnego raka piersi. Przedstawiony w niniejszej pracy przypadek kliniczny dotyczy pacjenta chorującego na raka gruczołowego płuca z licznymi przerzutami oraz chorobami towarzyszącymi. W trakcie immunoterapii pembrolizumabem rozpoznano ostre zapalenie mięśnia sercowego. Przebieg kliniczny tej choroby w sposób szczególnie wskazuje na to, jak istotna u pacjentów onkologicznych leczonych immunoterapią jest ciągła ocena i kontrolowanie niepożądanych efektów toksycznych związanych z leczeniem przeciwnowotworowym. Po pierwsze, potencjalna kardiotoxyczność inhibitora PD-1 występuje rzadko u pacjentów poddanych terapii tym lekiem, co znacznie utrudnia precyzyjną diagnostykę różnicową w tym kierunku. Po drugie, ten niepożądany efekt, choć występuje stosunkowo rzadko, często jest śmiertelny. Opisany przypadek wskazuje, w jaki sposób za pomocą wysokich dawek glikokortykosteroidów można skutecznie wyciszać efekty toksyczności wywołanej przez pembrolizumab.

## SŁOWA KLUCZOWE

pembrolizumab, inhibitory immunologiczne, ostre zapalenie mięśnia sercowego, toksyczność sercowo-naczyniowa

## INTRODUCTION

In recent years, there has been a significant increase in cancer detection, and this trend is projected to continue in future decades [1,2]. Modern medicine is striving to find modern solutions – therapies that aim to both improve the quality of and prolong the life of the patient [3,4]. In the last decade, a breakthrough in cancer therapy has been the use of immunotherapy, especially in cases of poor response to chemotherapy and radiotherapy [4]. One of the drugs used as part of cancer immunotherapy is pembrolizumab, an immunoglobulin G subtype 4 (IgG4), monoclonal antibody, an inhibitor of the immune checkpoint protein promoting cell death (PD-1) [5]. In many types of cancer, including lung adenocarcinoma, there is increased expression of the programmed death ligand 1 (PD-L1), which, after binding to its specific PD-1 receptor on the surface of T lymphocytes suppresses the immune system, allowing the cancer to grow [6]. Taking pembrolizumab abolishes this adverse effect and allows the immune system to activate against cancer cells, but also other cells in the body [7]. The increased immune response can lead to a series of adverse effects [7,8,9,10]. The description of the medical case study presented below demonstrates the diagnostic and differential management, as well as decisions on the inclusion of appropriate treatment in a patient, who developed a rare complication of pembrolizumab treatment in the form of myocarditis.

## CASE REPORT

A 69-year-old patient burdened with multiple diseases – right lung adenocarcinoma, bronchial asthma,

persistent atrial fibrillation, hyperlipidemia, urolithiasis, left kidney cysts, gallbladder stones and a history of central nervous system ischemic stroke, is the subject of the report.

In May 2022, the patient was diagnosed with adenocarcinoma of the right lung, with metastasis to lymph nodes – mediastinum, right hilum, visceral and retroperitoneal lymph nodes and to the skeleton. In the Katowice Oncology Center, the decision was made to start immunological treatment with pembrolizumab. The patient received the first infusion of immunotherapy on 06/07/2022. A dose of 2 mg/kg was used, and the cycle was repeated every 3 weeks. During the first week of pembrolizumab treatment, after the third cycle of administration, the patient reported symptoms in the form of pain in the neck and jaw area. The levels of myocardial necrosis markers were determined, noting their significant increase from the baseline values. In addition, during hospitalization in the Katowice Oncology Center, a positive result for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was obtained, with no respiratory symptoms. The patient was transferred for treatment, due to a significant increase in myocardial necrosis markers, to the 1<sup>st</sup> Department of Cardiology, Medical University of Silesia, Katowice. On physical examination, the patient's reported complaints of pain in the neck and jaw area lasting more than 1.5 weeks and a history of nicotine use were noteworthy. The patient denied complaints of a stenocardial nature. The family history was non-burdening.

Laboratory diagnostics were carried out during hospitalization, and transaminasemia, high lactate dehydrogenase, high values of myocardial necrosis markers and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) were detected (Table I).



Table I. Results of patient's laboratory tests on first day of hospitalization in Department of Cardiology; values exceeding accepted laboratory norms are marked in bold

Tabela I. Wyniki badań laboratoryjnych pacjenta podczas pierwszej doby hospitalizacji na oddziale kardiologii; wartości przekraczające przyjęte normy laboratoryjne są oznaczone pogrubionym fontem

Type of laboratory test	Reference value	Result
WBC	4.1–10.9 G/l	9.7 G/l
HB	13–18 g/dl	14.8 g/dl
PLT	150–400 K/ul	223 K/ul
ALT	35–40 U/l	246 U/l
AST	5–40 U/l	275 U/l
GGTP	< 40 U/l	42.6 U/l
FA	20–70 U/l	53 U/l
Bilirubin	0.2–1.1 mg/dl	0.71 mg/dl
Creatinine	< 1.2 mg/dl	0.93 mg/dl
CRP	< 5 mg/l	9.5 mg/l
LDH	120–240 U/l	737 U/l
D-dimers	500 ng/ml	388.83 ng/ml
Troponin T	0.009–0.070 ng/ml	0.500 ng/ml
CK-MB	< 25 U/l	205 U/l
NT-pro-BNP	68–112 pg/ml	1724 pg/ml

WBC – white blood cells; HB – hemoglobin; PLT – platelets; ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; GGTP – gamma-glutamyl transpeptidase; FA – fatty acids; CRP – C-reactive protein; LDH – lactate dehydrogenase; CK-MB – creatine kinase myocardial band; NT-pro-BNP – N-terminal pro-B-type natriuretic peptide

A 12-lead electrocardiogram (ECG) revealed atrial fibrillation (AF), an intermediate heart axis, a maximum ventricular rate of about 100/min, and no myocardial ischemic changes (Figure 1). Transthoracic echocardiography (TTE) revealed a borderline left ventricular ejection fraction (LVEF) – 50%, no segmental left ventricular contractile dysfunction, and increased echogenicity of the left ventricle endocardium (Figure 2). A Holter ECG recorded AF, throughout the test period, with an average QRS complex rate of 68/min. It was decided to perform coronary angiography from the right radial access, with a contrast dose of 50 ml, visualizing small wall lesions of up to 10% in the left anterior interventricular branch of the left coronary artery and small wall lesions of up to 10% in the D1 branch. No lesions were visualized in the main trunk of the left coronary artery, the circumflex branch or the right coronary artery. Acute coronary syndrome was ruled out.

Looking for the cause of the significant increase in myocardial necrosis markers, accompanied by jaw and neck pain symptoms, cardiac magnetic resonance (CMR) was performed. Left ventricle basal segment oedema was visualized (Figure 3a). Using the late gadolinium enhancement (LGE) technique, intimal enhancement was visualized in basal segments of the left ventricle, with no visible coronary scarring, and normal pericardial plaques were imaged (Figure 3b, 3c). Taking into consideration the patient's medical history, medications used during oncology therapy, conducting differential diagnosis, a diagnosis of acute myocarditis in the left ventricular basal segments with preserved systolic function was made.



Fig. 1. 12-lead resting electrocardiogram (ECG) performed at beginning of patient's hospitalization in Department of Cardiology.

Ryc. 1. 12-odprowadzeniowe spoczynkowe badanie elektrokardiograficzne (EKG) wykonane na początku hospitalizacji pacjenta na oddziale kardiologii.

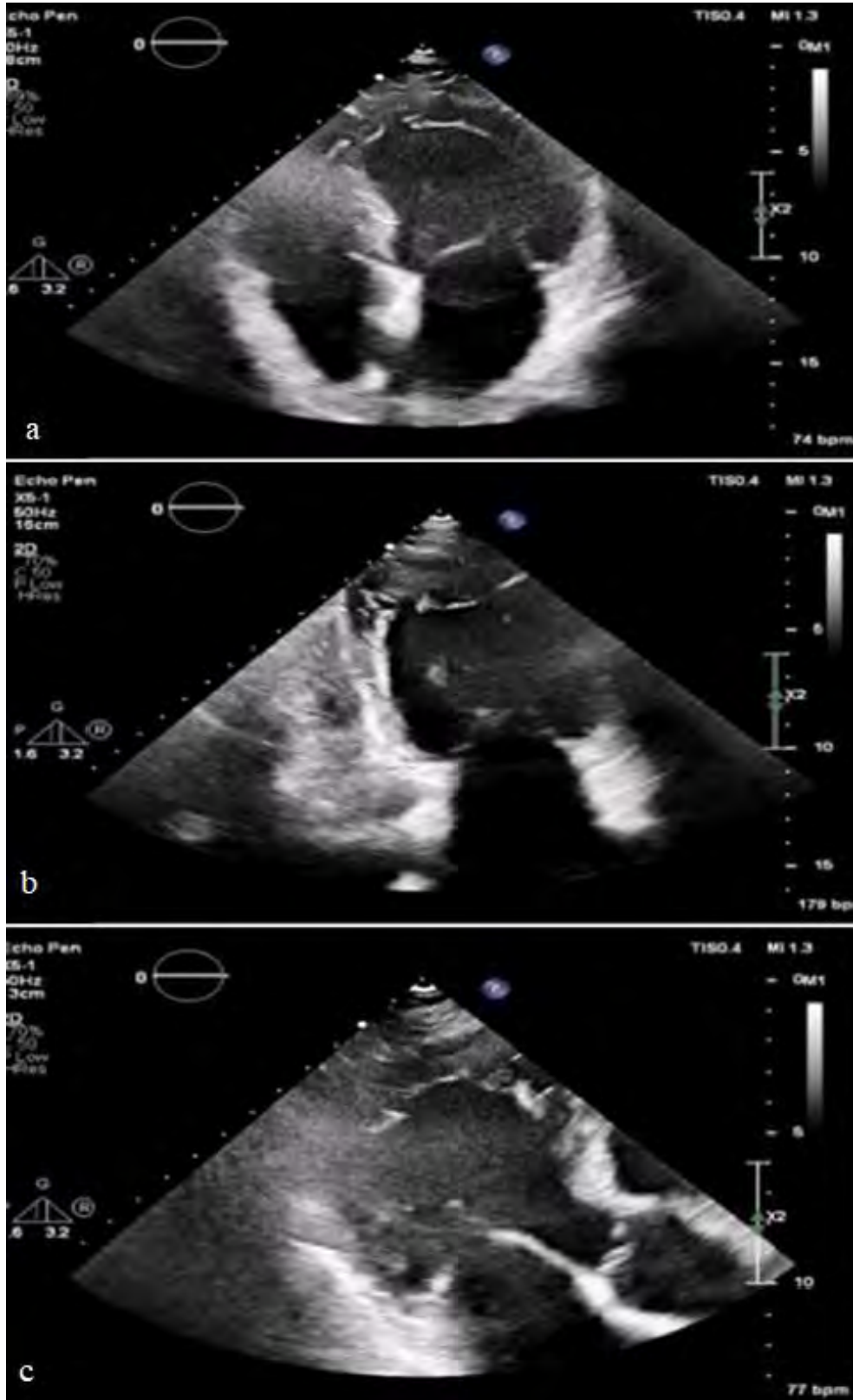


Fig. 2. Transthoracic echocardiography (TTE) – baseline assessment; apical views: a) 4-chamber, b) 2-chamber, c) 3-chamber (arrows – increased echogenicity of left ventricle endocardium).  
Ryc. 2. Badanie echokardiograficzne przezklatkowe (TTE) – obraz wyjściowy; projekcje koniuszkowe: a) 4-jamowa, b) 2-jamowa, c) 3-jamowa (strzałki – wzmożona echogeniczność wsierdzia komory lewej).

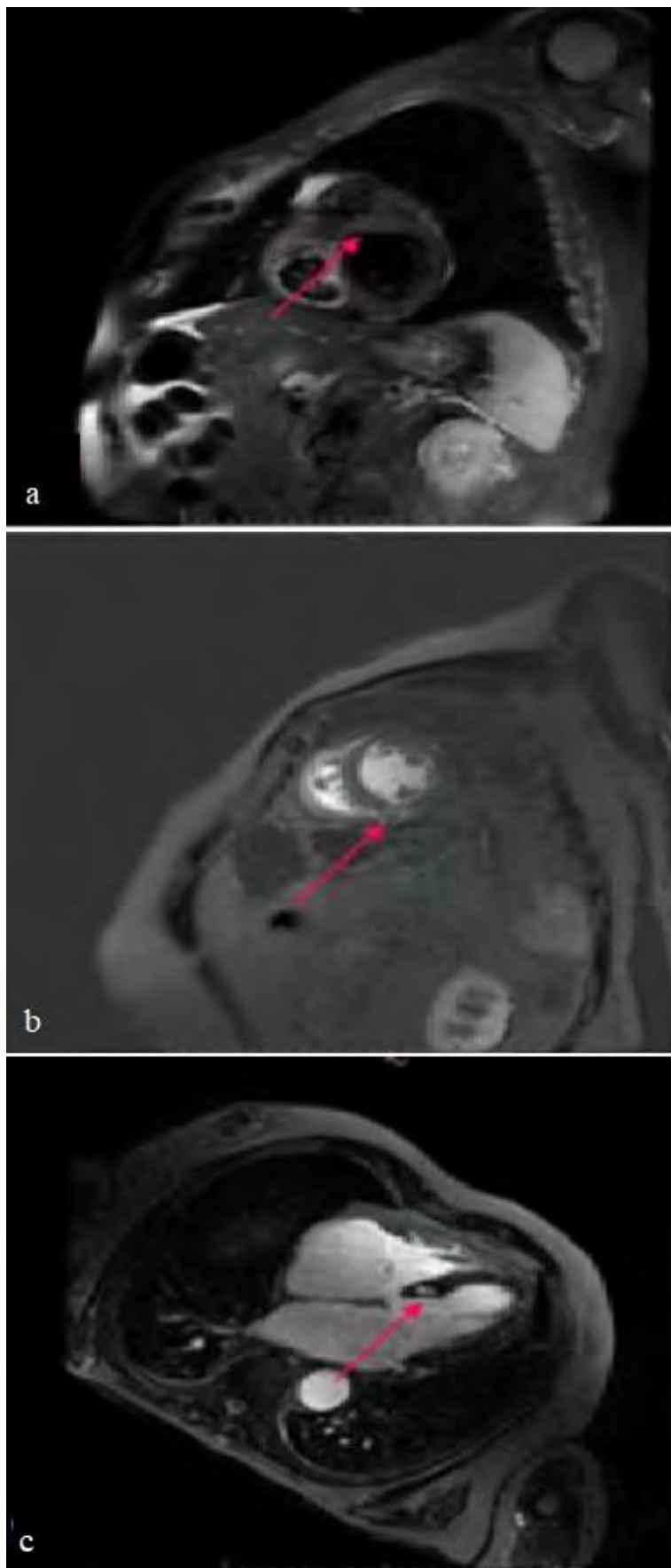


Fig. 3. Cardiac magnetic resonance (CMR) examination: a) T1-mapping – subepicardial late gadolinium enhancement (LGE) in basal segments of left ventricle; transversal view (arrow); b) T1-mapping – LGE localized in inter-ventricular septum; longitudinal view (arrow); without pericardial fluid, normal pericardial plaques.; c) T2-mapping (STIR sequence) – myocardial oedema in basal segments of left ventricle; transversal view (arrow).

Ryc. 3. Obrazowanie za pomocą rezonansu magnetycznego serca (CMR): a) T1-mapping – obecność podnasierdziowego późnego wzmocnienia pokontrastowego (LGE) w segmentach podstawnych lewej komory w projekcji poprzecznej (strzałka); b) T1-mapping – obecność LGE w segmentach przegrody międzykomorowej w projekcji poprzecznej (strzałka); c) T2-mapping (sekwencja STIR) – cechy obrzęku miokardium ściany przedniej komory lewej w projekcji podłużnej (strzałka); bez płynu w worku osierdziowym, prawidłowe blaszki osierdzia.



Considering the toxic effect of pembrolizumab as the most likely cause of myocarditis, the diagnosis and treatment decisions were made guided by the 2022 European Society of Cardiology (ESC) guidelines on cardio-oncology [11]. The criteria for clinical diagnosis are presented in Table II. The patient was started on steroid therapy as soon as possible, with methylprednisolone 1000 mg intravenously once daily for the first 3 days. There was improvement in the laboratory

tests, with reductions in the troponin T, creatine kinase myocardial band (CK-MB) and transaminases values (Table III). It was decided to change the form of steroid therapy to oral. During hospitalization, anticoagulant, ventricular rate controlling AF, combined hypotensive, hypolipemic and gastroprotective pharmacotherapy were administered. The patient was discharged home in stable condition, with recommendations for further treatment in ambulatory patient care.

Table II. Diagnostic criteria for diagnosis of myocarditis as type of cardiotoxicity associated with cancer therapy, based on European Society of Cardiology (ESC) guidelines  
Tabela II. Kryteria diagnostyczne zapalenia mięśnia sercowego jako rodzaju kardiotoxyczności związanej z terapią przeciwnowotworową, na podstawie wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC)

Clinical diagnosis	
increased troponin levels and 1 major or 2 minor criteria	
major criterion	minor criteria
CMR	clinical manifestations
	ventricular arrhythmia
	deterioration of LV systolic function, contractile dysfunction other than TTS
	other immunological side effects (myositis, myasthenia gravis, myopathy)

CMR – cardiovascular magnetic resonance; LV – left ventricle; TTS – Takotsubo syndrome

Table III. Comparison of laboratory tests performed during 5 days of patient's hospitalization in Department of Cardiology  
Tabela III. Porównanie badań laboratoryjnych wykonanych w ciągu 5 dni hospitalizacji pacjenta na oddziale kardiologii

Type of laboratory test	1. day	2. day	3. day	4. day	5. day
Troponin T	0.500 ng/ml	0.363 ng/ml	0.307 ng/ml	–	–
CK-MB	205 U/l	–	–	–	71 U/l
ALT	246 U/l	–	–	–	200 U/l
AST	275 U/l	–	–	–	74 U/l
Creatinine	0.93 mg/dl	–	–	–	0.84 mg/dl

CK-MB – creatine kinase myocardial band; ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase

## DISCUSSION

Immunotherapy has in its arsenal monoclonal antibodies that interfere with so-called immune checkpoints [4,7]. An example of an immune checkpoint inhibitor (ICI) of PD-L1/PD-1 is pembrolizumab [6,7]. Blocking PD-1 prevents it from binding to its partner protein on the T lymphocyte, resulting in inhibition of the immune system's self-tolerance to tumor antigens, resulting in recognition of the tumor and promotion of its elimination [7,11]. Their expression occurs in T and B lymphocytes, thymic T cells, Langerhans cells, the eye, testes, and cardiomyocytes [7]. The therapeutic activity of ICI, by altering immune tolerance, can result in inflammatory side effects (immune-related adverse events – IRAEs) [7]. The pathogenesis of adverse effects is complex, at the molecular level involving an

increase in intracellular calcium overload, increased inflammation through increased expression of nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B), interleukin B4 (IL-B4), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), granzyme B, and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) [7]. The adverse effects described in the literature include type 1 diabetes, hepatitis, thyroiditis, pancytopenia, colitis, keratoacanthoma, scleroderma, myasthenia gravis, and uveitis [6,7,10]. Cases of cardiotoxicity have also been described, e.g. in the form of acute coronary syndrome, atrioventricular block, supraventricular and ventricular arrhythmias, sudden cardiac death, myocarditis, Takotsubo syndrome (TTS), non-inflammatory left ventricular dysfunction, pericarditis, and pericardial effusion [6,12,13].

In the described case, two significant adverse effects can be distinguished in the patient – hepatotoxicity and cardiotoxicity. Elevated liver enzyme levels indicate





liver damage. In the described case, when differentiating the causes of hypertransaminasemia, the possibility of the occurrence of tumor metastases in the liver, hepatotoxicity of the administered immunotherapy, coexisting diseases, and coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection should be taken into account. No liver metastases were detected in the patient under consideration. During the course of COVID-19, liver parameters may be slightly elevated. In a review study by Ammirati et al. [14], the maximum alanine aminotransferase (ALT) value in patients with myocarditis in the course of COVID-19 was 83 U/l, whereas in the case under discussion, it was as high as 246 U/l. Additionally, the described patient was diagnosed with cholelithiasis, which could also account for such elevated liver parameters. The diagnosis of the described patient was carried out in accordance with the 2022 ESC guidelines on cardio-oncology. Cardiotoxicity induced by pembrolizumab has been observed both in patients with pre-existing cardiac conditions as a result of immunotherapy, as illustrated in the case presented here, as well as in patients without a history of heart disease, as demonstrated in the case described by Sh Ahmed et al. [15]. The described patient has a long medical history of sustained AF, a history of ischemic stroke 1 year before the current event, and hyperlipidemia. The described patient, according to ESC guidelines, is categorized as high risk. In accordance with ESC guidelines, the described patient underwent a series of diagnostic tests before the commencement of immunotherapy. Among biochemical tests, troponin T and CK-MB markers were measured. ECG was performed. TTE visualized a slight enlargement of the right ventricle, with no other significant abnormalities.

The analyzed patient showed no signs of infection with the most common viral or bacterial pathogens that cause myocarditis. In addition, there is no history of an autoimmune disease burden. The fact of asymptomatic COVID-19 infection and its possible influence on the development of myocarditis in the analyzed patient was submitted for consideration. COVID-19 binds with high affinity to the human angiotensin-converting enzyme receptor 2, which is widely expressed in the lungs and heart, among others in human body [16]. In the literature, there are data on patients with COVID-19 myocarditis who presented with a full-blown respiratory infection accompanied by cardiomegaly and decreased LVEF [16]. In analyzing the case of our patient, it is difficult to unequivocally determine the parameters that would allow us to determine

whether the occurrence of myocarditis is a consequence of the recent viral infection or whether it is a side effect of the oncological treatment. Based on the findings of the review study, two issues seem to be helpful in this case – the parameters such as the size of the heart and the ejection fraction [14]. Myocarditis after PD-1 therapy is associated with a preserved normal ejection fraction and does not manifest itself in an increase in the dimensions of the heart (or their slight elevation). The diagnosis of COVID-19 myocarditis was rejected as more likely than ICI-dependent myocarditis.

Takotsubo syndrome was also considered in the differential diagnosis. The presence of cancer, ICI as anti-cancer therapy are recognized as predisposing factors to the occurrence of this type of cardiomyopathy [11]. Owing to the lack of fulfilled criteria, especially the confirmation of myocarditis in CMR, this diagnosis was rejected.

The first-line of treatment for ICI-associated myocarditis is steroid therapy, started as soon as possible to reduce major adverse cardiovascular events, including mortality [11]. In the study by Matsumoto et al. [17] a similar case of pembrolizumab-induced cardiotoxicity in a patient was successfully treated with high-dose corticosteroids with good effect. In the case study described here, intravenous methylprednisolone was started, followed by oral prednisone. Su et al. [18] suggest that steroid therapy should be individualized to balance the beneficial effects and adverse effects of immunosuppression. In the case of the described patient, the used dose of steroid therapy resulted in a significant reduction in the values of myocardial necrosis markers, including aminotransferases, illustrating the extinction of the autoimmune process induced by ICI in the liver. Lyon et al. [11] describe cases of patients when systemic steroids are ineffective. Jang et al. [19] present a 48-year-old female patient with metastatic thymoma, who experienced fulminant myositis with cardiotoxicity after receiving one cycle of pembrolizumab treatment. Despite the immediate administration of systemic steroids, the patient's muscle weakness and hypercapnia did not improve. However, the patient recovered fully after undergoing plasma exchange therapy. This case highlights the importance of considering immunoglobulin G administration and plasma exchange as the next course of treatment for steroid-refractory patients. It underscores the significance of recognizing IRAEs, including those affecting the cardiovascular system in patients undergoing immunotherapy [19]. The general procedure is shown in Figure 4.

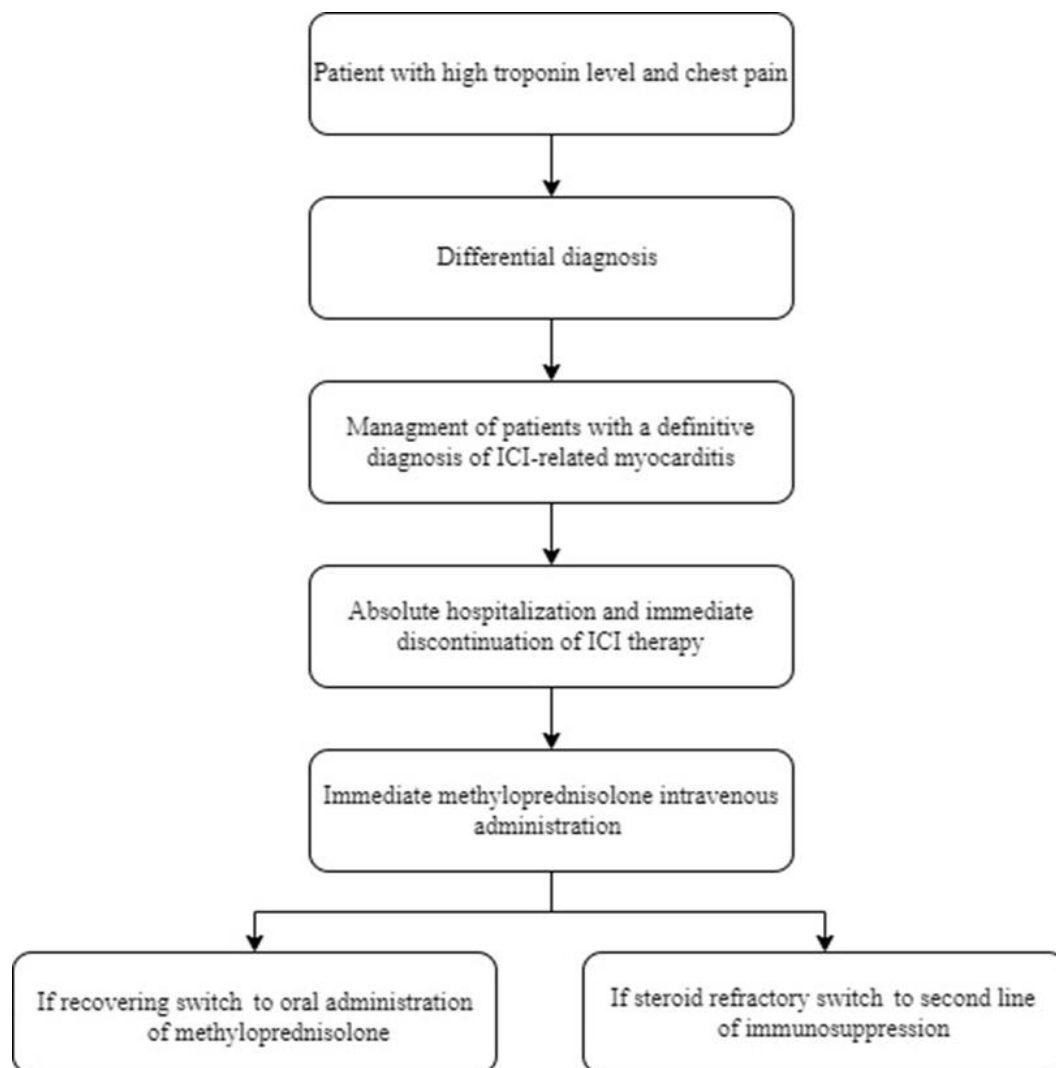


Fig. 4. Scheme of management in patients diagnosed with myocarditis in course of immune checkpoint inhibitor (ICI) immunotherapy based on European Society of Cardiology (ESC) guidelines.

Ryc. 4. Schemat postępowania u pacjentów z rozpoznaniem zapaleniem mięśnia sercowego w przebiegu immunoterapii z zastosowaniem inhibitorów punktów kontrolnych (ICI) na podstawie wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC).

In addition to pharmacological treatment, alternative methods should be considered. The case described in study by Hu et al. [20] demonstrates that timely pacemaker implantation may play a crucial role in improving the outcomes for patients with immune-related myocarditis. This suggests that patients with immune-related myocarditis, concomitant with cardiac conduction system disease, may benefit from the implantation of a pacemaker.

The patient was discontinued from ICI treatment at the stage of suspected cancer therapy-related cardiovascular toxicity (CTR-CVT). After withdrawal of the

symptoms of ICI-associated myocarditis and the discontinuation of oral steroid therapy, discussion within the multidisciplinary teams (MDT) surrounding the patient's care is recommended to review the decision on whether to resume ICI treatment and conduct long-term follow-up, including the rapid identification of cardiovascular disease (CVD) risk factors [11].

The overarching goal of the discipline of cardio-oncology is to enable cancer patients to safely receive the best possible individualized anticancer treatments, minimizing CTR-CVT across the continuum of care [11].

**Author's contribution**

Study design – G.B. Orzeł, M. Łydka, J. Lewandowska, J. Stachowiak, E. Szymańska, K. Mizia-Stec

Manuscript preparation – G.B. Orzeł, M. Łydka, J. Lewandowska, J. Stachowiak

Literature research – G.B. Orzeł, M. Łydka, J. Lewandowska, J. Stachowiak, E. Szymańska, K. Mizia-Stec

Final approval of the version to be published – K. Mizia-Stec

**REFERENCES**

1. Pilleron S., Soto-Perez-de-Celis E., Vignat J., Ferlay J., Soerjomataram I., Bray F. et al. Estimated global cancer incidence in the oldest adults in 2018 and projections to 2050. *Int. J. Cancer* 2021; 148(3): 601–608, doi: 10.1002/ijc.33232.
2. Pilleron S., Sarfati D., Janssen-Heijnen M., Vignat J., Ferlay J., Bray F. et al. Global cancer incidence in older adults, 2012 and 2035: A population-based study. *Int. J. Cancer* 2019; 144(1): 49–58, doi: 10.1002/ijc.31664.
3. Chaturvedi V.K., Singh A., Singh V.K., Singh M.P. Cancer nanotechnology: A new revolution for cancer diagnosis and therapy. *Curr. Drug Metab.* 2019; 20(6): 416–429, doi: 10.2174/1389200219666180918111528.
4. Chaft J.E., Rimner A., Weder W., Azzoli C.G., Kris M.G., Cascone T. Evolution of systemic therapy for stages I–III non-metastatic non-small-cell lung cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2021; 18(9): 547–557, doi: 10.1038/s41571-021-00501-4.
5. Reck M., Rodríguez-Abreu D., Robinson A.G., Hui R., Csőszi T., Fülöp A. et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375(19): 1823–1833, doi: 10.1056/NEJMoa1606774.
6. Upadhrasta S., Elias H., Patel K., Zheng L. Managing cardiotoxicity associated with immune checkpoint inhibitors. *Chronic Dis. Transl. Med.* 2019; 5(1): 6–14, doi: 10.1016/j.cdtm.2019.02.004.
7. Varricchi G., Galdiero M.R., Marone G., Criscuolo G., Triassi M., Bonaduce D. et al. Cardiotoxicity of immune checkpoint inhibitors. *ESMO Open* 2017; 2(4): e000247, doi: 10.1136/esmoopen-2017-000247.
8. Gadgeel S., Rodríguez-Abreu D., Speranza G., Esteban E., Felip E., Dómine M. et al. Updated analysis from KEYNOTE-189: pembrolizumab or placebo plus pemetrexed and platinum for previously untreated metastatic nonsquamous non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2020; 38(14): 1505–1157, doi: 10.1200/JCO.19.03136.
9. Mascolo A., Scavone C., Ferrajolo C., Rafaniello C., Danesi R., Del Re M. et al. Immune checkpoint inhibitors and cardiotoxicity: An analysis of spontaneous reports in eudravigilance. *Drug Saf.* 2021; 44(9): 957–971, doi: 10.1007/s40264-021-01086-8.
10. Johnson D.B., Chandra S., Sosman J.A. Immune checkpoint inhibitor toxicity in 2018. *JAMA* 2018; 320(16): 1702–1703, doi: 10.1001/jama.2018.13995.
11. Lyon A.R., López-Fernández T., Couch L.S., Asteggiano R., Aznar M.C., Bergler-Klein J. et al. 2022 ESC Guidelines on cardio-oncology developed in collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS). *Eur. Heart J.* 2022; 43(41): 4229–4361, doi: 10.1093/eurheartj/ehac244.
12. Thakker R.A., Lee M.A., Albaeni A., Elbadawi A., Suthar K.H., Perez C. et al. Clinical characteristics and outcomes in immune checkpoint inhibitor therapy-associated myocarditis. *Cardiol. Res.* 2021; 12(5): 270–278, doi: 10.14740/cr1319.
13. Läubli H., Balmelli C., Bossard M., Pfister O., Glatz K., Zippelius A. Acute heart failure due to autoimmune myocarditis under pembrolizumab treatment for metastatic melanoma. *J. Immunother. Cancer* 2015; 3: 11, doi: 10.1186/s40425-015-0057-1.
14. Ammirati E., Lupi L., Palazzini M., Hendren N.S., Grodin J.L., Cannistraci C.V. et al. Prevalence, characteristics, and outcomes of COVID-19-associated acute myocarditis. *Circulation* 2022; 145(15): 1123–1139, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.056817.
15. Sh Ahmed O., Mahadevia H., Manochakian R., Zhao Y., Salinas M., Khoor A. et al. A Case of full recovery from prolonged cardiac arrest after infusion with paclitaxel and pembrolizumab. *Case Rep. Oncol.* 2022; 15(3): 1063–1073, doi: 10.1159/000527205.
16. Agdamag A.C.C., Edmiston J.B., Charpentier V., Chowdhury M., Fraser M., Maharaj V.R. et al. Update on COVID-19 myocarditis. *Medicina (Kaunas)* 2020; 56(12): 678, doi: 10.3390/medicina56120678.
17. Matsumoto T., Fukuda K., Yoshida T., Shimazu K., Taguchi D., Shinozaki H. et al. Sudden and severe cardiotoxicity induced with pembrolizumab, its clinical course, therapeutic intervention, and outcome. *Int. Cancer Conf. J.* 2022; 11(1): 81–86, doi: 10.1007/s13691-021-00525-8.
18. Su L., Liu C., Wu W., Cui Y., Wu M., Chen H. Successful therapy for myocarditis concomitant with complete heart block after pembrolizumab treatment for head and neck squamous cell carcinoma: A case report with literature review. *Front Cardiovasc. Med.* 2022; 9: 898756, doi: 10.3389/fcvm.2022.898756.
19. Jang S.Y., Lee S.Y., Lee H.L., Choi J. Early development of pembrolizumab-induced fulminant myositis and cardiotoxicity in a patient with metastatic thymoma. *Respirol. Case Rep.* 2022; 10(9): e01025, doi: 10.1002/rcr2.1025.
20. Hu C., Zhao L., Zhou C., Wang H., Jiang S., Li Y. et al. Pacemakers and methylprednisolone pulse therapy in immune-related myocarditis concomitant with complete heart block. *Open Med. (Wars)* 2022; 17(1): 2109–2116, doi: 10.1515/med-2022-0611.



## Adult cutaneous diphtheria in Poland – a case report and literature overview

### Błonica skóry u dorosłego pacjenta w Polsce – opis przypadku i przegląd literatury

Jakub Fick<sup>1</sup>, Magda Bichalska-Lach<sup>1</sup> , Bartosz Bichalski<sup>1</sup> , Marek Rudzki<sup>1</sup> , Dariusz Waniczek<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Surgical Nursing and Propaedeutics of Surgery, Faculty of Health Sciences in Katowice,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Oncological Surgery, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

*Corynebacterium diphtheriae* (*C. diphtheriae*) is the primary pathogen causing diphtheria, which basically exists in two forms: nasopharyngeal and cutaneous. According to a commonly introduced vaccination programme against diphtheria, pertussis and tetanus (DPT), the incidence of diphtheria has significantly dropped around the world, in some areas disappearing almost completely. However nowadays, we observe the reappearance of diphtheria, especially the cutaneous form, even in countries with very high vaccination rates due to the increasing migration from countries with a lower level of vaccinated citizens.

We present a case study of a Ukrainian immigrant diagnosed with cutaneous diphtheria to raise the awareness of the medical community about this returning disease, its cutaneous form and new medical challenges connected to it. It has been the first reported case of *C. diphtheriae* infection in Poland since 2005. We analysed the most recent articles available in PubMed and Google Scholar databases using criterion keywords such as: “diphtheria case”, “diphtheria case report”, “cutaneous diphtheria”. We selected the most suitable out of approximately 1,700 articles.

The presented case report and analysis of scientific publications on cutaneous diphtheria show the importance of this form of the disease in the modern, post-vaccination era. We claim that the importance of vaccination, self-protection during contact with patients, and awareness of the risks of the medical environment are becoming even more important.

#### KEYWORDS

review, case report, cutaneous diphtheria, diphtheria

Received: 03.02.2022

Revised: 11.03.2022

Accepted: 04.03.2023

Published online: 24.08.2023

Address for correspondence: Jakub Fick, Department of Surgical Nursing and Propaedeutics of Surgery, Faculty of Health Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland, ul. Żeromskiego 7, 41-902 Bytom, tel. +48 32 396 32 03, e-mail: fick.jakub@gmail.com



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

*Corynebacterium diphtheriae* (*C. diphtheriae*) jest pierwotnym patogenem wywołującym błonicę, która zasadniczo występuje w dwóch postaciach: nosowo-gardłowej i skórnej. W związku z powszechnymi szczepieniami przeciwko błonicy, krztuścowi i tężcowi (*diphtheria, pertussis and tetanus* – DPT) częstość występowania błonicy na świecie znacząco zmalała, na niektórych obszarach zanikając niemal całkowicie. W dzisiejszych czasach ponownie obserwujemy przypadki błonicy, zwłaszcza postaci skórnej, nawet w krajach z wysokim wskaźnikiem wyszczepienia, w związku z nasilającą się migracją z krajów o niższym odsetku zaszczepionych obywateli.

Prezentujemy studium przypadku ukraińskiego imigranta ze zdiagnozowaną błonicą skóry, by zwiększyć świadomość środowiska medycznego o tej powracającej chorobie, jej postaci skórnej oraz związanych z tym nowych wyzwaniach. To pierwszy zareportowany przypadek zakażenia *C. diphtheriae* w Polsce od 2005 r. Przeanalizowano najnowsze artykuły dostępne w bazach PubMed i Google Scholar, używając jako kryterium następujących słów kluczowych: „błonica przypadek”, „błonica opis przypadku”, „błonica skóry”. Wybrano artykuły o najwyższej korelacji z ponad 1700 wyników wyszukiwania.

Opis przypadku i analiza publikacji naukowych na temat błonicy skóry pokazują znaczenie tej postaci choroby w nowej, poszczepiennej erze. Twierdzimy, że szczepienia, stosowanie ochrony osobistej podczas kontaktu z pacjentem oraz świadomość środowiska medycznego dotycząca możliwych zagrożeń stają się jeszcze bardziej istotne.

## SŁOWA KLUCZOWE

przegląd, opis przypadku, błonica skóry, błonica

## INTRODUCTION

*Corynebacterium diphtheriae* (*C. diphtheriae*) is a Gram-positive, club-shaped pathogenic bacterium causing diphtheria [1], a respiratory tract disease potentially complicated by systemic effects of exotoxin. However, it is also capable of causing cutaneous and wound infections [2].

We observe toxic strains of *C. diphtheriae*, whose diphtheria toxin (DT) is a determinant of the classic course of the disease and non-toxic strains, considered potential emerging pathogens as they are also capable of causing severe diseases, which are not vaccine-preventable [1]. Diphtheria is an airborne disease in its classic form, observed mainly in the population of children in countries with lower vaccination coverage, or adults living in poor social and hygiene conditions. The most common symptoms of the disease connected to the DT are fever, white/brown pseudomembranes in the nasopharyngeal area, sore throat, enlargement of the lymph nodes and soft tissues of the neck, a characteristic smell of breath, salivation, dysphagia, myocarditis, and paralysis of the soft palate. The incubation period of the disease lasts approx. 2–4 days. Cutaneous diphtheria may be transmitted by direct contact with infected wounds, and the classically described symptoms may not occur.

According to our analysis, the last reported case of diphtheria in Poland was published in 2005. Until then, no cases had been observed since 1996 [2]. Furthermore, the latest reports published by the National Institute of Hygiene in Warsaw do not show any presence of diphtheria in Poland between the years 2010–2017 [3]. The only way to reduce the incidence of the disease is through universal vaccination. Nonetheless, in countries with optimal vaccine coverage, the carrier status of diphtheria is much lower, except among individuals with low immunisation

conditions and people who abuse alcohol [1,4]. The aim of our study was to present a case report and analysis of scientific publications of cutaneous diphtheria as the importance of this form of the disease in the modern, post-vaccination era.

## CASE REPORT

In April 2021, a 41-year-old, neglected Ukrainian immigrant male was admitted to hospital with moderated pain – 6 in Numerical Rating Scale (NRS) and swelling on his left limb. There were also other typical signs of soft tissue inflammation in the left leg area, such as redness, increased warmth and leakage of a serous-purulent content from ulcers (Figure 1). It was the first medical intervention for this reason. The SARS-CoV-2 antigen test was carried out, but the result was negative.



Fig. 1. Wounds on left limb.  
Ryc. 1. Rany w obrębie lewego podudzia.

The patient was aggressive and uncooperative and lived in a poor social environment as a homeless man. The



patient was an active smoker, alcoholic, epileptic and had anaemia. The history of chronic diseases, medications were taken, and family burdens were irrelevant. There was no information about the patient's vaccination history. Physical examination revealed tachycardia (140 bpm), normal blood pressure, and increased body temperature (37.6°C). During palpation, there was a tender, painful, fixed lymphatic node of dimensions about 8 × 10 mm in the left lower limb region. The patient had no symptoms of respiratory tract infection. Some diagnostic tests were taken, such as an X-ray of the left limb, which showed increased irregular shading in the projection of the gastrocnemius muscle. Many small periaortic lymphatic nodes and numerous (approx. 13 mm in short axis long) lymph nodes lying along the left iliac arteries were found in computer tomography (CT), and bigger nodes (up to 17 mm on the short axis) were present in the inguinal region, mostly on the left side. Blood samples and swabs from the inflammatory changes were taken. The results of the blood test are presented in Table I. Empiric antibiotic therapy of ciprofloxacin (400 mg twice daily, intravenous) was initiated. Also, typical analgesic therapy was started with good results.

Table I. Results of blood test on day of admission  
Tabela I. Wyniki badań krwi w dniu przyjęcia

Test	Result	Range of standards
RBCs	3.37 MM/μl	4.63–6.08
Leukocytes	46.04 K/μl	4.23–9.07
Hb	11.5 g/dl	13.7–17.5
Hematocrit	35.7%	40.1–51.0
MCV	105.9 fl	79–92.2
MCH	34.1 pg	25.7–32.2
MCHC	32.2 g/dl	32.3–36.5
Platelets	568 K/μl	150–400
PDW	7.9 fl	9.8–16.1
MPV	8.3 fl	9.4–12.6
P-LCR	11.3%	19.2–47
Neutrophils	43.06 K/μl	2–7
Lymphocytes	0.49 K/μl	1–3
Eosinophils	0.00 K/μl	0.02–0.5
Neutrophils	93%	40–80
Lymphocytes	1.1%	20–40
Eosinophils	0.0%	1–6
Monocytes	1.3%	2–10

RBCs – red blood cells; Hb – hemoglobin; MCV – mean corpuscular volume; MCH – mean corpuscular hemoglobin; MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration; PDW – platelet distribution width; MPV – mean platelet volume; P-LCR – platelet large cell ratio.

During the bacteriological examination, *C. diphtheriae* of the nontoxigenic biotype *gravis* and *Streptococcus* spp. were isolated from the samples taken from the inflammatory changes. The microbiological examination was carried out using a breeding method (under aerobic and anaerobic conditions) and mass spectroscopy for identification. The outcome was compared with the mass spectra library (MDB IVD Library – March 2019).

The patient was admitted in isolation, and all epidemiological procedures were implemented. Due to the lack of information about the patient's vaccinations, he had to be treated as unvaccinated. Because *C. diphtheriae* found in the wounds was resistant to penicillin, imipenem and cilastatin (Tienam 500 mg x 4/day i.v.) were introduced to the treatment, instead of the previous antibiotic, owing to the received antibiogram and hospital antibiotics policy.

The outcome of the treatment was good. The wounds on the left limb were healing very well thanks to applied dressing treatment (Figure 1). Reduced inflammatory indicators were also received. On the 13th day of hospitalisation, an additional pharyngeal swab was taken for microbiological tests, which did not show any presence of *C. diphtheriae*.

The patient was handed over to the Infectious Diseases Department, where he was treated for several days by a continuation of the previous curation. He was discharged in overall good condition, with a healed wound and did not report to the clinic for check-up.

## DISCUSSION

Diphtheria is a disease caused by *C. diphtheriae* infection. We observe two main types of this disease: the respiratory (nasopharyngeal) form and cutaneous form [5,6]. Most of the time, the area of infection is limited, but some cases report the occurrence of bacteremia [2,7]. Prior to the era of childhood vaccination, there were many cases of mainly respiratory diphtheria, especially in the children's age group < 15 years of age [1,8,9]. Two main strains of *C. diphtheriae* were described: toxigenic and nontoxigenic. Both of them can cause cutaneous versions of diphtheria, but the course of the disease and clinical picture differ depending on the bacterial strain. The characteristics for the toxigenic strain are pseudomembranes present on non-healing ulcers. Pseudomembranes are very similar to those found in the parts of the upper respiratory tract, in the classic – nasopharyngeal course of the disease [5]. Such findings were not described in the cases of colonisation by non-toxigenic strains, which seemed to be compatible with the observations from our patient's



case, who presented shallow, rolled-edge ulcers without a blue-grey pseudomembrane in the most common location for such infections [8].

The swabs from our patient's wounds showed the presence of not only *C. diphtheriae* but also *Streptococcus* spp. The dualistic nature of the infection is frequently observed, particularly with the participation of the mentioned pathogens, but frequent coinfection of *C. diphtheriae* and *Staphylococcus aureus* were also described [5,6].

Antibiotic therapy was conducted in accordance with the hospital antibiotics management policy and guidelines. Typically, the first-choice antibiotic is procaine penicillin [10], which could not be used in our case as a consequence of the antibiogram. Bacterial resistance to erythromycin was not tested. Antibiotic therapy against *C. diphtheriae* should be carried out for 14 days [10]. In the present case, there was no need to use diphtheria antitoxin (DAT) because our patient was infected with a non-toxigenic strain and did not present any typical symptoms that DT could cause.

The infection of *C. diphtheriae* may cause a number of complications such as bacteremia, septicemia, myocarditis and endocarditis [1,2,6,7,11]. The diagnostics executed on our patient did not reveal any of those complications, possibly due to the unknown duration of the infection. Nevertheless, additional vaccination during convalescence is recommended in every diphtheria case [10].

The most repeatedly appearing risk factors in case reports of cutaneous diphtheria are: a poor social and economic environment, drug addiction, alcoholism, decreased immunity, low hygiene standards and a lack of vaccination [1,2,6,12,13]. Some authors note that because of increased migration and travel, we can observe the reappearance of diphtheria, even in countries with high vaccination coverage [1,9]. Citizens of developing countries (Indonesia, Bangladesh, Yemen and Venezuela) are especially exposed to diphtheria. However, single outbreaks were described in developed countries in populations with a lower socioeconomic status, whose living conditions were similar to those observed in countries with a higher occurrence of diphtheria [14]. Our patient represented a higher risk group as a homeless alcoholic with poor personal hygiene. Last but not least, he was a Ukrainian immigrant. Recent reports showed that Ukraine has a significantly lower

vaccination level than Poland and most European countries [1]. They also observed 56 cases in 2010–2018 [15], which suggests the continuous presence of *C. diphtheriae* in the population inhabiting this geographical region.

This is a new challenge for not only Polish healthcare but in the whole of Europe. We should consider diseases like diphtheria when examining our patients, especially if they were born, lived or recently travelled to regions with a lower vaccination coverage. It should again emphasise the value of self-protection and disinfection during every contact with a patient. One's own vaccination should be a priority for every medical worker exposed to potential contact with *C. diphtheriae*.

## CONCLUSIONS

The presented case report and analysis of scientific publications of cutaneous diphtheria show the importance of this form of the disease in the modern, post-vaccination era. Medical workers should not underestimate rare diseases like diphtheria, remembering the possible different forms such as cutaneous and nasopharyngeal. Observing the reappearance of diphtheria and its spread from previously endemic places, we claim that the importance of vaccination, self-protection during contact with patients, and awareness of the medical community is becoming increasingly more important at the moment. It is vital in countries with high vaccination coverage, which experience high levels and intensity of immigration and travel, especially from places with lower vaccination standards.

### Ethics statement

All the followed procedures were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Informed consent was obtained from the patient for being included in the study.

### Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

---

#### Author's contribution

Study design – M. Rudzki, D. Waniczek

Manuscript preparation – J. Fick, B. Bichalski, M. Bichalska-Lach

Photography documentation – B. Bichalski

Literature research – J. Fick

Final approval of the version to be published – M. Bichalska-Lach

---



## REFERENCES

1. Sharma N.C., Efstratiou A., Mokrousov I., Mutreja A., Das B., Ramamurthy T. Diphtheria. *Nat. Rev. Dis. Primers* 2019; 5(1): 81, doi: 10.1038/s41572-019-0131-y.
2. Zasada A.A., Zaleska M., Podlasin R.B., Seferynska I. The first case of septicemia due to nontoxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* in Poland: case report. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2005; 4(1): 8, doi: 10.1186/1476-0711-4-8.
3. Sadkowska-Todys M., Zieliński A., Czarkowski M.P. Infectious diseases in Poland in 2017. *Przegl. Epidemiol.* 2019; 73(2): 135–150, doi: 10.32394/pe.73.14.
4. Bergamini M., Fabrizi P., Pagani S., Grilli A., Severini R., Contini C. Evidence of increased carriage of *Corynebacterium* spp. in healthy individuals with low antibody titres against diphtheria toxoid. *Epidemiol. Infect.* 2000; 125(1): 105–112, doi: 10.1017/s0950268899004331.
5. Kates O., Starr K., Bourassa L. The brief case: Nontoxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* in a nonhealing wound. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(12): e00506-20, doi: 10.1128/JCM.00506-20.
6. Lowe C.F., Bernard K.A., Romney M.G. Cutaneous diphtheria in the urban poor population of Vancouver, British Columbia, Canada: a 10-year review. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49(7): 2664–2666, doi: 10.1128/JCM.00362-11.
7. Shanmugam L., Priyadarshi K., Kumaresan M., Sivaradjy M., Upadhyay P., Elamurugan T.P. et al. A rare case report of non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* bloodstream infection in an uncontrolled diabetic with peripheral vascular disease. *Cureus* 2021; 13(5): e14947, doi: 10.7759/cureus.14947.
8. Gower C.M., Scobie A., Fry N.K., Litt D.J., Cameron J.C., Chand M.A. et al. The changing epidemiology of diphtheria in the United Kingdom, 2009 to 2017. *Euro Surveill.* 2020; 25(11): 1900462, doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.11.1900462.
9. Loganathan T., Mohamed P.Y. Adult diphtheria in Malaysia: A case report. *Med. J. Malaysia* 2018; 73(5): 340–341.
10. Surveillance standards for vaccine-preventable diseases [pdf]. 2<sup>nd</sup> ed. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, [online] <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/275754/9789241513920-eng.pdf> [accessed on 23 August 2023].
11. Pachirat O., Kaewkes D., Pussadhamma B., Watt G. *Corynebacterium diphtheriae* native aortic valve endocarditis in a patient with prosthetic mitral valve: A rare presentation. *Cardiol. Res.* 2018; 9(5): 314–317, doi: 10.14740/cr741w.
12. Harnisch J.P., Tronca E., Nolan C.M., Turck M., Holmes K.K. Diphtheria among alcoholic urban adults: A decade of experience in Seattle. *Ann. Intern. Med.* 1989; 111(1): 71–82, doi: 10.7326/0003-4819-111-1-71.
13. Orouji A., Kiewert A., Filser T., Goerd S., Peitsch W.K. Cutaneous diphtheria in a German man with travel history. *Acta Derm. Venereol.* 2012; 92(2): 179–180, doi: 10.2340/00015555-1216.
14. Kandi V., Vaish R. Diphtheria or streptococcal pharyngitis: A case report highlighting the diagnostic dilemma in the post-vaccination era. *Cureus* 2019; 11(11): e6190, doi: 10.7759/cureus.6190.
15. Pikul K.V., Syzova L.M., Ilchenko V.I., Zvyagolska I.M. Diphtheria: Current public health challenge in Ukraine and worldwide (literature review). *Wiad. Lek.* 2021; 74(1): 137–143, doi: 10.36740/WLek202101127.





## Pacjent z CADASIL – wyzwanie diagnostyczne

### Patient with CADASIL – a diagnostic challenge

Julia Węgrzynek<sup>1</sup>, Agnieszka Tomaszewska<sup>2</sup>, Angelika Wawrzek-Witkowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu,  
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach / Students' Scientific Club, Department of Pharmacology,  
Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Poradnia Genetyczna i Diagnostyki Prenatalnej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 1 im. prof. Stanisława Szyszko  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach / The Independent Public Clinical Hospital No.1 Prof. Stanisław Szyszko  
of the Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Mózgowa autosomalnie dominująca arteriopatya z podkorowymi zawałami i leukoencefalopatią (*cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy* – CADASIL) jest uwarunkowaną genetycznie i dziedziczną w sposób autosomalnie dominujący chorobą małych naczyń. Jej wystąpienie wiąże się z mutacją w genie *NOTCH3*. Pierwsze objawy kliniczne pojawiają się w 3. lub 4. dekadzie życia, a poprzedzone są zmianami leukodegeneracyjnymi, które najlepiej uwidacznia rezonans magnetyczny (RM). Częstość występowania choroby określa się na 2–5 osób na 100 000. Obraz kliniczny pacjentów z CADASIL jest heterogenny. Najczęstsze objawy to nawracające udary, przemijające ataki niedokrwienne, przyczyniające się do deficytów poznawczych, oraz migreny z aurą. Pomimo coraz powszechniejszej znajomości CADASIL choroba ta wciąż stanowi wyzwanie diagnostyczne.

**OPIS PRZYPADKU:** 60-letni mężczyzna został skierowany do poradni genetycznej z podejrzeniem CADASIL. Pierwsze symptomy choroby pojawiły się u niego prawdopodobnie w wieku 40 lat (1998 r.) w postaci zmian radiologicznych. Rezonans magnetyczny ujawnił wówczas okołokomorowe obszary hiperintensywnego sygnału w sekwencji T2-za-  
leżnej. W kolejnych latach na podstawie wykonywanych RM pacjenta diagnozowano w kierunku stwardnienia rozsianego oraz ostrego rozsianego zapalenia mózgu. W wieku 58 lat pacjent został przyjęty na oddział neurologii po napadzie padaczkowym. Rezonans magnetyczny wykazał okołokomorowe i nadnamiotowe zmiany istoty białej oraz lakuny poudarowe. Wsunięto podejrzenie, że przyczyną jest CADASIL. W poradni genetycznej diagnozę potwierdzono badaniami genetycznymi. Wykryto wariant patogenny NM\_000435: c.268C > T (p.Arg90Cys).

**WNIOSKI:** W diagnostyce różnicowej CADASIL należy brać pod uwagę choroby demielinizacyjne. Postawienie właściwej diagnozy ułatwia dokładny wywiad rodzinny oraz zestawienie go z wynikami badań obrazowych.

#### SŁOWA KLUCZOWE

CADASIL, *NOTCH3*, stwardnienie rozsiane, ostre rozsiane zapalenie mózgu, udar, leukoencefalopatya, arteriopatya, rezonans magnetyczny

Received: 24.04.2022

Revised: 22.05.2022

Accepted: 13.03.2023

Published online: 13.09.2023

Adres do korespondencji: Julia Węgrzynek, Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jordana 38, 41-808 Zabrze, tel. +48 32 272 26 83, e-mail: s76508@365.sum.edu.pl



Artykuł opublikowany w modelu Open Access i udostępniony na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe (CC BY-SA 4.0), określającej zasady jego wykorzystania. Dozwolone jest kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie i przedstawianie utworu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa i wykonanych modyfikacji utworu, jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie utworu, należy udostępnić swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał. Pełny tekst licencji dostępny na stronie <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.pl>.

Wydawca: Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) is a genetically determined and hereditary cerebral small vessel disease caused by mutations in the *NOTCH3* gene. The onset is in the 3rd and 4th decade of life and is preceded by leukodegenerative changes, which are best visualized by magnetic resonance imaging (MRI). The prevalence of CADASIL is estimated at 2 to 5 people in 100,000. The clinical picture is heterogenous. The main clinical features include recurrent subcortical ischemic events, mood disturbances, progressive cognitive impairment and migraines with aura. Despite the growing recognition of CADASIL, this disease is still a diagnostic challenge.

**CASE REPORT:** A 60-year-old man was referred to the genetic clinic for suspected CADASIL. The initial clinical symptoms probably occurred at the age of 40 in the form of radiological changes. The MRI performed then revealed periventricular zones of a T2 hyperintense signal. Based on follow-up MRIs, the patient was diagnosed with multiple sclerosis or acute disseminated encephalomyelitis. At the age of 58, following a seizure attack he was admitted to hospital and a performed MRI that revealed periventricular white matter degeneration and lacunes. CADASIL was suspected to be the cause. The diagnosis was confirmed by molecular testing. A pathogenic variant NM\_000435: c.268C > T (p.Arg90Cys) was detected.

**CONCLUSIONS:** It is relevant to pay attention to radiological findings and family history in the diagnostic process of a patient presenting symptoms which may suggest CADASIL to differentiate this genetic condition from demyelinating diseases.

## KEYWORDS

CADASIL, *NOTCH3*, sclerosis multiplex, acute disseminated encephalomyelitis, stroke, leukoencephalopathy, arteriopathy, magnetic resonance imaging

## WSTĘP

Mózgowa autosomalnie dominująca arteriopatja z podkorowymi zawałami i leukoencefalopatią (*cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy* – CADASIL) jest dziedziczną autosomalnie dominującą chorobą małych naczyń mózgowych (*small vessel disease* – SVD), obecnie uważaną za jedną z powszechniejszych przyczyn udarów i ośpienia naczyniopochodnego o podłożu genetycznym u osób dorosłych. Częstość występowania choroby określa się na 2–5 osób na 100 000, jednak uważa się, że jest to wartość niedoszacowana, gdyż wielu chorych pozostaje niezdiagnozowanych lub diagnoza jest niewłaściwa. Do 2019 r. zgłoszono ponad 230 przypadków CADASIL [1]. Obecnie diagnostyka choroby opiera się na właściwie przeprowadzonym wywiadzie rodzinnym oraz obrazowaniu za pomocą rezonansu magnetycznego (RM), a diagnoza potwierdzana jest badaniami genetycznymi. Uważana kiedyś za złoty standard biopsja skóry, pozwalająca na wykrycie złogów gęstego osmofilnego materiału (*granular osmiophilic material* – GOM), jest stosowana coraz rzadziej [2].

Do głównych objawów klinicznych CADASIL należą migreny z aurą, przemijające ataki niedokrwienne (*transient ischemic attacks* – TIA), nawracające udary niedokrwienne oraz związany z nimi postępujący spadek funkcji poznawczych i demencja, a także zmiany nastroju [3]. Obok nawracających udarów najczęstszym objawem są migreny. Szacuje się, że występują u ponad 75% chorych [4]. Rzadko prezentowanymi przez pacjentów objawami są napady padaczkowe, ostra encefalopatia, krwotoki śródmózgowe i parkinsonizm [5]. Pierwsze symptomy kliniczne CADASIL

pojawiają się zwykle w 3. lub 4. dekadzie życia. Procesy leukodegeneracyjne rozpoczynają się jednak wcześniej i są widoczne w badaniach radiologicznych, stanowiących jeden z kluczowych elementów w procesie diagnostycznym. W badaniu za pomocą RM można zaobserwować hiperintensywne zmiany istoty białej (*white-matter hyperintensities* – WMHs), najczęściej lokalizujące się w obszarach torebki wewnętrznej, płata skroniowego i okołokomorowo. Do innych zmian uwiadcznianych radiologicznie należą udary lakunarne w obszarze wzgórza, jąder podstawy i mostu oraz mikrokrewawienia w obrębie istoty białej mózgu [6].

Wystąpienie CADASIL związane jest z mutacją w genie *NOTCH3* położonym na chromosomie 19p13.2–p13. Kodowane przez niego białko notch3 jest transbłonowym receptorem ulegającym ekspresji na komórkach mięśni gładkich naczyń (*vascular smooth muscle cells* – VSMCs) i perycytach. Najpowszechniejszym typem mutacji w genie *NOTCH3* jest heterozygotyczna mutacja zmiany sensu (*missense mutation*), która skutkuje dodaniem lub usunięciem reszt cysteinowych w białku notch3 w obrębie 1–34 powtórzenia naskórkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor repeats* – EGFrs) [3,7]. Gen *NOTCH3* składa się z 33 eksonów, spośród których eksony 2–23 charakteryzują się największą częstością występowania wariantów patogennych [8]. Powszechnie prezentowanym w literaturze wariantem jest c.268C > T, zlokalizowany w eksonie 3. Mutacja prowadzi do zamiany argininy na cysteinę w pozycji 90 (p.Arg90Cys). U wielu spośród przedstawianych pacjentów posiadających ten wariant patogenny pierwszym objawem klinicznym była migrena z aurą. W badaniu kohortowym porównującym objawy u 11 członków rodziny z Chile chorujących na CADASIL prawie połowa cierpiała na migreny, które zaczynały się w wieku średnio 26 lat [1].



W 2021 r. ukazała się analiza obejmująca opublikowane już wcześniej dane czternastu rodzin z CADASIL w Grecji. Zaobserwowano podobny średni wiek wystąpienia migren i większą częstość ich występowania w populacji greckiej w porównaniu z kaukaską [9]. Migrena pojawiła się również u chorych z Chin i Izraela [5,6].

Prezentujemy opis przypadku pacjenta z wariantem patogennym NM\_000435: c.268C > T (p.Arg90Cys), u którego nie wystąpiły migreny. Wariant ten jest pierwszym opisywanym w Polsce.

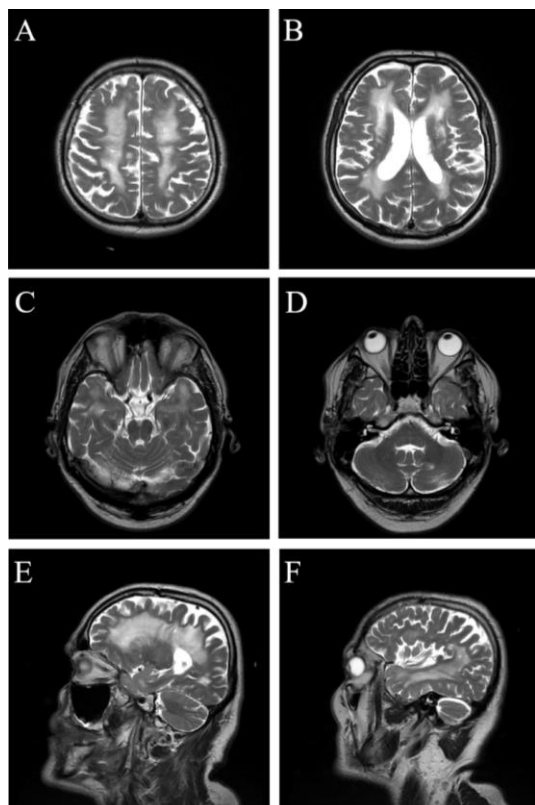
## OPIS PRZYPADKU

Mężczyzna, 60-letni, został skierowany do poradni genetycznej z podejrzeniem CADASIL. W 1998 r. był hospitalizowany z powodu zaburzeń psychiatrycznych wywołanych ostrą encefalopatią i wówczas, w wieku 40 lat, wykonano u niego pierwszy RM głowy. W istocie białej obu półkul opisano przykomorowe zlewne ogniska podwyższonego sygnału w T2, nie wzmacniające się pokontrastowo. W 2000 r. na podstawie tomografii komputerowej (TK), a następnie RM wysunięto podejrzenie stwardnienia rozsianego (*sclerosis multiplex* – SM), jednak nie postawiono jednoznacznej diagnozy. Podczas kolejnej hospitalizacji w 2003 r. rozważano ostre rozsiane zapalenie mózgu (*acute disseminated encephalomyelitis* – ADEM) jako możliwą przyczynę objawów radiologicznych. W 2018 r. w wieku 58 lat pacjent był hospitalizowany na oddziale neurologicznym z powodu napadu padaczkowego. Po przeprowadzeniu badania neurologicznego stwierdzono czterokończynowo wygórowane odruchy ścięgniste z niewielką przewagą po stronie prawej, obustronnie obecne objawy patologiczne w kończynach górnych i dolnych. Pacjent był zdezorientowany allopsychicznie i częściowo autopsychicznie. W trakcie konsultacji psychologicznej wykonano skrócone badanie funkcjonowania poznawczego za pomocą testów ACE-III (*Addenbrooke's Cognitive Examination III – Skala funkcjonowania poznawczego Addenbrooke'a III*) oraz MMSE (*Mini-Mental State Examination – Krótka skala oceny stanu umysłowego*), w których uzyskano odpowiednio wyniki 61/100 i 22/30. Na tej podstawie stwierdzono obniżenie zdolności uczenia się i odtwarzania materiału słuchowo-werbalnego, obniżenie pamięci semantycznej, fluencji słownej, praktyki konstrukcyjnej z zacho-

wanymi podstawowymi funkcjami językowymi. Ponadto stwierdzono obecność persewacji. W wykonanej na oddziale TK (2018 r.) opisano liczne zmiany degeneracyjne istoty białej, prawdopodobnie o podłożu naczyniowym, oraz zmiany mogące świadczyć o przebytych udarach w lewej półkuli mózdku. Rezonans magnetyczny wykazał okołokomorowe i nadnamiotowe rozlane zmiany istoty białej (opisywane już w RM z 1998 r.) oraz lakuny poudarowe, co nasuwało podejrzenie arteriopatii. Wyniki badań obrazowych z 2018 r. wskazywały na progresję zmian w porównaniu z uwidocznionymi we wcześniejszych badaniach. W obrębie mózgowia oraz rdzenia kręgowego w odcinku szyjnym nie stwierdzono cech demielinizacji typowych dla SM/ADEM. Elektroencefalografia uwidoczniła zapis nieprawidłowy o charakterze napadowym, ze zmianami uogólnionymi. W badaniu ultrasonograficznym tętnic szyjnych nie stwierdzono zwężeń. Badanie ogólne płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) nie wykazało istotnych odchyłeń od normy. Stwierdzono nieznacznie podwyższony poziom białka całkowitego (527,03 mg/l przy normie 150–450 mg/l). Wykonano również testy lateksowe w kierunku zakażeń bakteryjnych, uzyskując wyniki ujemne.

Na podstawie wywiadu oraz badań pacjenta skierowano do poradni genetycznej z podejrzeniem zespołu CADASIL. Diagnozę potwierdzono badaniami genetycznymi za pomocą sekwencjonowania nowej generacji (*next generation sequencing* – NGS). Ujawniły one obecność wariantu patogennego NM\_000435: c.268C > T (p.Arg90Cys) w genie *NOTCH3* w układzie heterozygotycznym. Kolejny RM wykonany w 2020 r. wykazał progresję zmian. Widoczne były cechy rozległej degeneracji istoty białej oraz zmiany patologiczne w mózdku o charakterze arteriopatii (ryc. 1).

Wywiad rodzinny pacjenta pozwala przypuszczać, że nosicielem mutacji genetycznej była jego matka, która zmarła z powodu udaru niedokrwiennego w wieku 67 lat. U 58-letniego brata probanta zdiagnozowano otępienie i padaczkę. Jest także niepełnosprawny ruchowo. W RM głowy w 2016 r. zaobserwowano u niego rozległą leukodegenerację istoty białej okołokomorowej z ogniskami naczyniopochodnymi półkul mózgu, w tym lakunami poudarowymi. U 38-letniej córki pacjenta występują migreny. CADASIL nie został u nich potwierdzony badaniami genetycznymi, ponieważ córka probanta nie wyraziła zgody na ich wykonanie.



Ryc. 1. Rezonans magnetyczny mózgowia 60-letniego pacjenta z CADASIL (2020 r.) w sekwencji T-2 zależnej, prezentujący charakterystyczne zmiany: A – rozległe obustronne obszary hiperintensywne w obrębie istoty białej i podkorowo zlewające się w jedną rozległą zmianę, uogólnione zaniki korowe; B – rozległe obustronne okołokomorowe zmiany hiperintensywne, uogólnione zaniki korowe; C – hiperintensywne zmiany w obrębie przednich części płatów skroniowych; D – punktowe zmiany hiperintensywne mózdzku po stronie lewej; E – rozległe obszary hiperintensywne w obrębie głębokiej istoty białej i podkorowo, uogólnione zaniki korowe (płaszczyzna strzałkowa); F – hiperintensywne zmiany w obrębie przedniej części płata skroniowego, uogólnione zaniki korowe (płaszczyzna strzałkowa). CADASIL – mózgowia autosomalnie dominująca arteriopatya z podkorowymi zawałami i leukoencefalopatią (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy).

Fig. 1. Magnetic resonance imaging of brain of a 60-year-old patient with CADASIL (2020) in T-2-weighted sequence showing characteristic changes: A – extensive bilateral hyperintense areas within white matter and subcortical areas merging into one extensive lesion, generalized cortical atrophy; B – extensive bilateral periventricular hyperintense changes, generalized cortical atrophy; C – hyperintense changes within anterior parts of temporal lobes; D – spot hyperintense lesions of left cerebellum; E – extensive hyperintense areas within deep white matter and subcortex, generalized cortical atrophy (sagittal plane); F – hyperintense changes in anterior part of temporal lobe, generalized cortical atrophy (sagittal plane). CADASIL – cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy.

## DYSKUSJA

Obecnie CADASIL jest coraz częściej diagnozowany. Z objawów klinicznych na początku obserwuje się zwykle migreny oraz zdarzenia naczyniowo-mózgowe. Proces diagnostyczny w dużej mierze oparty jest na wynikach badania radiologicznego, pozwalającego na wykrycie zmian już we wczesnych etapach choroby. Oprócz RM kluczową rolę odgrywa dokładny wywiad rodzinny, charakterystyczny dla schorzeń monogenowych o autosomalnie dominującym modelu dziedziczenia. Przedstawiony przypadek stanowił wyzwanie diagnostyczne, co widać po długim odstępie czasowym dzielącym pierwsze objawy od postawienia diagnozy (22 lata). Pacjent diagnozowany był w kierunku ADEM i SM. Podobne problemy diagnostyczne zostały opisane w literaturze.

Mała dostępność testów genetycznych do 2000 r. mogła stanowić przyczynę niektórych pomyłek, w wyniku których CADASIL był diagnozowany m.in. jako SM [10]. Przeprowadzone w 2015 r. badanie ankietowe skierowane do osób z potwierdzoną diagnozą CADASIL wykazało, że 20 z 50 chorych było diagnozowanych w kierunku SM, a 8 z nich otrzymywało leczenie immunomodulujące [11]. Podobny problem diagnostyczny pojawił się u 50-letniej pacjentki, którą udało się zdiagnozować dopiero po 6 latach [12]. Seria opisów przypadków z 2020 r. ukazuje 3 pacjentów diagnozowa-

nych przez około 20 lat w kierunku SM. Objawy pacjentów były heterogenne, jednak u każdego z nich obecne były migreny, postępujące zaburzenia funkcji poznawczych, w tym pamięci, oraz zaburzenia nastroju w postaci depresji. Badania za pomocą RM wykazywały cechy charakterystyczne dla CADASIL, takie jak symetryczne, okołokomorowe obszary podwyższonego sygnału T2, hiperintensywne zmiany w obrębie płatów skroniowych, lakuny poudarowe oraz zaniki korowe. Zmiany te były opisywane wielokrotnie w toku procesu diagnostycznego i ulegały pogłębieniu. W wywiadzie rodzinnym każdego z tych pacjentów występowały ponadto migreny lub przedwczesne udary, co ponownie zwraca uwagę na konieczność przeprowadzenia dokładnego wywiadu w kierunku schorzeń uwarunkowanych genetycznie [13].

Przedstawieni pacjenci podobnie jak probant diagnozowani byli w kierunku ADEM lub SM, co pozwala sądzić, że CADASIL wciąż stanowi duży problem diagnostyczny, zwłaszcza w różnicowaniu z SM.

Zarówno CADASIL, jak i SM rozpoczynają się w wieku dorosłym [5,14]; ADEM występuje częściej w populacji dziecięcej [15]. Przebieg CADASIL jest zazwyczaj przewlekły, postępujący, SM najczęściej rzutowo-remisyjny, natomiast ADEM jednofazowy i poprzedzony zakażeniem. Wywiad rodzinny ma kluczowe znaczenie w diagnostyce chorób genetycznych, więc dokładne jego przeprowadzenie ułatwia odróżnienie ich od schorzeń demielinizacyjnych. Spośród obja-



wów klinicznych istotne w różnicowaniu są migreny z aurą, często występujące w CADASIL. Jednak na podstawie przedstawionego opisu przypadku należy pamiętać, że ich brak nie wyklucza tej choroby. Bóle głowy w SM pojawiają się rzadko, a przypadku ADEM mogą być obecne na początku choroby, wraz z gorączką, złym samopoczuciem, nudnościami i wymiotami. Deficyty poznawcze oraz zaburzenia zachowania, w tym depresja, mogą stwarzać problemy diagnostyczne, ponieważ występują zarówno w CADASIL, jak i w SM. Do badań dodatkowych ułatwiających rozpoznanie należy badanie PMR, w którym można wykryć prążki oligoklonalne charakterystyczne dla pacjentów z SM [2,14,15,16].

Najistotniejsza w przypadku pacjentów z zespołem CADASIL o nietypowym przebiegu wydaje się obecność określonych zmian radiologicznych. Obraz występujący u tych pacjentów obejmuje zwykle trzy typy patologii. Po pierwsze są to obustronne i symetryczne zmiany hiperintensywne istoty białej w charakterystycznych lokalizacjach, takich jak obszar okołokomorowy i głęboka istota biała. Proces degeneracji dotyka głównie okolicy płata czołowego, ciemieniowego, przedniej części płata skroniowego oraz torebki zewnętrznej. Zmiany te nie wzmacniają się po podaniu środka kontrastującego. Drugi typ odchyłań to zawały lakunarne w obrębie środka półowalnego, wzgórza, jąder podstawy i mostu. Ponadto można zaobserwować ogniska świadczące o przebytych mikrokrwawieniach [7,16]. Zarówno zawały lakunarne, jak i mikrokrwawienia stanowią cechę odróżniającą CADASIL od SM i ADEM. Podobnie obecność patologii w obrębie istoty białej w okolicy płata skroniowego i torebki zewnętrz-

nej. W diagnostyce różnicowej należałoby również zwrócić uwagę na wzmocnienie zmian po podaniu środka kontrastującego oraz obecność odchyłań w innych lokalizacjach, bardziej typowych dla SM lub ADEM. Charakterystyczne dla SM jest niejednocześnie wzmocnienie zmian, spełniające kryteria rozsiania w przestrzeni, natomiast u pacjentów z ADEM prawie wszystkie zmiany mogą ulegać wzmocnieniu jednocześnie. W wynikach neuroobrazowania pacjentów z SM można zaobserwować położone prostopadle do ciała migdałowatego zmiany zwane „palcami Dawsona”. W regionie tym mogą być również obecne patologie u chorych na ADEM, jednak są one rzadsze i zwykle niewielkie. Bardziej typowe dla ADEM będą natomiast zmiany położone w obrębie istoty szarej oraz kory. Warto również zwrócić uwagę na obecność oraz rozległość patologii w obrębie rdzenia kręgowego, która stanowi istotną cechę różnicującą przedstawione choroby neurologiczne. Zajęcie mniej niż dwóch segmentów szyjnego odcinka rdzenia kręgowego stanowiłoby podstawę do przypuszczenia, że przyczyną objawów u pacjenta jest SM, natomiast rozległe, wielosegmentowe zmiany wskazywałyby na ADEM. Ponadto ADEM stanowi jednostkę chorobową, w której zmiany radiologiczne mogą być na początku nieobecne, a obraz może zmieniać się w zależności od stopnia zaawansowania choroby. Świadomość tej różnorodności i zmienności również może być pomocna w ocenie badań radiologicznych [14,15,16,17].

Pomimo podobieństwa obrazu klinicznego opisane choroby neurologiczne charakteryzują znacząco różne objawy radiologiczne, stanowiące cenną wskazówkę diagnostyczną (tab. I).

Table I. Porównanie objawów klinicznych, przebiegu, cech charakterystycznych i obrazu radiologicznego CADASIL, SM oraz ADEM  
Tabela I. Comparison of symptoms, clinical course and radiological features of CADASIL, MS and ADEM

Charakterystyka	CADASIL	SM	ADEM
1	2	3	4
Czas wystąpienia pierwszych objawów	40–50 r.ż.	20–40 r.ż.	5–8 r.ż.
Przebieg	przewlekły, postępujący	najczęściej rzutowo-remisyjny, rzadziej postać wtórnie lub pierwotnie postępująca	monofazowy
Wywiad rodzinny	kluczowy, dziedziczenie autosomalnie dominujące	najczęściej niecharakterystyczny	bez znaczenia
Korelacja czasowa z infekcją wirusową/bakteryjną/szczepieniem	brak	brak	obecna
Objawy kliniczne			
Bóle głowy	często migrena z aurą	rzadko	bóle głowy z towarzyszącą gorączką, złym samopoczuciem nudnościami i wymiotami
Deficyty poznawcze i zmiany nastroju	obecne	obecne	nieobecne



1	2	3	4
Badania laboratoryjne			
Badanie PMR	prążki oligoklonalne nieobecne, białko całkowite podwyższone lub w normie	prążki oligoklonalne obecne, podwyższony poziom białka całkowitego	prążki oligoklonalne mogą być obecne, poziom białka całkowitego zazwyczaj podwyższony
Typowe zmiany radiologiczne w RM			
Charakterystyka zmian w obrębie istoty białej	zmiany obustronne, symetryczne; początkowo ogniskowe, stopniowo zlewające się	zmiany obustronne, owalne, dobrze odgraniczone	zmiany obustronne, asymetryczne, różnokształtne słabo odgraniczone
Wzmocnienie po podaniu środka kontrastującego	nieobecne	obecne jednoczasowe występowanie zmian wzmacniających się i nie ulegających wzmocnieniu	możliwe jednoczasowe wzmocnienie wszystkich zmian
Zajęcie płata skroniowego	zazwyczaj obecne	zazwyczaj nieobecne	zazwyczaj nieobecne
Zajęcie torebki zewnętrznej	zazwyczaj obecne	zazwyczaj nieobecne	zazwyczaj nieobecne
Zmiany okołokomorowe	obecne, obustronne i symetryczne	obecne, liczne, niesymetryczne	obecne, nieliczne, niesymetryczne
Zmiany w obrębie ciała migdałowatego	zazwyczaj nieobecne	zazwyczaj obecne, położone prostopadle; tworzą obraz „palców Dawsona”	zazwyczaj nieobecne lub niewielka liczba zmian
Zmiany w obrębie kory lub położone przykorowo	zazwyczaj nieobecne	zazwyczaj nieobecne	zazwyczaj obecne
Zmiany w obrębie rdzenia kręgowego	nieobecne	zazwyczaj obecne w odcinku szyjnym; zajmujące obszar < 2 segmentów	zazwyczaj obecne; zmiany wielopoziomowe
Zawały lakunarne	obecne	nieobecne	nieobecne
Mikrokrwawienia	obecne	nieobecne	nieobecne

CADASIL – mózgową autosomalnie dominująca arteriopatia z podkorowymi zawałami i leukoencefalopatią (*cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*); SM – stwardnienie rozsiane (*sclerosis multiplex*); ADEM – ostre rozsiane zapalenie mózgu (*acute disseminated encephalomyelitis*); r.ż. – rok życia; PMR – płyn mózgowo-rdzeniowy; RM – rezonans magnetyczny.

## WNIOSKI

W procesie diagnostycznym zespołu CADASIL istotna jest dokładna analiza obrazu radiologicznego z wy-

wiadem rodzinnym oraz prezentowanymi przez pacjenta objawami klinicznymi. Powinno to pomóc odróżnić CADASIL od chorób demielinizacyjnych, takich jak SM i ADEM.

## Author's contribution

Study design – J. Węgrzynek, A. Tomaszewska, A. Wawrzekiewicz-Witkowska

Manuscript preparation – J. Węgrzynek, A. Tomaszewska

Literature research – J. Węgrzynek, A. Tomaszewska

Final approval of the version to be published – J. Węgrzynek, A. Tomaszewska

## REFERENCES

- Gallardo A., Latapiat V., Rivera A., Fonseca B., Roldan A., Sandoval P. I wsp. *NOTCH3* gene mutation in a Chilean cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy family. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2020; 29(2): 104530, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.104530.
- Ferrante E.A., Cudrici C.D., Boehm M. CADASIL: new advances in basic science and clinical perspectives. *Curr. Opin. Hematol.* 2019; 26(3): 193–198, doi: 10.1097/MOH.0000000000000497.
- Mizuno T., Mizuta I., Watanabe-Hosomi A., Mukai M., Koizumi T. Clinical and genetic aspects of CADASIL. *Front. Aging Neurosci.* 2020; 12: 91, doi: 10.3389/fnagi.2020.00091.
- Joutel A., Vahedi K., Corpechot C., Troesch A., Chabriat H., Vayssière C. i wsp. Strong clustering and stereotyped nature of *Notch3* mutations in CADASIL patients. *Lancet* 1997; 350(9090): 1511–1515, doi: 10.1016/S0140-6736(97)08083-5.
- Chen X., Deng S., Xu H., Hou D., Hu P., Yang Y. i wsp. Novel and recurring *NOTCH3* mutations in two Chinese patients with CADASIL. *Neurodegener. Dis.* 2019; 19(1): 35–42, doi: 10.1159/000500166.
- Shahien R., Bianchi S., Bowirrat A. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy in an Israeli family. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2011; 7: 383–390, doi: 10.2147/NDT.S19399.



7. Stojanov D., Vojinovic S., Aracki-Trenkic A., Tasic A., Benedeto-Stojanov D., Ljubisavljevic S. i wsp. Imaging characteristics of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leucoencephalopathy (CADASIL). *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2015; 15(1): 1–8, doi: 10.17305/bjbms.2015.247.
8. Locatelli M., Padovani A., Pezzini A. Pathophysiological mechanisms and potential therapeutic targets in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leucoencephalopathy (CADASIL). *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 321, doi: 10.3389/fphar.2020.00321.
9. Paraskevas G.P., Stefanou M.I., Constantinides V.C., Bakola E., Chondrogianni M., Giannopoulos S. i wsp. CADASIL in Greece: Mutational spectrum and clinical characteristics based on a systematic review and pooled analysis of published cases. *Eur. J. Neurol.* 2022; 29(3): 810–819, doi: 10.1111/ene.15180.
10. Stojanov D., Grozdanović D., Petrović S., Benedeto-Stojanov D., Stefanović I., Stojanović N. i wsp. De novo mutation in the *NOTCH3* gene causing CADASIL. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* 2014; 14(1): 48–50, doi: 10.17305/bjbms.2014.2297.
11. Sathe S., Nunziato E.C. How often is CADASIL diagnosed as multiple sclerosis? *Neurology* 2015; 84(Suppl 14): P4.076.
12. Carone D.A. CADASIL and multiple sclerosis: A case report of prolonged misdiagnosis. *Appl. Neuropsychol. Adult* 2017; 24(3): 294–297, doi: 10.1080/23279095.2016.1214132.
13. Khan A., Abedi V., Li J., Malik M.T., Esch M., Zand R. CADASIL vs. multiple sclerosis: Is it misdiagnosis or concomitant? A case series. *Front. Neurol.* 2020; 11: 860, doi: 10.3389/fneur.2020.00860.
14. Klineova S., Lublin F.D. Clinical course of multiple sclerosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2018; 8(9): a028928, doi: 10.1101/cshperspect.a028928.
15. Pohl D., Alper G., Van Haren K., Kornberg A.J., Lucchinetti C.F., Tenenbaum S. et al. Acute disseminated encephalomyelitis. Updates on an inflammatory CNS syndrome. *Neurology* 2016; 87(9 Suppl 2): S38–45, doi: 10.1212/WNL.0000000000002825.
16. Paraskevas G.P., Constantinides V.C., Kapaki E. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leucoencephalopathy vs. multiple sclerosis. Either one or sometimes both? *Neuroimmunol. Neuroinflammation* 2018; 5: 49, doi: 10.20517/2347-8659.2018.50.
17. Adamczyk-Sowa M., Kalinowska A., Siger M., Kułakowska A., Rejda K., Potemkowski A. i wsp. Diagnostyka stwardnienia rozlanego: Rekomendacje Sekcji Stwardnienia Rozlanego i Neuroimmunologii Polskiego Towarzystwa Neurologicznego. *Pol. Przegl. Neurol.* 2021; 17(4): 149–164, doi: 10.5603/PPN.2021.0028.





## The applications of posturography in selected neurological disorders

### Zastosowania posturografii w wybranych schorzeniach neurologicznych

Anna Oczadło<sup>1</sup>, Urszula Kowacka<sup>2</sup>, Barbara Lewicka<sup>1</sup>, Edyta Matusik<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Rehabilitation, Faculty of Health Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland /  
Katedra i Klinika Rehabilitacji, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup>Department of Therapeutic Rehabilitation, Leszek Gieca Upper-Silesian Medical Centre of the Medical University  
of Silesia in Katowice, Poland / Oddział Rehabilitacji Leczniczej, Górnośląskie Centrum Medyczne im. prof. Leszka Gieca  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

#### ABSTRACT

Posturography is one of the objective methods of evaluating human balance. Human balance is the ability to maintain a vertical center of mass (COM) in the support area (base of support – BOS). COM in a homogeneous gravitational field coincides with the center of gravity (COG). The postural control system (PCS) maintains the COG projection in the support area and counteracts the external forces (gravity and inertia force) that destabilize the posture of the human body. Minimizing body deflection is controlled by the central nervous system (CNS). External stimuli are received through visual, atrial, proprioceptive and exteroceptive systems. The information is transmitted to the CNS, which, means of the feedback system, controls the motion system to minimize the risk of falls. The aim of this work is to present the types of posturography: static, dynamic, and follow-up posturography, their use in the objective diagnosis of imbalances, as a tool for rehabilitation and for monitoring the progress of treatment in Parkinson's disease and patients after stroke.

#### KEYWORDS

stroke, rehabilitation, balance, posturography, Parkinson's disease

Received: 03.01.2023

Revised: 05.03.2023

Accepted: 22.03.2023

Published online: 13.09.2023

Address for correspondence: Barbara Lewicka, Katedra i Klinika Rehabilitacji, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Ziolowa 45-47, 40-635 Katowice, tel. +48 32 359 80 00, e-mail: s66755@365.sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

Posturografia jest jedną z obiektywnych metod służących do oceny układu równowagi człowieka. Równowaga człowieka to zdolność do utrzymywania pionowego rzutu środka masy ciała (*center of mass* – COM) w polu powierzchni podparcia (*base of support* – BOS). COM w jednorodnym polu grawitacyjnym pokrywa się z rzutem środka ciężkości ciała (*center of gravity* – COG). System kontroli postawy (*postural control system* – PCS) utrzymuje rzut COG w BOS oraz przeciwdziała siłom zewnętrznym (siłom grawitacji i bezwładności), które wpływają destabilizująco na postawę ciała człowieka. Minimalizowanie wychyłań kontrolowane jest przez ośrodkowy układ nerwowy (*central nervous system* – CNS). Poprzez narządy przedsionkowe i wzroku oraz eksteroreceptory i proprioreceptory odbierane są bodźce zewnętrzne. Informacje o nich przekazywane są do CNS, który poprzez reakcje zwrotne steruje układem ruchu tak, by minimalizować ryzyko upadków. Celem pracy jest zaprezentowanie trzech typów badań posturograficznych: statycznego, dynamicznego i nadażnego, a także przedstawienie zastosowań posturografii do obiektywnej diagnostyki zaburzeń równowagi oraz jako metody służącej do rehabilitacji i monitorowania postępów terapii w chorobie Parkinsona oraz u osób po udarze mózgu.

## SŁOWA KLUCZOWE

udar mózgu, rehabilitacja, równowaga, posturografia, choroba Parkinsona

## INTRODUCTION

Posturography is one of the objective methods of evaluating the human balance system (both in healthy and unhealthy people) [1]. Human balance is the ability to maintain a vertical projection of the center of mass (COM) of the body in the base of support (BOS) surface, which is determined by the contours of the feet adjacent to the ground [2,3,4]. COM in a uniform gravitational field coincides with the projection of the center of gravity (COG) of the body. The vertical setting of the body axis in relation to BOS allows the body to maintain an upright position, which is characteristic for a human being [5,6]. Maintaining postural stability is associated with the need to constantly minimise body tilts so that the COG projection does not move beyond BOS [2,8]. The postural control system (PCS) maintains the COG projection in BOS and counteracts external forces (gravity and inertia) that destabilize the posture of the human body [9]. Minimizing sways is controlled by the central nervous system (CNS). The organ of vision, the vestibular system, exteroceptors and proprioceptors receive external stimuli [5,7]. Information about the stimuli is transferred to CNS, which controls the musculoskeletal system through centrifugal pathways (mainly by influencing the tension of postural muscles, especially the calf muscles) to minimize the risk of falls [8]. The balance can be altered by various, temporary or permanent factors [10]. The study aims to present three types of posturographic examinations: static, dynamic and follow-up posturography, the use of posturography for the objective diagnosis of balance disorders and as a method for rehabilitation and monitoring the progress of therapy in Parkinson's disease and people after stroke.

**Types of posturographic examinations***Static posturography*

Static posturography is a test for which one or two platforms with dimensions of 50 × 50 cm are used. Its strain gauges measure the pressure forces and moments of forces exerted on the ground by the feet of a patient. In the corners of the platform, there are supports with sensors that register changes in the position of COG on the platform. Posturography is usually performed barefoot and begins with the patient being placed on the platform. The test is technically easy to perform and does not require prior patient preparation. Measurements are taken successively in a standing position, with eyes open, and then with eyes closed. This makes it possible to compare the subject's balance with and without visual control [11]. The patient's task during the basic examination is to maintain a static, upright position on the platform for a certain period. The examined person is recommended to focus their eyes on one point, located at a distance of about 1 meter [5,12]. Different positions are also used during the examination, e.g. standing on one leg (left or right), then the foot of the supporting leg is set so that in the sagittal plane the center of the heel is in line with the second metatarsal bone, and the line connecting the medial and the lateral malleolus of this foot is 4 cm beyond the intersection of the sagittal and coronal planes on the posturography platform. The rest of this test is the same as in the bipedal position. The obtained results are transferred to the computer, and then the location of the center of pressure (COP) of the feet is calculated, which in static positions is identical to the COG projection on the support plane. As a result, a statokinesiogram is obtained, i.e. a graph of COP swings (Figure 1) [5,12].

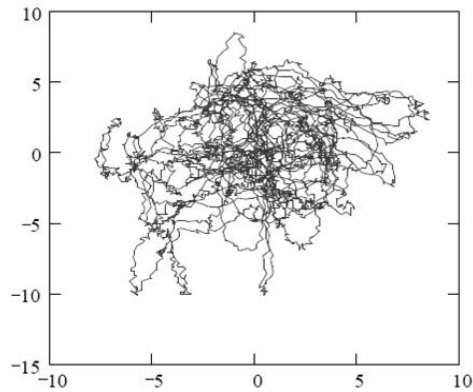


Fig. 1. Example of recording of the center of pressure (COP) movements registered on tensometric platform (authors' source).  
Ryc. 1. Przykładowy zapis przemieszczeń środka nacisku stóp (COP) zarejestrowany na platformie tensometrycznej (materiał własny).

The parameters of the statokinesiogram, i.e. a graphical representation of the foot COP sways, which are taken into account when interpreting the obtained results are:

- Curve length – the length of the path travelled by COG
- Range of swings – is determined in the sagittal and frontal planes, the measure of swing ranges is the difference between the extreme deviations of COG along the corresponding axis
- Area of the developed statokinesiogram – a computer-calculated area of the polygon obtained by connecting the extreme points of the statokinesiogram
- Radius – calculated by enclosing the sway points in a circle or ellipse
- Average velocity – calculated based on the COG travel time (Figure 2) [5].

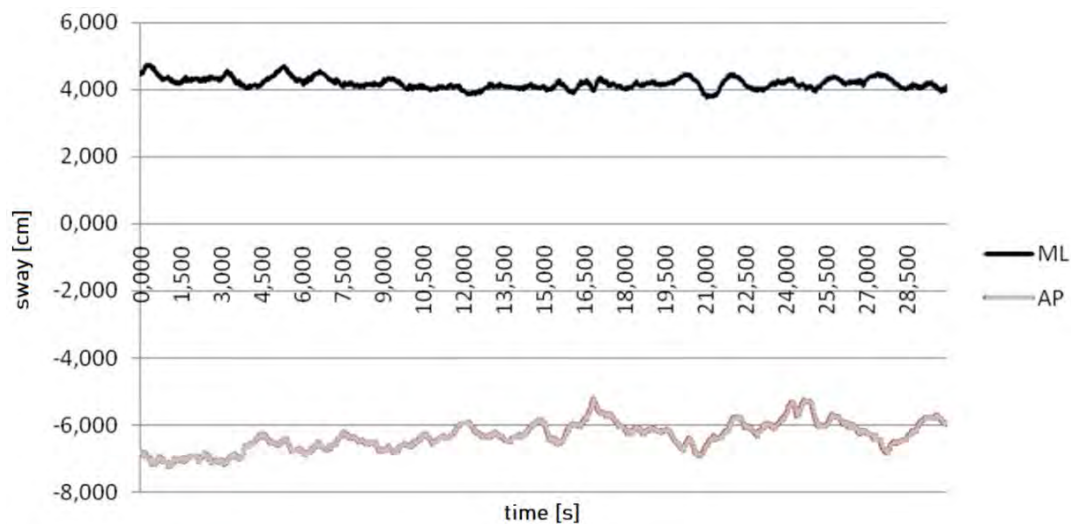


Fig. 2. Averaged recording of changes in the center of pressure (COP) position during free stand with open eyes (authors' source).  
AP – anterior-posterior plane (sagittal); ML – medial-lateral plane (frontal).  
Ryc. 2. Uśredniony zapis zmian położenia środka nacisku stóp (COP) podczas próby swobodnego stania obunóż z oczami otwartymi (materiał własny). AP – płaszczyzna przednio-tylna (strzałkowa); ML – płaszczyzna przyśrodkowo-boczna (czołowa).

The following analytical methods are used to analyze statokinesiogram data:

1. Percentage determination of the amount of COG presence time in each of the quadrants of the coordinate system formed by the sagittal and frontal planes, thanks to which it is possible to determine the load distribution of the lower limbs and determine the patient's natural posture.
2. The Fast Fourier Transformation (FFT) method, which is used to determine the frequency of COG movement specific to a given person [5].

#### Dynamic posturography

Dynamic posturography allows the precise determination of balance problems. An important element that distinguishes this test from a standard

static test is forcing the examined person to react under the influence of a sudden movement of the platform or other stimulus that destabilizes the patient's body [5].

Several types of tests are used in this examination:

1. Motor Control Test (MCT) – assesses the patient's ability to quickly and automatically regain a stable posture after an unexpected external provocation, destabilizing the static position. Destabilization is achieved by changing the COP position performed by the subject (e.g. in an attempt to tilt the body as far forward or backward as possible; Figure 3A and 3B) or through a sequence of small, medium and large forward and backward shifts of the platform that cause an immediate postural response. The measurements include time, force, and lateral symmetry of the response [5,13].

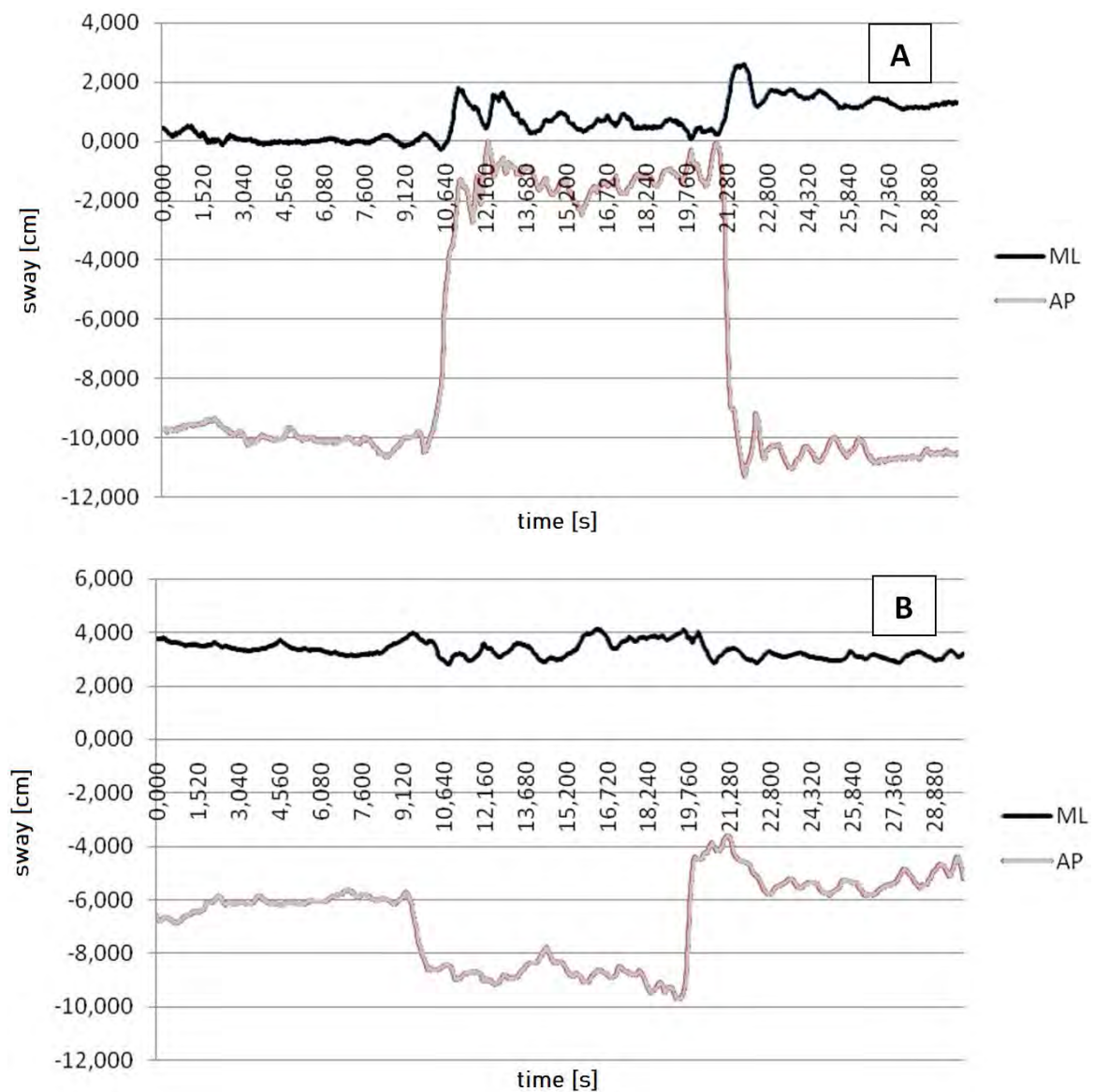


Fig. 3. Averaged recording of changes in the center of pressure (COP) position during free deflection (A) forward and (B) backwards with open eyes (authors' source). AP – anterior-posterior plane (sagittal); ML – medial-lateral plane (frontal).

Ryc. 3. Uśredniony zapis zmian położenia środka nacisku stóp (COP) podczas próby swobodnego wychylenia w przód (A) i w tył (B) z oczami otwartymi (materiał własny). AP – płaszczyzna przednio-tylna (strzałkowa); ML – płaszczyzna przyśrodkowo-boczna (czołowa).

2. The Sensory Organization Test (SOT) consists of 6 different tests with a gradual increase in difficulty:
  - 1) Eyes open, stable ground and visual reference point.
  - 2) Eyes closed, stable ground.
  - 3) Eyes open, stable ground, movement of visual reference point.
  - 4) Eyes open, ground movement, stable visual reference.
  - 5) Eyes closed, ground movement.
  - 6) Eyes open, ground movement and visual reference point movement [6].

The test is used to determine the patient's ability to:

- effectively use information from the eyes, vestibular system and proprioceptors
- suppress information that is inappropriate at the moment. For example, the information obtained from the proprioceptors about the angular position of the ankle joint is distorted when the ground is swaying in the sagittal plane. Closing the eyes or changing the position of the reference point hinders the feedback process in maintaining balance.

The manipulation of sensory information is used to test a person's ability to adapt to changing conditions in the



environment and to maintain postural control. This test is also employed to assess the risk of falls in patients [5].

3. The Adaptation Test (ADT) evaluates the patient's ability to modify equivalent reactions and the ability to minimize body sway when the ground moves, unpredictably tilting the patient diagonally down or up. The force of the platform movement must be estimated so that it can cause postural instability in a given patient. This test is a simulation of conditions occurring in everyday life, such as moving on irregular surfaces [14,15].

Dynamic posturography is a test that utilises modern technological possibilities to obtain the best conditions for examination and therapy. During the posturographic examination, the following can be additionally used: virtual reality (created by computer software), multi-channel sound, glasses with integrated screens (head-mounted display – HMD) and the patient's sense of acceleration and movement transfer. Additional elements that evoke visual stimuli make it possible to induce balance disorders in a person participating in the test through not always true information about the vertical, or for example, by provoking nystagmus as a result of optokinetic stimulation. They also make it possible to induce postural reactions – the examined person tries to counteract the induced disorders by controlling muscle tension [5,16,17,18].

When standing on the posturographic platform, the patient can control the movements of the body in a computer game, during for example, skateboarding, skiing or performing other activities. The muscles responsible for maintaining body posture are strengthened. A positive effect on the functions of the balance and deep sensation systems is observed. The results obtained in the game, the element of competition and changing, e.g. images on the monitor screen, are additional elements thanks to which the patient approaches the task with greater motivation and enthusiasm. This form of training has many advantages, including the fact that the risk of the patient falling and the risk of injury associated with falls are largely eliminated [19,20].

#### *Follow-up posturography*

Follow-up posturography is based on visual feedback. The patient observes the current position of COP on the monitor and directs its position so that his point is as close as possible to the moving directional point. The examined person performs the above-mentioned task by appropriately moving the body under the control of their eyesight.

At the beginning of the examination, the average position of the COP point in the patient in a standing position is determined, thanks to which it is possible to properly dose the moving directional point and

compare it with the COP point obtained during the main part of the examination. Then the subject makes a maximum forward and backwards lean, without taking their feet off the platform. On this basis, the possible range of movement of the directional point in the sagittal plane is selected. It was assumed that precise movement reflecting the direction point requires 66% of the maximum body tilt. On the other hand, the range of body movement in the frontal plane requires the transfer of 2/3 of the body weight to the left or right lower limb.

In the proper follow-up posturography test, we distinguish several stages:

- Initial stage (unregistered) – transition from the resting position to the maximum tilt to the right
- Second stage (recorded) – movement of the tested COG with the direction point, which makes a clockwise circle (30 seconds)
- Intermediate stage – the patient's maximum tilt to the left and the change of the tilt direction to the anti-clockwise direction
- The last stage – movement as in the second stage with the opposite direction of movement.

The parameter of maximum tilt in the sagittal axis measured in this examination can be used to diagnose balance disorders [21].

#### **The use of posturographic examinations in selected neurological diseases**

##### *Patients with Parkinson's disease*

In Parkinson's disease, balance disorders are not the most specific symptom, but they play an important role in the course of this disease. They occur in 96% of patients and affect the functioning of patients in everyday life; they are also the main cause of disability. Posturography makes it possible to determine the degree of their severity at an early stage of the disease, and at the same time to indicate which of the balance control systems is the cause of the problem and what effect the drugs taken by the patient have on maintaining balance [22,23].

Posturography in a patient with Parkinson's disease is utilised to objectively quantify postural instability. Studies conducted by Zawadka et al. [24] showed that the above-mentioned patients exhibit a significant deterioration in stabilogram parameters compared to healthy people in a similar age range and that the length of the stabilogram in the frontal plane is a sensitive indicator of postural instability in the elderly population.

The advantage of posturography is to obtain objective, repeatable results. It has been employed, e.g. for the assessment of deep brain stimulation (DBS) using high frequency in patients with advanced Parkinson's disease. DBS was a supplement to pharmacotherapy. Posturography enabled an objective comparison of this



method of treatment and its impact on balance disorders and body posture reactions of patients during the use of DBS and when DBS was stopped [25].

Posturography combined with modern technological possibilities, such as game consoles, are used to rehabilitate patients with Parkinson's disease. Innovative solutions make it possible to increase the attractiveness of training by adjusting the degree of difficulty and arousing the patient's interest, e.g. by including their own movements in the virtual environment [26]. These games utilise visual feedback, which gives good rehabilitation effects in patients with Parkinson's disease [23].

Posturography is also employed to compare the effects of balance training by means of visual feedback with those of conventional balance training. Posturographic balance analysis using a feedback platform enables postural assessment in quantitative terms and allows a detailed study from the dynamic side. The results obtained from the feedback training of balance in patients with Parkinson's disease have shown that computer-assisted exercises can be at least as effective as standard treatment. Such training can be a good alternative to individual exercises with the patient; it also allows the rehabilitation process to be conducted at home [26].

A posturographic examination can be additionally combined with an electroencephalographic (EEG) examination in order to determine how the improvement in body balance affects the activity of the cerebral cortex during a given examination [26]. To determine the location of the source of brain activity, the results obtained from the EEG examination are combined with the recorded results from magnetic resonance imaging [27].

#### *Patients after stroke*

Stroke patients present with a variety of clinical symptoms, including paresis, muscle tone disorders, superficial and deep sensation disorders, cognitive disorders, vegetative system disorders, emotional disorders, speech disorders, amblyopia and loss of sight [28].

Disorders resulting from a stroke lead to various degrees of disability, a frequent consequence of which is locomotion impairment. Disturbed body posture control is considered to be the main problem of this group of patients, and the consequence of this disorder is the occurrence of frequent falls. Improving body balance is an important element when working with a patient because good control of body posture is a condition for effective and safe movement [29].

Posturography as an objective test is used to assess the effectiveness of rehabilitation by utilising the method of proprioceptive neuromuscular facilitation (PNF) of patients after a stroke. This examination allows

assessment of the patient's reactions, especially reactions to correcting body posture and maintaining balance [30].

The posturographic examination is employed to compare and analyze stabilogram parameters in healthy people and in people after a stroke before and after exercises to improve balance, and it is also used to assess the eye-hand coordination factor [31].

Posturography in the Tetrax device (tetra-ataxiometric posturography) in stroke patients is employed as a research tool and as a training method. The obtained results allow the analysis of, among others, the fall rate, body weight distribution index and stability index. It allows conclusions to be drawn about imbalances. The parameters measured with the Tetrax device allow an objective assessment and comparison of balance training using the Tetrax training program and a training program utilising virtual reality. Based on the analysis, it was confirmed that Tetrax as a training program is a good alternative for patients with proprioceptive disorders, while a program using virtual reality can be employed to improve the balance of people with preserved sensory functions [32,33].

Posturography also allows monitoring of the effects of neurodevelopmental treatment Bobath (NDT Bobath). The main assumption of this method in patients after stroke is the correct distribution of body weight during the first 12 months after the onset of the disease [34].

Movement impairment after a stroke often leads to an increased risk of falls, especially when changing the body position in space, for example from sitting to standing. The causes of this disorder are: low muscle strength, poor postural control and poor perception of sensory stimuli. Many tests assess the degree of disorders occurring after a stroke: the muscle endurance test, sit-stand-sit test, equivalent static and dynamic tests, or the Berg Balance Scale. Sometimes the tasks that the patient must perform during the above-mentioned examinations exceed the patient's capabilities, and the correct assessment of balance and other parameters is impossible or unreliable. Therefore, a new system for evaluating the control of the patient's body posture was created [30,35]. This system, called the multi-utility balance assessment and training system (MUBATS), utilises a special device that allows patients to safely perform the squat-stand test thanks to a special sliding platform. This method allows the symmetry and balance of the patient to be maintained; therefore, it can be used even in the early stages of the disease, which is not possible with other tests. For a more accurate assessment, this method can be combined with a posturographic examination and during the squat-stand test, the following parameters can be obtained: COP, average sway, path length, surface, maximum sway, and speed of movement. These parameters are calculated automatically by the computer [35].



The MUBATS scoring system is helpful for stroke patients who are unable to perform the sit-stand-sit test. Thanks to the special apparatus used for the test, the patient has full stability during the test. The direction of the acting forces and coordination of the hip and knee joints during the sit-stand-sit test and the squat-stand test are practically the same; thus, the posturographic examination used during the squat-stand test to some extent reflects the real control of the body position [35].

## CONCLUSIONS

Posturography can be utilised in patients with neurological disorders in a conventional way as a diagnostic method as well as for therapeutic purposes using modern technologies.

Posturography is an objective diagnostic tool that also allows assessment of the effectiveness of treatment (pharmacological and non-pharmacological); moreover, in combination with various technologies, it can be employed as a method of kinesiotherapy.

Balance disorders, and consequently falls and injuries, are important elements that lead patients to limit their independence in everyday life, and consequently, to develop a progressive disability, forcing the use of orthopaedic equipment, including elbow crutches, walkers, and wheelchairs, to partially replace lost gait functions. Thanks to numerous advantages, perhaps posturography will become an increasingly more used method, allowing safe and effective diagnosis and then rehabilitation of people with neurological and musculoskeletal disorders, due to eliminating the risk of falls and injuries during its use and the attractiveness of exercises.

### Author's contribution

Study design – A. Oczadło, E. Matusik, B. Lewicka, U. Kowacka

Data collection – A. Oczadło, E. Matusik

Manuscript preparation – B. Lewicka, U. Kowacka, E. Matusik

Literature research – A. Oczadło, B. Lewicka, E. Matusik

Final approval of the version to be published – E. Matusik

## REFERENCES

1. Zamysłowska-Szmytko E., Janc M., Ławnicki K., Śliwińska-Kowalska M. Zastosowanie posturografii dla oceny układu równowagi dla potrzeb medycyny pracy. *Med. Pr.* 2022; 73(2): 143–150, doi: 10.13075/mp.5893.01164.
2. Paszko-Patej G., Terlikowski R., Kułak W., Sienkiewicz D., Okurowska-Zawada B. Czynniki wpływające na proces kształtowania równowagi dziecka oraz możliwości jej obiektywnej oceny. *Neurol. Dziec.* 2011; 20(41): 121–127.
3. Olejarz P., Olchowik G. Rola dynamicznej posturografii komputerowej w diagnostyce zaburzeń równowagi. *Otorynolaryngologia* 2011; 10(3): 103–110.
4. Kuczyński M., Podbielska M.L., Bieć D., Paluszak A., Kręcisz K. Podstawy oceny równowagi ciała: czyli co, w jaki sposób i dlaczego powinniśmy mierzyć? *Acta Bio-Opt. Inform. Med.* 2012; 18(4): 243–249.
5. Błaszczak J.W., Czerwosław L. Stabilność posturalna w procesie starzenia. *Gerontol. Pol.* 2005; 13(1): 25–36.
6. Rak J., Fajkiel K., Walkowiak K., Błędowska S., Badiuk N. Impact of physical activity on balance in people over 65 years of age. *J. Educ. Health Sport* 2017; 7(7): 1004–1016, doi: 10.5281/zenodo.999558.
7. Hebert J.R., Manago M.M. Reliability and validity of the computerized dynamic posturography sensory organization test in people with multiple sclerosis. *Int. J. MS Care* 2017; 19(3): 151–157, doi: 10.7224/1537-2073.2016-027.
8. Sobera M. Charakterystyka procesu utrzymywania równowagi ciała u dzieci w wieku 2–7 lat. *Studia i monografie, nr 97. Wyd. AWF Wrocław* 2010.
9. Fonseca P., Sousa M., Sebastião R., Goethel M., Barralon P., Idigoras I. et al. Equimetrix device: criteria based validation and reliability analysis of the center of mass and base of support of a human postural assessment system. *Sensors (Basel)* 2021; 21(2): 374, doi: 10.3390/s21020374.
10. Li Causi V., Manelli A., Marini V.G., Cherubino M., Meccariello L., Mazzacane M. et al. Balance assessment after altering stimulation of the neurosensory system. *Med. Glas. (Zenica)* 2021; 18(1): 328–333, doi: 10.17392/1324-21.
11. Wiśniowska-Szurlej A., Ćwirlej-Sozańska A., Wilmowska-Pietruszyńska A., Sozański B. The use of static posturography cut-off scores to identify the risk of falling in older adults. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022; 19(11): 6480, doi: 10.3390/ijerph19116480.
12. Ćwirlej-Sozańska A., Wilmowska-Pietruszyńska A., Guzik A., Wiśniowska A., Drużbicki M. Ocena przydatności wybranych skal i metod stosowanych w ocenie równowagi i sprawności fizycznej seniorów – badanie pilotażowe. *Prz. Med. Univ. Rzesz. Inst. Leków* 2015; 1: 8–18.
13. Vanicek N., King S.A., Gohil R., Chetter I.C., Coughlin P.A. Computerized dynamic posturography for postural control assessment in patients with intermittent claudication. *J. Vis. Exp.* 2013; 82: e51077, doi: 10.3791/51077.
14. Honaker J.A., Converse C.M., Shepard N.T. Modified head shake computerized dynamic posturography. *Am. J. Audiol.* 2009; 18(2): 108–113, doi: 10.1044/1059-0889(2009/09-0012).
15. Karim H., Fuhrman S.I., Sparto P., Furman J., Huppert T. Functional brain imaging of multi-sensory vestibular processing during computerized dynamic posturography using near-infrared spectroscopy. *Neuroimage* 2013; 74: 318–325, doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.02.010.
16. Tossavainen T., Juhola M., Pyykkö I., Aalto H., Toppila E. Development of virtual reality stimuli for force platform posturography. *Int. J. Med. Inform.* 2003; 70(2–3): 277–283, doi: 10.1016/s1386-5056(03)00034-0.
17. Rosiak O., Puzio A., Kaminska D., Zwolinski G., Jozefowicz-Korczyńska M. Virtual reality – A supplement to posturography or a novel balance assessment tool? *Sensors (Basel)* 2022; 22(20): 7904, doi: 10.3390/s22207904.
18. Peters J.F. Computerized dynamic posturography (CDP) and the assessment of balance with active head movements. *J Korean Balance Soc.* 2007; 6(2): 243–247.
19. Józefowicz-Korczyńska M., Walak J., Szczepanik M., Grzelezyk W.L., Rosiak O. Ocena zastosowania wirtualnej rzeczywistości jako metody fizjoterapii w uszkodzeniu obwodowym narządu przedsionkowego. *Otorynolaryngologia* 2014; 13(1): 51–57.
20. Strzecha M., Knapik H., Baranowski P., Pasiak J. Człowiek zazwyczaj ma dwie nogi – ujęcie stabilograficzne. W: J. Mosiewicz [red.]. *Czynniki ryzyka i profilaktyka w walce o zdrowie i dobrostan. Wyd. Neurocentrum. Lublin* 2008, s. 155–165.
21. Kidoń Z., Fiołka J. Ocena postępów rehabilitacji za pomocą testu stabilografii nadążnej. *Prz. Elektrotech.* 2014; 90(9): 50–53.
22. Güler S., Bir L.S., Akdag B., Ardic F. The effect of pramipexole therapy on balance disorder and fall risk in Parkinson's disease at early stage: clinical and posturographic assessment. *ISRN Neurol.* 2012; 2012: 320607, doi: 10.5402/2012/320607.
23. Sebastia-Amat S., Tortosa-Martínez J., Pueo B. The use of the static posturography to assess balance performance in a Parkinson's disease population. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2023; 20(2): 981, doi: 10.3390/ijerph20020981.





24. Zawadka M., Klawe J.J., Zalewski P., Bitner A., Pawlak J., Tafil-Klawe M. et al. Ocena wybranych parametrów stabilności postawy i funkcji poznawczych osób z chorobą Parkinsona po 60 r.ż. *Hygeia Public Health* 2013; 48(1): 80–85.
25. Nilsson M.H., Fransson P.A., Jamlo G.B., Magnusson M., Rehnroona S. The effects of high frequency subthalamic stimulation on balance performance and fear of falling in patients with Parkinson's disease. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2009; 6: 13, doi: 10.1186/1743-0003-6-13.
26. van den Heuvel M.R., van Wegen E.E., de Goede C.J., Burgers-Bots I.A., Beek P.J., Daffertshofer A. et al. The effects of augmented visual feedback during balance training in Parkinson's disease: study design of a randomized clinical trial. *BMC Neurol.* 2013; 13: 137, doi: 10.1186/1471-2377-13-137.
27. Barnes G.R., Hillebrand A. Statistical flattening of MEG beamformer images. *Hum. Brain Mapp.* 2003; 18(1): 1–12, doi: 10.1002/hbm.10072.
28. Hong S.H., Im S., Park G.Y. The effects of visual and haptic vertical stimulation on standing balance in stroke patients. *Ann. Rehabil. Med.* 2013; 37(6): 862–870, doi: 10.5535/arm.2013.37.6.862.
29. Halmi Z., Stone T.W., Dinya E., Mály J. Postural instability years after stroke. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2020; 29(9): 105038.
30. Fedak D., Latała B., Otfinowski J., Zajdel K. Ocena wpływu fizjoterapii na równowagę w pozycji stojącej w grupie pacjentów po udarze mózgu określona na podstawie badań posturograficznych. *Acta Bio-Opt. Inform. Med.* 2010; 16(3): 208–211.
31. Zajdel K., Latała B., Mosurska D. Użyteczność posturografii i prób kalorycznych w wybranych schorzeniach neurologicznych. *Prz. Lek.* 2009; 66(11): 920–923.
32. Song Y.B., Chun M.H., Kim W., Lee S.J., Yi J.H., Park D.H. The effect of virtual reality and tetra-ataxiometric posturography programs on stroke patients with impaired standing balance. *Ann. Rehabil. Med.* 2014; 38(2): 160–166, doi: 10.5535/arm.2014.38.2.160.
33. Ho T.H., Yang F.C., Lin R.C., Chien W.C., Chung C.H., Chiang S.L. et al. Impact of virtual reality-based rehabilitation on functional outcomes in patients with acute stroke: a retrospective case-matched study. *J. Neurol.* 2019; 266(3): 589–597, doi: 10.1007/s00415-018-09171-2.
34. Kılınc M., Avcu F., Onursal O., Ayvat E., Demirci C.S., Yildirim S.A. The effects of Bobath-based trunk exercises on trunk control, functional capacity, balance, and gait: a pilot randomized controlled trial. *Top. Stroke Rehabil.* 2016; 23(1): 50–58, doi: 10.1179/1945511915Y.0000000011.
35. Lu R.R., Li F., Wu Y., Hu Y.S., Xu X.L., Zou R.L. et al. Demonstration of posturographic parameters of squat-stand activity in hemiparetic patients on a new multi-utility balance assessing and training system. *J. Neuroeng. Rehabil.* 2013; 10: 37, doi: 10.1186/1743-0003-10-37.



## Rs401681 and rs402710 polymorphisms of *CLPTMIL* gene in cancerous and healthy lung tissues in patients with lung adenocarcinoma

Polimorfizmy rs401681 i rs402710 genu *CLPTMIL* w tkance zmienionej nowotworowo i w tkance zdrowej płuc u chorych z gruczolakorakiem płuca

Joanna Żywiec<sup>1</sup> , Mateusz Rydel<sup>2</sup> , Bogna Drozdowska<sup>3</sup> , Katarzyna Klimczyk<sup>4</sup>,  
Janusz Kasperczyk<sup>5</sup> , Damian Czyżewski<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Clinical Pharmacology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Zakład Farmakologii Klinicznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>2</sup>Department of Thoracic Surgery, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Katedra i Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>3</sup>Department of Pathomorphology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Katedra i Zakład Patomorfologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>4</sup>Department of Internal Medicine, Diabetology and Nephrology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Katedra Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>5</sup>Department of Environmental Medicine and Epidemiology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland / Katedra i Zakład Medycyny i Epidemiologii Środowiskowej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The search for factors influencing the survival of patients with lung cancer is still ongoing. It may potentially be a polymorphism of the cleft lip and palate transmembrane 1-like (*CLPTMIL*) gene, which is involved in the process of carcinogenesis. The aim of the study was to assess the distribution of genotypes and alleles of selected polymorphisms of the *CLPTMIL* gene – rs401681 and rs402710 – in cancerous and healthy lung tissue in patients with lung adenocarcinoma and their relationship with patient survival.

**MATERIAL AND METHODS:** The study included 133 patients with an average age of lung cancer diagnosis of 65 years, who had undergone lung adenocarcinoma surgery in the past. Genetic material – deoxyribonucleic acid (DNA) – was isolated from paraffin-protected specimens of cancerous and healthy lung tissue, and genotyping of *CLPTMIL* polymorphisms was performed. The obtained results were analyzed along with demographic data, history of smoking, family history of cancer, stage of the disease in the tumor, node, metastasis (TNM) classification, clinical stage of the cancer and the survival time of the patients.

Received: 31.03.2023

Revised: 04.04.2023

Accepted: 04.04.2023

Published online: 22.09.2023

Address for correspondence: dr hab. n. med. Joanna Żywiec, Zakład Farmakologii Klinicznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. 3 Maja 13-15, 41-800 Zabrze, tel. +48 32 470 41 26, e-mail: jzywiec@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



**RESULTS:** The mean follow-up period was 44.5 months. The patients who died lived an average of 22.6 months from the time of cancer diagnosis. There were no significant differences between the distribution of genotypes or alleles in the cancerous and healthy tissues and their relationship with the survival of the patients. The age at the time of diagnosis of cancer, category N in the TNM classification and high clinical advancement of the cancer were the only factors influencing the survival of the patients.

**CONCLUSIONS:** No relationships between the polymorphic variability of rs401681 and rs402710 in cancerous and healthy lung tissue and the survival of patients were found.

#### KEYWORDS

lung adenocarcinoma, *CLPTMIL* gene, rs401681, rs402710, survival analysis

## STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Poszukiwanie czynników wpływających na przeżycie chorych z nowotworami płuc jest stale aktualne. Takim potencjalnym czynnikiem jest polimorfizm genu *CLPTMIL* (*cleft lip and palate transmembrane 1-like*), włączony w proces karcynogenezy. Celem pracy była ocena rozkładu genotypów i alleli wybranych polimorfizmów genu *CLPTMIL* – rs401681 i rs402710 – w tkance zmienionej nowotworowo i w tkance zdrowej płuc u chorych z gruczolakorakiem płuca oraz ich związku z przeżyciem chorych.

**MATERIAŁ I METODY:** Badaniem objęto 133 chorych w wieku ujawnienia nowotworu płuca wynoszącym średnio 65 lat, u których w przeszłości dokonano usunięcia gruczolakoraka płuca. Z zabezpieczonych w parafinie próbek tkanki zdrowej płuc i z tkanki zmienionej chorobowo wyizolowano materiał genetyczny – kwas deoksyrybonukleinowy (DNA) – oraz przeprowadzono genotypowanie polimorfizmów *CLPTMIL*. Uzyskane wyniki poddano analizie wraz z danymi demograficznymi, wywiadem dotyczącym palenia tytoniu, wywiadem rodzinnym obciążonym nowotworowo, stadium choroby w klasyfikacji TNM (*tumor, node, metastasis*), zaawansowaniem klinicznym nowotworu i czasem przeżycia chorych.

**WYNIKI:** Średni czas obserwacji wynosił 44,5 miesiąca. Chorzy, którzy zmarli, żyli średnio 22,6 miesiąca od czasu postawienia diagnozy nowotworu. Nie stwierdzono znamiennych różnic pomiędzy rozkładem genotypów ani alleli w tkankach chorej i zdrowej płuc oraz ich związku z przeżyciem chorych. Czynnikiem wpływającym na przeżycie chorych były wiek w czasie postawienia diagnozy nowotworu, kategoria N w klasyfikacji TNM oraz wysokie zaawansowanie kliniczne nowotworu.

**WNIOSKI:** Nie stwierdzono związku pomiędzy zmiennością polimorficzną rs401681 i rs402710 w tkance chorej i zdrowej płuc a przeżyciem chorych.

#### SŁOWA KLUCZOWE

gruczolakorak płuca, gen *CLPTMIL*, rs401681, rs402710, analiza przeżycia

## INTRODUCTION

According to World Health Organization (WHO), lung cancer is the most frequent neoplasm all over the world, being the cause of over 13% all new incidents of cancers, mainly (about 68%) among males. Even though women develop it still less frequently, a rising trend of the incidence of lung malignancy is observed in Europe. Lung carcinoma causes about 1.2 million deaths in the world every year, which equals 17% of all deaths from cancers [1]. The low patient survival rate is secondary to the long-time asymptomatic course of the disease and to a delayed start of diagnostic procedures, usually at an advanced stage of neoplasm. Among 67 countries participating in the CONCORD-2 study, the survival rate of 5 years after lung carcinoma diagnosis (2005–2009yrs) varies from 2.2% in Libya, to 16.5% in Switzerland, 18.7% in USA and 30.1% in Japan. From the 1990s, the survival rate increased from 11.4% to 13.4% in Poland [2]. It is estimated that about

85–90% of deaths caused by lung cancer is closely connected with tobacco smoking [3]. The exposure to other carcinogens (for example professional risk factors or air pollution) in the cases of lung carcinoma in the population of non-smokers was demonstrated. Here the relevance of changes in the genetic profile are particularly emphasised [4,5,6].

The genetic and epigenetic changes accumulating with the time in the cells by the changing of its structures and function are the cornerstone of long-term ongoing carcinogenesis, leading finally to cancer development. These unfavourable changes occur in normal healthy cells as a reaction to different mutagenic factors, both exogenous and endogenous. They could be of chemical (in tobacco smoke), physical (UV radiation) or biological origin (viruses), but also metabolic waste products or replication mistakes.

Genetic instability is one of characteristic features of cancer cells. It can appear as allele instability, so-called loss of heterozygosity (LOH). In this case malignant cells, originally heterozygous, lost one from two alleles



of gene polymorphism [7]. It occurs either by the simple deletion of one allele (copy-loss LOH), or by the deletion of one allele accompanied by duplication of the remaining allele (copy-neutral LOH). As a result, this reduction of heterozygosity creates genetic changes between neoplasm and healthy tissues, which leads to further functional changes specific to carcinogenesis. Malignant tissue could be composed of cells remaining at various stages of malignancy. Therefore, usually only partial loss of allele heterozygosity in cancerous tumors is observed (20–80%). Studies indicate that genetic changes concern not only tumor tissue but also its “healthy environment”, which does not present any histopathological deviations. LOH on chromosome 5, both in the *p* and *q* arms, has been reported in non-small cell lung carcinoma [8,9].

Several genome-wide association studies reported different genetic variants, among them single nucleotide polymorphisms, that are associated with the risk of malignancy [5,6,10,11]. In the light of recent data, *CLPTM1L* gene polymorphisms seem to be an interesting focus for studies concerning risk factors for the development of different neoplasms [10,12]. *CLPTM1L* was determined to be overexpressed in cisplatin-resistant ovarian cancer cells and promotes this apoptosis [13]. The results of a large-scale genome-wide gene-gene interaction study of lung cancer susceptibility in Europeans published in 2022 (including over 445 thousands participants) demonstrated the relation of the *CLPTM1L* gene to lung malignancy [14].

The *CLPTM1L* gene encodes a protein linked to cisplatin resistance and is associated with the susceptibility to cleft lip palate. It is located on chromosome 5 near the telomerase reverse transcriptase (*TERT*) gene, which is closely related to lung cancerogenesis. The *CLPTM1L* genome assembly GRCh38.p13, location: 5:1317752-1345099 and the cytogenetic region: 5p15.33 are as follows (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=CLPTM1L>). In the cell it is mainly localized in the perinuclear region of the cytoplasm.

Two single nucleotide polymorphisms (SNPs) of *CLPTM1L*, rs401681 and rs402710, are located in cytogenic region 5p15.33, respectively Chr.5 1321972 and 1320607 on GRCh38. Rs401681 is the intron variant, while rs402710 is the non-coding transcript exon variant. For both of these SNPs allele T is MAF, i.e. a minor allele frequency (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=CLPTM1L>). The allele distribution of the studied polymorphisms are different in various populations (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). In Europe, for instance, according to the ALFA Project, the distribution of the rs401681 *CLPTM1L* gene allele is as follows: T 0.44 and C 0.56, while rs402710 respectively T 0.34 and C 0.66. The comparable data of

T and C allele distribution in Asians for rs401681 *CLPTM1L* are: 0.33 and 0.67, whereas for rs402710 – 0.31 and 0.69.

The estimation of the rs401681 and rs402710 *CLPTM1L* gene genotypes, as well as allele distribution in both neoplastic and healthy lung tissue samples in patients with lung adenocarcinoma was the purpose of the study. Its relationship with patient survival, taking into consideration the patient’s age and sex, tobacco smoking, family history of malignancy and staging of neoplasm were also investigated.

## MATERIAL AND METHODS

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Medical University of Silesia in Katowice. Patient consent was waived due to the fact that it was a retrospective study based on tissue specimens stored in the Department of Pathomorphology archives.

Two paraffin-embedded lung tissue specimens (one obtained from a cancerous tumor and the second from healthy tissue) collected during operative procedures from all of the 150 patients treated in the thoracic surgery unit were subjected to further analysis. The lung adenocarcinoma was diagnosed based on histological examination in all the patients. Patients were excluded from the final analysis in the case when their survival was impossible to establish. In the end, the study group consisted of 133 patients (88.7%), whose data were further analysed.

### SNP selection

Two SNPs in the *CLPTM1L* gene, suspected of being associated with a predisposition for cancer, i.e. loci rs401681 and rs402710, were selected for analysis based on PubMed references and the bioinformatics database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>; accessed on 15 September 2023).

### Genotyping

DNA was isolated for every patient from his own two tissue samples, protected with paraffin, stored in the Department of Pathomorphology archives: one 10 µm piece from a histologically confirmed neoplastic tumor and the second piece from healthy lung tissue – both obtained during surgery. The Maxwell 16 System and the Maxwell 16 FFPE plus LEV DNA Purification Kit were used for DNA extraction. The concentration and quality of the extracted DNA was verified with DeNovix equipment. The DNA purification was done with gDNA Clean-up (Syngen). Genotyping was carried out on a Roche Light 96 with TaqMan and Master Mix FastStart Essentials DNA Probes, Master and ThermoFisher Scientific kits. The primers Context



Sequence [VIC/FAM] of the rs401681 *CLPTM1L* gene was CTGCTATCCAGACAACCTTCAGAGTC[C/T]ATCATG GTGTGAAGCAGCTTTCTGG. The primers Context Sequence [VIC/FAM] of the rs402710 *CLPTM1L* gene was GGAGCAACGGCCGAGCATAACGCAGC[C/T]GCACT CACCACCGCTGGTACAGGTA.

In all the samples the genotypes of rs401681 and rs402710 of the *CLPTM1L* gene were determined.

#### Additional data

Based on archival medical documentation, the information on the age at the time of neoplasm diagnosis, tobacco smoking (expressed in packs of cigarettes during all the years of the habit), alcohol drinking, family history of malignancy, as well as TNM classification and neoplasm staging (based on 8<sup>th</sup> ed. of the Union for International Cancer Control – UICC – criteria from 2018), were obtained for each patient [15].

#### Statistical analysis

All the data and genetic tests results underwent statistical analysis with Statistica 12 Software and Statistical Analysis System (SAS). After the initial checking of data distribution, the obtained results were compared with the  $\chi^2$  test / Fischer test. The survival analysis was performed with Kaplan-Meier plots. Univariate and multivariate Cox regression analyses regarding patient survival were also done. P-values less than 0.05 were taken as statistically significant.

## RESULTS

#### Characteristics of patients

The group of 133 patients with complete survival data consisted of 71 men and 62 women in the mean age of  $64.96 \pm 8.44$  years at lung carcinoma diagnosis. They

were divided into two subgroups “deceased” (75 persons, i.e. 56.4%) or “living” during the survey (58 individuals, i.e. 43.6%) for the purpose of analysis. These subgroups did not differ significantly one from another as far as the age of neoplasm diagnosis ( $64.71 \pm 9.80$  vs  $65.29 \pm 7.60$  years,  $p = 0.6934$ ) was concerned, and also as regards tobacco smoking expressed as the number of cigarette packages during all the years of the habit ( $30.00 \{15-40\}$  vs  $30 \{15-40\}$ ,  $p = 0.4289$ ). 113 patients (85%) were smokers and 33 patients (24.8%) had a positive family history for malignancy. The distribution of the patients according to neoplasm staging at the time of making the histopathological diagnosis was 73 (54.9%), 44 (33.1%) and 16 (12%), respectively for I stage, II stage and III stage or above. Because of the small number of cases (1%) a history of drinking alcohol was excluded from the analysis.

#### Genotype and allele distribution – comparison between neoplastic and normal tissues

We did not find any differences between the neoplastic and healthy lung tissue as far as the frequency of either the genotype or the allele of rs401681 and also rs402710 were concerned (Table I).

No significant differences in the tissue genotype or the allele distribution of the studied SNPs between the persons diagnosed with adenocarcinoma who had died and those who survived were demonstrated (Table II).

The analysis taking into account the sex of the patients, as well as the smoking addiction did not show any statistically significant variations between the genotype and the allele distribution of either the studied SNPs in the neoplastic or healthy lung tissues (Tables III and IV). Nevertheless, the borderline tendency for differences in the rs401681 genotype distribution in adenocarcinoma tissue was visible between men and women (Table III).

Table I. Comparison of genotype (CC, CT, TT) and allele (C, T) distribution of rs401681 and rs402710 *CLPTM1L* gene in neoplastic and healthy tissues in whole study group;  $\chi^2$  test

Tabela I. Porównanie rozkładu genotypów (CC, CT, TT) oraz alleli (C, T) polimorfizmów rs401681 i rs402710 genu *CLPTM1L* w tkance zmienionej nowotworowo i w tkance zdrowej w całej grupie badanej; test  $\chi^2$

Genotype/Allele	Polymorphism					
	rs401681			rs402710		
	adenocarcinoma tissue	healthy tissue	$\chi^2$ test p-value	adenocarcinoma tissue	healthy tissue	$\chi^2$ test p-value
CC	45 (34.09%)	47 (36.15%)	0.9161	54 (40.60%)	62 (46.62%)	0.5302
CT	69 (52.27%)	67 (51.54%)		69 (51.88%)	64 (48.12%)	
TT	18 (13.64%)	16 (12.31%)		10 (7.52%)	7 (5.26%)	
C	159 (60.23%)	161 (61.92%)	0.6906	177 (66.54%)	188 (70.68%)	0.3041
T	105 (39.77%)	99 (38.08%)		89 (33.46%)	78 (29.32%)	



Table II. Genotype (CC, CT, TT) and allele (C, T) distribution of rs401681 and rs402710 *CLPTM1L* gene in neoplastic and healthy tissues according to patients' survival;  $\chi^2$  test

Tabela II. Rozkład genotypów (CC, CT, TT) oraz alleli (C, T) polimorfizmów rs401681 i rs402710 genu *CLPTM1L* w tkance zmienionej nowotworowo i w tkance zdrowej w zależności od przeżycia chorych; test  $\chi^2$

Polymorphism/Tissue	Genotype/Allele	All n	Death NO n (%)	Death YES n (%)	$\chi^2$ test p-value	Fisher's test p-value
rs401681 adenocarcinoma tissue	CC	45	20 (34.5%)	25 (33.8%)	0.8289	0.8069
	CT	69	29 (50%)	40 (54.1%)		
	TT	18	9 (15.5%)	9 (12.2%)		
		C		69/116 (59.48%)	90/148 (60.81%)	0.8286
	T		47/116 (40.52%)	58/148 (39.19%)		
rs401681 healthy tissue	CC	47	20 (35.7%)	27 (36.5%)	0.5095	0.5075
	CT	67	27 (48.2%)	40 (54.1%)		
	TT	16	9 (16.1%)	7 (9.5%)		
		C		67/112 (59.82%)	94/148 (63.51%)	0.5438
	T		45/112 (40.18%)	54/148 (36.49%)		
rs402710 adenocarcinoma tissue	CC	54	22 (37.9%)	32 (42.7%)	0.1875	0.1875
	CT	69	34 (58.6%)	35 (46.7%)		
	TT	10	2 (3.4%)	8 (10.7%)		
		C		78/116 (67.24%)	99/150 (66.0%)	0.8315
	T		38/116 (32.76%)	51/150 (34.0%)		
rs402710 healthy tissue	CC	62	24 (41.4%)	38 (50.7%)	0.4956	0.4525
	CT	64	30 (51.7%)	34 (45.3%)		
	TT	7	4 (6.9%)	3 (4%)		
		C		78/116 (67.24%)	110/150 (73.33%)	0.2791
	T		38/116 (32.76%)	40/150 (26.67%)		

Table III. Genotype (CC, CT, TT) and allele (C, T) distribution of rs401681 and rs402710 *CLPTM1L* gene in neoplastic and healthy tissues according to gender;  $\chi^2$  test

Tabela III. Rozkład genotypów (CC, CT, TT) oraz alleli (C, T) polimorfizmów rs401681 i rs402710 genu *CLPTM1L* w tkance zmienionej nowotworowo i w tkance zdrowej w zależności od płci; test  $\chi^2$

Polymorphism/Tissue	Genotype/Allele	All n	Women n (%)	Men n (%)	$\chi^2$ test p-value	Fisher's test p-value
rs401681 adenocarcinoma tissue	CC	45	23 (37.1%)	22 (31.4%)	0.0771	0.0824
	CT	69	35 (56.5%)	34 (48.6%)		
	TT	18	4 (6.5%)	14 (20%)		
		C		81/124 (65.32%)	78/140 (55.71%)	0.1114
	T		43/124 (34.68%)	62/140 (44.29%)		
rs401681 healthy tissue	CC	47	23 (38.3%)	24 (34.3%)	0.1934	0.2006
	CT	67	33 (55%)	34 (48.6%)		
	TT	16	4 (6.7%)	12 (17.1%)		
		C		79/120 (65.83%)	82/140 (58.57%)	0.2293
	T		41/120 (34.17%)	58/140 (41.43%)		
rs402710 adenocarcinoma tissue	CC	54	27 (43.5%)	27 (38%)	0.2085	0.2229
	CT	69	33 (53.2%)	36 (50.7%)		
	TT	10	2 (3.2%)	8 (11.3%)		
		C		87/124 (70.16%)	90/142 (63.38%)	0.2423
	T		37/124 (29.84%)	52/142 (36.62%)		
rs402710 healthy tissue	CC	62	30 (48.4%)	32 (45.1%)	0.7404	0.743
	CT	64	28 (45.2%)	36 (50.7%)		
	TT	7	4 (6.5%)	3 (4.2%)		
		C		88/124 (70.97%)	100/142 (70.42%)	0.9224
	T		36/124 (29.03%)	42/142 (29.58%)		

Table IV. Genotype (CC, CT, TT) and allele (C, T) distribution of rs401681 and rs402710 *CLPTM1L* gene in neoplastic and healthy tissues according to tobacco smoking;  $\chi^2$  testTabela IV. Rozkład genotypów (CC, CT, TT) oraz alleli (C, T) polimorfizmów rs401681 i rs402710 genu *CLPTM1L* w tkance zmienionej nowotworowo i w tkance zdrowej w zależności od wywiadu dotyczącego palenia tytoniu; test  $\chi^2$ 

Polymorphism/Tissue	Genotype/Allele	All n	Tobacco smoking NO n (%)	Tobacco smoking YES n (%)	$\chi^2$ test p-value	Fisher's test p-value
rs401681 adenocarcinoma tissue	CC	45	8 (40%)	37 (33%)	0.7741	0.7441
	CT	69	9 (45%)	60 (53.6%)		
	TT	18	3 (15%)	15 (13.4%)		
	C			25/40 (62.5%)	134/224 (59.82%)	0.7499
T			15/40 (37.5%)	90/224 (40.18%)		
rs401681 healthy tissue	CC	47	8 (44.4%)	39 (34.8%)	0.7314	0.7754
	CT	67	8 (44.4%)	59 (52.7%)		
	TT	16	2 (11.1%)	14 (12.5%)		
	C			24/36 (66.67%)	137/224 (61.16%)	0.5277
T			12/36 (33.33%)	87/224 (38.84%)		
rs402710 adenocarcinoma tissue	CC	54	9 (45%)	45 (39.8%)	0.8492	0.9307
	CT	69	10 (50%)	59 (52.2%)		
	TT	10	1 (5%)	9 (8%)		
	C			28/40 (70.0%)	149/226 (65.93%)	0.6150
T			12/40 (30.0%)	77/226 (34.07%)		
rs402710 healthy tissue	CC	62	10 (50%)	52 (46%)	0.5184	0.7816
	CT	64	10 (50%)	54 (47.8%)		
	TT	7	0 (0%)	7 (6.2%)		
	C			30/40 (75.0%)	158/226 (69.91%)	0.5147
T			10/40 (30.0%)	68/226 (30.09%)		

The investigation of the genotypes and alleles of both the SNPs conducted between the subgroups divided by sex (women vs men), tobacco smoking (Yes/No) and survival (Yes/No) did not establish statistical variations either in the neoplastic or healthy tissue specimens (not shown).

### Patient survival analysis

The median observation time was 44.55 (21.29–61.17) months. The patients who died (56.4%) survived for 22.6 (12.06–34.43) months from the time of a lung cancer diagnosis. The survival analysis based on Kaplan-Meier curves did not demonstrate differences in the subgroups divided by either gender (Figure 1), tobacco smoking or family history (not shown).

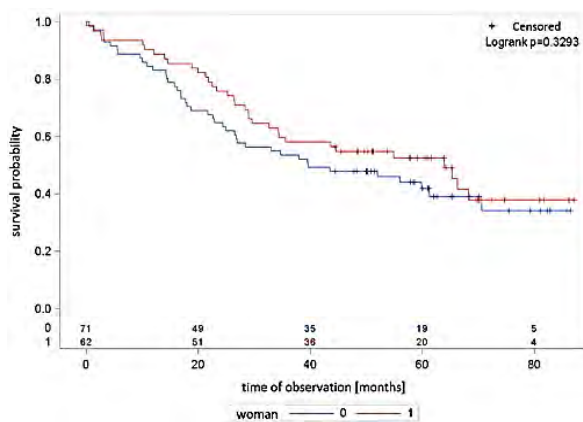


Fig. 1. Patient survival depending on sex: Kaplan-Meier curves.  
Ryc. 1. Przeżycie chorych w zależności od płci; krzywe Kaplana i Meiera.





The patient's age at the time of diagnosis, the N (nodule) category of TNM classification as well as high clinical staging appeared to be the only factors significant different between the subgroups (Figures 2 and 3).

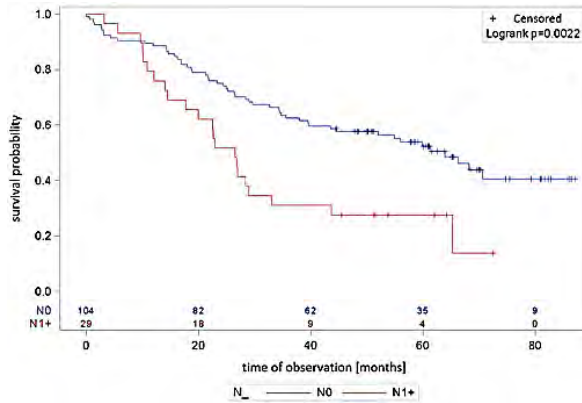


Fig. 2. Patient survival depending on N category of tumor, node, metastasis (TNM) neoplasm staging; Kaplan-Meier curves.

Ryc. 2. Przeżycie chorych w zależności od kategorii N według klasyfikacji TNM (tumor, node, metastasis); krzywe Kaplana i Meiera.

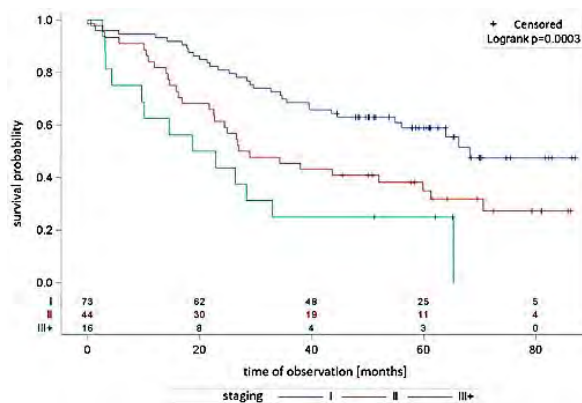


Fig. 3. Patient survival depending on neoplasm staging; Kaplan-Meier curves.

Ryc. 3. Przeżycie chorych w zależności od zaawansowania nowotworu; krzywe Kaplana i Meiera.

There were no differences of survival depending on the genotype or allele distribution of rs401681 (Figures 4 and 5) or rs402710 (Figures 6 and 7) of the *CLPTM1L* gene.

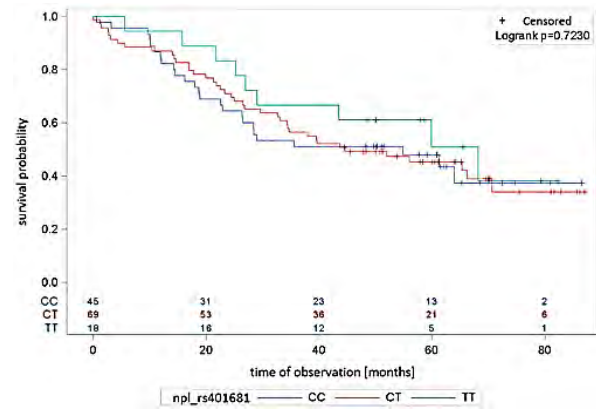


Fig. 4. Patient survival depending on rs401681 genotype in neoplastic lung tissue; Kaplan-Meier curves.

Ryc. 4. Przeżycie chorych zależnie od genotypu polimorfizmu rs401681 w tkance płuc zmienionej nowotworowo; krzywe Kaplana i Meiera.

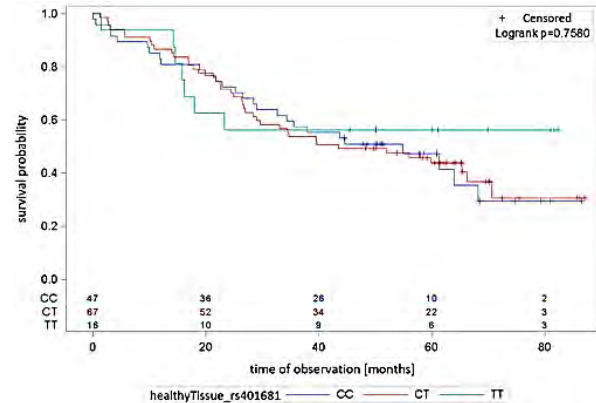


Fig. 5. Patient survival depending on rs401681 genotype in normal lung tissue; Kaplan-Meier curves.

Ryc. 5. Przeżycie chorych w zależności od genotypu polimorfizmu rs401681 w prawidłowej tkance płuc; krzywe Kaplana i Meiera.

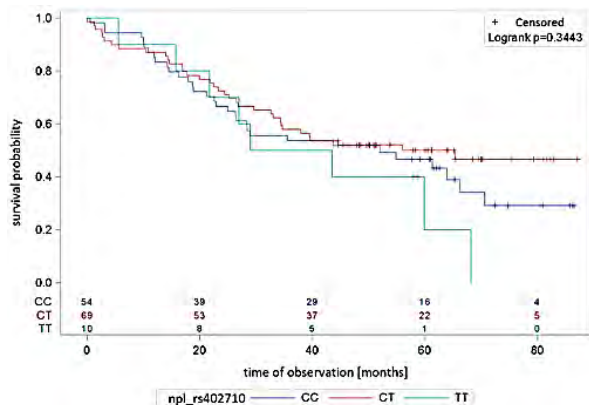


Fig. 6. Patient survival depending on rs402710 genotype in neoplastic lung tissue; Kaplan-Meier curves.

Ryc. 6. Przeżycie chorych zależnie od genotypu polimorfizmu rs402710 w tkance płuc zmienionej nowotworowo; krzywe Kaplana i Meiera.

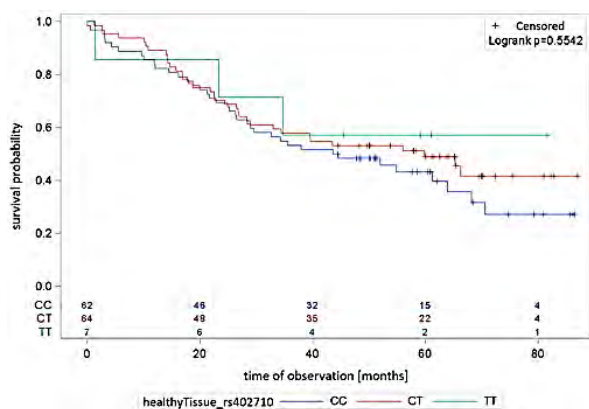


Fig. 7. Patient survival depending on rs402710 genotype in normal lung tissue; Kaplan-Meier curves.

Ryc. 7. Przeżycie chorych w zależności od genotypu polimorfizmu rs402710 w prawidłowej tkance płuc; krzywe Kaplana i Meiera.

## Multivariate analysis

In the contrast to the genotype or allele distribution of the rs401681 and rs402710 polymorphisms of the *CLPTMIL* gene, as well as the patients' sex, smoking and family history, the patient's age at the time of diagnosis and carcinoma staging were the only factors influencing patient survival in multivariate analysis (not shown).

## DISCUSSION

The recent data of 2022 indicates that *CLPTMIL* gene SNPs have a significant impact on the susceptibility to various cancers. Among them not only lung but also bladder, esophageal, pancreatic and skin cancers are described [12]. The high expression of the *CLPTMIL* gene was found to promote poor prognosis and increase the invasion, proliferation and migration of oral squamous cell carcinoma [16]. According to research, *CLPTMIL* seems to be the most often overexpressed

antiapoptotic factor in lung tumors and is associated with DNA damage [17]. *CLPTMIL* overexpression can predict poor prognosis in patients with lung cancer [18]. The antiapoptotic feature of *CLPTMIL* is a potential mechanism of the invasion of human lung cancer cells and neoplasm susceptibility to resistance to chemotherapy [19]. However, Ni et al. [20] suggested that *CLPTMIL* may be important for maintaining cellular stability and that a loss of this function might result in increased chemosensitivity to cisplatin. It has been also demonstrated that *CLPTMIL* acts as a critical coactivator of estrogen receptor  $\beta$  (ER $\beta$ ), which is involved in the progression of non-small cell lung carcinoma, among others, by inducing cancer cell radioresistance [21].

The implications of rs401681 and rs402710 *CLPTMIL* gene polymorphisms on carcinogenesis are not completely clarified. Rs401681, located in the intron of the *CLPTMIL* gene, can regulate its expression, while rs402710, located in a non-coding transcript exon variant, can affect the regulation of transcription that causes overexpression of the *CLPTMIL* gene. Both rs401681 and rs402710 and also the entire coding of the *CLPTMIL* gene, as well as a promoter region of the *TERT* gene are regions of high linkage disequilibrium [22]. The linkage disequilibrium pattern is probably different in various populations, i.e. in Asia, Europe and Africa. As the *CLPTMIL* gene is located near the *TERT* gene, it could regulate telomerase reverse transcriptase expression, and by this way influence apoptosis [12]. Based on East Asian results, it is suggested that the region containing rs401681 and rs402710 could interact with a *TERT* promoter; hence, these SNPs could confer lung cancer risk by regulating *TERT* expression instead of *CLPTMIL* [23]. It is recognized that rs402710 may affect lung tissue tumorigenesis in vitro by blocking DNA damage-induced apoptosis via the enhanced accumulation of an antiapoptotic agents [19].

In Zhao et al. [24], a study performed among Caucasians and East Asians, significantly increased risks for lung malignancy were found for rs402710 and rs401681 in all the genetic models. In addition, it was identified that both these SNPs express significantly greater risks for adenocarcinoma and squamous cell carcinoma when stratified by the histological type of tumors. Furthermore, associations of these polymorphisms with lung carcinoma risk were observed both in current and former smokers. It is even compelling when considering the fact that the *CLPTMIL* – rs401681 (G > A) polymorphism was found to be significantly associated with decreased lung cancer risk, especially among European populations [25]. Also Tang et al. [26] reported that the *CLPTMIL* gene rs402710 (C > T) and rs401681 (C > T) polymorphisms are associated with decreased cancer risk. It is consistent with the protective association of



the above-mentioned *CLPTM1L* SNPs with lung carcinoma, which was reported by authors from Asia. Xun et al. [11] found that rs402710 and rs401681 were associated with a decreased lung cancer risk in the northwest Chinese Han population. They identified that the minor alleles of rs402710 in *CLPTM1L* were associated with a 0.76-fold decreased risk of lung cancer. In a study conducted by Chen et al. [27], the TT genotype was less frequent in patients with lung adenocarcinoma in both the rs402710 and rs401681 genotypes than in the controls. In 2013 Li et al. [22] performed a meta-analysis and tried to explain some conflicting data concerning the *TERT* and *CLPTM1L* relationship with cancers. They suggested that the *TERT-CLPTM1L* region may have different effects in different cancer types and differing data might be due to different allele frequencies in various ethnicities, as seen in HapMap. It could be also explained by the varying linkage disequilibrium (LD) of the studied SNPs with other potential or causal ones. They indicate that both the rs402710 and rs401681 influence an increased cancer risk but in different genetic models: rs402710 in heterozygous and homozygous, while rs401681 only in the homozygous variant. Furthermore, the functional mechanisms of the *CLPTM1L* gene polymorphism variants related to lung cancer risk are considered to be different in various ethnic groups. Considering the genetic changes underlying the neoplastic transformation of cells, changes in the distribution of genotypes and alleles of the studied polymorphisms in the cancerous and healthy lung tissue could be expected.

To our knowledge, to date there have been no studies concerning rs401681 and rs402710 polymorphisms in tissues of patients with lung adenocarcinoma. For this reason, we analysed the genotype and allele distribution of rs401681 and rs402710 in two separate tissue samples (obtained from a lung tumor and its healthy surroundings) of each person from the group of patients with histologically confirmed lung adenocarcinoma. We used an interesting and rare procedure to obtain DNA involving the use of paraffin-embedded lung tissue specimens stored in the archives of the Department of Pathomorphology. The genetic results were analysed in relation to gender, tobacco smoking, family history of malignancy and patient survival. Neither the genotype nor allele distribution of the studied SNPs established in the neoplastic and healthy lung tissue statistically differed in the whole study group. The same observations between the subgroups divided by gender, cigarette smoking or survival (deceased vs living at the time of observation) were noticed. No significant changes in the genotype or allele frequency were observed in the neoplasm tissue obtained from the women and men, smokers and non-smokers, dead and survivors, just as in the case of healthy tissue. An interesting observation was a marked

tendency for differences in the rs401681 genotype distribution in the adenocarcinoma tissue between men and women (TT genotype), but it did not achieve the limit of statistical significance.

Based on literature data, our observations are no exception. It was demonstrated that the incidence of LOH is variable in different histological types of neoplasm, even if it concerns the same organ [8]. For example, the occurrence of LOH was reported in squamous neoplasms but not in adenocarcinoma in oral carcinoma [9].

In our study, the influence of the genotype or allele distribution on patient survival depicted in the Kaplan-Meier plots was not significant. The only negative risk factors revealed for survival were the patient's age at the time of diagnosis, the N category of TNM carcinoma classification and neoplasm staging (according to 8<sup>th</sup> ed. UICC criteria from 2018). This observation is not surprising. Our results do not confirm the initial assumptions of the study, but we are aware that it could be the effect of the small sample size. Another explanation for our observations is not reassuring. It is quite possible that genetic changes cross the tumor border and also affect tissue without histological pathologies, misdiagnosed as normal and healthy. The such a suspicion should be confirmed. The lack of a control group consisting of healthy people as well as DNA derived from the patient's blood sample complicate carrying out a comprehensive analysis and the formulation of reliable conclusions. All the above points to further work on this interesting topic.

## CONCLUSIONS

The results obtained in this study seem to justify the following conclusions:

1. Both neoplastic and healthy lung tissue had a comparable distribution of both the genotype and allele of rs401681 and rs402710 of the *CLPTM1L* gene in patients with lung adenocarcinoma.
2. The patient's survival time was not dependent on the genotype of the studied SNPs either in the neoplastic or healthy lung tissue, while the patient's age at the time of diagnosis, the N category of TNM carcinoma classification and neoplasm staging (according to 8<sup>th</sup> ed. UICC criteria from 2018) were the only significant affecting factors.

## Funding

Study was funded by the Medical University of Silesia, Katowice, Poland, grant no. KNW-1-005/N/8/K.

## Conflict of interest

The authors declare that no competing interests exist.



### Author's contribution


Study design – D. Czyżewski, B. Drozdowska  
Data collection – M. Rydel, D. Czyżewski, B. Drozdowska  
Data interpretation – J. Żywiec, K. Klimczyk, D. Czyżewski  
Statistical analysis – J. Kasperczyk, J. Żywiec  
Manuscript preparation – J. Żywiec  
Literature research – K. Klimczyk, J. Żywiec, M. Rydel

### REFERENCES

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Ervik M., Dikshit R., Eser S., Mathers C. et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase. No. 11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2013; [online] <http://globocan.iarc.fr/577> [accessed on 15 September 2023].
2. Allemani C., Weir H.K., Carreira H., Harewood R., Spika D., Wang X.S. et al. Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet* 2015; 385(9972): 977–1010, doi: 10.1016/S0140-6736(14)62038-9.
3. Thun M.J., Henley S.J., Burns D., Jemal A., Shanks T.G., Calle E.E. Lung cancer death rates in lifelong nonsmokers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98(10): 691–699, doi: 10.1093/jnci/dj187.
4. Couraud S., Souquet P.J., Paris C., Dô P., Doubre H., Pichon E. et al. BioCAST/IFCT-1002: epidemiological and molecular features of lung cancer in never-smokers. *Eur. Respir. J.* 2015; 45(5): 1403–1414, doi: 10.1183/09031936.00097214.
5. Lebrecht M.B., Crosbie E.J., Smith M.J., Woodward E.R., Evans D.G., Crosbie P.A.J. Targeting lung cancer screening to individuals at greatest risk: the role of genetic factors. *J. Med. Genet.* 2021; 58(4): 217–226, doi: 10.1136/jmedgenet-2020-107399.
6. Wang J., Liu Q., Yuan S., Xie W., Liu Y., Xiang Y. et al. Genetic predisposition to lung cancer: comprehensive literature integration, meta-analysis, and multiple evidence assessment of candidate-gene association studies. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 8371, doi: 10.1038/s41598-017-07737-0.
7. Zhang X., Sjöblom T. Targeting loss of heterozygosity: A novel paradigm for cancer therapy. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021; 14(1): 57, doi: 10.3390/ph14010057.
8. Mendes-da-Silva P., Moreira A., Duro-da-Costa J., Matias D., Monteiro C. Frequent loss of heterozygosity on chromosome 5 in non-small cell lung carcinoma. *Mol. Pathol.* 2000; 53(4): 184–187, doi: 10.1136/mp.53.4.184.
9. Yoshino I., Osogawa A., Yohena T., Kameyama T., Oki E., Oda S. et al. Loss of heterozygosity (LOH) in non-small cell lung cancer: difference between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Respir. Med.* 2005; 99(3): 308–312, doi: 10.1016/j.rmed.2004.08.008.
10. Liu C., Cui H., Gu D., Zhang M., Fang Y., Chen S. et al. Genetic polymorphisms and lung cancer risk: Evidence from meta-analyses and genome-wide association studies. *Lung Cancer* 2017; 113: 18–29, doi: 10.1016/j.lungcan.2017.08.026.
11. Xun X., Wang H., Yang H., Wang H., Wang B., Kang L. et al. *CLPTM1L* genetic polymorphisms and interaction with smoking and alcohol drinking in lung cancer risk: a case-control study in the Han population from northwest China. *Medicine (Baltimore)* 2014; 93(28): e289, doi: 10.1097/MD.0000000000000289.
12. Tian J., Wang Y., Dong Y., Chang J., Wu Y., Chang S. et al. Cumulative evidence for relationships between multiple variants in the *TERT* and *CLPTM1L* region and risk of cancer and non-cancer disease. *Front. Oncol.* 2022; 12: 946039, doi: 10.3389/fonc.2022.946039.
13. Yamamoto K., Okamoto A., Isonishi S., Ochiai K., Ohtake Y. A novel gene, *CRR9*, which was up-regulated in CDDP-resistant ovarian tumor cell line, was associated with apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 280(4): 1148–1154, doi: 10.1006/bbrc.2001.4250.
14. Zhang R., Shen S., Wei Y., Zhu Y., Li Y., Chen J. et al. A large-scale genome-wide gene-gene interaction study of lung cancer susceptibility in Europeans with a trans-ethnic validation in Asians. *J. Thorac. Oncol.* 2022; 17(8): 974–990, doi: 10.1016/j.jtho.2022.04.011.
15. Lim W., Ridge C.A., Nicholson A.G., Mirsadraee S. The 8<sup>th</sup> lung cancer TNM classification and clinical staging system: review of the changes and clinical implications. *Quant. Imaging Med. Surg.* 2018; 8(7): 709–718, doi: 10.21037/qims.2018.08.02.
16. Hou Y., Xue F., Fu Y., Feng G., Wang R., Yuan H. *CLPTM1L* is a novel putative oncogene promoting tumorigenesis in oral squamous cell carcinoma. *Cell Transplant.* 2021; 30: 9636897211045970, doi: 10.1177/09636897211045970.
17. Zienolddiny S., Skaug V., Landvik N.E., Ryberg D., Phillips D.H., Houlston R. et al. The *TERT-CLPTM1L* lung cancer susceptibility variant associates with higher DNA adduct formation in the lung. *Carcinogenesis* 2009; 30(8): 1368–1371, doi: 10.1093/carcin/bgp131.
18. Ni Z., Chen Q., Lai Y., Wang Z., Sun L., Luo X. et al. Prognostic significance of *CLPTM1L* expression and its effects on migration and invasion of human lung cancer cells. *Cancer Biomark.* 2016; 16(3): 445–452, doi: 10.3233/CBM-160583.
19. James M.A., Wen W., Wang Y., Byers L.A., Heymach J.V., Coombes K.R. et al. Functional characterization of *CLPTM1L* as a lung cancer risk candidate gene in the 5p15.33 locus. *PLoS One* 2012; 7(6): e36116, doi: 10.1371/journal.pone.0036116.
20. Ni Z., Tao K., Chen G., Chen Q., Tang J., Luo X. et al. *CLPTM1L* is overexpressed in lung cancer and associated with apoptosis. *PLoS One* 2012; 7(12): e52598, doi: 10.1371/journal.pone.0052598.
21. Li H., Che J., Jiang M., Cui M., Feng G., Dong J. et al. *CLPTM1L* induces estrogen receptor  $\beta$  signaling-mediated radioresistance in non-small cell lung cancer cells. *Cell Commun. Signal.* 2020; 18(1): 152, doi: 10.1186/s12964-020-00571-4.
22. Li C., Yin Z., Wu W., Li X., Zhou B. Genetic variants in *TERT-CLPTM1L* genetic region associated with several types of cancer: a meta-analysis. *Gene* 2013; 526(2): 390–399, doi: 10.1016/j.gene.2013.05.003.
23. Yang Y.C., Fu W.P., Zhang J., Zhong L., Cai S.X., Sun C. rs401681 and rs402710 confer lung cancer susceptibility by regulating *TERT* expression instead of *CLPTM1L* in East Asian populations. *Carcinogenesis* 2018; 39(10): 1216–1221, doi: 10.1093/carcin/bgy084.
24. Zhao D.P., Yang C.L., Zhou X., Ding J.A., Jiang G.N. Association between *CLPTM1L* polymorphisms (rs402710 and rs401681) and lung cancer susceptibility: evidence from 27 case-control studies. *Mol. Genet. Genomics* 2014; 289(5): 1001–1012, doi: 10.1007/s00438-014-0868-7.
25. Zhang X.L., Zhang X.J., Zhang Y.M., Zhang Q., Cao C.X., Gu D.Y. et al. Decreased risk of developing lung cancer in subjects carrying the *CLPTM1L* rs401681 (G>A) polymorphism: evidence from a meta-analysis. *Genet. Mol. Res.* 2014; 13(1): 1373–1382, doi: 10.4238/2014.February.28.10.
26. Tang J., Hu C., Mei H., Peng L., Li H. *CLPTM1L* gene rs402710 (C > T) and rs401681 (C > T) polymorphisms associate with decreased cancer risk: a meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8(60): 102446–102457, doi: 10.18632/oncotarget.22268.
27. Chen X.F., Cai S., Chen Q.G., Ni Z.H., Tang J.H., Xu D.W. Multiple variants of *TERT* and *CLPTM1L* constitute risk factors for lung adenocarcinoma. *Genet. Mol. Res.* 2012; 11(1): 370–378, doi: 10.4238/2012.February.16.2.



## The potential anticancer activities of telmisartan – a literature review

Andriana Hadjiyianni, Datis Kalali   
Medical School, University of Cyprus, Nicosia

### ABSTRACT

In the field of pharmacological therapy, due to the high costs and other obstacles encountered in developing novel drugs, a variety of studies have recently focused on repositioning existing pharmaceutical agents. Regarding the pharmacotherapy of cancer, many possible drugs may exhibit anticancer effects owing to the vast number of biological mechanisms involved in the proliferation and survival of malignant cells. Telmisartan, a well-known inhibitor of the angiotensin II receptor used clinically as an antihypertensive, has been shown to target various signaling pathways in cancer cells, therefore exhibiting anti-proliferative, anti-apoptotic and anti-metastatic effects. Moreover, inhibitors of the angiotensin II receptor have been shown to increase the fluidity of the tumor microenvironment, thus increasing the efficacy of chemotherapy as drug delivery to the tumor is enhanced. The present review provides an insight into the different anticancer mechanisms of telmisartan, as well as recent and past studies which have tested the drug in vitro and in vivo on different types of cancers. This may provide a perspective for future clinical trials on repositioning telmisartan as an anti-cancer agent.

### KEYWORDS

cancer chemotherapy, antihypertensives, telmisartan

Received: 17.03.2023

Revised: 17.04.2023

Accepted: 18.04.2023

Published online: 28.09.2023

Address for correspondence: Datis Kalali, Medical School, University of Cyprus, Palaioi dromos Lefkosias Lemesou No.215/6, 2029 Aglantzia, Nicosia, Cyprus, P.O.Box 20537 1678 Nicosia, Cyprus, tel. +35 22-8952557, e-mail: kalali.datis@ucy.ac.cy



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### Introduction

Despite the continuous discovery of novel therapeutic approaches, cancer remains one of the leading causes of mortality globally, indicating the need for further research to be undertaken in the field of anticancer therapies [1]. Nonetheless, in the field of pharmacological therapy, the development of a new drug has been estimated to cost approximately 2.5 billion US dollars and may require more than a decade to receive approval and reach the pharmaceutical market [2,3].

For this reason, many recent studies, especially in the field of oncology, have been focused on drug repurposing, in other words, the use of existing drugs in the therapeutic regimen of other diseases [4,5,6]. In the past, many studies and trials were undertaken to investigate the possibility of repurposing antihypertensive drugs as anti-cancer agents and administering them simultaneously with chemotherapeutic drugs [7]. Angiotensin II receptor blockers (ARBs) comprise a category of drugs used to regulate blood pressure in people with chronic hypertension and metabolic syndrome



as well as have shown to exhibit anti-cancer effects [7,8]. However, it is worth mentioning that a meta-analysis conducted in 2010, reported an 8% increase in cancer risk in people using ARBs, indicating that they may also have a slight procarcinogen effect [9]. Later on, a study was conducted reporting that compared to other ARBs, the use of telmisartan was not associated with an increased risk of cancer [10].

Moreover, it has been shown that telmisartan does not alter uric acid levels in patients in contrast to other ARBs such as valsartan and losartan [11,12]. This indicates that its use in cancer patients is safer compared with other ARBs since many cancer patients may present hypouricemia and hyperuricemia, either as a result of the cancer or a side effect of chemotherapeutics [13,14]. Hence, in this mini-review, we aimed to synthesize the existing evidence on the anti-cancer effects of telmisartan and explore the effects of this drug on different types of cancer, providing possible future insights for researchers to conduct more studies on the effects of this drug.

### **The rationale for using telmisartan as an anticancer agent**

Clinically, telmisartan is used to regulate blood pressure by inhibiting the angiotensin II transmembrane receptor AT1R, and consequently disturbing the renin-angiotensin-aldosterone system [15]. Simultaneously, the renin-angiotensin-aldosterone system has been studied as a potential target in cancer as it is one of the essential mechanisms of cancerous cell survival [16]. Firstly, several studies have shown that stimulation of the AT1R receptor induces angiogenesis by enhancing the secretion of the vascular endothelial growth factor (VEGF), and thus enhances vascular growth in tumors, assisting their survival [17,18,19]. In this manner, telmisartan as an antagonist of the receptor can exhibit an anti-angiogenic effect, and therefore suppress tumor growth, resulting in better prognosis and possible therapy.

Moreover, the renin-angiotensin system has been shown to affect the texture of a tumor's microenvironment, including the structure of the extracellular matrix [16,20,21]. One of the novel therapeutic approaches being studied in solid tumors is to reengineer the tumor's microenvironment for better treatment response [22]. Indeed, increasing the fluidity of the tumor microenvironment, which in turn, results in decompression of the surrounding blood vessels, can augment anticancer drug delivery to the malignant cells, increasing the efficacy of chemotherapy [23,24]. Inhibiting the angiotensin II receptor has been shown to trigger inhibition of the transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) signaling pathway, which is responsible for

structuring the microenvironment [25]. Specifically, inhibition of the TGF- $\beta$  signaling pathway down-regulates the expression of collagen fibers and cancer-associated fibroblasts (CAFs) in tissues, consequently increasing the fluidity of the tumor microenvironment [26,27]. Also, a study by Chauhan et al. [28] suggested that inhibiting the angiotensin II receptors and the TGF- $\beta$  pathway results in decompression of the blood vessels in a tumor's environment. This implies that administering telmisartan as co-adjutant therapy can increase the efficacy of chemotherapy as drug delivery to the tumor is enhanced.

On the other hand, Khorsand et al. [29] revealed in a study that telmisartan is a potent inhibitor of N-cadherin in cancerous tissue. N-cadherin is a connective protein that has been shown to assist malignant cells to form aggregates, and thereby invade the extracellular matrix to migrate to other sites [30]. Moreover, it has been shown that N-cadherin can polarize and activate the Rho-family GTPase signaling pathway in cells and promote their migration [31]. The activation of the latter pathway assists the regulation of actin dynamics, the rearrangement of the cytoskeleton and the deadhesion of cells from the basal lamina, supporting the process of metastasis [32,33]. This indicates that telmisartan can exhibit anti-metastatic effects and can also be effectively used as co-adjutant therapy in patients receiving maintenance or palliative chemotherapy.

Another known effect of telmisartan is its potential to act as an agonist of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ) [34,35]. The activation of PPAR- $\gamma$  has been shown to inhibit cell proliferation, trigger several apoptotic pathways and simultaneously sensitize cells to radiation therapy, indicating that telmisartan can induce anti-proliferative and pro-apoptotic effects [36,37,38]. It is worth mentioning that one of the main pro-apoptotic mechanisms of the latter pathway, which also sensitizes malignant cells to chemotherapy and radiation therapy, is by upregulating the expression of death receptors on the cellular surface [39]. In fact, numerous recent studies have suggested that telmisartan can either inhibit cellular growth in tumors or induce their apoptosis *in vitro* and *in vivo*, validating this scientific rationale [40,41,42,43].

Overall, the available evidence suggests that telmisartan can be used as a potential anticancer agent and possibly be administered as coadjutant therapy alongside chemotherapy in patients with malignant neoplasms, given that it does not affect uric acid levels and bears a low risk of complications compared to other ARBs [10,12]. All the potential activities of telmisartan on tumors are summarized in Figure 1.



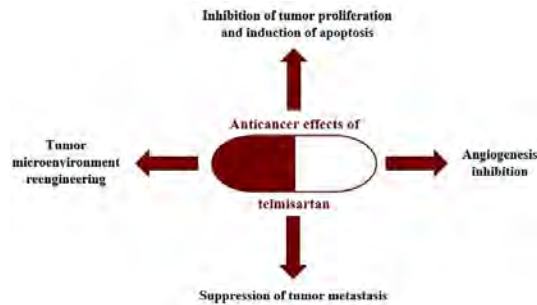


Fig. 1. Summary of potential anticancer mechanisms of telmisartan.

### The anticancer effects of telmisartan

During recent years, several studies have been conducted to assess the effects of telmisartan on different types of cancer cells in vitro and in vivo. Indeed, its antihypertensive action has been found to be effective as an anticancer drug through a variety of different mechanisms. In Table I, the anticancer effects of telmisartan in different types of malignancies are reported.

Table I. Effects of telmisartan on different types of cancer. (↑): upregulation, (↓): downregulation

Type of cancer	Dosage and time of administration	Mode of anticancer activity	Molecular mechanism of action	Tested in vitro	Tested in vivo	References
Breast cancer	10 µm (0–24 h)	anti-proliferative and anti-metastatic	expression levels of IL-6 (↓)	✓	✗	[40]
Bile duct cancer	0–100 µm (0–48 h)	anti-proliferative	blocker of G0 to G1 cell cycle transition	✓	✓	[41]
Colorectal cancer	0.2–5 µm (0–24 h)	anti-proliferative and pro-apoptotic	PPARγ activation; expression levels of cystatin A (↑)	✓	✗	[42,43]
Endometrial cancer	0–100 µm (0–48 h)	anti-proliferative and pro-apoptotic	PPARγ activation; inhibitor of estradiol and angiotensin II induced proliferation	✓	✓	[44]
Gastric cancer	0–100 µm (0–48 h)	anti-proliferative	inhibitor of EGFR; expression levels of cyclin D1 (↑)	✓	✓	[45]
Hepatocellular cancer	0–100 µm (0–48 h)	anti-proliferative and pro-apoptotic	inhibitor of mTOR signaling pathway; inhibitor of ERBB3 phosphorylation; expression levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 (↑)	✓	✗	[46]
Melanoma	0–100 µm (0–72 h)	anti-proliferative and pro-apoptotic	PPARγ activation	✓	✗	[47]
Non-small cell lung cancer	0–20 µm (in vivo for 8 mos.)	anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-metastatic	expression levels of EGFR (↓), MET (↓), hNanog (↓), SOX2 (↓), Oct-4 (↓), TGF-β (↓), MMP-9 (↓) and E-cadherin (↑)	✓	✓	[48,49,50]
Osteosarcoma	0–50 µm (0–72 h)	anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-metastatic	inhibitor of mTOR signaling pathway; expression levels of Bax (↑), caspase-3 (↑) and Bcl-2 (↓)	✓	✗	[51]
Ovarian cancer	0–100 µm (0–72 h)	anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-metastatic	expression levels of PPARγ (↑), caspase-3 (↑) and MMP-9 (↓)	✓	✗	[52]
Pancreatic duct cancer	–	anti-proliferative and autophagy inducer	accumulation of signal adaptor protein p62; expression levels of LC3A/B antibodies (↓)	✓	✓	[53]
Prostate cancer	0–100 µm (0–72 h)	anti-proliferative	PPARγ activation	✓	✗	[54]
Renal cancer	0–400 µm (0–48 h)	anti-proliferative and pro-apoptotic	expression levels of Bcl-2 (↓) and caspase-3 (↑)	✓	✗	[55]
T-cell leukemia	0–100 µm (0–48 h)	anti-proliferative, pro-apoptotic and autophagy inducer	increase in LC3B enriched protein fraction and caspase-3 (↑)	✓	✗	[56]
Testicular cancer	0–100 µm (0–72 h)	anti-proliferative	PPARγ activation	✓	✗	[57]

IL-6 – interleukin 6; PPARγ – peroxisome proliferator-activated receptor gamma; EGFR – epidermal growth factor receptor; mTOR – mammalian target of rapamycin; ERBB3 – human epidermal growth factor receptor 3; MET – mesenchymal epithelial transition receptor; hNanog – homeobox protein NANOG; SOX2 – sex determining region Y-box 2; Oct-4 – octamer-binding transcription factor 4; TGF-β – transforming growth factor beta; MMP-9 – matrix metalloproteinase 9; LC3A/B – light-chain 3 autophagosome antibodies A and B; Bcl-2 – B-cell lymphoma-2 protein.





As seen in most studies, telmisartan has an outstanding effect on angiogenesis inhibition and tumor development reduction due to its molecular mode of action. Furthermore, it has been demonstrated that telmisartan plays a key function in the suppression of proliferation. Approximately a maximum dose of 100  $\mu\text{m}$  of telmisartan can exhibit anti-proliferative and pro-apoptotic effects over a period of 2–3 days. The only exception was in the case of renal carcinoma cells, where a dose of 400  $\mu\text{m}$  of the drug was required to exert its anticancer effects [55]. In many cases, one of the responses to telmisartan was an increase in the expression levels of caspase-3. The enzyme caspase-3 is a proteinase capable of degrading many structures, which is activated in many apoptotic signaling pathways, and its expression can be used as an accurate marker of apoptosis [58]. At the same time, the activation of PPAR $\gamma$  has been observed in many studies, validating the hypothesis that telmisartan can exhibit anticancer effects through the latter mechanism. Another observed effect of telmisartan on malignant cells, was the induction of autophagy, another mechanism which can suppress both tumor growth and tumorigenesis [59]. An antimetastatic effect was observed in the case of osteosarcoma and ovarian cancer, by inhibiting the mammalian target of the rapamycin (mTOR) signaling pathway and reducing expression of the matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) enzyme (which can assist in degradation of the extracellular matrix), respectively [51,52,60]. The mTOR signaling pathway is one of the major pathways that promotes cell metastasis through different mechanisms, and therefore its inhibition can result in better prognosis in patients [61]. Overall, there is substantial evidence that telmisartan may be used as an anti-cancer medicine as animal *in vivo* studies have already been conducted.

### Conclusions and future perspectives

Nowadays, various studies are undertaken to explore possible candidates for drug repositioning in the field of medical oncology [62,63]. One of the dilemmas that medical oncologists may encounter is the fact that a wide combination of drugs is the optimal regimen for

chemotherapy, but amongst such regimens, many drugs such as platin salts are highly toxic and bear numerous unwanted side-effects, owing to which, patients may not fully comply with their treatment [64,65,66]. Nonetheless, this dilemma is not encountered when it comes to using drugs with a low risk of side effects, such as telmisartan [67].

As discussed in this review, there is plenty of evidence indicating that telmisartan can be used as an anti-cancer agent and already studies have been conducted on animals [45,49]. However, clinical trials need to be conducted in order to gain approval for repositioning the drug [68]. A search conducted from October 2022 until inception on the Clinicaltrials.gov website using the keywords “cancers” and “telmisartan” did not retrieve any registered clinical trial on using telmisartan in cases of malignancies. This clearly indicates the need to conduct such studies in the near future by researchers and clinicians, using the available evidence as an insight.

On the other hand, further studies have been conducted on the ARB drug losartan regarding its effect on a tumor’s stiffness and its role in reengineering the microenvironment [69]. As known from other conducted research, the microenvironment plays a significant role in the oxygenation and proliferation of a tumor and can increase chemotherapy delivery [70]. Nonetheless, the literature search conducted by the authors did not retrieve any *in vivo* study on the effects of telmisartan on the microenvironment. Thus, more studies can be conducted in this direction to validate the rationale reported in this review.

It is also worth mentioning that telmisartan can be used as a protective agent alongside chemotherapy to reduce adverse effects and toxicities [71]. For example, studies have revealed that telmisartan can protect patients from cardiotoxicity and oxidative stress induced by anthracycline drugs such as doxorubicin and epirubicin [72,73]. Another study by Kelleni et al. [74] concluded that the administration of telmisartan reduced hepatotoxicity amongst rats that were treated with methotrexat. Overall, with all its varying effects, one can conclude that telmisartan can be used a multi-edged sword for combating various types of cancer, in combination with other therapies.

---

#### Author's contribution

Study design – A. Hadjiyianni, D. Kalali

Data collection – A. Hadjiyianni, D. Kalali

Manuscript preparation – A. Hadjiyianni, D. Kalali

Literature research – A. Hadjiyianni, D. Kalali

Final approval of the version to be published – A. Hadjiyianni, D. Kalali

---



## REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209–249, doi: 10.3322/caac.21660.
2. Saesen R., Lejeune S., Quaglio G., Lacombe D., Huys I. Views of European drug development stakeholders on treatment optimization and its potential for use in decision-making. *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 43, doi: 10.3389/fphar.2020.00043.
3. Scannell J.W., Blanckley A., Boldon H., Warrington B. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2012; 11(3): 191–200, doi: 10.1038/nrd3681.
4. Huber M., Huber B. Innovation in oncology drug development. *J. Oncol.* 2019; 2019: 9683016, doi: 10.1155/2019/9683016.
5. Jourdan J.P., Bureau R., Rochais C., Dallemagne P. Drug repositioning: a brief overview. *J. Pharm. Pharmacol.* 2020; 72(9): 1145–1151, doi: 10.1111/jphp.13273.
6. Serafin M.B., Bottega A., da Rosa T.F., Machado C.S., Foletto V.S., Coelho S.S. et al. Drug repositioning in oncology. *Am. J. Ther.* 2021; 28(1): e111–e117, doi: 10.1097/mjt.0000000000000906.
7. Carlos-Escalante J.A., de Jesús-Sánchez M., Rivas-Castro A., Pichardo-Rojas P.S., Arce C., Wegman-Ostrosky T. The use of antihypertensive drugs as adjuvant therapy in cancer. *Front. Oncol.* 2021; 11: 660943, doi: 10.3389/fonc.2021.660943.
8. Fan Y., Khan N.H., Farhan Ali Khan M., Ahammad M.D.F., Zulfiqar T., Virk R. et al. Association of hypertension and breast cancer: Antihypertensive drugs as an effective adjunctive in breast cancer therapy. *Cancer Manag. Res.* 2022; 14: 1323–1329, doi: 10.2147/amar.S350854.
9. Sipahi I., Debanne S.M., Rowland D.Y., Simon D.I., Fang J.C. Angiotensin-receptor blockade and risk of cancer: meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet Oncol.* 2010; 11(7): 627–636, doi: 10.1016/s1470-2045(10)70106-6.
10. Tascilar K., Azoulay L., Dell'Aniello S., Bartels D.B., Suissa S. The use of telmisartan and the incidence of cancer. *Am. J. Hypertens.* 2016; 29(12): 1358–1365, doi: 10.1093/ajh/hpw095.
11. Li Y., Sato M., Yanagisawa Y., Mamada H., Fukushi A., Mikami K. et al. Effects of angiotensin II receptor blockers on renal handling of uric acid in rats. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2008; 23(4): 263–270, doi: 10.2133/dmpk.23.263.
12. Kim H.S., Kim H., Lee S.H., Kim J.H. Comparative analysis of the efficacy of angiotensin II receptor blockers for uric acid level change in asymptomatic hyperuricaemia. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2020; 45(6): 1264–1270, doi: 10.1111/jcpt.13202.
13. Tsimberidou A.M., Keating M.J. Hyperuricemic syndromes in cancer patients. *Contrib. Nephrol.* 2005; 147: 47–60, doi: 10.1159/000082541.
14. Son C.N., Kim J.M., Kim S.H., Cho S.K., Choi C.B., Sung Y.K. et al. Prevalence and possible causes of hypouricemia at a tertiary care hospital. *Korean J. Intern. Med.* 2016; 31(5): 971–976, doi: 10.3904/kjim.2015.125.
15. Chachin M., Ohmura T., Hayashi N., Nishimura Y., Satoh H. [Pharmacological and clinical profile of telmisartan, a selective angiotensin II type-1 receptor blocker]. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2004; 124(1): 31–39, doi: 10.1254/fj.124.31.
16. Pinter M., Jain R.K. Targeting the renin-angiotensin system to improve cancer treatment: Implications for immunotherapy. *Sci. Transl. Med.* 2017; 9(410): ean5616, doi: 10.1126/scitranslmed.aan5616.
17. Carbajo-Lozoya J., Lutz S., Feng Y., Kroll J., Hammes H.P., Wieland T. Angiotensin II modulates VEGF-driven angiogenesis by opposing effects of type 1 and type 2 receptor stimulation in the microvascular endothelium. *Cell. Signal.* 2012; 24(6): 1261–1269, doi: 10.1016/j.cellsig.2012.02.005.
18. Ino K., Shibata K., Kajiyama H., Yamamoto E., Nagasaka T., Nawa A. et al. Angiotensin II type 1 receptor expression in ovarian cancer and its correlation with tumour angiogenesis and patient survival. *Br. J. Cancer* 2006; 94(4): 552–560, doi: 10.1038/sj.bjc.6602961.
19. Escobar E., Rodríguez-Reyna T.S., Arrieta O., Sotelo J. Angiotensin II, cell proliferation and angiogenesis regulator: biologic and therapeutic implications in cancer. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2004; 2(4): 385–399, doi: 10.2174/1570161043385556.
20. O'Rawe M., Kilmister E.J., Mantamadiotis T., Kaye A.H., Tan S.T., Wickremesekera A.C. The renin-angiotensin system in the tumor microenvironment of glioblastoma. *Cancers (Basel)* 2021; 13(16): 4004, doi: 10.3390/cancers13164004.
21. Pirri C., Caroccia B., Angelini A., Petrelli L., Piazza M., Biz C. et al. Evidence of renin-angiotensin system receptors in deep fascia: A role in extracellular matrix remodeling and fibrogenesis? *Biomedicines* 2022; 10(10): 2608, doi: 10.3390/biomedicines10102608.
22. Xiao Y., Yu D. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer. *Pharmacol. Ther.* 2021; 221: 107753, doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107753.
23. Stylianopoulos T., Munn L.L., Jain R.K. Reengineering the physical microenvironment of tumors to improve drug delivery and efficacy: From mathematical modeling to bench to bedside. *Trends Cancer* 2018; 4(4): 292–319, doi: 10.1016/j.trecan.2018.02.005.
24. Stylianopoulos T., Jain R.K. Combining two strategies to improve perfusion and drug delivery in solid tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013; 110(46): 18632–18637, doi: 10.1073/pnas.1318415110.
25. Pallasch F.B., Schumacher U. Angiotensin inhibition, TGF- $\beta$  and EMT in cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12(10): 2785, doi: 10.3390/cancers12102785.
26. Peng D., Fu M., Wang M., Wei Y., Wei X. Targeting TGF- $\beta$  signal transduction for fibrosis and cancer therapy. *Mol. Cancer* 2022; 21(1): 104, doi: 10.1186/s12943-022-01569-x.
27. Kabza M., Karolak J.A., Ryzdzanicz M., Szcześniak M.W., Nowak D.M., Ginter-Matuszewska B. et al. Collagen synthesis disruption and downregulation of core elements of TGF- $\beta$ , Hippo, and Wnt pathways in keratoconus corneas. *Eur. J. Hum. Genet.* 2017; 25(5): 582–590, doi: 10.1038/ejhg.2017.4.
28. Chauhan V.P., Martin J.D., Liu H., Lacorre D.A., Jain S.R., Kozin S.V. et al. Angiotensin inhibition enhances drug delivery and potentiates chemotherapy by decompressing tumour blood vessels. *Nat. Commun.* 2013; 4: 2516, doi: 10.1038/ncomms3516.
29. Khorsand M., Khajeh S., Eslami M., Nezafat N., Ghasemi Y., Razban V. et al. Telmisartan anti-cancer activities mechanism through targeting N-cadherin by mimicking ADH-1 function. *J. Cell. Mol. Med.* 2022; 26(8): 2392–2403, doi: 10.1111/jemm.17259.
30. Qi J., Chen N., Wang J., Siu C.H. Transendothelial migration of melanoma cells involves N-cadherin-mediated adhesion and activation of the beta-catenin signaling pathway. *Mol. Biol. Cell* 2005; 16(9): 4386–4397, doi: 10.1091/mbc.e05-03-0186.
31. Combedazou A., Gayral S., Colombié N., Fougerat A., Laffargue M., Ramel D. Small GTPases orchestrate cell-cell communication during collective cell movement. *Small GTPases* 2020; 11(2): 103–112, doi: 10.1080/21541248.2017.1366965.
32. Jansen S., Gosens R., Wieland T., Schmidt M. Paving the Rho in cancer metastasis: Rho GTPases and beyond. *Pharmacol. Ther.* 2018; 183: 1–21, doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.09.002.
33. Fife C.M., McCarroll J.A., Kavallaris M. Movers and shakers: cell cytoskeleton in cancer metastasis. *Br. J. Pharmacol.* 2014; 171(24): 5507–5523, doi: 10.1111/bph.12704.
34. Goyal S.N., Bharti S., Bhatia J., Nag T.C., Ray R., Arya D.S. Telmisartan, a dual ARB/partial PPAR- $\gamma$  agonist, protects myocardium from ischaemic reperfusion injury in experimental diabetes. *Diabetes Obes. Metab.* 2011; 13(6): 533–541, doi: 10.1111/j.1463-1326.2011.01377.x.
35. Fujimura A., Ushijima K., Ando H. Does the PPAR- $\gamma$ -activating property of telmisartan provide a benefit in clinical practice? *Hypertens. Res.* 2013; 36(2): 183, doi: 10.1038/hr.2012.189.
36. Elrod H.A., Sun S.Y. PPARgamma and apoptosis in cancer. *PPAR Res.* 2008; 2008: 704165, doi: 10.1155/2008/704165.
37. Nava-Villalba M., Nuñez-Anita R.E., Bontempo A., Aceves C. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma is crucial for antitumoral effects of 6-iodolactone. *Mol. Cancer* 2015; 14: 168, doi: 10.1186/s12943-015-0436-8.
38. Kaur S., Nag A., Gangenahalli G., Sharma K. Peroxisome proliferator activated receptor gamma sensitizes non-small cell lung carcinoma to gamma irradiation induced apoptosis. *Front. Genet.* 2019; 10: 554, doi: 10.3389/fgene.2019.00554.
39. Kim Y.H., Jung E.M., Lee T.J., Kim S.H., Choi Y.H., Park J.W. et al. Rosiglitazone promotes tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by reactive oxygen species-mediated up-regulation of death receptor 5 and down-regulation of c-FLIP. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 44(6): 1055–1068, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.001.
40. Rasha F., Ramalingam L., Menikdiwala K., Hernandez A., Moussa H., Gollahon L. et al. Renin angiotensin system inhibition attenuates adipocyte-breast cancer cell interactions. *Exp. Cell Res.* 2020; 394(1): 112114, doi: 10.1016/j.yexcr.2020.112114.
41. Samukawa E., Fujihara S., Oura K., Iwama H., Yamana Y., Tadokoro T. et al. Angiotensin receptor blocker telmisartan inhibits cell proliferation and tumor growth of cholangiocarcinoma through cell cycle arrest. *Int. J. Oncol.* 2017; 51(6): 1674–1684, doi: 10.3892/ijo.2017.4177.
42. Lee L.D., Mafura B., Lauscher J.C., Seeliger H., Kreiss M.E., Gröne J. Antiproliferative and apoptotic effects of telmisartan in human colon cancer cells. *Oncol. Lett.* 2014; 8(6): 2681–2686, doi: 10.3892/ol.2014.2592.
43. Mielczarek-Putka M., Otto-Ślusarczyk D., Chrzanoska, Filipek A., Graboń W. Telmisartan influences the antiproliferative activity of linoleic acid in human colon cancer cells. *Nutr. Cancer* 2020; 72(1): 98–109, doi: 10.1080/01635581.2019.1613552.
44. Koyama N., Nishida Y., Ishii T., Yoshida T., Furukawa Y., Narahara H. Telmisartan induces growth inhibition, DNA double-strand breaks and apoptosis in human endometrial cancer cells. *PLoS One* 2014; 9(3): e93050, doi: 10.1371/journal.pone.0093050.
45. Fujita N., Fujita K., Iwama H., Kobara H., Fujihara S., Chiyo T. et al. Antihypertensive drug telmisartan suppresses the proliferation of gastric cancer cells in vitro and in vivo. *Oncol. Rep.* 2020; 44(1): 339–348, doi: 10.3892/or.2020.7607.



46. Oura K., Tadokoro T., Fujihara S., Morishita A., Chiyo T., Samukawa E. et al. Telmisartan inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation in vitro by inducing cell cycle arrest. *Oncol. Rep.* 2017; 38(5): 2825–2835, doi: 10.3892/or.2017.5977.
47. Grahovac J., Srdić-Rajić T., Francisco Santibañez J., Pavlović M., Čavić M., Radulović S. Telmisartan induces melanoma cell apoptosis and synergizes with vemurafenib in vitro by altering cell bioenergetics. *Cancer Biol. Med.* 2019; 16(2): 247–263, doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0375.
48. Green R., Howell M., Khalil R., Nair R., Yan J., Foran E. et al. Actinomycin D and telmisartan combination targets lung cancer stem cells through the Wnt/beta catenin pathway. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 18177, doi: 10.1038/s41598-019-54266-z.
49. Surapaneni S.K., Nottingham E., Mondal A., Patel N., Arthur P., Gebeyehu A. et al. Telmisartan facilitates the anticancer effects of CARP-1 functional mimetic and sorafenib in rociletinib resistant non-small cell lung cancer. *Anticancer Res.* 2021; 41(9): 4215–4228, doi: 10.21873/anticancer.15226.
50. Zhang S., Wang Y. Telmisartan inhibits NSCLC A549 cell proliferation and migration by regulating the PI3K/AKT signaling pathway. *Oncol. Lett.* 2018; 15(4): 5859–5864, doi: 10.3892/ol.2018.8002.
51. Wang C., Wang W.B. Telmisartan induces osteosarcoma cells growth inhibition and apoptosis via suppressing mTOR pathway. *Open Life Sci.* 2018; 13: 242–249, doi: 10.1515/biol-2018-0029.
52. Pu Z., Zhu M., Kong F. Telmisartan prevents proliferation and promotes apoptosis of human ovarian cancer cells through upregulating PPAR $\gamma$  and downregulating MMP-9 expression. *Mol. Med. Rep.* 2016; 13(1): 555–559, doi: 10.3892/mmr.2015.4512.
53. Grahovac J., Han S., Liu H., Duquette M., Luengo A., Schanne D. et al. Abstract B06: The angiotensin receptor blocker and partial PPAR $\gamma$  agonist telmisartan inhibits the growth of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2019; 79: B06–B06, doi: 10.1158/1538-7445.PANCA19-B06.
54. Funao K., Matsuyama M., Kawahito Y., Sano H., Chargui J., Touraine J.L. et al. Telmisartan is a potent target for prevention and treatment in human prostate cancer. *Oncol. Rep.* 2008; 20(2): 295–300.
55. de Araújo Júnior R.F., Leitão Oliveira A.L., de Melo Silveira R.F., de Oliveira Rocha H.A., de França Cavalcanti P., de Araújo A.A. Telmisartan induces apoptosis and regulates Bcl-2 in human renal cancer cells. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 2015; 240(1): 34–44, doi: 10.1177/1535370214546267.
56. Kozako T., Soeda S., Yoshimitsu M., Arima N., Kuroki A., Hirata S. et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker telmisartan induces apoptosis and autophagy in adult T-cell leukemia cells. *FEBS Open Bio.* 2016; 6(5): 442–460, doi: 10.1002/2211-5463.12055.
57. Matsuyama M., Funao K., Kuratsukuri K., Tanaka T., Kawahito Y., Sano H. et al. Telmisartan inhibits human urological cancer cell growth through early apoptosis. *Exp. Ther. Med.* 2010; 1(2): 301–306, doi: 10.3892/etm.00000046.
58. Walsh J.G., Cullen S.P., Sheridan C., Lüthi A.U., Gerner C., Martin S.J. Executioner caspase-3 and caspase-7 are functionally distinct proteases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105(35): 12815–12819, doi: 10.1073/pnas.0707715105.
59. Yang Z.J., Chee C.E., Huang S., Sinicrope F.A. The role of autophagy in cancer: therapeutic implications. *Mol. Cancer Ther.* 2011; 10(9): 1533–1541, doi: 10.1158/1535-7163.Mct-11-0047.
60. Huang H. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a cancer biomarker and MMP-9 biosensors: Recent advances. *Sensors (Basel)* 2018; 18(10): 3249, doi: 10.3390/s18103249.
61. Zhou H., Huang S. Role of mTOR signaling in tumor cell motility, invasion and metastasis. *Curr Protein Pept. Sci.* 2011; 12(1): 30–42, doi: 10.2174/138920311795659407.
62. Armando R.G., Mengual Gómez D.L., Gomez D.E. New drugs are not enough-drug repositioning in oncology: An update. *Int. J. Oncol.* 2020; 56(3): 651–684, doi: 10.3892/ijo.2020.4966.
63. Zhang Z., Zhou L., Xie N., Nice E.C., Zhang T., Cui Y. et al. Overcoming cancer therapeutic bottleneck by drug repurposing. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2020; 5(1): 113, doi: 10.1038/s41392-020-00213-8.
64. Bayat Mokhtari R., Homayouni T.S., Baluch N., Morgatskaya E., Kumar S., Das B. et al. Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget* 2017; 8(23): 38022–38043, doi: 10.18632/oncotarget.16723.
65. Nyrop K.A., Deal A.M., Shachar S.S., Basch E., Reeve B.B., Choi S.K. et al. Patient-reported toxicities during chemotherapy regimens in current clinical practice for early breast cancer. *Oncologist* 2019; 24(6): 762–771, doi: 10.1634/theoncologist.2018-0590.
66. Xu Z., Mohile S.G., Tejani M.A., Becerra A.Z., Probst C.P., Aquina C.T. et al. Poor compliance with adjuvant chemotherapy use associated with poorer survival in patients with rectal cancer: An NCDB analysis. *Cancer* 2017; 123(1): 52–61, doi: 10.1002/ncr.30261.
67. Schumacher H., Mancía G. The safety profile of telmisartan as monotherapy or combined with hydrochlorothiazide: a retrospective analysis of 50 studies. *Blood Press. Suppl.* 2008; 1: 32–40, doi: 10.1080/08038020802144383.
68. Pushpakom S., Iorio F., Eyers P.A., Escott K.J., Hopper S., Wells A. et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2019; 18(1): 41–58, doi: 10.1038/nrd.2018.168.
69. Zhao Y., Cao J., Melamed A., Worley M., Gockley A., Jones D. et al. Losartan treatment enhances chemotherapy efficacy and reduces ascites in ovarian cancer models by normalizing the tumor stroma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2019; 116(6): 2210–2219, doi: 10.1073/pnas.1818357116.
70. Mpekris F., Angeli S., Pirentis A.P., Stylianopoulos T. Stress-mediated progression of solid tumors: effect of mechanical stress on tissue oxygenation, cancer cell proliferation, and drug delivery. *Biomech. Model. Mechanobiol.* 2015; 14(6): 1391–1402, doi: 10.1007/s10237-015-0682-0.
71. Mantovani G., Dessi M., Piras A., Madeddu C., Orgiano L., Cadeddu C. et al. Long-term protective effects of the angiotensin receptor blocker telmisartan on epirubicin-induced inflammation, oxidative stress, and myocardial dysfunction. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(15 Suppl): 9006–9006, doi: 10.1200/jco.2012.30.15\_suppl.9006.
72. Al-Kuraishy H.M., Al-Gareeb A.I., Alkharji A.F., Al-Megrin W.A.I., Elekhaway E., Negm W.A. et al. Investigation of the impact of rosuvastatin and telmisartan in doxorubicin-induced acute cardiotoxicity. *Biomed. Pharmacother.* 2022; 154: 113673, doi: 10.1016/j.biopha.2022.113673.
73. Cadeddu C., Piras A., Mantovani G., Deidda M., Dessi M., Madeddu C. et al. Protective effects of the angiotensin II receptor blocker telmisartan on epirubicin-induced inflammation, oxidative stress, and early ventricular impairment. *Am. Heart J.* 2010; 160(3): 487.e1–7, doi: 10.1016/j.ahj.2010.05.037.
74. Kelleni M.T., Ibrahim S.A., Abdelrahman A.M. Effect of captopril and telmisartan on methotrexate-induced hepatotoxicity in rats: impact of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Toxicol. Mech. Methods* 2016; 26(5): 371–377, doi: 10.1080/15376516.2016.1191576.



## Which factors affect electrophysiological parameters in patients undergoing surgery for carpal tunnel syndrome?

Jakie czynniki wpływają na elektrofizjologiczne parametry przewodzenia u pacjentów poddanych operacyjnemu leczeniu zespołu cieśni nadgarstka?

Krzysztof Wierzbicki<sup>1</sup> , Cezary Linart<sup>2</sup> , Monika Bugdol<sup>3</sup> , Krystian Ślusarz<sup>4</sup> , Karolina Romanek<sup>4</sup> ,  
Bartosz Tadeusiak<sup>4</sup> , Monika Adamczyk-Sowa<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Neurology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Trauma and Orthopedic Surgery, Silesian Hospital in Cieszyn, Poland

<sup>3</sup>Department of Informatics and Medical Equipment, Faculty of Biomedical Engineering, Silesian University of Technology, Gliwice, Poland

<sup>4</sup>Student Scientific Association at the Department of Neurology, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Carpal tunnel syndrome (CTS) is an upper limb neuropathy that occurs as a result of compression of the median nerve in the carpal tunnel and is the most common mononeuropathy in the general population. The aim of the study was to assess the electrophysiological parameters of the median nerve before and 6 months after surgical treatment of CTS in patients with a history of smoking and comorbidities.

**MATERIAL AND METHODS:** 84 patients with CTS who were eligible for surgery were enrolled in this prospective study. Electrophysiological tests were performed in the patients before and 6 months after surgery for CTS.

**RESULTS:** The results of the study prove that smoking and diabetes significantly worsen the electrophysiological parameters in patients undergoing surgical treatment of CTS.

**CONCLUSIONS:** Smoking and diabetes cause a significantly worse prognosis in patients after surgery for CTS.

### KEYWORDS

carpal tunnel syndrome, diabetes, smoking

Received: 03.02.2023

Revised: 29.03.2023

Accepted: 11.05.2023

Published online: 04.10.2023

Address for correspondence: dr n. med. Krzysztof Wierzbicki, Katedra i Klinika Neurologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. 3 Maja 13, 41-800 Zabrze, tel. +48 32 370 45 94, e-mail: kwierzbicki@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Zespół cieśni nadgarstka (ZCN) jest neuropatią kończyny górnej, pojawiającą się w wyniku ucisku nerwu pośrodkowego w kanale nadgarstka. Celem badania była ocena parametrów elektrofizjologicznych nerwu pośrodkowego przed leczeniem i 6 miesięcy po leczeniu operacyjnym ZCN u pacjentów obciążonych nikotynizmem oraz chorobami współistniejącymi.

**MATERIAŁ I METODY:** Do prospektywnego badania włączono 84 pacjentów z rozpoznaniem klinicznie i elektrofizjologicznie ZCN kwalifikowanych do leczenia operacyjnego. U każdego pacjenta przed leczeniem oraz 6 miesięcy po leczeniu operacyjnym ZCN przeprowadzono badanie elektrofizjologiczne.

**WYNIKI:** Uzyskane wyniki dowodzą, że nikotynizm i cukrzyca istotnie pogarszają parametry elektrofizjologiczne u pacjentów poddanych leczeniu operacyjnemu ZCN.

**WNIOSKI:** Nikotynizm i cukrzyca są niekorzystnymi rokowniczo czynnikami u osób operowanych z powodu ZCN.

## SŁOWA KLUCZOWE

zespół cieśni nadgarstka, cukrzyca, palenie

## INTRODUCTION

Carpal tunnel syndrome (CTS), also known as tardy median palsy, is an upper limb neuropathy that results from the compression of the median nerve in the carpal tunnel. The pressure on the median nerve is caused by chronically increased pressure in the carpal tunnel (> 30 mm Hg) due to external and internal mechanical factors. As a result, the size of the carpal tunnel is reduced or the volume of the anatomical structures in the tunnel is increased. As a consequence of the elevated pressure in the carpal tunnel, impaired blood flow is reported in the capillaries that nourish the nerve, and hence ischemic lesions occur in the nerve. Over time, morphological changes (i.e. demyelination and/or axonal degeneration) occur in the nerve structure [1,2]. Currently, CTS is the most common mononeuropathy in the general population. It affects about 3% of the population, mostly women between 40 and 60 years of age. The peak incidence occurs in women over 55 years of age [3,4]. The prevalence significantly increases in the case of occupations that involve repeated palmar flexion and dorsiflexion of the wrist and reaches even 10–30% [5].

The diagnosis of CTS is established based on the history, clinical examination, and median nerve conduction studies [1]. During the physical examination, sensation and muscle function in the median nerve innervation area are assessed. In addition, the examination should include assessment of the strength of selected muscles of the thenar eminence, i.e. opponens pollicis and the abductor pollicis brevis using the Lovett scale and hand grip strength using a dynamometer. Provocation tests are also utilised in the diagnosis of CTS. However, they are of limited diagnostic use owing to the lack of uniform rules for conducting these tests and the subjective assessment and interpretation of the results [6,7]. Ultrasound (US) and electromyography (EMG) are standard diagnostic procedures [8]. Ultrasound is crucial in the diagnosis of CTS because of the availability, non-invasiveness, and short time of the examination. A 3-stage CTS severity

scale was developed based on the cross-sectional area (CSA) of the median nerve measured at the entrance to the carpal tunnel (at the level of the pisiform bone) and at the exit of the carpal tunnel (at the level of the hook of the hamate) [9]. Moreover, US allows the visualization of edema of the median nerve in the early period of the disease, which is the cause of subjective complaints, although this has not been yet confirmed by electrophysiological studies [8].

In motor nerve conduction studies, the response from the muscle innervated by the nerve is recorded. The nerve motor point is the place of stimulation, and the evoked potential is recorded in the muscle motor point mostly using surface electrodes. Surface electrodes are placed on finger flexor muscles to assess sensory fibers. In turn, the recording of potentials is possible due to electrodes placed above the nerve. The examination is characterized by high sensitivity and specificity [10]. It allows the extent of nerve damage to be determined and assessment of whether the conduction impairment is associated with axonal injury or a pathological process in the myelin sheath [11].

Electromyography is considered the gold standard in the diagnosis of CTS. Of note, establishing the diagnosis without performing the examination may result in misdiagnosis and inadequate treatment [10,12].

In the early stages of CTS, patients report numbness of the fingers, e.g. when using the telephone [13]. This symptom may be the result of transient ischemia of the median nerve. As the disease progresses, the volume of the carpal tunnel may decrease and result in median nerve fibrosis. The symptoms are usually more severe at night. Some patients may complain of cramps, fatigue, or pain in the forearm or arm [14], although patients with CTS do not always report pain. Nevertheless, it is an important symptom and should not be confused with neuropathic sensory disorders [15]. In a multicenter study on 1123 patients with CTS, pain was reported in 52% of the subjects [16].

The treatment of CTS can be either conservative or surgical. Various methods of non-surgical treatment are available. However, patients should be always



instructed by physicians [17]. Changing habits (e.g. the limitation of wrist movements) and following the principles of ergonomic work can be useful in reducing pressure on the median nerve. Nonetheless, there is little evidence that confirms the success of this approach [18]. Non-surgical treatment is comprised of laser therapy, pharmacotherapy, massage, physical exercise, and ultrasound-based methods. Pharmacological treatment usually includes topical steroid injections [19]. However, they mostly provide only temporary relief. Surgical treatment, which consists in releasing the carpal tunnel content by transection of the transverse carpal ligament, is considered the most effective treatment method of CTS [20]. Studies have demonstrated that conservative treatment is less effective in reducing the symptoms of the syndrome when used for advanced, moderate or severe cases [20,21].

The aim of the study was to ascertain which factors may affect the electrophysiological parameters in different groups of patients undergoing surgery for CTS. It was done by assessing the electrophysiological parameters of the median nerve before and 6 months after surgical treatment of CTS in patients with a history of smoking and comorbidities (i.e. diabetes, renal failure, rheumatoid arthritis and gout).

The analysis of the results in specific patient groups, the variable effectiveness of the surgical procedure depending on comorbidities allow better prediction of the effects of treatment in an individual way for individual patients.

## MATERIAL AND METHODS

Eighty-four patients (70 women and 14 men) with clinically and electrophysiologically diagnosed CTS, who were eligible for surgery, were enrolled in this prospective study. The subjects were divided into groups according to sex, age, dominant hand, hand affected by CTS, disease duration, smoking, and comorbidities. Electrophysiological tests were performed using the Nicolet VikingQuest in the patients before and 6 months after surgery for CTS. The analysis included the conduction velocity, the amplitude of the sensory response, the terminal latency, and the amplitude of the motor response of the median nerve. The results were statistically analyzed.

Considering the fact that the conduction velocity, the amplitude of the sensory response, the amplitude of motor response, the distal sensory latency, and the distal motor latency were linearly dependent on age, regression against this variable was performed. Mann-Whitney U tests were employed to compare the medians of the variables due to the lack of normality

of the distribution of variables (Shapiro-Wilk test,  $\alpha = 0.05$ ).

## RESULTS

The mean age of the patients was 58.7 years. The subjects had a history of smoking (17%), diabetes (9%), renal failure (2%), rheumatoid arthritis (4%), and gout (4%; Table I).

Table I. Patient characteristics  
Tabela I. Charakterystyka pacjentów

Patient characteristics		
Mean age	(years)	58.7 ± 9.8
Sex	(W : M)	70 : 14
Dominant hand	(R : L)	81 : 3
Operated hand	(R : L)	52 : 32
Smokers	(%)	17
Diabetes	(%)	9
Gout	(%)	4
Rheumatoid arthritis	(%)	4
Renal insufficiency	(%)	2

When analyzing the electrophysiological effects of treatment for the entire group of patients, as well as by sex, an improvement in the conduction parameters was observed, which confirms the commonly known and repeatedly proven fact of the effectiveness of surgical treatment (Table II).

In the case of terminal latency, both the pre- and post-procedure latency medians were significantly higher in men than in women, as shown in Table II. This may result from the age-inhomogeneous groups. It is worth noting, however, that in the case of age-normalized latency 2, men had significantly better prognosis for the recovery of normal conduction than women.

When the group of smokers was compared with the group of non-smokers, a slight decrease in the amplitude of the sensory response was found before surgery (mean amplitude: 3.6 uV and 4.7 uV, respectively; Table III) and in the postsurgical follow-up examination (median: 4.0 ± 5.09 uV and 5.0 ± 12.3 uV, respectively; Table III), which could suggest a tendency for the occurrence of axonal injury to the nerves in smokers.

The analysis of the terminal latency of the motor response before surgery demonstrated a slight increase in the latency in the group of smokers compared to non-smokers (median: 6.2 ± 2.46 ms and 5.5 ± 2.51 ms, respectively; Table IV). Nevertheless, the mean latency recorded during the postsurgical follow-up examination was similar in both groups (5.49 ms and 5.45 ms, respectively; Table IV), which suggested a similar prognosis for the groups.



Table II. Comparison of latencies (1 and 2) of motor response in women (n = 70) and men (n = 14) using Mann-Whitney U test  
Tabela II. Porównanie latencji (1 i 2) dla włókien ruchowych u kobiet (n = 70) i mężczyzn (n = 14) za pomocą testu U Manna i Whitneya

Parameter	Mean – women	Mean – men	Median – women	Median – men	Standard deviation – women	Standard deviation – men	P
Latency 1	6.086	6.992	5.3	6.55	2.46	2.604	0.088
Latency 2	5.264	6.817	4.5	5.95	2.12	2.766	0.005
Absolute difference (Lat 2 – Lat 1)	-0.822	-0.175	-0.8	-0.25	2.295	1.179	0.21
Latency 1 standardized for age	-0.011	0.068	-0.579	-0.415	2.213	2.96	0.903
Latency 2 standardized for age	-0.134	0.804	-0.798	0.028	2.021	2.878	0.083

Table III. Comparison of sensory amplitudes (1 and 2) in smokers (n = 15) and non-smokers (n = 69) using Mann-Whitney U test  
Tabela III. Porównanie amplitud czuciowych (1 i 2) u osób palących (n = 15) i niepalących (n = 69) za pomocą testu U Manna i Whitneya

Parameter	Mean – non-smokers	Mean – smokers	Median – non-smokers	Median – smokers	Standard deviation – non-smokers	Standard deviation – smokers	P
Sensory amplitude 1	4.677	3.667	3	3	11.45	2.16	0.761
Sensory amplitude 2	6.585	5.933	5	4	12.36	5.092	0.649
Absolute difference (Lat 2 – Lat 1)	1.909	2.267	1	2	10.42	4.334	0.632
Sensory amplitude 1 standardized for age	0.002	-1.489	-0.852	-1.202	10.09	2.31	0.288
Sensory amplitude 2 standardized for age	0.002	-1.646	-0.489	-0.258	10.46	5.168	0.265

Table IV. Comparison of latencies (1 and 2) of motor response in smokers (n = 15) and non-smokers (n = 69) using Mann-Whitney U test  
Tabela IV. Porównanie latencji (1 i 2) dla włókien ruchowych u osób palących (n = 15) i niepalących (n = 69) za pomocą testu U Manna i Whitneya

Parameter	Mean – non-smokers	Mean – smokers	Median – non-smokers	Median – smokers	Standard deviation – non-smokers	Standard deviation – smokers	P
Latency 1	6.20	6.31	5.5	6.2	2.51	2.46	0.670
Latency 2	5.49	5.45	4.8	4.3	2.16	2.80	0.520
Absolute difference (Lat 2 – Lat 1)	-0.70	-0.86	-0.7	-1	2.36	1.07	0.521
Latency 1 standardized for age	0.001	0.437	-0.468	-0.314	2.270	2.587	0.513
Latency 2 standardized for age	0.003	0.203	-0.642	-0.741	2.003	2.908	0.748

The analysis of the median of the terminal latency revealed significantly more severe CTS in diabetic patients compared non-diabetic subjects (median:  $7.55 \pm 3.7$  ms and  $5.5 \pm 2.1$  ms, respectively;  $p = 0.024$ ). Additionally, after surgery the terminal latency was significantly increased in the diabetic patients (median:  $6.65 \pm 1.2$  ms and  $4.5 \pm 2.3$  ms, respectively;  $p = 0.001$ ), which showed a worse prognosis in diabetic patients (Table V).

The same analysis was performed in the case of conduc-

tion velocity in sensory fibers. Significantly more severe CTS was also found in the diabetic patients compared to the non-diabetic subjects (median:  $24 \pm 13.1$  ms and  $28.5 \pm 10.5$  ms, respectively;  $p = 0.189$ ). Of note, a significant discrepancy between the values was found postoperatively (median:  $24.5 \pm 5.8$  ms and  $35 \pm 13.3$  ms, respectively;  $p = 0.016$ ), which revealed practically no postoperative improvement in terms of conduction velocity in the diabetic patients (Table VI).





Table V. Comparison of latencies (1 and 2) in diabetic (n = 8) and non-diabetic (n = 76) patients using Mann-Whitney U test  
 Tabela V. Porównanie latencji (1 i 2) u pacjentów z cukrzycą (n = 8) i bez cukrzycy (n = 76) za pomocą testu U Manna i Whitneya

Parameter	Mean – patients without diabetes	Mean – patients with diabetes	Median – patients without diabetes	Median – patients with diabetes	Standard deviation – patients without diabetes	Standard deviation – patients with diabetes	P
Latency 1	5.964	8.08	5.5	7.55	2.188	3.708	0.024
Latency 2	5.276	7.04	4.5	6.65	2.304	1.205	0.000
Absolute difference (Lat 2 – Lat 1)	-0.688	-1.04	-0.8	0.4	1.966	3.503	0.38
Latency 1 standardized for age	0.003	1.723	-0.389	0.91	2.072	3.471	0.076
Latency 2 standardized for age	0.002	1.423	-0.68	0.947	2.222	1.167	0.000

Table VI. Comparison of conduction velocities (1 and 2) in sensory fibers in diabetic (n = 8) and non-diabetic (n = 76) patients using Mann-Whitney U test  
 Tabela VI. Porównanie szybkości przewodzenia (1 i 2) we włóknach czuciowych u pacjentów z cukrzycą (n = 8) i bez cukrzycy (n = 76) za pomocą testu U Manna i Whitneya

Parameter	Mean – patients without diabetes	Mean – patients with diabetes	Median – patients without diabetes	Median – patients with diabetes	Standard deviation – patients without diabetes	Standard deviation – patients with diabetes	P
Velocity 1	27	22.3	28.5	24	10.567	13.141	0.189
Velocity 2	31.338	25.8	35	24.5	13.359	5.846	0.016
Absolute difference (Lat 2 – Lat 1)	4.338	3.5	4.5	0.5	10.374	12.528	0.427
Velocity 1 standardized for age	0.002	-2.254	0.987	1.281	9.631	11.761	0.879
Velocity 2 standardized for age	-0.001	-2.027	1.259	-4.45	11.808	7.836	0.161

No significant correlations were found between the electrophysiological parameters and other comorbidities in the study group, which may be related to the small size of the sample.

Also, the co-occurrence of the analyzed factors could not be considered because of the small size of the analyzed patient groups

## DISCUSSION

Diabetes mellitus, menopause, hypothyroidism, obesity, pregnancy in addition to forceful and repetitive hand movements in some professions are probable risk factors for the development of CTS [22,23,24,25,26]. Additionally, other factors that may influence the development of neuropathy include genetics, systemic, autoimmune and inflammatory diseases. They should always be considered when obtaining a history from patients with symptoms of neuropathy [27].

Type 1 and type 2 diabetes mellitus are established risk factors for CTS [24]. Similarly, overweight and obesity, which often co-exist with diabetes, also increase the risk of CTS two-fold [25]. Smoking is also a suspected factor for the development of CTS. The relationship between smoking and CTS has been reported in the literature [28].

Smoking is an established factor for the development of cardiovascular disease, particularly in diabetic patients. Epidemiological studies found that the risk of cardiovascular disease in diabetic patients who were smokers was five-fold higher compared to non-smokers without diabetes [29]. The relationship between smoking and the risk of diabetic neuropathy was confirmed by the European Diabetes Prospective Complications Study, which assessed the severity of neuropathy at the beginning of the study and after a 7-year follow-up. It was found that neuropathy was significantly more prevalent in smokers [30]. In the 1990s, Mitchell et al. [31] demonstrated a significantly higher prevalence of neuropathy in smokers compared to non-smokers (64% vs 42%, respectively) in their retrospective study of over 300 patients with type 1 and type 2 diabetes.

Our study revealed lower mean amplitudes of the sensory response before surgery and during the postoperative follow-up examination. It may be related to axonal injury to the nerves, probably resulting from microangiopathy, which may have been caused by smoking. Studies have found that smoking significantly increased complications resulting from microangiopathy, e.g. in diabetic patients [32]. Therefore, smokers are much more exposed to the occurrence of symptoms of peripheral neuropathy, retinopathy, and



nephropathy since smoking is a highly unfavorable factor, decreasing the quality of life in long-term follow-ups.

Increased terminal latency, which is one of the basic electrophysiological parameters for the diagnosis and severity of CTS, was more evident in smokers in the study group, which indicated slightly more severe CTS at the time of surgery. However, the mean values of terminal latency after surgery were similar in both groups, which allowed the conclusion to be drawn that smoking patients had as good a prognosis as non-smoking subjects in terms of improvement in the electrophysiological parameters. Nonetheless, this conclusion was based only on the analysis of terminal latency, and therefore might not fully reflect the situation. The previously mentioned axonal injury to the sensory fibers of the median nerves should also be considered since it was more severe after surgery in smokers compared to non-smoking subjects. Thus, it is expected that the subjective improvement in the group of smokers will be certainly lower (Figure 1).

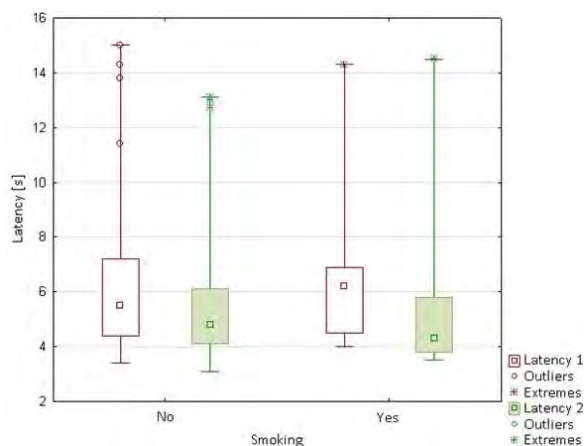


Fig. 1. Comparison of latencies of motor response in smokers and non-smokers before and after reconstructive surgery.  
Ryc. 1. Porównanie latencji końcowej odpowiedzi ruchowej u palących i niepalących przed zabiegiem naprawczym i po zabiegu.

In the group of diabetic patients, significantly more severe CTS was found at the time of surgery. The question why diabetic patients are diagnosed later is still open to debate. One of the explanations could be that the accompanying symptoms of diabetic neuropathy delay the diagnosis. It is also suspected that CTS develops more rapidly in diabetic patients based on mechanisms that are not found in individuals without diabetes [33,34].

The ongoing research on diabetic neuropathy, which contributes to the development of CTS, has failed to reliably characterize its pathophysiology and the above mechanisms. However, diabetic neuropathy is a multifactorial pathology with two main mechanisms, i.e. metabolic and ischemic.

In the former, the excess aldose reductase activity induced by hyperglycemia plays a crucial role. In other words, when the glucose concentration is elevated, an increase in the activity of the alternative pathway of glucose conversion is observed. It is related to the polyol pathway in which glucose is converted into sorbitol by aldose reductase and then sorbitol is partially converted into fructose. High levels of glucose, sorbitol, and fructose adversely affect the normal function of peripheral nerves [35,36].

The latter mechanism is related to pathological changes in the vasa nervorum. Rheological changes in the blood, such as increased blood viscosity owing to hyperglycemia and hyperlipidemia, increased fibrinogen levels, decreased albumin levels and increased red blood cell aggregation result in decreased blood flow in the vasa nervorum and nerve injury [37]. Hence, the underlying microangiopathy can be indirectly reflected by significantly worse parameters of neuromuscular conduction in our cohort of patients.

We found that the terminal latency of the motor response of the median nerve was postoperatively significantly higher in terms of the median in patients without diabetes. In addition, the relative difference, which was statistically significantly lower in patients with diabetes, showed that those subjects had a significantly worse prognosis for the recovery of normal conduction, or had no improvement in the electrophysiological parameters, and hence no subjective improvement in the quality of life. Bearing the above in mind, the usefulness of reconstructive surgery should be considered in this group of patients (Figure 2).

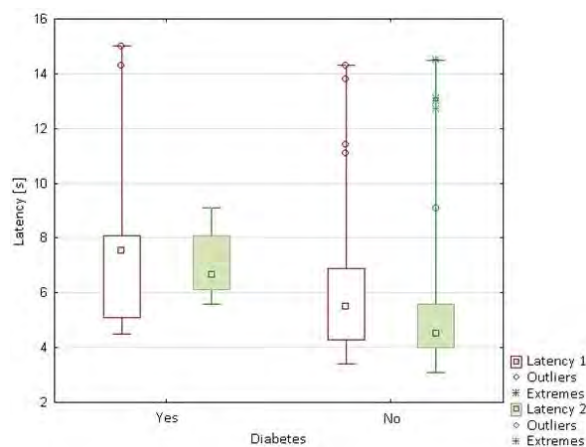


Fig. 2. Comparison of latencies of motor response in diabetic and non-diabetic patients before and after reconstructive surgery.  
Ryc. 2. Porównanie latencji końcowej odpowiedzi ruchowej u pacjentów z cukrzycą i bez cukrzycy przed zabiegiem naprawczym i po zabiegu.

Finally, the disproportion between the compared subgroups (smokers 17%, diabetics 9%) we consider the limitation of the study and requires further research on a larger group of patients.



## CONCLUSIONS

The results of the study demonstrated that smoking and diabetes significantly worsened the electrophysiological parameters of the nerves in our cohort of patients. Additionally, a significantly worse prognosis was found in patients with diabetes after surgery for CTS.

## Author's contribution

Study design – K. Wierzbicki, C. Linart, M. Adamczyk-Sowa

Data collection – K. Wierzbicki, K. Ślusarz, K. Romanek, B. Tadeusiak

Data interpretation – K. Wierzbicki, M. Adamczyk-Sowa, C. Linart

Statistical analysis – M. Bugdol

Manuscript preparation – K. Wierzbicki, C. Linart

Literature research – K. Wierzbicki, K. Ślusarz, K. Romanek, B. Tadeusiak

## REFERENCES

1. Makowiec-Dąbrowska T., Sińczuk-Walczak H., Józwiak Z.W., Krawczyk-Adamus P. Work performance as a risk factor for carpal tunnel syndrome. [Article in Polish]. *Med. Pr.* 2007; 58(4): 361–372.
2. Gelberman R.H., Szabo R.M., Williamson R.V., Hargens A.R., Yaru N.C., Minter-Convery M.A. Tissue pressure threshold for peripheral nerve viability. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1983; 178: 285–291.
3. Atroshi I., Gummesson C., Johnsson R., Ornstein E., Ranstam J., Rosén I. Prevalence of carpal tunnel syndrome in a general population. *JAMA* 1999; 282(2): 153–158, doi: 10.1001/jama.282.2.153.
4. Ciechanowska K., Łukowicz M. Carpal Tunnel Syndrome – etiology and diagnostics. *J. Educ. Health Sport* 2017; 7(4): 622–638.
5. Biernawska J., Niemczyk A., Pierzchała K. Contribution of occupational and non-occupational factors in the pathogenesis of carpal tunnel syndrome. [Article in Polish]. *Med. Pr.* 2005; 56(2): 131–137.
6. Georgiew F., Otfinowska E., Adamczyk T. Diagnostic tests used in diagnosis of carpal tunnel syndrome. *Med. Rehabil.* 2008; 12(3): 7–17.
7. Georgiew F. Provocative tests used in the diagnosis of carpal tunnel syndrome. *Med. Rehabil.* 2007; 11(4): 15–25.
8. Żyluk A., Puchalski P., Nawrot P. Przydatność badania USG w diagnostyce zespołu kanału nadgarstka – przegląd piśmiennictwa. *Chir. Narządów Ruchu Ortop. Pol.* 2010; 75(6): 385–391.
9. Domanasiewicz A., Koszewicz M., Jabłcki J. Comparison of the diagnostic value of ultrasonography and neurography in carpal tunnel syndrome. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2009; 43(5): 433–438.
10. Kinalski R. Urządzenia i testy instrumentalne. In: *Neurofizjologia kliniczna dla neurorehabilitacji: podręcznik dla studentów i absolwentów wydziałów fizjoterapii*. MedPharm. Wrocław 2008, pp. 194–201.
11. Vogel P. *Neurofizjologia kliniczna*. Elsevier Urban & Partner. Wrocław 2010.
12. Osiać K., Mazurek A., Pękala P., Koziej M., Walocha J.A., Pasternak A. Electrodiagnostic studies in the surgical treatment of carpal tunnel syndrome – A systematic review. *J. Clin. Med.* 2021; 10(12): 2691, doi: 10.3390/jcm10122691.
13. Uchiyama S., Itsubo T., Nakamura K., Kato H., Yasutomi T., Momose T. Current concepts of carpal tunnel syndrome: pathophysiology, treatment, and evaluation. *J. Orthop. Sci.* 2010; 15(1): 1–13, doi: 10.1007/s00776-009-1416-x.
14. Zamborsky R., Kokavec M., Simko L., Bohac M. Carpal tunnel syndrome: symptoms, causes and treatment options. Literature review. *Ortop. Traumatol. Rehabil.* 2017; 19(1): 1–8, doi: 10.5604/15093492.1232629.
15. Tecchio F., Padua L., Aprile I., Rossini P.M. Carpal tunnel syndrome modifies sensory hand cortical somatotopy: a MEG study. *Hum. Brain Mapp.* 2002; 17(1): 28–36, doi: 10.1002/hbm.10049.
16. Padua L., Padua R., Lo Monaco M., Aprile I., Tonali P. Multiperspective assessment of carpal tunnel syndrome: a multicenter study. *Neurology* 1999; 53(8): 1654–1659, doi: 10.1212/wnl.53.8.1654.
17. Huisstede B.M., Fridén J., Coert J.H., Hoogvliet P. Carpal tunnel syndrome: hand surgeons, hand therapists, and physical medicine and rehabilitation physicians agree on a multidisciplinary treatment guideline – results from the European HANDGUIDE Study. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 2014; 95(12): 2253–2263, doi: 10.1016/j.apmr.2014.06.022.
18. Padua L., Coraci D., Erra C., Pazzaglia C., Paolasso I., Loreti C. et al. Carpal tunnel syndrome: clinical features, diagnosis, and management. *Lancet Neurol.* 2016; 15(12): 1273–1284, doi: 10.1016/S1474-4422(16)30231-9.
19. Yamagishi S., Nakamura K., Imaizumi T. Advanced glycation end products (AGEs) and diabetic vascular complications. *Curr. Diabetes Rev.* 2005; 1(1): 93–106, doi: 10.2174/1573399052952631.
20. Wang L. Guiding treatment for carpal tunnel syndrome. *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* 2018; 29(4): 751–760, doi: 10.1016/j.pmr.2018.06.009.
21. Jerosch-Herold C., Shepstone L., Houghton J., Wilson E.C.F., Blake J. Prognostic factors for response to treatment by corticosteroid injection or surgery in carpal tunnel syndrome (palms study): A prospective multicenter cohort study. *Muscle Nerve* 2019; 60(1): 32–40, doi: 10.1002/mus.26459.
22. Shiri R. Hypothyroidism and carpal tunnel syndrome: a meta-analysis. *Muscle Nerve* 2014; 50(6): 879–883, doi: 10.1002/mus.24453.
23. Padua L., Di Pasquale A., Pazzaglia C., Liotta G.A., Librante A., Mondelli M. Systematic review of pregnancy-related carpal tunnel syndrome. *Muscle Nerve* 2010; 42(5): 697–702, doi: 10.1002/mus.21910.
24. Pourmemari M.H., Shiri R. Diabetes as a risk factor for carpal tunnel syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Diabet. Med.* 2016; 33(1): 10–16, doi: 10.1111/dme.12855.
25. Shiri R., Pourmemari M.H., Falah-Hassani K., Viikari-Juntura E. The effect of excess body mass on the risk of carpal tunnel syndrome: a meta-analysis of 58 studies. *Obes. Rev.* 2015; 16(12): 1094–1104, doi: 10.1111/obr.12324.
26. Shiri R., Falah-Hassani K. Computer use and carpal tunnel syndrome: A meta-analysis. *J. Neurol. Sci.* 2015; 349(1–2): 15–19, doi: 10.1016/j.jns.2014.12.037.
27. Uszkodzenia nerwów obwodowych: rozpoznawanie i leczenie. M. Mumenthaler, H. Schliack [ed.]. *Wyd. Lekarskie PZWL*. Warszawa 1998.
28. Shiri R., Heliövaara M., Moilanen L., Viikari J., Liira H., Viikari-Juntura E. Associations of cardiovascular risk factors, carotid intima-media thickness and manifest atherosclerotic vascular disease with carpal tunnel syndrome. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2011; 12: 80, doi: 10.1186/1471-2474-12-80.
29. Eliasson B. Cigarette smoking and diabetes. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2003; 45(5): 405–413, doi: 10.1053/pcad.2003.00103.

## Acknowledgements

The authors would like to thank Assistant Professor Arkadiusz Badziński, PhD, DHSc, for the translation of the manuscript.



30. Tesfaye S., Chaturvedi N., Eaton S.E., Ward J.D., Manes C., Ionescu-Tirgoviste C. et al. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352(4): 341–350, doi: 10.1056/NEJMoa032782.
31. Mitchell B.D., Hawthorne V.M., Vinik A.I. Cigarette smoking and neuropathy in diabetic patients. *Diabetes Care* 1990; 13(4): 434–437, doi: 10.2337/diacare.13.4.434.
32. Uruska A., Araszkiwicz A., Uruski P., Zozulinska-Ziolkiewicz D. Higher risk of microvascular complications in smokers with type 1 diabetes despite intensive insulin therapy. *Microvasc. Res.* 2014; 92: 79–84, doi: 10.1016/j.mvr.2014.01.002.
33. Sharma D., Jaggi A.S., Bali A. Clinical evidence and mechanisms of growth factors in idiopathic and diabetes-induced carpal tunnel syndrome. *Eur. J. Pharmacol.* 2018; 837: 156–163, doi: 10.1016/j.ejphar.2018.08.017.
34. De Kleermaeker F.G.C.M., Meulstee J., Bartels R.H.M.A., Verhagen W.I.M. Long-term outcome after carpal tunnel release and identification of prognostic factors. *Acta Neurochir. (Wien)* 2019; 161(4): 663–671, doi: 10.1007/s00701-019-03839-y.
35. Greene D.A., Lattimer S.A., Sima A.A. Sorbitol, phosphoinositides and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316(10): 599–606, doi: 10.1056/NEJM198703053161007.
36. Szczyrba S., Kozera G., Bieniaszewski L., Nyka W.M. Diabetic neuropathy – pathogenesis, diagnostic methods, prevention and treatment. [Article in Polish]. *Forum Med. Rodz.* 2010; 4(5): 339–355.
37. Henderson E.A. Role of diabetic microvascular disease in the development of foot wounds. *J. Wound Care* 2007; 16(6): 275–278, doi: 10.12968/jowc.2007.16.6.27067.



## The role of 5- $\alpha$ -reductase inhibition in suppressing progression of male androgenetic alopecia – a postulate for further studies on possible application of saw palmetto extracts

### Rola inhibicji 5- $\alpha$ -reduktazy w zatrzymaniu postępu łysienia androgenowego u mężczyzn – postulat na rzecz badań nad zastosowaniem ekstraktów z palmy sabałowej

Marcin Piwecki , Aleksandra Urban , Jolanta Pelszyńska 

Perfect Hair Clinic, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

The study presents the mechanism of male androgenetic alopecia (MAGA), with a focus on the role of the enzyme 5- $\alpha$ -reductase, which is responsible for converting testosterone, the primary male hormone, into its active form, dihydrotestosterone (DHT). The consequences of the DHT stimulation of androgen receptors (ARs) located in the X chromosome of dermal papilla cells (DPCs) are described. This leads to androgen-induced gene transcription, disrupted hair follicle nourishment, and most importantly, an accelerated transition from the anagen to the catagen phase. The study also discusses how this enzyme can be targeted by molecules acting as inhibitors.

Furthermore, the justification for conducting more in-depth studies on the mechanisms of action involving extracts of saw palmetto (*Serenoa repens*) and their inhibitory effects on 5- $\alpha$ -reductase is presented. The study also advocates the identification and measurement of active substances present in saw palmetto extracts, with two promising phytosterolic compounds, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol, due to their demonstrated inhibitory activity on 5- $\alpha$ -reductase in extracts from other plant species.

As part of the proposal to deepen the research, attention is drawn to the need to investigate the impact of saw palmetto extract on the hair growth cycle, hair follicle life cycle, various growth factors and angiogenesis, immune system activity, and oxidative stress. Other areas of observation for the action of saw palmetto extracts could include their use in combination with other plant extracts or therapeutic agents such as platelet-rich plasma or fibrin-rich plasma.

#### KEYWORDS

5- $\alpha$ -reductase, androgenetic alopecia, dihydrotestosterone, hair follicle, inhibitors, saw palmetto, steroids, sterols

Received: 16.03.2023

Revised: 20.04.2023

Accepted: 08.05.2023

Published online: 04.10.2023

Address for correspondence: mgr Marcin Piwecki, Perfect Hair Clinic, ul. Fabryczna 15B, 40-611 Katowice, tel. +48 883 928 282, e-mail: m.piwecki@perfecthairclinic.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono mechanizm łysienia androgenowego u mężczyzn (*male androgenetic alopecia* – MAGA) z uwzględnieniem roli enzymu 5- $\alpha$ -reduktazy, która odpowiada za konwersję testosteronu, najważniejszego hormonu męskiego, do jego aktywnej formy – dihydrotestosteronu (DHT). Opisane zostały konsekwencje pobudzenia przez DHT receptorów androgenowych (*androgen receptors* – ARs), zlokalizowanych w chromosomie X komórek linii brodawkowej (*dermal papilla cells* – DPCs). Powoduje to transkrypcję genów uruchamianą przez androgeny, zostaje zaburzone odżywianie mieszkła włosowego, ale przede wszystkim przyspieszeniu ulega moment zakończenia anagenu i przejścia do fazy katagenu. Przedstawiono również, w jaki sposób enzym ten może być poddawany działaniu molekuł pełniących funkcję jego inhibitorów.

Ponadto zaprezentowano uzasadnienie dla prowadzenia bardziej dogłębnych badań poświęconych mechanizmom działania, w których ekstrakty palmy sabałowej (*Serenoa repens*) wywołują efekt inhibicji 5- $\alpha$ -reduktazy. Dodatkowo w pracy został zawarty postulat na rzecz rozpoznawania i pomiaru substancji aktywnych znajdujących się w ekstraktach palmy sabałowej, w tym dwóch najbardziej obiecujących związków fitosterolowych – stigmasterolu i  $\beta$ -sitosterolu – ze względu na udowodnioną już aktywność inhibitorową w stosunku do 5- $\alpha$ -reduktazy w ekstraktach z surowców pochodzących z innych gatunków roślin.

W ramach postulatu na rzecz pogłębienia badań zwrócono uwagę na konieczność oceny wpływu stosowania ekstraktów z palmy sabałowej na cykl życia włosów, cykl życia mieszkła włosowego, różne czynniki wzrostu i angiogenezę, a także aktywność układu immunologicznego czy stres oksydacyjny. Inne obszary obserwacji działania ekstraktów z palmy sabałowej mogłyby obejmować ich zastosowanie w terapiach w połączeniu z innymi ekstraktami roślinnymi lub środkami terapii, np. z osoczem bogatopłytkowym czy osoczem bogatym w fibrynę.

## SŁOWA KLUCZOWE

5- $\alpha$ -reduktaza, łysienie androgenowe, dihydrotestosteron, mieszek włosowy, inhibitory, palma sabałowa, sterydy, sterole

## Introduction

In this study, the authors will draw attention to the topic of male androgenetic alopecia (MAGA) as a condition of hair located on the head scalp, which is triggered by the conversion of testosterone into dihydrotestosterone (DHT) by 5- $\alpha$ -reductase. DHT molecules, after binding to androgen receptors (ARs), create ligand-receptor complexes that enter the nuclei and trigger androgen-dependent gene transcription, shortening the anagen phase, leading to systematic thinning of the hair.

This study, apart from an analysis of the enzyme-hormonal pathways in the initial appearance of MAGA and its progression, there is a call for further analysis of how saw palmetto extracts could be applied to tackle this condition. Saw palmetto (*Serenoa repens*) extracts are a promising inhibitor of 5- $\alpha$ -reductase – an enzyme that converts testosterone into harmful DHT [1]. The relieving effects of saw palmetto extracts have been seen in many studies in relation to benign prostate hyperplasia, or benign forms of prostate cancer and lower urinary tract symptoms [2,3]. Unsurprisingly, the same effects are observed in studies observing male participants with androgenetic alopecia (AGA) owing to the expression of 5- $\alpha$ -reductase in various body regions, such as the sexual organs and head scalp in this case [4]. Many studies confirm the therapeutical macro- and microscopic positive outcomes of saw palmetto extract application in MAGA, which show an increased number of new hair follicles and new hair in the anagen phase, leading to the recovery of hair density in the affected scalp areas [5].

Alas, there is a low level of interest in the acknowledgement and recognition of how actions are going in

many clinically significant directions: which 5- $\alpha$ -reductase inhibitors in saw palmetto extracts are the key to successful therapies, and how the extract after application interplays with the molecular pathways of the hair follicle and hair life cycles, be it oriented towards regulation of the life cycle, growth or angiogenesis factors, hormones, immunological factors or oxidative stress.

Academic and therapeutical interest in AGA has been growing for years. There is no evidence that the occurrence of AGA among the population has increased; however, there are indirect indicators that may support speaking so: dietary habits, obesity, the quality of food, water and air, electromagnetic fields (including UV radiation), civilizational chronic illnesses, the outbreak of hormonal health deficiencies, and exposure to stress [6,7]. All of these factors may be overwhelmingly strong and comprise a multifactorial background for the etiology of AGA [8].

Ho et al. [9] claim that the occurrence of AGA may be up to 50% of male and female populations in various countries and vocational backgrounds. Tyszkiewicz et al. [10] argue that the occurrence of AGA grows up to 80% in males and 50% in females in their seventies. The internal sex-determined structure of AGA is distributed as the ratio 2 : 1 between males and females, respectively; nevertheless, there are many studies that present quite data different depending on – but not limited to – age, country, or comorbidities [7,11].

Male pattern baldness is linked to a well-defined chain of events between testosterone, the enzyme 5- $\alpha$ -reductase, DHT and ARs. The role of 5- $\alpha$ -reductase is absolutely crucial in this process. Therefore, it is important to conduct research on saw palmetto extracts,



which are 5- $\alpha$ -reductase inhibitors and can thus affect the course of the analysed process. In females the same pattern is also observed, however, the proportions and role of hormones are quite different, and here, female androgenetic alopecia (FAGA) may be more related to activity and the levels of female hormones [12,13]. Through the researcher's lens, this may diminish the role of 5- $\alpha$ -reductase in FAGA, while this enzyme still is very important in MAGA.

An interesting relation was examined by several clinical studies – whether AGA is related to hormone levels (both testosterone and DHT) or if it is more related to the (genetically determined) sensitivity of ARs in follicular units. The results were quite clear. The key is not the concentration of DHT (or testosterone) in the hair follicles, but the level of sensitivity of ARs in the cells of the hair follicle [14,15].

While AGA is the most frequent among alopecias, among men MAGA also shows predominance in male alopecias [16]. MAGA is a condition that is mainly driven by androgen-based perturbation of nutrient flow into the hair follicle and the upregulation of factors that speed up the hair life cycle from the anagen to the catagen phase.

### Features of hair nutrition and growth mechanisms

In general, the mechanism of hair nutrition is based on the appropriate flow of micronutrients and proper levels of energy supply to all types of cells involved so that the phases of the hair life cycle, anagen, catagen and telogen, are triggered and run properly [17]. Hair, with the leading role of the hair follicle as the transporter in the process, needs a wide range of nutrients: proteins, fatty acids, and minerals [18]. Nutrient deficiencies interrupt hair growth and regrowth cycles [19]. Nutrition for hair should be covered in the field of a proper supply of protein-energy, vitamins and microelements. The key nutrients in hair growth and a proper life cycle are: vitamins (A, B-group, C, D, E) and microelements (iron, selenium, sulphur, zinc), amino acids (arginine, cysteine, glycine, histidine, l-lysine, methionine, phenylalanine) and proteins (ferritin that contains iron) [20].

The supply of nutrients is vital for the hair follicle to develop, starting from the phase of progenitor (mesenchymal) cell (induction phase), organogenesis and cytodifferentiation. On the other hand, later when a second cycle of growth is started, a hair starts to grow. Keratinocyte layers and filaments emerge and pile up on the matrix covered with dermal papilla cells (DPCs) and melanocytes on the surface of the hair follicle. Then the anagen phase, the first step in the hair life cycle, is triggered. The supply of nutrients is provided to the hair follicle to sustain the anagen phase as long as possible. Nonetheless, with the course of time, in the catagen (intermediate) phase the hair follicle seems to be shrink and slowly detach from the lower blood

supply, and the nutrient flow is no longer in place. In the telogen (resting) phase, DPCs detach from the hair follicle. The exogen phase ends the life cycle of hair, when it sheds out of the head scalp [21].

### The role of testosterone, and 5- $\alpha$ -reductase, DHT, AR in AGA

There are two principal theories on the pathogenesis of AGA. One of them recognizes the leading role of DHT, which interacts only with ARs adhering to the DPCs in the hair follicle. Another view is that AGA pathogenesis lies in the ischemic states in the head scalp, which would lead to hair loss, and consequently, the levels of testosterone, 5- $\alpha$ -reductase and DHT should elevate as consequence of hair loss. As the progress in this field of research shows, the latter direction has been proven wrong [14].

Testosterone is a far-backed topic of analysis regarding its impact on male sexual differentiation and functioning. Its impact on hair (growth, regrowth, life cycle, overall condition) has also been extensively studied [22]. Testosterone, along with its prohormones dehydroepiandrosterone sulfate and androstenedione, are key molecules affecting hair growth. However, as testosterone is more active towards ARs than its prohormones, DHT is 5 times more active than testosterone, whose indicator is based on the frequency of DHT adhesion to ARs in the hair follicle, compared to the same action of testosterone [23].

In the correctly working cascade of dehydrogenation, dehydroepiandrosterone is converted by another enzyme: 3- $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (3 $\beta$ HSD) into androstenedione, which is further reformed by 17- $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (17 $\beta$ HSD) into testosterone. Here, testosterone is converted into its '5- $\alpha$ -dihydroform', which is DHT, and in this reaction, only 5- $\alpha$ -reductase is involved as a catalyzer [24].

5- $\alpha$ -reductase is present in the human body and normally is expressed in two types (isoforms): type 1 and type 2. 5- $\alpha$ -reductase plays an important role in the development of distinctive sexual features in children, adolescents and young males. At the earliest stages of human life, 5- $\alpha$ -reductase catalyses the conversion of testosterone into DHT [25].

It has to be noted that there is backdoor pathway in which DHT is obtained in the reaction of androstenediol reduction by the aldo-keto reductase family 1 member C2 enzyme (AKR1C2). Nonetheless, it is of minor clinical and metabolic importance since very small amounts of DHT are generated there [26,27]. Two isoforms of 5- $\alpha$ -reductase are catalysers of testosterone-to-DHT conversion, but type 2 is the leading isoform since its affinity for testosterone is 10–15 times stronger than in the case of the type 1 isoform. The much less known type 3 isoform is only present in neoplastic prostate tissue and advanced prostate cancer, which means only in these clinically





pathological (abnormal) conditions [28]. Table I presents the location of both isoforms in various body regions.

Table I. Presence of 5- $\alpha$ -reductase isoforms 1 and 2 in various tissues (according to [24])

Tabela I. Obecność izoform 1 i 2 5- $\alpha$ -reduktazy w różnych tkankach (wg [24])

5- $\alpha$ -reductase	
type 1	type 2
skin transiently after birth	skin transiently after birth
skin permanently after puberty	pubic and scalp skin permanently after puberty
axillary hair follicles	beard hair follicles
seminal vesicles	
ventral prostate	

DHT has – apart from the testosterone-oriented one – a very strong affinity for ARs (a twice stronger affinity, a 5-fold lower dissociation rate than testosterone); also, it cannot be aromatized to estrogen (unlike testosterone that is converted to estrogen by cytochrome P450 aromatases). The place where DHT can be converted to a non-potent and non-androgenic form is the liver only. In this organ, 3- $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase (3 $\alpha$ HSD) dehydrogenates DHT into 3- $\alpha$ -diol, but the scale of this metabolic pathway is very low [28]. This makes DHT, the key element in the occurrence and progression in MAGA.

Furthermore, DHT binds to androgen receptors (ARs). ARs belong to the nuclear receptor superfamily. At this stage, AR can bind either testosterone or DHT, but the latter has the strongest affinity for AR, as mentioned before. When DHT binds to AR, the heat shock protein is dissociated. Owing to this, the ligand-androgen receptor complex enters the nucleus, undergoes phosphorylation, dimerization, and further binds to androgen response elements in the promoter regions of androgen-regulated genes after co-activator recruitment, thereby affecting gene transcription. Only then the eventual form of DHT after a series of metabolic decay is chemically inactive and excreted with urine [24].

ARs are expressed in the dermal papillae of hair follicles and sebaceous glands, while they are not found in the outer root sheath, hair bulb or bulge. What has to be mentioned, ARs are very unlikely to be detected in human keratinocytes. Thus, the hair sheath is not the direct target in AGA, and the mechanism operates primarily via the dermal papillae in hair follicles [29]. The work of AR is regulated by AR coregulators, which can be divided into coactivators, integrators and repressors. In the process of binding and the further formation of a ligand-receptor complex, the most important are two coactivators: Hic-5/ARA55 and ARA70 [29].

ARA70 is expressed in two isoforms: ARA70/ELE1 and ARA70beta/ELE1beta, where the latter represents higher levels of expression and is suspected to be

the most involved in the pathological chain of reactions starting from the binding of DHT to AR [30]. However, in more recent studies, the role of both isoforms is more widely explained, especially for ARA70beta/ELE1beta, which is expressed in the hair bulb and dermal papillae. When its expressions in these regions are lower, this makes ARA70beta/ELE1beta a factor responsible for the retarded growth of hair follicles; hence, hair follicle miniaturization is recognized as one of the main symptoms in MAGA [28].

Another ARs coactivator, Hic-5/ARA55, is involved in the more immediate effects of DHT-SAT (subcutaneous adipose tissue) interaction, and it is strongly suggested as a factor responsible for the elevated androgen sensitivity in the dermal papillae [29]. Thus, Hic-5/ARA55 and ARA70/ELE1 are involved in the early phase of DHT and ARs interactions, while ARA70beta/ELE1beta is more important at the later stages, when the anagen phase is destined to cease and the hair follicle is going to shrink.

Gene transcription in androgen-regulated regions results in the end of the anagen phase of hair, which on the cellular level causes them to advance to the subsequent stages of the cell cycle, where they shrink, and end their life by apoptosis. On the level of the whole hair, the hair shaft and hair follicle also shrink. Therefore, 5- $\alpha$ -reductase triggers the production of DHT, which on intracellular molecular pathways leads to significant shortening of the anagen phase. The action of nutrient flow disruption is not caused directly by DHT, but by the fact that the hair follicle loses its connection to lower tissues and blood vessels. This decreases access to nutrients, imminently leading to starvation of the hair follicle and hair shaft, accelerating catagen and telogen, till the phase of shedding (exogen). What is more, DHT inhibits hair regrowth, which is why the effect of balding is not only about the quickened pathway from anagen to exogen, but also the mere fact that new hair follicles do not appear in the skin [11].

### 5- $\alpha$ -reductase inhibitors

There is wide range of molecules that serve as 5- $\alpha$ -reductase inhibitors. They can be divided into two groups: those obtained from natural sources, and those obtained by means of chemical reactions (synthesis) [31].

Zamani et al. [31] argue that there are numerous natural inhibitors of 5- $\alpha$ -reductase: cedrol, cedrene, thujopsene, riboflavin, stigmaterol,  $\beta$ -sitosterol, 1,4-naphthoquinone, lawsone, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate.

Iannella et al. [32] mention various classes of steroidal (synthetic) molecules that are supposedly involved in 5- $\alpha$ -reductase inhibition (as potential inhibitors). They are presented in Table II.

However, dutasteride and finasteride are widely proved to cause various side effects: erectile dysfunction, decreased libido, gynaecomastia, in addition to the vague and unsure effects of many classes of steroids



and their derivatives [32,33]. For this reason, attention is directed towards naturally derived 5- $\alpha$ -reductase inhibitors from plant sources [34]. Following this, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, have received plenty of attention among researchers [31,34]. Both

plant sterols also prove to inhibit 5- $\alpha$ -reductase in both AGA and prostate diseases (benign prostatic hyperplasia – BPH, prostate cancer) [35,36]. This is why, they should be studied in connection to saw palmetto extracts where they are present.

Table II. Various classes of synthesised steroidal molecules and derivatives suspected of 5- $\alpha$ -reductase inhibition (according to [32])  
Tabela II. Różne klasy syntetyzowanych cząsteczek steroidowych i pochodnych podejrzanych o hamowanie 5- $\alpha$ -reduktazy (wg [32])

Azasteroids	Azasteroids derivatives	Steroidal molecules and their derivatives
2-3-azasteroids	15- and 16-azasteroids	4-substituted steroids
4-azasteroids	17- and 17a-aza-D-homosteroids	steroidal oximes
6-azasteroids	diazasteroids	steroidal tetrahydrooxazin-2-ones
7-azasteroids	11,13,15-triazasteroids	16-substituted steroids
8-azasteroids	B,D-dihomo-azasteroids	6-methylene steroidal derivatives
9-azasteroids	des-AB-azasteroids	6-methylene steroidal derivatives
19-nor-10-azasteroids	steroidal 3-carboxylic/phosphonic/phosphinic acids	derivatives of natural substrate: pregnane
11-, 12a-, 13-azasteroids	diazoketone steroids	mimics of 4-azasteroids: benzo[f]quinoliones

### 5- $\alpha$ -reductase inhibitors in saw palmetto extracts – justification for further research

Saw palmetto extract is obtained from ripe palm fruits. They contain a mixture of fatty acids (capric, caproic, caprylic, linoleic, linolenic, myristic, and oleic acid; their aggregated share in the extract composition goes up to 70–80% of the total dry mass), methyl esters, fatty alcohols (tetraconazole, hexaconazole, octacosanol, triacontanol) and phytosterols (cholesterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, and stigmastanol) [5]. Originally, sterols were not indicated as an inhibitory agent in AGA, but rather the fatty acids in saw palmetto extracts [37]. Yet later, scholars turned their attention to sterols. Wolski [38] strongly suggests that the interest in saw palmetto and based extracts should be extended, as a consequence of its high inhibitory activity against both isoforms of 5- $\alpha$ -reductase, compared to known steroids. Their effects are not single-dimensional as they may also produce immunomodulatory effects (the modulation of prostaglandins, leukotrienes, interleukins); additionally, it may work by stopping the cell cycle and modulating certain growth factors (epidermal growth factor – EGF, fibroblast growth factor – FGF).

There is no evidence that saw palmetto extract causes side effects similar to those coming from finasteride and dutasteride [2]. On the other hand, Evron et al. [5] reject single-sided opinions of saw palmetto extracts. Although their systematic review revealed an abundance of evidence on why this plant resource is praised, they call for more studies on the long-term effects of therapies, especially side effects. To date, only minor gastric discomfort has been revealed as a side effect of using saw palmetto as a dietary supplement against AGA [39]. Evron et al. [5] mention studies that saw the regression of MAGA in most patients to be the fastest in the few first weeks and then

apparently stopped in approximately 24<sup>th</sup> week of saw palmetto extract therapy.

This is why saw palmetto extracts have to be examined by doing more research on what the detailed interactions are between their active substances and the intracellular as well as extracellular environment of hair, especially of hair follicles. Also, it has to be ascertained where the limits of using saw palmetto in AGA are, when it may produce serious side effects, or when it loses its positive therapeutical outcomes. Nonetheless, considering the fact that phytochemicals may be more promising than steroids, especially in the field of side effects, saw palmetto extracts are worth much more attention, and in-depth study may bring many satisfactory results.

### Conclusions

In this study, the chain of chemical reactions involving testosterone, which is dehydrogenated to DHT by 5- $\alpha$ -reductase was considered. DHT is a very potent 5- $\alpha$ -dihydrohormone that does not involve aromatization as testosterone does, plus it has a higher affinity for ARs, which makes it the most important factor in the occurrence and progression of MAGA. The study indicates various 5- $\alpha$ -reductase inhibitors that exhibit therapeutical potential for balding patients. Nevertheless, there are some side effects of using such inhibitors, especially when steroids are involved.

With such a background, saw palmetto extracts may be a source of inhibitory active substances with dual values. In the first line, their value comes from the potent inhibition of 5- $\alpha$ -reductase action, and in the second, saw palmetto does not cause any serious side effects. The study shows that saw palmetto extracts have been verified in macroscopic studies, where the overall effects (verified by trichoscopy and other macroscopic or microscopic methods) of extract were



predominantly investigated. This may serve as an invitation for more studies with more profound approaches, where the active substances of saw palmetto (stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol) are researched, or how the application of those extracts affects the hair life cycle including its various dimensions

(immunological, oxidative stress, the activity of various growth factors, etc.). The study also brings attention to the fact that saw palmetto extracts are not well understood in hybrid therapies, where they are applied along with other therapeutical means.

#### Author's contribution

Study design – J. Pelszyńska, A. Urban, M. Piwecki

Data collection – J. Pelszyńska, M. Piwecki

Manuscript preparation – J. Pelszyńska, M. Piwecki

Literature research – J. Piwecki

Final approval of the version to be published – J. Pelszyńska, M. Piwecki, A. Urban

#### REFERENCES

1. Kwon Y. Use of saw palmetto (*Serenoa repens*) extract for benign prostatic hyperplasia. *Food Sci. Biotechnol.* 2019; 28(6): 1599–1606, doi: 10.1007/s10068-019-00605-9.
2. Nickel J.C., Chughtai B., De Nunzio C., Brahmabhatt J., Shore N., Te A.E. et al. Rethinking the role of saw palmetto extract for men with lower urinary tract symptoms in North America. *Uro* 2022; 2(3): 137–150, doi: 10.3390/uro2030017.
3. Preston M.A., Wilson K.M., Markt S.C., Ge R., Morash C., Stampfer M.J. et al. 5 $\alpha$ -Reductase inhibitors and risk of high-grade or lethal prostate cancer. *JAMA Intern. Med.* 2014; 174(8): 1301–1307, doi: 10.1001/jamainternmed.2014.1600.
4. Koltai T., Reshkin S.J., Baltazar F., Fliegel L. Prostate cancer metabolism: From biochemistry to therapeutics. Elsevier, Academic Press. London 2021.
5. Evron E., Juhasz M., Babadjouni A., Mesinkovska N.A. Natural hair supplement: Friend or foe? Saw palmetto, a systematic review in alopecia. *Skin Appendage Disord.* 2020; 6(6): 329–337, doi: 10.1159/000509905.
6. He F., Shen M., Zhao Z., Liu Y., Zhang S., Tang Y. et al. Epidemiology and disease burden of androgenetic alopecia in college freshmen in China: A population-based study. *PLoS One* 2022; 17(2): e0263912, doi: 10.1371/journal.pone.0263912.
7. Salman K.E., Altunay I.K., Kucukunal N.A., Cerman A.A. Frequency, severity and related factors of androgenetic alopecia in dermatology outpatient clinic: hospital-based cross-sectional study in Turkey. *An. Bras. Dermatol.* 2017; 92(1): 35–40, doi: 10.1590/abd1806-4841.20175241.
8. Jakubiec M. Androgenetic alopecia in males – characteristics and overview of therapies available in cosmetology and aesthetic medicine clinics. *Aesth. Cosmetol. Med.* 2022; 11(6): 209–215, doi: 10.52336/acm.2022.030.
9. Ho C.H., Sood T., Zito P.M. Androgenetic alopecia. *StatPearls*, 2021 [online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430924/> [accessed on 10 February 2023].
10. Tyszkiewicz M., Pożarowska K., Rosińska A., Orczykowski M. Pharmacotherapy of androgenetic alopecia – a literature review. *J. Educ. Health Sport* 2022; 12(12): 152–157, doi: 10.12775/JEHS.2022.12.12.024.
11. Fu D., Huang J., Li K., Chen Y., He Y., Sun Y. et al. Dihydrotestosterone-induced hair regrowth inhibition by activating androgen receptor in C57BL6 mice simulates androgenetic alopecia. *Biomed. Pharmacother.* 2021; 137: 111247, doi: 10.1016/j.biopha.2021.111247.
12. Carmina E., Azziz R., Bergfeld W., Escobar-Morreale H.F., Futterweit W., Huddleston H. et al. Female pattern hair loss and androgen excess: A report from the Multidisciplinary Androgen Excess and PCOS Committee. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019; 104(7): 2875–2891, doi: 10.1210/je.2018-02548.
13. Fabbrocini G., Cantelli M., Masarà A., Annunziata M.C., Marasca C., Cacciapuoti S. Female pattern hair loss: A clinical, pathophysiologic, and therapeutic review. *Int. J. Womens Dermatol.* 2018; 4(4): 203–211, doi: 10.1016/j.ijwd.2018.05.001.
14. Urysiak-Czubatka I., Kmiec M.L., Broniarczyk-Dyła G. Assessment of the usefulness of dihydrotestosterone in the diagnostics of patients with androgenetic alopecia. *Postepy Dermatol. Alergol.* 2014; 31(4): 207–215, doi: 10.5114/pdia.2014.40925.
15. Konrakhina I.N., Mareeva A.N., Kalinina P.A., Abuladze M.G. Androgenic hormone profile in patients with androgenetic alopecia. *Vestn. Dermatol. Venerol.* 2015; 91(6): 30–32, doi: 10.25208/0042-4609-2015-91-6-30-32.
16. Pindado-Ortega C., Saceda-Corralo D., Fernández-Nieto D., Jiménez-Cauhé J., Ortega-Quijano D., Moreno-Arrones Ó.M. et al. Prescribing habits for androgenic alopecia among dermatologists in Spain in 2019–2020: A cross-sectional study. *Skin Appendage Disord.* 2020; 6(5): 283–286, doi: 10.1159/000509063.
17. Arct J., Pytkowska K. *Kosmetologia włosów*. Edra Urban & Partner. Wrocław 2020.
18. Ruiz-Tagle S.A., Figueira M.M., Vial V., Espinoza-Benavides L., Miteva M. Micronutrients in hair loss. *Our Dermatol. Online* 2018; 9(3): 320–328, doi: 10.7241/ourd.20183.25.
19. O'Connor K., Goldberg L.J. Nutrition and hair. *Clin. Dermatol.* 2021; 39(5): 809–818, doi: 10.1016/j.clindermatol.2021.05.008.
20. Almohanna H.M., Ahmed A.A., Tsatalis J.P., Tosti A. The role of vitamins and minerals in hair loss: A review. *Dermatol. Ther. (Heidelb)* 2019; 9(1): 51–70, doi: 10.1007/s13555-018-0278-6.
21. Houshyar K.S., Borrelli M.R., Tapking C., Popp D., Puladi B., Ooms M. et al. Molecular mechanisms of hair growth and regeneration: Current understanding and novel paradigms. *Dermatology* 2020; 236(4): 271–280, doi: 10.1159/000506155.
22. Randall V.A. Androgens and human hair growth. *Clin. Endocrinol.* 1994; 40(4): 439–457, doi: 10.1111/j.1365-2265.1994.tb02483.x.
23. Grymowicz M., Rudnicka E., Podfigurna A., Napierała P., Smolarczyk R., Smolarczyk K. et al. Hormonal effects on hair follicles. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(15): 5342, doi: 10.3390/ijms21155342.
24. Marchetti P.M., Barth J.H. Clinical biochemistry of dihydrotestosterone. *Ann. Clin. Biochem.* 2013; 50(Pt 2): 95–107, doi: 10.1258/acb.2012.012159.
25. Batista R.L., Mendonca B.B. The molecular basis of 5 $\alpha$ -reductase type 2 deficiency. *Sex. Dev.* 2022; 16(2–3): 171–183, doi: 10.1159/000525119.
26. Lee H.G., Kim C.J. Classic and backdoor pathways of androgen biosynthesis in human sexual development. *Ann. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2022; 27(2): 83–89, doi: 10.6065/apem.2244124.062.
27. Fukami M., Homma K., Hasegawa T., Ogata T. Backdoor pathway for dihydrotestosterone biosynthesis: implications for normal and abnormal human sex development. *Dev. Dyn.* 2013; 242(4): 320–329, doi: 10.1002/dvdy.23892.
28. Ceruti J.M., Leirós G.J., Balañá M.E. Androgens and androgen receptor action in skin and hair follicles. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2018; 465: 122–133, doi: 10.1016/j.mce.2017.09.009.
29. Zhou X., Jiao Y., Zhang W., Li W. Androgens/androgen receptor in the management of skin diseases. *J. Biosci. Med.* 2022; 10(12): 180–200, doi: 10.4236/jbm.2022.1012015.
30. Lee P., Zhu C.C., Sadick N.S., Diwan A.H., Zhang P.S., Liu J.S. et al. Expression of androgen receptor coactivator ARA70/ELE1 in androgenic alopecia. *J. Cutan. Pathol.* 2005; 32(8): 567–571, doi: 10.1111/j.0303-6987.2005.00397.x.
31. Zamani P., Mokhtari O., Dehghanian F. Identification of beta-sitosterol and stigmasterol as possible inhibitors of 5 alpha-reductase 1: An in-silico study. *Precis. Med. Clin. OMICS* 2021; 1(1): e121545, doi: 10.5812/pmco.121545.
32. Iannella L., Colamonici C., Curcio D., Botrè F., de la Torre X. 5 $\alpha$ -reductase inhibitors: Evaluation of their potential confounding effect on GC-C-IRMS doping analysis. *Drug Test. Anal.* 2021; 13(11–12): 1852–1861, doi: 10.1002/dta.3134.



33. Diviccaro S., Melcangi R.C., Giatti S. Post-finasteride syndrome: An emerging clinical problem. *Neurobiol. Stress* 2019; 12: 100209, doi: 10.1016/j.ynstr.2019.100209.
34. El-Naggar M., El-All A.S.A., El-Naem S.I.A., Abdalla M.M., Rashdan H.R.M. New potent 5 $\alpha$ - reductase and aromatase inhibitors derived from 1,2,3-triazole derivative. *Molecules* 2020; 25(3): 672, doi: 10.3390/molecules25030672.
35. Sudeep H.V., Venkatakrishna K., Amrutharaj B., Anitha G.R.J., Shyamprasad K. A phytosterol-enriched saw palmetto supercritical CO<sub>2</sub> extract ameliorates testosterone-induced benign prostatic hyperplasia by regulating the inflammatory and apoptotic proteins in a rat model. *BMC Complement. Altern. Med.* 2019; 19(1): 270, doi: 10.1186/s12906-019-2697-z.
36. Nguyen J., Korta D.Z., Mensinkovska N.A. Hair supplements. In: M.I. Miteva [ed]. *Alopecia*. Elsevier; 2018, pp. 295–304.
37. Niederprüm H.J., Schweikert H.U., Zänker K.S. Testosterone 5 $\alpha$ -reductase inhibition by free fatty acids from *Sabal serrulata* fruits. *Phytomedicine* 1994; 1(2): 127–133, doi: 10.1016/S0944-7113(11)80030-9.
38. Wolski J.K. *Serenoa repens* – is it worth to apply in andrology? [Article in Polish]. *Adv. Androl. Online* 2016; 3(1): 33–38.
39. Nestor M.S., Ablon G., Gade A., Han H., Fischer D.L. Treatment options for androgenetic alopecia: Efficacy, side effects, compliance, financial considerations, and ethics. *J. Cosmet. Dermatol.* 2021; 20(12): 3759–3781, doi: 10.1111/jocd.14537.



## Wound healing – characteristics of the ideal dressing

### Gojenie ran – charakterystyka idealnego opatrunku

Kinga Orlińska<sup>1</sup> , Katarzyna Komosińska-Vassev<sup>2</sup> , Krystyna Olczyk<sup>2</sup> , Marcin Glaesel<sup>3</sup> , Paweł Olczyk<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Community Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>3</sup>Students' Research Club at the Department of Community Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

Wound healing is a dynamic process aimed at restoring homeostasis and functionality of damaged tissue. It is a highly complex, multi-stage process, the disruption of which leads to complications and health problems for the injured person. The discussed process takes place in the human system in two ways. The first of them is granulation and the second is healing per primary. Regardless of the method of wound healing, the individual phases of this process overlap each other, where before the end of the previous phase, the next begins. Demarcation of individual phases is purely practical. There are four phases of healing: the hemostasis phase, the inflammation phase, the proliferative phase – in other words the replication and synthesis phase – and the remodeling phase.

The process of wound healing is a natural, long-term, and complex process that occurs in the body when injured. Incorrect healing may result in chronic wounds, necrosis or excessive scarring. Wound treatment supports this naturally occurring process in the body. In cases that require such support dressings are used, which are an essential element applicable in health care. An ideal dressing should create a barrier against external factors, maintain an appropriate environment in the wound bed (appropriate temperature, optimal humidity, slightly acidic pH, gas exchange), absorb excess of blood and exudate, keep the wound clean – cleanse it of necrotic tissue and toxins – do not adhere to the wound to avoid wound damage during dressing replacement, do not show sensitizing or irritating effects.

#### KEYWORDS

healing, wound, dressing

Received: 28.08.2023

Revised: 26.09.2023

Accepted: 03.10.2023

Published online: 07.11.2023

Address for correspondence: prof. dr hab. n. farm. **Paweł Olczyk**, Department of Community Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec, Medical University of Silesia, Katowice, Poland, Kasztanowa 3, 41-200 Sosnowiec, tel. +48 32 269 98 39, e-mail: pawel.olczyk@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

Gojenie się ran to proces dynamiczny, którego celem jest przywrócenie homeostazy oraz funkcjonalności uszkodzonej tkanki. To wysoce złożony, wieloetapowy proces, którego zaburzenie prowadzi do powikłań i problemów zdrowotnych osoby poszkodowanej. Omawiany proces przebiega w ustroju ludzkim dwiema drogami. Pierwszą z nich jest ziarninowanie, drugą rychłozrost. Niezależnie od sposobu gojenia się rany, poszczególne fazy tego procesu wzajemnie nachodzą na siebie, gdzie przed zakończeniem fazy poprzedniej rozpoczyna się następna. Rozgraniczenie poszczególnych faz ma charakter czysto praktyczny. Wyróżnia się cztery fazy gojenia: fazę hemostazy, fazę zapalenia, fazę proliferacyjną – inaczej fazę replikacji i syntezy – oraz fazę remodelingu.

Proces gojenia się ran jest procesem naturalnie zachodzącym w organizmie, długotrwałym i złożonym, który zachodzi w przypadku zranienia. Nieprawidłowy przebieg gojenia może skutkować wystąpieniem ran przewlekłych, martwic czy nadmiernego bliznowacenia. Wspomaganiem tego naturalnie zachodzącego w organizmie procesu jest leczenie ran. W przypadkach wymagających takiego wsparcia stosuje się opatrunki, które są elementem niezbędnym, mającym zastosowanie w ochronie zdrowia. Idealny opatrunek powinien: tworzyć barierę przed czynnikami zewnętrznymi, utrzymywać odpowiednie środowisko w łóżysku rany (odpowiednia temperatura, wysoka wilgotność, lekko kwaśne pH, umożliwienie wymiany gazowej), absorbować nadmiar krwi oraz wysięku, utrzymywać ranę w czystości – oczyszczać z tkanki martwiczej i toksyn – nie przywierać do rany, aby uniknąć jej uszkodzenia w trakcie wymiany opatrunku, nie wykazywać działania uczulającego, a także drażniącego.

## SŁOWA KLUCZOWE

gojenie, rana, opatrunek

**Wound healing**

Wound healing is a dynamic process aimed at restoring homeostasis and functionality of damaged tissue. This process is highly complex, and multi-stage, and its disruption leads to complications and health problems of the injured person [1].

**Types of wound healing**

Wound healing takes place in the human body in two ways. The first of them is granulation, and the second is healing per primary. Both processes are aimed at healing the wound and scarring it [2].

Clean wounds, without infection, without tissue loss, resulting from a surgical incision and then suturing, heal per primary (per primam). The healing process is short and is accompanied by a weak biosynthesis of connective tissue and rapid epidermisation [1,3].

Through granulation (per secundam) secondary wounds heal, an example of which is the healing of burn wounds. As a result of these wounds, there is a loss of tissue and the inability to close the wound, which is accompanied by infection of the lesion site [3].

**Healing phases**

Regardless of the method of wound healing, the individual phases of this process overlap each other,

where before the end of the previous phase, the next begins. Demarcation of individual phases is purely practical. There are four phases of healing (Figure 1):

- hemostasis phase,
- inflammation phase,
- proliferative phase – replication and synthesis phase,
- remodeling phase [4].

The components of the extracellular matrix (ECM) perform specific functions in each of these phases. They determine the formation of the basic components of the repair process – matrix, granulation tissue, and scar. Their role is also associated with signaling, stimulation of cell adhesion, and migration, as well as with the effect of mediating of interactions between cells, between cells and the matrix or proteins of the ECM. Therefore, ECM components have functional roles, regulating the healing process by constituting a reservoir and modulator for cytokines and growth factors; they also perform structural functions by filling tissue cavities during the repair process [4,5,6]. The main role in the wound healing mechanism is played by stem cells, which give rise to specialized cells responsible for specific functions during wound healing, as well as creating new tissue. The presence of many elements, such as components of the ECM, cytokines, growth factors, and other active peptides or proteins, determine the activity of both stem cells and other skin cells (e.g. keratinocytes, fibroblasts) [6,7,8].

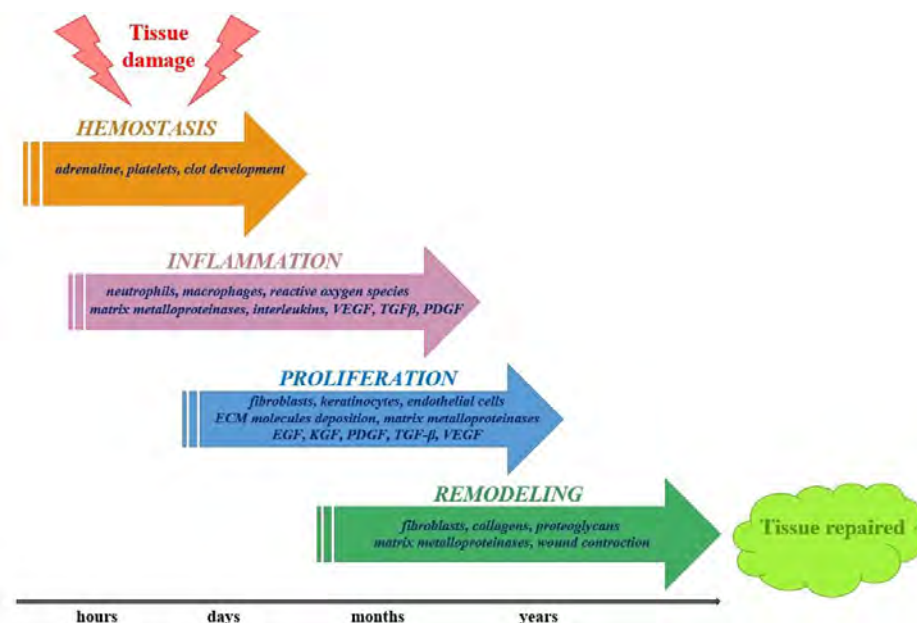


Fig. 1. Wound healing – consecutive phases (author's own study based on [1,2,3,4]).

### Hemostasis phase

As a result of tissue damage, a coagulation cascade is triggered, the purpose of which is to close the wound. The triggered mechanisms of hemostasis include vasoconstriction, followed by thrombocyte aggregation, which in the next stage leads to the formation of a clot containing cross-linked fibrin, reinforced with ECM proteins such as fibronectin, thrombospondin, vitronectin or osteonectin (SPARC) [6,7,9,10].

Platelets play a key role in the initial stage of the wound healing process. They interact with the ECM components of the damaged vascular wall exposed to the flowing blood, including collagen, which initiates the intrinsic blood coagulation cascade. At the same time, an extrinsic coagulation cascade is initiated as a result of blood contact with tissue factor, exposed on the surface of the cells of the subendothelial layer of the blood vessel [11]. Platelets adhering to the damaged surface of the vessel are then activated and aggregated, forming a platelet plug, closing the defect site, and at the same time forming a temporary ECM. The process of platelet activation is associated with a change in their shape from discoidal to spherical, characterized by elongated pseudopodia, which facilitates the process of platelet aggregation. Activation of thrombocytes also increases the synthesis of thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), which is a strong factor stimulating platelet aggregation, and the release of platelet granule components, such as adenosine diphosphate (ADP), serotonin (activating further thrombocytes and causing vasoconstriction), platelet factor 4 (PF4 – activating and enhancing leukocyte chemotaxis), growth factors such as platelet-derived growth factor (PDGF),

transforming growth factor  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor (FGF), insulin-like growth factor 1 (IGF-1), stromal origin factor 1 (SDF-1), stimulating angiogenesis and initiating the inflammatory reaction or stimulating the division of fibroblasts and the synthesis of ECM components by these cells, thus accelerating way of wound healing [4,7,9,10,12,13].

The above phenomena are accompanied by the influx of monocytes, neutrophils, and mast cells to the site of damage, whose main function is the elimination of microorganisms, and tissue debris and the stimulation of angiogenesis and tissue regeneration. The described phenomena constitute the phase of primary hemostasis, lasting 3–5 minutes, followed by the phase of secondary hemostasis. The essence of this second phase is the transition of soluble plasma protein–fibrinogen into the spatial network of insoluble fibrin to strengthen the primary platelet aggregate. The mechanisms of secondary hemostasis are closely related to primary hemostasis because it is on the activated platelets that the coagulation process takes place, resulting in the formation of a fibrin clot [7,12,14,15].

### Inflammation phase

The course of the next phase of wound healing – the inflammatory phase – is largely dependent on the number of microorganisms in the bed of tissue damage, affecting the duration of this phase and the number and activity of neutrophils [7]. This phase begins during the first day of tissue damage. Its duration is usually a maximum of 48 hours. Patients who have entered this





phase of healing may experience redness, fever, swelling, or pain at the wound site. The early inflammatory phase of wound healing is characterized by the resolution of the initial vasoconstriction followed by dilatation of the lumen, which results in increased vascular permeability [4].

Neutrophils are the first cells to induce the inflammatory phase at the site of injury. Their presence depends on chemotactic factors – thrombin, fibrin breakdown products, histamine, leukotrienes, PDGF, TGF- $\beta$ , bacteria, and components (C5a) of the complement system. The highest number of neutrophils is observed around the first day after injury, after which it decreases after about 48–72 hours (as a result of apoptosis). Next, monocytes appear, which are transformed into macrophages as a result of the action of TGF- $\beta$ , fibrin breakdown products, and fibronectin, released from the temporary matrix formed in the hemostasis phase. Macrophages are responsible for the continuation of the activity of neutrophils – phagocytosis, degradation and digestion of pathogens, and elimination of tissue debris as a result of the secretion of enzymes (collagenase, elastase, cathepsin G). In addition, said cells degrade the remaining neutrophils [4,9,16]. Macrophages are also a valuable source of cytokines involved in the tissue healing process. These cytokines include interleukins (IL) – IL-1, IL-6, IL-8 – growth factors TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , PDGF, FGF, VEGF, heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF), chemokines. They stimulate cell migration, angiogenesis, collagen accumulation as well as epithelization [4,9,16,17]. Released cytokines (mainly TGF- $\beta$ ) react to vascular endothelial cells, which results in increased expression of adhesion molecules, e.g. vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) on the endothelial surface. These adhesion molecules enable interactions between the endothelium and leukocytes, via integrins or selectins. These cells participate in the phagocytosis of bacteria, cellular debris, and proteolysis of the ECM. Cytokines such as TGF- $\beta$ , tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and IL-1, released by the macrophages, regulate leukocyte protease activity [9,18].

About 72 hours after tissue damage (in the final course of the inflammation phase), the last cells participating in this healing phase, i.e. lymphocytes, flow into the wound [17,19]. They are attracted to IL-1, complement components, and immunoglobulin G (IgG) breakdown products; IL-1 affects the action of collagenase, which in later stages determines the remodeling of collagen, which is a component of the ECM. In this way, the damaged tissue is prepared to enter the next phase of the healing process – the proliferative phase. Its purpose is to close the wound and then create new tissue that will be resistant to infection [5,9,17].

It should be emphasized that an insufficient amount of monocytes/macrophages may contribute to impaired wound healing due to ineffective wound cleansing, and delay in angiogenesis, multiplication, and maturation of fibroblasts. The key goal of this phase of the tissue healing process is therefore to control infection [17,19]. Depending on the activity of macrophages, the transition from the inflammatory phase to the proliferative phase (wounds showing no signs of infection) takes place from 4 to 5 days after the tissue damage occurs [7].

### **Proliferation phase**

The proliferation phase begins about 2–3 days after the start of the healing process and lasts about 14 days [4,7]. It is characterized by significant intensity – the number of cells, i.e. fibroblasts, keratinocytes, and endothelial cells – increases in the wound bed. Fibroblasts secrete IGF-1, PDGF, EGF, TGF- $\beta$  and basic fibroblast growth factor (bFGF), while growth factors secreted by keratinocytes include TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , and keratinocyte-derived autocrine factor (KDAF). Endothelial cells synthesize VEGF, bFGF, and PDGF. The task of these mediators is to modulate and stimulate the basic processes taking place in the proliferation phase, i.e. ECM biosynthesis, epithelialization, and angiogenesis. The production of mediators and growth factors by the above-mentioned cells during the inflammation phase contributes to their migration and then proliferation [4,9,17,20].

Fibroblasts play a key role in the biosynthesis stage of the ECM. They arise from undifferentiated mesenchymal cells of the dermis, which, through the influence of cytokines and growth factors produced by platelets, neutrophils, and macrophages, are transformed into fibroblasts. Within 48–72 hours of skin damage, these cells migrate to the wound site as a result of attraction by EGF, PDGF, TGF- $\beta$ , and IGF-1, where the cells multiply, then the synthesis of ECM components and the formation of granulation tissue begins. The term “granulation tissue” is derived from the characteristic structure of this tissue, associated with the presence of newly formed capillaries [4,9].

During the process of granulation tissue formation, biosynthesis (mainly by fibroblasts) of collagens (type I and III), elastin, glycosaminoglycans, and proteoglycans takes place. The matrix of early “granulation tissue” (up to the third day after the skin damage occurs) is rich in hyaluronic acid (HA) and fibronectin. The role of HA, with highly hygroscopic properties, therefore characterized by the ability to swell strongly, is to create a woven structure that allows incoming cells to penetrate the surface of the healing wound. From the third day after the injury, the content of HA decreases, and collagen replaces it (the amount



of this protein in the granulation tissue increases until the third week after the injury). At this stage of wound healing, type III collagen dominates, it gives the tissue the desired biomechanical properties (tensile strength), determining its integrity and remodeling the primary ECM of the wound. Simultaneously with the increase in collagen content, the number of fibroblasts decreases. Fibronectin is involved in the binding of fibroblasts to the ECM and creates a scaffold for collagen fibers, and also mediates in closing the healing wound. The “granulation tissue” produced during this stage, temporarily replacing the dermis, turns into a scar during the next phase of the healing process – the remodeling phase [4,7,9,16,17,20,21].

Epithelization is a multi-stage process of rebuilding the damaged epidermis. It consists of such stages as the migration of keratinocytes into the wound, their proliferation, and differentiation, as well as restoration of the basement membrane, which connects the epidermis with the dermis. Epidermal cells involved in closing the wound surface come from both its edges and epithelial appendages (hair follicles, sweat, or sebaceous glands). To interact with the temporary matrix formed in the initial stage of healing, the migrating keratinocytes interact with surface integrin receptors. The binding of keratinocytes with integrin receptors, which are present on newly formed collagen molecules, affects the regulation of the direction of migration of the cells in question. An important role in the process of separating keratinocytes from basement membranes is also played by matrix metalloproteinases (MMPs), which disrupt the binding of keratinocytes with integrin receptors. Metalloproteinases, among others: MMP-1 (interstitial collagenase) and MMP-9 (gelatinase B), released by keratinocytes are involved in the type IV collagen as well as laminins associated with fibrillar collagen degradation. It further contributes to “leave” the basement membrane and keratinocytes to migrate directly into the wound. In the later stage of this healing phase, keratinocytes are involved in the final differentiation aimed at the formation of epidermal layers [4,9,17,20].

In the proliferation phase, angiogenesis also occurs, i.e. the process of creating new blood vessels. Restoration of blood circulation at the site of damage prevents the formation of necrosis as a result of ischemia but also stimulates the process of tissue repair at the same time. Environmental factors that stimulate angiogenesis include low oxygen concentration, low pH as well as high concentrations of lactic acid, and low molecular weight HA molecules. In addition, pro-angiogenic activity is shown by TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , VEGF, and bFGF as well as angiogenin, and angiotropin. On the other hand, the factors inhibiting the discussed process are angiostatin, thrombospondin, and HA molecules characterized by high molecular weight [7,9,12,20, 22,23,24]. In the course of angiogenesis, endothelial

cells migrate to the provisional wound matrix, then proliferate and form branching structures. The migration of these cells is dependent on the activity of MMPs, which break down basement membranes and release growth factors that are stored in the ECM. The merging of endothelial cells determines the formation of structures giving rise to new blood vessels [4,17].

### Remodeling phase

Remodeling is the last phase of the healing process. It lasts from a one year to two years, sometimes even several years. During this healing phase, the ECM is rebuilt, and the granulation tissue matures into a scar, which leads to an increase in the mechanical strength of the newly formed tissue. During the process of granulation tissue maturation, the number of capillaries is reduced (as a result of their aggregation into larger blood vessels), as well as the content of glycosaminoglycans and proteoglycans is reduced; the cellular density and metabolic activity of the tissue are also reduced. Type III collagen present in the granulation tissue is replaced by type I collagen (it is characterized by greater strength compared to type III collagen), and the total content of this protein increases [22,25]. In the remodeling phase, the wound surface shrinks – TGF- $\beta$ 1 stimulates fibroblasts to differentiate into myofibroblasts, which are involved in this process. Myofibroblasts are responsible for the secretion of MMPs, which can degrade ECM and for the synthesis of inhibitors of these metalloproteinases (tissue inhibitors of metalloproteinases – TIMPs). As a result of an imbalance between MMP and TIMP expression, atypical modification of the ECM may take place, leading to the formation of chronic wounds. In the final stage of healing, myofibroblasts undergo apoptosis. If not, excessive scarring may occur. Macrophages involved in this stage of wound healing play an important role in the elimination of ECM residues as well as apoptotic cells. In this last phase of healing, the granulation tissue is replaced by a scar, which only reaches about 20–40% of its final strength in the first three weeks. Further increase in the strength of the scar is much slower, to finally reach a maximum of approx. 70–80% of the strength of normal skin [1,4,7,9,17, 20,21,22,25].

### Topical wound treatment, requirements for ideal dressings

Wound healing is a naturally occurring, long-term, and complex process that occurs in the body when injured. Its incorrect course may result in chronic wounds, necrosis or excessive scarring. Wound treatment supports this natural process.

Local management of burn wounds is an early treatment option, which aims to clean and cover the wounds as early as possible, and consequently protect



against infection. This treatment depends on the depth and area of the burn. There are three ways to treat a burn wound: open (without a dressing), closed (with a dressing), early necrectomy, and covering the wounds with auto-, allografts, or other materials [26]. In cases that require such support, dressings are used, which are an essential element applicable in health care [27]. An ideal dressing should: create a barrier against external factors, maintain an appropriate environment in the wound bed (appropriate temperature, optimal humidity, slightly acidic pH, gas exchange), absorb blood and exudate excess, keep the wound clean – cleanse of necrotic tissue and toxins – do not adhere to the wound to avoid damage to the wound during dressing replacement and do not show sensitizing or irritating effects [3].

Properly performed local treatment of a burn wound should be based on a procedure that inhibits the action of the destructive factor, then on cleaning the wound bed of dead tissues, and finally the appropriate selection of specialist dressings to support the healing process [28]. When selecting a dressing for the type of burn wound, its size and depth should be taken into account, but treatment with the dressing should also achieve the following goals, i.e.: preventing infection, ensuring a moist environment in the wound bed, protecting tissues from further damage, reducing pain, enabling movement without feeling discomfort and reducing swelling [29].

The properties and structure of the dressing have a beneficial effect on the healing process of a burn wound. The appropriate selection of the dressing is based on taking into account such factors as wound characteristics, location of the injury, type of burn, depth and extent of the wound, severity of the injury, stage of the healing process, exudate intensity, presence of infection, general condition of the patient (immunological status, chronic diseases) as well as quality pre-medical assistance. Most of the available dressings and topical preparations are used in conservative local treatment of burns [30].

One of the proposals for the so-called ideal dressing, designed for the regeneration of hard-to-heal burn wounds, is a biodegradable, apitherapeutic nonwoven dressing. The developed dressing under the name biodegradable nonwoven dressing was patented by the authors of the publication (P.425636).

Obtained by electrospinning, using a biodegradable polymer, the unique nonwoven dressing nanofiber contains an apitherapeutic agent – propolis. The effect of the dressing in question is to protect the sensitive wound surface, but most importantly to interfere with the complex healing process, to accelerate it and minimize potential complications.

The dressing in question, with incorporated propolis, provides “hydration” of the wound, accelerates re-epithelialization, and stimulates angiogenesis and biosynthesis of ECM components, allowing gas exchange between the wound and the environment.

The beneficial effect of the dressing on the healing process of a burn wound, confirmed by experimental studies [31,32], is associated with the well-known antioxidant, anti-inflammatory, immunomodulatory, antiviral, antitumor, antimicrobial, and antifungal activities of propolis, also including the properties of stimulating re-epithelialization and reducing the repair time of tissue damage.

Dressings commonly used in medicine are primarily limited to physical protection of the wound, although they do not always meet the requirements for an ideal dressing. They do not provide an appropriate environment within the damaged tissue, which has a limited impact on the wound-healing process. In addition, some wounds – apart from physical isolation of the wound – require active treatment, i.e. the use of dressings with an active substance (e.g. antibiotics or silver). All these assumptions contributed to the emergence of modern dressings – characterized by biocompatibility, the ability to degrade, and better retention of moisture compared to traditional dressings. They contain active substances, often of plant origin [27,33]

---

#### Author's contribution

Study design – K. Orlińska, K. Komosińska-Vassev, K. Olczyk

Manuscript preparation – K. Orlińska, M. Glaesel, P. Olczyk

Literature research – K. Orlińska, K. Komosińska-Vassev, K. Olczyk, M. Glaesel, P. Olczyk

Final approval of the version to be published – K. Orlińska, K. Komosińska-Vassev, K. Olczyk, M. Glaesel, P. Olczyk

---

#### REFERENCES

1. Formalski J. Wound healing with hypertrophic scars – treatment methods. [Article in Polish]. *Nowa Med.* 2006; 4: 66–70.
2. Witmanowski H., Lewandowicz E., Zieliński T., Luczkowska M., Kruk-Jeromin J. Hypertrophic scars and keloids Part I. Pathogenesis and pathomechanism. [Article in Polish]. *Adv. Dermatol. Allergol./Post. Dermatol. Alergol.* 2008; 25(3): 107–115.
3. Jachowicz R. *Farmacja praktyczna*. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2016.
4. Olczyk P., Mencner L., Komosińska-Vassev K. The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 747584, doi: 10.1155/2014/747584.
5. de Mendonça R.J., Coutinho-Netto J. Cellular aspects of wound healing. *An. Bras. Dermatol.* 2009; 84(3): 257–262, doi: 10.1590/s0365-05962009000300007.
6. Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev.* 2003; 83(3): 835–870, doi: 10.1152/physrev.2003.83.3.835.



7. Pikula M., Langa P., Kosikowska P., Trzonkowski P. Komórki macierzyści i czynniki wzrostu w gojeniu ran. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2015; 69: 874–885, doi: 10.5604/17322693.1162989.
8. Werner S., Krieg T., Smola H. Keratinocyte–fibroblast interactions in wound healing. *J. Invest. Dermatol.* 2007; 127(5): 998–1008, doi: 10.1038/sj.jid.5700786.
9. Wilemska-Kucharzewska K., Bednarczyk M., Rojczyk E., Pałasz A., Kucharzewski M. Rola cytokin w procesie gojenia ran. *Leczenie Ran* 2015; 12(2): 41–47.
10. Ghatak S., Maytin E.V., Mack J.A., Hascall V.C., Atanelishvili I., Moreno Rodriguez R. et al. Roles of proteoglycans and glycosaminoglycans in wound healing and fibrosis. *Int. J. Cell Biol.* 2015; 2015: 834893, doi: 10.1155/2015/834893.
11. Kotschy M., Kotschy D., Witkiewicz W. The role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in blood coagulation and in thrombotic complications. *Kardiol. Pol.* 2010; 68(10): 1158–1162.
12. Staniszevska M., Słuczanska-Głabowska S., Drukała J. Stem cells and skin regeneration. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2011; 49(3): 375–380, doi: 10.5603/fhc.2011.0053.
13. Braddock M. The transcription factor Egr-1: a potential drug in wound healing and tissue repair. *Ann. Med.* 2001; 33(5): 313–318, doi: 10.3109/07853890109002083.
14. Marciniak A., Grzešek G., Koziński M., Grzešek E., Kubica J. Zmienność dobowa w układzie hemostazy. *Folia Cardiol. Excerpta* 2010; 5(1): 1–7.
15. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.W., Solnica B. Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Edra Urban & Partner. Wrocław 2017.
16. Sinno H., Prakash S. Complements and the wound healing cascade: an updated review. *Plast. Surg. Int.* 2013; 2013: 146764, doi: 10.1155/2013/146764.
17. Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J. Int. Med. Res.* 2009; 37(5): 1528–1542, doi: 10.1177/147323000903700531.
18. Sundy J.S., Haynes B.F. Cytokines and adhesion molecules in the pathogenesis of vasculitis. *Curr. Rheumatol. Rep.* 2000; 2(5): 402–410, doi: 10.1007/s11926-000-0040-8.
19. Gantwerker E.A., Hom D.B. Skin: histology and physiology of wound healing. *Facial Plast. Surg. Clin. North Am.* 2011; 19(3): 441–453, doi: 10.1016/j.fsc.2011.06.009.
20. Li J., Chen J., Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin. Dermatol.* 2007; 25(1): 9–18, doi: 10.1016/j.clinidematol.2006.09.007.
21. Bielefeld K.A., Amini-Nik S., Alman B.A. Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013; 70(12): 2059–2081, doi: 10.1007/s00018-012-1152-9.
22. Rodrigues M., Kosaric N., Bonham C.A., Gurtner G.C. Wound healing: a cellular perspective. *Physiol. Rev.* 2019; 99(1): 665–706, doi: 10.1152/physrev.00067.2017.
23. Liekens S., De Clercq E., Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem. Pharmacol.* 2001; 61(3): 253–270, doi: 10.1016/S0006-2952(00)00529-3.
24. Belperio J.A., Keane M.P., Arenberg D.A., Addison C.L., Ehler J.E., Burdick M.D. et al. CXC chemokines in angiogenesis. *J. Leukoc. Biol.* 2000; 68(1): 1–8, doi: 10.1189/jlb.68.1.1.
25. Broughton G. 2nd, Janis J.E., Attinger C.E. The basic science of wound healing. *Plast. Reconstr. Surg.* 2006; 117(7 Suppl): 12S–34S, doi: 10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2.
26. Podstawy pielęgniarstwa chirurgicznego. E. Walewska [ed.]. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2012.
27. Artem Ataide J., Caramori Cefali L., Machado Croisfelt F., Arruda Martins Shimojo A., Oliveira-Nascimento L., Gava Mazzola P. Natural actives for wound healing: A review. *Phytother. Res.* 2018; 32(9): 1664–1674, doi: 10.1002/ptr.6102.
28. Manowska M. The role of specialist dressing in the local treatment of second-degree burn wound on the leg – case report. *Forum Leczenia Ran* 2021; 2(3): 135–138, doi: 10.15374/FLR2021017.
29. Finnerty C.C., Jeschke M.G., Branski L.K., Barret J.P., Dziewulski P., Herndon D.N. Hypertrophic scarring: the greatest unmet challenge after burn injury. *Lancet* 2016; 388(10052): 1427–1436, doi: 10.1016/S0140-6736(16)31406-4.
30. Kozłowska E., Cierzniańska K., Szewczyk M.T. Postępowanie miejscowe w oparzeniach. *Chir. Dypl.* 2019; 3: 1–3 [online] <https://podyplomie.pl/chirurgia/32768,postepowanie-miejscowe-w-oparzeniach> [accessed on 13 October 2023].
31. Oleczyk P., Komosińska-Vashev K., Krzymiński R., Kasperczyk J., Ramos P., Dobosz B. et al. The estimation of blood paramagnetic center changes during burns management with biodegradable propolis-nanofiber dressing. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020; 2020: 3675603, doi: 10.1155/2020/3675603.
32. Komosińska-Vashev K., Oleczyk P., Kasperczyk J., Pilawa B., Krzymiński R., Dobosz B. et al. EPR spectroscopic examination of different types of paramagnetic centers in the blood in the course of burn healing. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019; 2019: 7506274, doi: 10.1155/2019/7506274.
33. Shi C., Wang C., Liu H., Li Q., Li R., Zhang Y. et al. Selection of appropriate wound dressing for various wounds. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020; 8: 182, doi: 10.3389/fbioe.2020.00182.



# Glycosaminoglycans – types, structure, functions, and the role in wound healing processes

## Glikoaminoglikany – rodzaje, struktura, funkcje i rola w procesach gojenia ran

Kinga Orlińska<sup>1</sup> , Katarzyna Komosińska-Vassev<sup>2</sup> , Krystyna Olczyk<sup>2</sup> , Aleksandra Kowalczyk<sup>3</sup> ,  
Paweł Olczyk<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Community Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>3</sup>Students' Research Club at the Department of Community Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### ABSTRACT

Glycosaminoglycans (GAGs) are a group of heteropolysaccharides, which include: chondroitin sulfates, dermatan sulfates, heparan sulfates, heparin, keratan sulfates, and hyaluronic acid. GAGs are composed of negatively charged polysaccharide chains composed of repeating disaccharide units, which include N-acetylated hexosamine residues – D-glucosamine or D-galactosamine – or N-sulfated D-glucosamine and hexuronic acid residues – D-glucuronic or L-iduronic acid – or galactose. All GAGs, except for hyaluronic acid, have a sulfate group and form proteoglycans (PGs) when attached to the core proteins.

GAGs have many important biological functions influencing PGs functions. PGs are present in all types of tissues and participate in cell migration, proliferation, and differentiation. They occur mainly in the extracellular matrix (ECM), where they participate in ECM organization, structure formation and mechanical properties. They play an important role in maintaining homeostasis and also influence metabolic processes, such as bone mineralization and blood coagulation. PGs (due to the strongly negative charge of the glycan chains) are involved in the selective permeability of cell membranes. Components of the ECM, including GAGs, play a structural and functional role during the healing of tissue damage. They regulate the healing process by acting as a reservoir and modulator for cytokines and growth factors and perform structural functions by filling tissue defects during the repair process.

### KEYWORDS

glycosaminoglycans, extracellular matrix, proteoglycans, wound healing

Received: 28.08.2023

Revised: 21.09.2023

Accepted: 06.10.2023

Published online: 07.11.2023

Address for correspondence: prof. dr hab. n. farm. **Paweł Olczyk**, Department of Community Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec, Medical University of Silesia, Katowice, Poland, Kasztanowa 3, 41-200 Sosnowiec, tel. +48 32 269 98 39, e-mail: pawel.olczyk@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

Glikoaminoglikany (*glycosaminoglycans* – GAGs) są grupą heteropolisacharydów, w której skład wchodzi: siarczyn chondroityny, siarczyn dermatanu, siarczyn heparanu, heparyny, siarczyn keratanu oraz kwas hialuronowy. GAGs zbudowane są z ujemnie naładowanych łańcuchów polisacharydowych, złożonych z powtarzających się jednostek disacharydowych, do których należą reszty N-acetylowanej heksozozaminy – D-glukozyaminy lub D-galaktozozaminy – albo N-siarczanowanej D-glukozyaminy oraz reszty kwasu heksuronowego – D-glukuronowego lub L-iduronowego – albo galaktozy. Wszystkie GAGs, z wyjątkiem kwasu hialuronowego, posiadają grupę siarczanową oraz tworzą, po przyłączeniu do białek rdzeniowych, proteoglikany (*proteoglycans* – PGs).

GAGs pełnią wiele ważnych biologicznych funkcji, determinujących funkcje PGs. Te ostatnie są obecne we wszystkich rodzajach tkanek, uczestniczą w procesach migracji, proliferacji i różnicowania komórek. Występują głównie w macierzy pozakomórkowej (*extracellular matrix* – ECM), biorąc udział w organizacji ECM, kształtując jej strukturę i właściwości mechaniczne. Pełnią istotną rolę w utrzymaniu homeostazy, a także wywierają wpływ na szereg procesów metabolicznych, takich jak mineralizacja kości i krzepnięcie krwi. PGs (ze względu na silnie ujemny ładunek łańcuchów glikanowych) biorą udział w selektywnej przepuszczalności błon komórkowych. Składniki ECM, w tym GAGs, odgrywają rolę strukturalno-czynnościową podczas gojenia się uszkodzeń tkankowych. Regulują proces gojenia poprzez stanowanie rezerwuaru i modulatora dla cytokin i czynników wzrostu oraz pełnią funkcje strukturalne poprzez wypełnianie ubytków tkankowych podczas procesu naprawczego.

## SŁOWA KLUCZOWE

glikoaminoglikany, macierz pozakomórkowa, proteoglikany, gojenie ran

**Structure, occurrence, and functions of glycosaminoglycans**

Glycosaminoglycans (GAGs) are unbranched, linear, negatively charged heteropolysaccharides, built of repeating disaccharide units, found in all animal tissues. These units, depending on the class of glycan, consist of N-acetylated hexosamine residues – D-glucosamine (GlcNAc) or D-galactosamine (GalNAc) – or N-sulfated D-glucosamine and hexuronic acid residues – D-glucuronic acid (GlcUA) or L-iduronic acid (IdUA) – or galactose. In most cases, disaccharides are linked by a 1,3- $\beta$  or 1,4- $\beta$ -glycosidic bond [1,2,3,4]. The presence of L-fucose, D-mannose, D-xylose and N-acetylneuraminic acid residues has also been demonstrated in some GAGs [5]. The presence of a significant number of sulfate and carboxyl residues in the disaccharide units that build the polysaccharide backbone of GAGs determines the highly negative charge of the polysaccharide chain. GAGs, especially hyaluronic acid (HA), show hygroscopic properties, binding large amounts of water in tissues. This phenomenon is intensified as a result of the binding of cations present in the extracellular matrix (ECM) [2,3,4,6].

GAGs are natural components of blood vessel walls. Dermatan sulfate predominates in the venous wall, and chondroitin sulfate dominates in the arterial wall. These macromolecules are also found in the lungs, intestinal mucosa, liver, kidneys, and nervous tissue [2]. They also occur in the skin, where the role of these macromolecules is to maintain the structure and hydration of the skin, bond the epidermis with the dermis, regulate the transport of nutrients and metabolites, regulate the osmotic pressure, and maintain the proper turgor of this structure. GAGs play a fundamental role in supporting and connecting cells into tissues, tissues into organs, and then – as a result

of further tissue organization – into individual parts of the body. The structure and properties of GAGs play an important role in the physiology and pathology of single cells and tissues [4].

GAGs (except for HA) occur in the body in the form of covalent bonds with proteins, forming proteoglycans (PGs) [2]. PGs occur both extracellularly, creating components of the ECM, and inside cells. Intracellular PGs are found in secretory granules, rarely in the cell nucleus, on the surface of cell membranes, or inside them – as so-called transmembrane PGs. Moreover, PGs bind many ligands, including ECM proteins, growth factors, enzymes, and their inhibitors, as well as elements of the cytoskeleton. They participate in the processes of cellular migration, proliferation, and differentiation, as well as in the organization of the ECM, shaping the structure and mechanical properties of the ECM as a result of interaction with fibrous proteins such as collagen and elastin [2,5,7,8,9]. In addition, they play an important role in maintaining homeostasis, e.g. by controlling and participating in the wound healing process or cell-cell interactions [10]. They also influence several metabolic processes, such as bone mineralization and blood coagulation. PGs (due to the strongly negative charge of the glycan chains) are involved in the selective permeability of cell membranes [2,7,8]. Components of the ECM play a structural and functional role in the healing process, participating in the repair process through the formation of a provisional matrix, granulation tissue, and then a scar [11]. Both free GAGs and their complexes with proteins (PGs) are distinctive and richly represented components of the ECM [4].

**Types of glycosaminoglycans**

Due to the type of monosaccharide subunits and the type of glycosidic bonds between disaccharide units,



GAGs can be divided into four classes: chondroitin-dermatan GAGs – chondroitin sulfates (CSs) and dermatan sulfates (DSs); heparan GAGs – heparins (Heps) and heparan sulfates (HSs); keratan GAGs – keratan sulfates (KSs); hyaluronic acid (hyaluronan – HA; Figure 1) [1,2].

According to another criterion for the division of GAGs, based on the type of hexosamine residue present in the GAG chain, the following are distinguished: glucosaminoglycans (with N-acetyl or N-sulfate-D-

-glucosamine residues) – Hep, HSs, HA, KSs; and galactosaminoglycans (with N-acetyl-D-galactosamine residues) – DSs, CSs [2,12].

The difference between particular types of GAGs concerns: amino sugar composition, presence of glucuronic or iduronic acid, presence or absence of sulfate groups, type of bond between components of disaccharide units, chain length, type of bond between GAG and the protein core in PGs, distribution in subcellular structures and tissues, function biological [1,4].

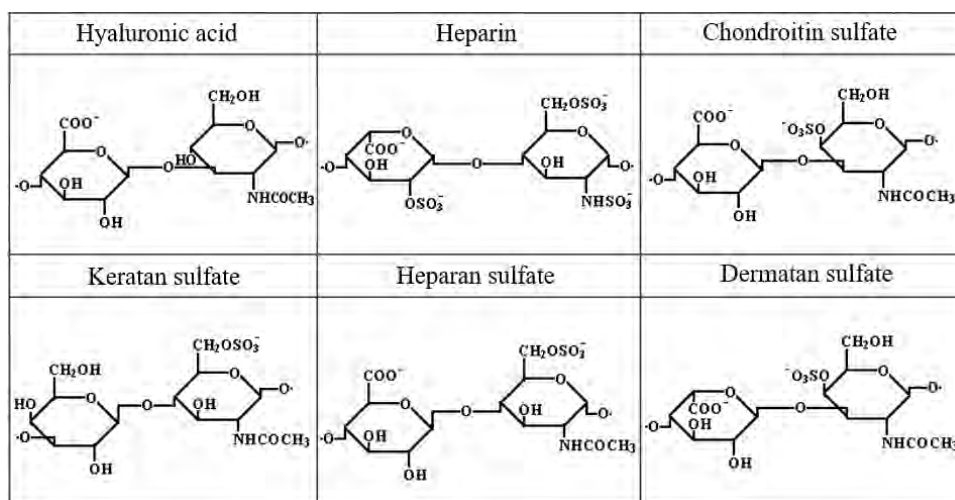


Fig. 1. Glycosaminoglycans classes (author's own study based on [1,2]).

### Chondroitin sulfates and dermatan sulfates

Chondroitin A sulfate (chondroitin-4-sulfate, C-4-S), chondroitin C sulfate (chondroitin-6-sulfate, C-6-S), and dermatan sulfate (chondroitin B sulfate) belong to the group of galactosaminoglycans [17,18]. They are composed of N-acetylgalactosamine (GalNAc) residues and glucuronic acid (GlcUA) and L-iduronic acid (IdUA) residues, which are connected by alternating  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 3) and  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) glycosidic bonds, and undergo sulfation in different positions of the monomeric subunits, i.e. GalNAc and GlcUA. The heterogeneity of the discussed compounds is evidenced by the different ways of their sulfation because the GalNAc residue can be sulfated at the 4- or 6-position of fourth carbon of this monosaccharide, or chondroitin C sulfate, where the sulfation process concerns the GalNAc residue at the sixth carbon position. A single sulfate group is attached to the majority of disaccharide sequences. However, some disaccharides

are not subject to sulfation, as well as sequences containing two sulfate groups found, for example, in chondroitin E sulfate (disulfated GalNAc residue) [19,20,21,22]. As a result of further modification of the CS chain, consisting in the epimerization of some residues of GlcUA to IdUA, chondroitin B sulfate, referred to as DS, is formed. It is assumed that if the content of IdUA in the glycan chain exceeds 10% of hexuronic acids, the GAG is referred to as DS. The DS chain is composed mainly of disaccharide units [ $\rightarrow$ 4IdUA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GalNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ ], while to a lesser extent, it consists of doubly sulfated units, i.e. at the fourth carbon position of GalNAc and the second carbon position of IdUA [23].

The process of synthesis of chondroitin-dermatan GAGs consists of three stages – initiation, elongation, and modification [21,24]. The consecutive stages of chondroitin-dermatan GAGs synthesis are presented in Figure 2.



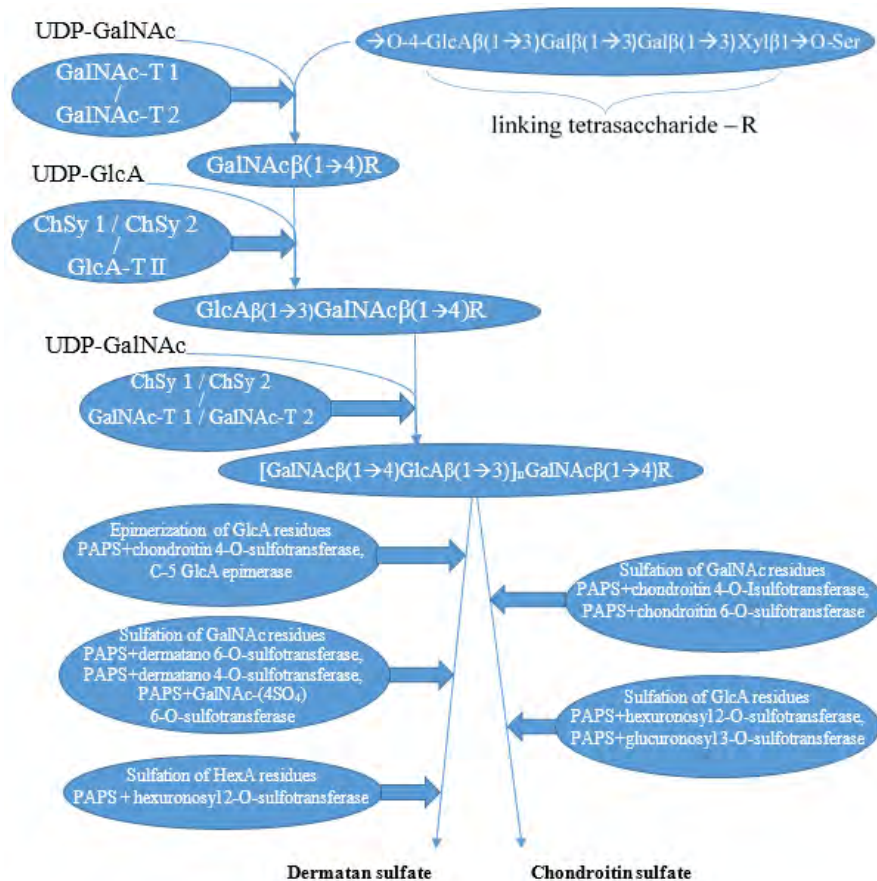


Fig. 2. Biosynthesis of chondroitin sulfate and dermatan sulfate (author's own study based on [13]); ChSy 1 – chondroitin synthase 1; ChSy 2 – chondroitin synthase 2; GalNAc – N-acetylgalactosamine; GalNAc-T 1 – chondroitin  $\beta$ 1,4-N-acetylgalactosaminyltransferase 1; GalNAc-T 2 – chondroitin  $\beta$ 1,4-N-acetylgalactosaminyltransferase 2; GlcA – glucuronic acid; GlcA-T II –  $\beta$ 1,3-glucuronosyltransferase II; HexA – hexuronic acid (glucuronic or iduronic); PAPS – 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate; UDP – uridinediphosphate.

In the initial stage (initiation), the synthesis of the core protein takes place in the endoplasmic reticulum. The biosynthesis of chondroitin-dermatan chains occurs as a result of the action of an enzyme (xylosyltransferase), which catalyzes the transfer of a xylose molecule to a serine residue of the core protein. Then, in the Golgi apparatus, with the participation of galactosyltransferase I and galactosyltransferase II, the synthesis of the glycan chain takes place – two galactose residues are added to the existing protein (at the non-reducing end). The GlcA residue (fourth monosaccharide molecule) is added to the growing sugar sequence using glucuronosyltransferase I [21,24,25,26]. The above description of the synthesis of the tetrasaccharide fragment – the connecting region – applies to both CSs and DSs but also characterizes heparan glycans. Differences in the subsequent stages of glycan chain biosynthesis (elongation and modification) will determine the formation of a particular type of GAG [24,26].

During the process of elongation of chondroitin-dermatan GAG chains, the appropriate N-acetylhexo-

samine residues and GlcA residues are alternately attached to their non-reducing end. And so, the transfer to the third carbon atom of the acid residue – N-acetyl-D-galactosamine (GalNAc) by N-acetylgalactosaminyltransferase I (GalNAc transferase I), leads to the formation of chondroitin-dermatan GAGs. In the further stages of the elongation process of the discussed glycans, CS polymerase is involved, showing the activity of N-acetylgalactosaminotransferase and glucuronosyltransferase [14,20,21,26].

The last stage of biosynthesis (modification) consists of epimerization of GlcUA residues to its C5 epimer – IdUA, catalyzed by C5-epimerase as well as sulfation – mainly of GalNAc residues, catalyzed by N-acetylgalactosamine 4-6 sulfotransferase (GalNAc 4-6 ST). The location of sulfate groups as well as their number in the chondroitin-dermatan glycan chains influences the role of these GAGs in acquiring the binding properties of signaling molecules [2,24,27]. The final stage of the transformation of chondroitin-dermatan PGs is their degradation. The degradation process of chondroitin-dermatan GAGs is presented in Figure 3.

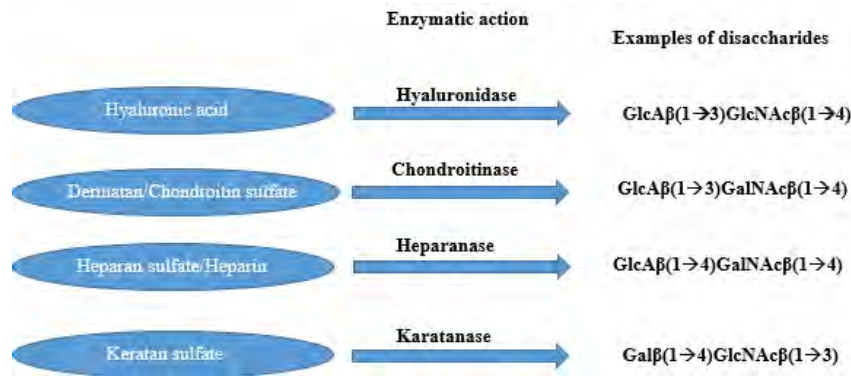


Fig. 3. Glycosaminoglycans degradation (author's own study based on [13]).

In the extracellular space, with the participation of endoglycosidases and proteolytic enzymes, a partial CS/DS disintegration takes place [6]. In turn, complete degradation occurs only intracellularly, in lysosomes, where PGs or their fragments undergo complete hydrolysis. The degradation of the described PGs is influenced by lysosomal proteases. On the other hand, the degradation of glycan chains is dependent on acidic hydrolases – endoglycosidases (hyaluronidases) as well as exoglycosidases and sulfatases. Exoglycosidases include  $\beta$ -glucuronidase and  $\alpha$ -L-iduronidase, which cleave terminal acid residues, and  $\alpha$ -N-acetylglucosaminidase and  $\beta$ -N-acetylhexosaminidase – which cleave terminal hexosamine residues. Enzymes that hydrolyze sulfate esters within hexuronic acid residues and hexosamine belong to sulfatases [3,28].

DS owes its name to the dermis, in which it constitutes about 0.3% of the dry weight. Mentioned GAGs, apart from the previously mentioned dermis, are found mainly in cartilage, tendons, umbilical cord, walls of blood vessels, and heart valves. DS is also present in the cornea of the eye (as a PGs decorin part), which ensures its transparency, and in the sclera, is responsible for maintaining the correct shape of the eyeballs, as well as in the bone tissue (as a PGs biglycan part) and the aortic wall. PGs containing CSs are present in the aorta, skeletal muscles, eye, lungs, and brain [2,19,29,30,31,32].

CSs perform many important biological functions in the body. Their most important role is to maintain the structure of the ECM. These compounds are also present in the central nervous system, where PGs containing CSs (agrecan, versican, neurocan, brevican, phosphacan, neuroglycan C), DS and HS (syndecan-2, syndecan-3) participate in the formation of neural network in developing mammalian brains. The discussed PGs regulate such processes as proliferation, differentiation, cell adhesion, neuronal migration, and synaptogenesis. The presence of CSs can also be observed in the calcification process during

endochondral bone formation. In addition to the previously mentioned functions, CS complexes low-density lipoproteins (LDLs) and very low-density lipoproteins (VLDLs), and accelerates the formation of fibrin [2,7,19,29].

DS plays a role in the processes of blood coagulation, cell growth, protection against pathogenic factors, as well as in the repair process of skin damage. In the case of tissue damage, a local intensification of syndecan-4 synthesis and accumulation of this PG on the surface of endothelial cells and hyperproliferating keratinocytes was observed. This phenomenon was accompanied by an increase in decorin content. Mice lacking syndecan-4 synthesis were shown to have a longer wound healing time compared to mice capable of syndecan-4 synthesizing [19,33,34]. Chondroitin-dermatan glycans additionally have anti-inflammatory and antioxidant effects [3,17,35].

### Heparan sulfates and heparins

The group of heparan GAGs includes HSs and Heps. The division into HSs and Heps depends on the scope of post-synthetic modifications, including differences in the content of N-acetylated and N-sulfated D-glucosamine residues, as well as residues of GlcUA or its epimer – IdUA, which are combined by glycosidic bonds such as  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) [2,36]. In HS chains, GlcUA residues dominate quantitatively, while D-glucosamine residues are N-sulfated and N-acetylated in variable proportions. On the other hand, heparin chains are dominated by rich sulfated fragments, which are built of N-sulfated D-glucosamine residues, and 90% of hexuronic residues are iduronic residues [23,27,37]. The initial stage of biosynthesis of heparan GAGs (the process of synthesis of the linking region) is common for the discussed glycans and chondroitin-dermatan glycans, which were described in an earlier subsection of this paper. The consecutive stages of HS/Hep GAGs synthesis are presented in Figure 4.

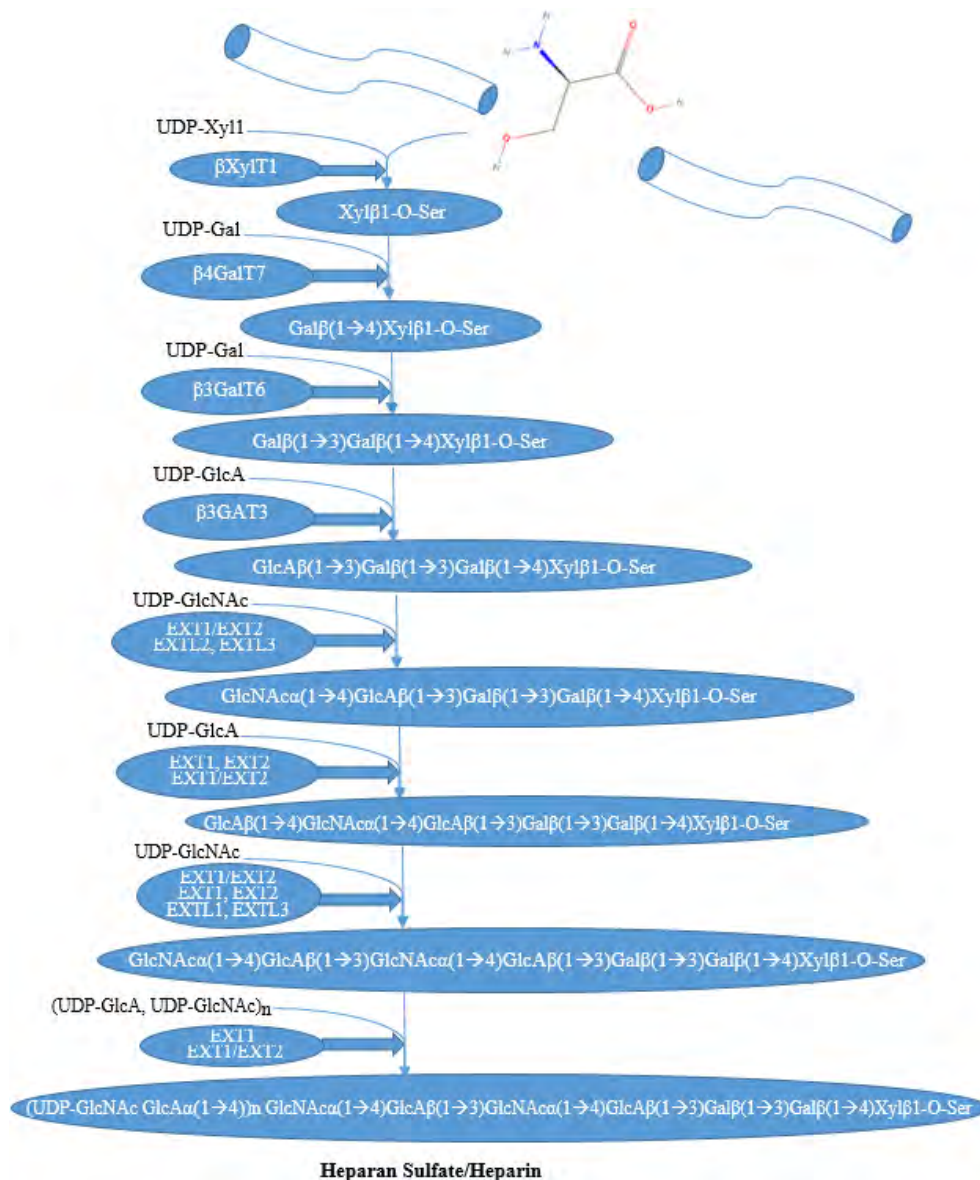


Fig. 4. Biosynthesis of heparan sulfate/heparin (author's own study based on [14,15]): UDP-Xyl1 – UDP-xylose;  $\beta$ XylT1 – beta-1,2-xylosyltransferase; UDP-Gal – UDP-galactose;  $\beta$ 4GALT7 – beta-1,4-galactosyltransferase;  $\beta$ 3GALT6 – beta-1,3-galactosyltransferase; UDP-GlcA – UDP-glucuronic acid;  $\beta$ 3GAT3 – beta-1,3-glucuronyltransferase; UDP-GalNAc – UDP-N-acetylgalactosamine; EXT1 – exostosin glycosyltransferase 1; EXT2 – exostosin glycosyltransferase 2; EXTL2 – exostosin like glycosyltransferase 2; EXTL3 – exostosin like glycosyltransferase 3; UDP – uridinediphosphate.

The tetrasaccharide connecting region initiates the next stage of GAGs biosynthesis – elongation. During the process of elongation of GAG chains, alternate attachment to the non-reducing end of the growing chain of GlcNAc and GlcUA takes place. The beginning of the HS/Hep chains is formed by the attachment of GlcNAc to the fourth carbon atom of the glucuronide residue [14,26,38]. The process of elongation of the discussed GAGs is catalyzed by enzymes such as: N-acetylglucosaminotransferase I and heparan polymerase – a heterodimer, being a product of expression of two genes, i.e. exostosin I (EXT1) and exostosin II (EXT2). Heparan polymerase has the catalytic activity of glucuronosyltransferase II

and N-acetylglucosaminotransferase II [14,24,38]. During elongation, the glycan chain undergoes numerous modifications. These modifications include sequential reactions – N-deacetylation of GlcNAc residues followed by their sulfation, epimerization of adjacent glucuronide residues to iduronate residues, 2-O-sulfation of hexuronic acid (usually IdUA) and 6-O-sulfation of glucosamine residues [22,25]. Other O-sulfated derivatives of sugar residues, e.g. 3-O-sulfated-N-sulfated glucosamine or 2-O-sulfated GlcUA are rare [39]. Not all areas of the heparan chain undergo the modifications described above, which means that they remain unchanged [24,27]. The degradation of heparan GAGs initially takes place in



the extracellular space and then in the lysosomes. It occurs with the participation of an endoglycosidase specific for heparan and heparin sulfates – heparan glucuronidase and has been presented in Figure 3. The scheme of the degradation process of the above GAGs is analogous to the scheme of degradation of chondroitin-dermatan GAGs [3,6,28,40].

HSs occur in the form of PGs, forming heparan sulfate proteoglycans (HSPGs), both on the cell surface, in secretory granules, and the extracellular space. Free HSs, which are formed as a result of the degradation of HSPGs, are also present in lysosomes and the cell nucleus, and they co-create the basic substance of the ECM, including basement membranes [1,2,5,19,23,30,37,41,42]. In the human body, a particularly high content of these PGs is found in the lungs, liver, kidneys, nervous tissue, and the walls of blood vessels. The main places of occurrence of Heps are basophils and mast cells of the lungs, intestines, and liver. Heparin PGs present in mast cell granules can form complexes with other molecules (e.g. enzymes) by combining with antithrombin III and serine protease, they determine the anticoagulant effect [2,7,19,23,35,43,44,45].

HSPGs have a regulating effect on the permeability of basement membranes. They participate in interactions between cells, as well as between cells and the ECM, resulting in the migration and adhesion of cells to ECM components such as fibronectin, laminin, collagen type I, III, V, XV or XVIII [27,36]. HSPGs are involved in the accumulation of leukocytes at the site of injury or infection, which initiates the process of tissue repair [41].

HSs, through their presence, protect the vascular endothelium against its damage. With the increase in blood glucose concentration, the HSs content in the endothelial cells decreases, which promotes their damage, contributing to the development of diabetic nephropathy, retinopathy, and macroangiopathy resulting from the development of atherosclerosis [2,46,47].

HSs perform a similar function to heparins – they have anticoagulant and antiproliferative effects and also stimulate the activity of lipoprotein lipase (LPL) [7]. Heparan GAGs act as co-receptors or receptors for extracellular ligands, and growth factors, regulating the processes of cellular proliferation, angiogenesis, embryogenesis, or carcinogenesis processes [21,39]. Both heparan sulfate and heparin PGs play a role in the development of inflammation that occurs with tissue damage. They are an indicator of the effectiveness of the wound-healing process. In the initial phase of wound healing, their content increases, which is crucial in the early phase of tissue damage repair [48].

### Keratan sulfates

KSs are composed of repeating disaccharide units containing D-galactose residues and GlcNAc residues connected by alternating glycosidic bonds [ $\rightarrow 3\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow$ ] [19,27]. In the discussed glycans, the hexuronic acid residue is replaced by a galactose one. KS chains derived from femoral head cartilage contain fucose residues  $\beta (1 \rightarrow 3)$  linked to GlcNAc residues and N-acetylneuraminic acid residues  $\beta (1 \rightarrow 4)$  linked to D-galactose residues. Due to the different binding mode to the core protein for the other glycans and the lack of hexuronic acid residues in the KS molecule, KS belongs to the group of galactosaminoglycans [49,50].

The structure of the region connecting KSs with the core protein is responsible for the division of KS into three types: KS I – corneal, KS II – skeletal, KS III – cerebral [50].

The biosynthesis of keratan GAGs, similarly to the CS, DS, HS and Hep synthesis described above, starts in the cytosol, as a result of the activation of dinucleotide derivatives, and subsequently takes place in the Golgi apparatus. The consecutive stages of keratan sulfate GAGs synthesis are presented in Figure 5.

The KS biosynthesis consists of the two stages: the formation of the region connecting the core protein with the GAG chain (there are three types of connections) and the elongation and modification of the chain. There are three types of the above connections [38,49,50]:

- Type I – the glycan chain is connected to the asparagine residue of the protein core (previously synthesized). Two GlcNAc residues and a mannose residue are then attached to the amino acid residue in question. In the next step, two mannose residues, which are responsible for the branched structure of KS, are added simultaneously to the aforementioned terminal residue at positions 3 and 5. Three carbohydrate residues – GlcNAc, D-galactose and N-acetylneuraminic acid form the first chain. In the second chain, the N-acetyl-6-O-sulfate-D-glucosamine residue and the 6-O-sulfate-D-galactose residue are added alternately. The end of KS I biosynthesis occurs after the addition of the N-acetylneuraminic acid residue [27,38,50].
- Type II – the glycan chain is connected to the serine or threonine residue of the core protein through the GalNAc residue. Then, the residue of GlcNAc and the residue of D-galactose join the O-glycosidically attached sugar residue. In the next stage, disaccharide units are added, which are formed by N-acetyl-6-O-sulfate-D-glucosamine as well as 6-O-sulfate-D-galactose; a D-galactose residue to which



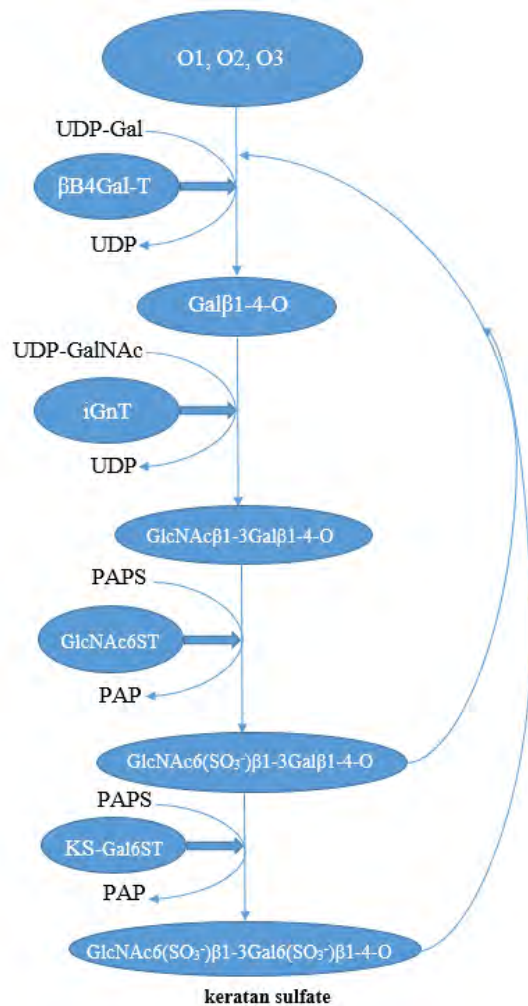


Fig. 5. Biosynthesis of keratan sulfates (author's own study based on [13]);  $\beta$ B4Gal-T – beta-1,4-galactosyltransferase; UDP-Gal – UDP-galactose; GlcNAc – N-acetylglucosamine; GlcNAc6ST – N-acetylglucosaminyl-6-transferase; iGnT –  $\beta$ 1,3-N-acetylglucosaminyltransferase; KS-Gal6ST – galactosyl-6-sulfotransferase keratanosulfate; PAP – 3'-phosphoadenosine-5'-phosphate; PAPS – 3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate; UDP – uridinediphosphate; O1 – N-glycosidically linked oligosaccharide of the complex type connecting the KS chain to the core protein; O2 – N-glycosidically linked oligosaccharide type 2 connecting KS chain to core protein; O3 – N-glycosidically linked mannose residue connecting KS chain to core protein.

an N-acetylneuraminic acid residue is added. Similarly as in KS I – the biosynthesis of the polysaccharide chain of KS II ends with the attachment of the N-acetylneuraminic acid residue [38,50].

- Type III – the glycan chain is connected through the mannose residue to the serine or threonine residue of the protein core by means of an O-glycosidic bond. The binding of N-acetylneuraminic acid terminates the biosynthesis of KS I and KS II, while the terminal residues of KS III are unknown [21,50].

Keratan sulfate GAGs are initially degraded in the extracellular space, then in the lysosomal compartment (see Figure 3). As a result of the acidic hydrolases of N-acetylglucosaminidase,  $\beta$ -galactosidase and sulfatases, successive parts of the glycan chain are gradually removed. First, the sulfate group is removed from the galactose residue at the end of the KS chain, then the galactose residue is detached. The next step is the hydrolysis of the sulfate group attached by an ester bond to the GlcNAc residue, preceded by the detachment of the hexosamine residue from the glycan

chain. The above reactions are repeated until the complete degradation of the keratan sulfate GAG chain [2,3].

These glycans occur in the ECM as well as on the surface of cell membranes as PGs, but not as commonly as other GAGs. Keratan GAGs occur primarily within the structures that are exposed to loading forces, i.e. bones, cartilage, tendons. They are also present in the peripheral and central nervous system, cornea and epithelial tissue [1,2,50].

KSs, like other GAGs, perform many important functions in the body. KSs are involved in the repair of tissue damage; in cartilage, on the other hand, they give the tissue the properties of load transfer and counteracting compression forces. In turn, KSs present in nerve cells are involved in the development and metabolism of nervous tissue, they are responsible for the proper conduction of signals. These glycans are the key components of the cornea, where they are located between collagen fibers and give it transparency. KSs also participate in the process of embryo implantation [2,19,49].



## Hyaluronic acid

HA is a naturally occurring, unbranched polysaccharide chain composed of repeating disaccharide units containing GlcUA and GlcNAc linked by glycosidic  $\beta$ -1,3 and  $\beta$ -1,4 linkages [2,51,52,53,54]. Unlike other GAGs, it does not form complexes with proteins, so it does not form PGs. However, it can non-covalently bind to other proteins, which leads to the formation of

proteoglycan aggregates (HA is the axis to which PG molecules bind). The disaccharide components of HA are not subject to such modifications as sulfation or epimerization. Due to the presence of carboxyl residues, HA exhibits a polyanionic character [2,55,56,57]. The synthesis of HA – unlike other GAGs – does not require the presence of a protein core. The synthesis of HA is presented in Figure 6.

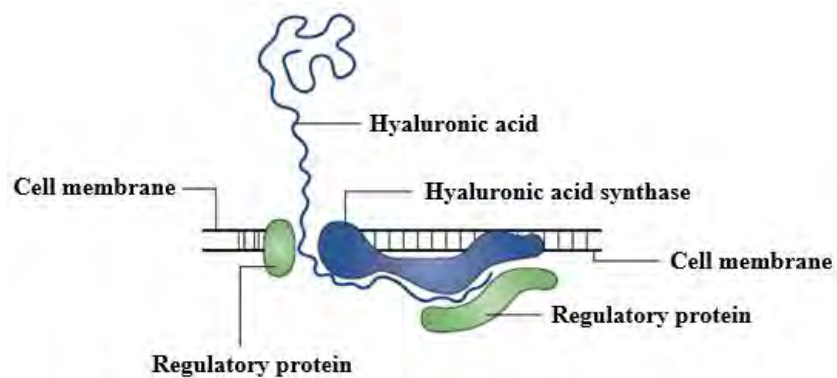


Fig. 6. Hyaluronan biosynthesis (author's own study based on [16]).

It occurs on the inside of the cell membrane and is catalyzed by three isoforms of an enzyme called hyaluronan synthase (HAS-1, HAS-2 and HAS-3) [51,55,57,58]. This enzyme catalyzes the transglycosylation reaction of GlcUA and GlcNAc from the appropriate nucleotide precursors, i.e. UDP-GlcUA (uridine-5'-diphosphoglucuronic acid) and UDP-GlcNAc (uridine-5'-diphospho-N-acetyl-D-glucosamine). The discussed monosaccharide subunits are attached alternately, with glycosidic bonds, to the reducing end of the growing chain, resulting in disaccharide sequences of HA, which are not subject to modifications [2,27,38,55]. The newly synthesized polymer, growing on the inner, cytoplasmic side of the cell membrane, is translocated outside the cell membrane from the side of the non-reducing end. The synthesis of HA is continued, which allows the polymer to grow and obtain molecules of large size, and consequently of high molecular weight, in approximately 107 Da [35,55,57,59].

Systemic degradation of HA is an integral part of its metabolism (see Figure 3). Degraded molecules are replaced by newly synthesized molecules. About 1/3 of the entire amount of human hyaluronan is exchanged daily in the body [55,60]. Depending on the type of tissue, HA is catabolized at different rates. It is most rapidly removed from the blood, where the half-life of HA is 2–5 minutes, in the skin the half-life is 12 hours, 1–3 weeks in cartilage and up to 70 days in the vitreous body of the eye [55,60,61]. Part of the biopolymer in question is decomposed at the site of biosynthesis and in the tissue, while part is transported with the lymph to the lymph nodes, where it is degraded. The remaining

HA, which has not been degraded in the above-mentioned lymphatic structures, come into the systemic circulation, from which it is removed primarily by the endothelial cells of the sinusoidal vessels of the liver, and small amounts are excreted by the kidneys [55,57,60]. Elimination of HA from tissues occurs via CD44 (membrane glycoprotein), followed by endocytosis, often preceded by extracellular degradation, which is catalyzed by extracellular hyaluronidases or the influence of reactive oxygen species (ROS), the amount of which is influenced by support of the body's natural antioxidant defenses. HA is sensitive to ROS, which can cause local inflammation. Non-enzymatic HA degradation can also occur under the influence of pH, ultrasound, and temperature. Under the influence of hyaluronidase and exoglycosidases, such as  $\beta$ -glucuronidase or hexosaminidase, HA is degraded within the lysosomes in the cell [55,60].

In the human body, HA is present in all body fluids as well as in tissues. Tissues of mature organisms contain HA in small amounts. On the other hand, HA is very abundant during embryonic development, and in inflammation, during healing, and within cancerous tumors. The largest amounts of HA are located in the dermis, cartilage and synovial fluid, the vitreous body of the eye, umbilical cord, heart muscle, kidneys, muscles, lymphatic system, mucous membranes, and also in the brain [2,5,51,53,55,62,63].

The basic function of HA is to bind and retain water in intercellular space, which determines the tissue resistance to mechanical loading. Together with CS, HA provides tissue strength as well as elasticity [19].



HA has a significant degree of hygroscopic properties because 1 g of this glycan can bind up to 6 l of water (i.e. about 250 water molecules), thus increasing its volume up to 1000 times [57,64]. The result of these properties is the ability to form a free and durable network, creating highly viscous and flexible solutions that fill the intercellular space. Thanks to the ability to bind water, HA is characterized by viscoelastic (viscoplastic) properties, responsible for maintaining proper hydration, turgor, and tension of the ECM [65,66]. The discussed glycan, in the form of high molecular weight chains, is involved in the processes of cell adhesion and migration, exhibits anti-inflammatory properties and plays an antioxidant role. Small-molecule fragments of HA, however, show the ability to induce (in endothelial, epithelial and dendritic cells, fibroblasts and macrophages) inflammatory genes expression [2,3,23,35,55,59,67]. HA also has the properties of a signal molecule HA (HA fragmentation intensifies its ability to activate signal transduction pathways). In the body, HA interacts with specific binding proteins, the so-called hyaladherins [55,57,64]. Research by Volpi et al. [68] showed the participation of hyaluronan in many processes related to ovulation and fertilization. The presence of this glycan facilitates the release of the oocyte during ovulation. The above studies showed a relationship between the ability of sperm to penetrate a highly viscous solution, resulting from the presence of HA, and sperm motility and fertilization efficiency. In addition, by showing the ability to inhibit the activity of platelet-derived growth factor (PDGF), HA exhibits antiproliferative activity against smooth muscle cells involved in the pathogenesis of atherosclerosis [2,52]. In medicine, it has been used as a marker of some diseases (e.g. rheumatic or cancer) [2,23,67]. It is used in surgery, aesthetic medicine, ophthalmology, dermatology, orthopedics, gynecology, urology, neurology, and tissue engineering [2,57,58].

### Glycosaminoglycans in wound healing

Wound healing is a complex and dynamic, time-synchronized physiological process, consisting of four overlapping phases: hemostasis, inflammation, proliferation, and remodeling, which are necessary for the proper course of regeneration of the resulting tissue damage. The discussed process is, therefore, the body's reaction to damage to the continuity of tissues and is associated with the activity of such cells as macrophages, leukocytes, keratinocytes, fibroblasts, endothelial cells, or platelets, but also with the activity of numerous biologically active compounds, e.g. cytokines, interleukins, growth factors, and components of the ECM, such as collagen, laminin, vitronectin, fibronectin, PGs and GAGs [69,70,71]. Components of the ECM play a structural and functional role in each of the above-mentioned phases of healing. These compo-

nents participate in the repair process, creating a provisional matrix, granulation tissue, and then a scar. They participate in signal transduction, stimulate cell adhesion and migration, mediate cell-cell and cell-ECM interactions, also modulate the healing process. ECM components perform functional functions, regulating the healing process by acting as a reservoir and modulator for cytokines and growth factors; they also perform structural functions by filling tissue defects during the repair process [11,72,73]. GAGs are essential components of the ECM involved in the process of tissue repair [11].

One of the GAG fractions, i.e. DSs, dominates in normal skin, constituting 78% of all sulfated GAGs, hence – during the healing process – the DSs content, both in the wound fluid and in the tissue, increases the most [19,74]. The GAG in question is the main glycan that occurs in the wound bed [75]. Its role is to activate leukocyte adhesion to endothelial cells (as a result of ICAM-1 stimulation) [76]. DSs, together with HSs and Hep, have a high affinity for hepatocyte growth factor/spreading factor, which provides growth, motility, and morphogenic stimuli to epithelial, endothelial, and neural cells in the wound healing process [77].

A study by Olczyk et al. [76] showed that GAGs, i.e. CSs, DSs and HA, were isolated in all samples taken from the burn wound bed. In the above studies, it was observed that propolis stimulate significant changes in the content of particular types of GAGs during burn healing. Propolis accelerated the repair of damaged tissue by stimulating the accumulation of GAGs in the burn wound bed needed for granulation, tissue growth, and wound closure. In addition, propolis accelerated the modification of the structure of chondroitin/dermatan sulfates, which are responsible for binding growth factors, and playing a key role in tissue repair.

The above conclusions also correspond to the results of research conducted by Bentley [78], which indicated a systematic increase in the content of DSs and CSs in healing wounds. Siméon et al. [79] also showed, in a study using the tripeptide (gly-his-lys) – Cu<sup>2+</sup> complex, a gradual increase in the content of CSs and DSs during the healing of tissue damage.

Sulfate residues, present in CSs and DSs, stimulate the transformation of fibroblasts into myofibroblasts, thereby influencing wound contraction. CSs, like DSs, stimulate the production of nitric oxide by the endothelium of blood vessels, which modulates the angiogenesis process and stimulates leukocyte adhesion to endothelial cells [10,74,80].

HS is involved in the process of transformation of fibroblasts into myofibroblasts leading to the wound closure [81]. The initial increase in HS content is crucial in the early stages of wound healing [81,82].

Studies by Belvedere et al. [74] showed a transient increase in HSPG expression during tissue repair. During the study, a significant relationship was





observed between the migration of keratinocytes and fibroblasts during the healing of venous ulcers and the content of GAGs in the wound bed. The discussed experiment confirmed the role of GAGs (including HS) in the wound healing process by modulating the migration, proliferation, and differentiation of inflammatory cells, fibroblasts, and keratinocytes [74,83].

Studies by Olczyk et al. [81] also indicated a short-lived increase in the content of heparan and heparin sulfates in the bed of burn wounds treated with a propolis formulation, which confirmed the beneficial effect of the aforementioned compound of natural origin on the tissue repair process.

HA plays an important role in the healing of wounds of the skin or mucous membranes, influencing inflammation, granulation, and re-epithelialization, as a result of its anti-inflammatory effect, influence on fibroblast migration and stimulation of collagen synthesis and angiogenesis [84,85,86]. This glycan is also involved in tissue repair and serves as an integral part of the ECM, also promoting keratinocyte proliferation and migration in the process of re-epithelialization [74,87].

The study by Siméon et al. [79] showed an initial increase in the content of HA in the skin wound bed of rats, followed by a progressive decrease in the content of HA at the wound site. Hamed et al. [88,89] showed that erythropoietin used in the experiment stimulates an increase in the HA content in the wound bed in the initial phase of the healing process. The consequence of this change was an accelerated wound healing process resulting from the stimulation of angiogenesis, re-epithelialization, collagen synthesis, and, on the other hand, inhibition of the inflammatory response and apoptosis.

During an experiment conducted by Olczyk et al. [76] assessing the effect of an apitherapeutic – propolis – on changes in the content of GAGs in post-burn wounds, it was shown that in the initial phase of the experiment, there was an increase in the content of HA in the wound bed treated with an ointment containing propolis, and then – in the final phase – reduction of HA content. The authors associated the described tendency of changes in the content of HA

with the properties of propolis, which intensifies the expression of TGF- $\beta$ , stimulating fibroblasts to synthesize HA.

In selected studies conducted by Olczyk et al. [81,90,91] the experimentally induced wound healing was evaluated through quantitative and/or qualitative characterization also ECM components other than GAGs e.g. laminin, vitronectin, collagen or fibronectin in the tissue samples taken from injuries, inflicted on domestic pigs.

The mentioned animal model, according to Hoekstra et al. [92], is known as useful, standard experimental model for the evaluation of wound repair because of many similarities of pig skin to human one.

The other analyses conducted by the above mentioned researchers allowed to identify two multiadhesive glycoproteins – vitronectin and laminin in the bed wound. An increase in both vitronectin and laminin was observed, especially in the initial days of healing of the damaged tissue, as a result of the use of propolis [81].

In addition, it was found that the treatment of thermal damage with propolis increased the expression of collagen type I and III, especially in the initial phase of the study. The assessed therapeutic effectiveness of propolis, through quantitative and qualitative analyses of the expression of type I and III collagen, indicated that the apitherapeutic agent discussed in that study could generate a favorable biochemical environment supporting re-epithelialization [90].

Moreover, it was noticed that treatment of burns with medicinal products containing propolis reduced the release of synthesized fibronectin molecules from healing wounds about tissue damage treated with ointment without that natural product which indicated propolis influence on fibronectin metabolism modification thereby preventing the unnecessary complications of wound healing process [91].

Given the described participation of GAGs in the healing process, the leading role of these macromolecules in tissue repair should be emphasized. At the same time, it is important to highlight the beneficial effect of apitherapeutics on the transformation of ECM components involved in the remodeling of damaged tissue.

---

#### Author's contribution

Study design – K. Orlińska, K. Komosińska-Vassev, K. Olczyk

Manuscript preparation – K. Orlińska, A. Kowalczyk, P. Olczyk

Literature research – K. Orlińska, K. Komosińska-Vassev, K. Olczyk, A. Kowalczyk, P. Olczyk

Final approval of the version to be published – K. Orlińska, K. Komosińska-Vassev, K. Olczyk, A. Kowalczyk, P. Olczyk

---



## REFERENCES

1. Biochemia Harpera: ilustrowana. V.W. Rodwell, D.A. Bender, K.M. Botham, P.J. Kennelly, P.A. Weil [eds]. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa 2018.
2. Sufleta A., Mazur-Zielińska H. Glycosaminoglycans – structure, biochemical properties and clinical significance. [Article in Polish]. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2010; 64(5–6): 64–68.
3. Daroszewski J., Rybka J., Gamian A. Glycosaminoglycans in the pathogenesis and diagnostics of Graves's ophthalmopathy. [Article in Polish]. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2006; 60: 370–378.
4. Kroma A., Feliczak-Guzik A., Nowak I. Zastosowanie glikozaminoglikanów w preparatach kosmetycznych. *Chemik* 2012; 66(2): 136–139.
5. Toole B.P., Slomiany M.G. Hyaluronan: a constitutive regulator of chemoresistance and malignancy in cancer cells. *Semin. Cancer Biol.* 2008; 18(4): 244–250, doi: 10.1016/j.semcancer.2008.03.009.
6. Głowacki A., Koźma E.M., Olczyk K., Kucharz E.J. Glikozaminoglikany – struktura i funkcja. *Postepy Biochem.* 1995; 41(2): 139–148.
7. Sadowski M., Borzyn-Kluczyk M., Stypułkowska A., Wielgat P., Zwierz K. Macierz międzykomórkowa ściany żyły. *Przegl. Flebol.* 2006; 14: 141–149.
8. Abaterusso C., Gambaro G. The role of glycosaminoglycans and sulodexide in the treatment of diabetic nephropathy. *Treat. Endocrinol.* 2006; 5(4): 211–222, doi: 10.2165/00024677-200605040-00002.
9. Koźma E.M., Olczyk K., Głowacki A., Bobiński R. An accumulation of proteoglycans in scarred fascia. *Mol. Cell. Biochem.* 2000; 203(1–2): 103–112, doi: 10.1023/a:1007012321333.
10. Im A.R., Kim Y.S. Role of glycosaminoglycans in wound healing. *Arch. Pharm. Sci. Res.* 2009; 1(2): 106–114.
11. Olczyk P., Mencner Ł., Komosińska-Vashev K. The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014: 747584, doi: 10.1155/2014/747584.
12. Richter R.P., Baranova N.S., Day A.J., Kwok J.C. Glycosaminoglycans in extracellular matrix organisation: are concepts from soft matter physics key to understanding the formation of perineuronal nets? *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2018; 50: 65–74, doi: 10.1016/j.sbi.2017.12.002.
13. Głowacki A., Koźma E.M., Olczyk K. Biosynthesis of keratan sulfate, chondroitin sulfate and dermatan sulfate proteoglycans. [Article in Polish]. *Postepy Biochem.* 2004; 50(2): 170–181.
14. Prydz K., Dalen K.T. Synthesis and sorting of proteoglycans. *J. Cell Sci.* 2000; 113 Pt 2: 193–205, doi: 10.1242/jcs.113.2.193.
15. Mizumoto S., Hiroshi Kitagawa H., Sugahara K. Biosynthesis of heparin and heparan sulfate. In: H.G. Garg, R.J. Linhardt, C.A. Hales [eds]. *Chemistry and biology of heparin and heparan sulfate*. Elsevier. New York 2005, pp. 203–243.
16. Toole B.P. Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nat. Rev. Cancer* 2004; 4(7): 528–539, doi: 10.1038/nrc1391.
17. Winsz-Szczotka K., Mencner Ł., Olczyk K. Metabolism of glycosaminoglycans in the course of juvenile idiopathic arthritis. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2016; 70: 135–142, doi: 10.5604/17322693.1196355.
18. Pomin V.H., Vignovich W.P., Gonzales A.V., Vasconcelos A.A., Mulloy B. Galactosaminoglycans: medical applications and drawbacks. *Molecules* 2019; 24(15): 2803, doi: 10.3390/molecules24152803.
19. Zeyland J., Lipiński D., Juzwa W., Pławski A., Słomski R. Structure and application of select glycosaminoglycans. [Article in Polish]. *Medycyna Wet.* 2006; 62(2): 139–144.
20. Mikami T., Kitagawa H. Biosynthesis and function of chondroitin sulfate. *Biochim. Biophys. Acta* 2013; 1830(10): 4719–4733, doi: 10.1016/j.bbagen.2013.06.006.
21. Sasarman F., Maffei C., Campeau P.M., Brunel-Guitton C., Mitchell G.A., Allard P. Biosynthesis of glycosaminoglycans: associated disorders and biochemical tests. *J. Inher. Metab. Dis.* 2016; 39(2): 173–188, doi: 10.1007/s10545-015-9903-z.
22. Volpi N. Chondroitin sulfate safety and quality. *Molecules* 2019; 24(8): 1447, doi: 10.3390/molecules24081447.
23. Gandhi N.S., Mancera R.L. The structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins. *Chem. Biol. Drug Des.* 2008; 72(6): 455–482, doi: 10.1111/j.1747-0285.2008.00741.x.
24. Carlsson P., Kjellén L. Heparin biosynthesis. In: R. Lever, B. Mulloy, C.P. Page [eds]. *Heparin – A century of progress*. Springer. Berlin, Heidelberg 2012, pp. 23–41, doi: 10.1007/978-3-642-23056-1\_2.
25. Wang S., Sugahara K., Li F. Chondroitin sulfate/dermatan sulfate sulfatases from mammals and bacteria. *Glycoconj. J.* 2016; 33(6): 841–851, doi: 10.1007/s10719-016-9720-0.
26. Silbert J.E., Sugumaran G. Biosynthesis of chondroitin/dermatan sulfate. *IUBMB Life* 2002; 54(4): 177–186, doi: 10.1080/15216540214923.
27. Mende M., Bednarek C., Wawrzyszyn M., Sauter P., Biskup M.B., Schepers U. et al. Chemical synthesis of glycosaminoglycans. *Chem. Rev.* 2016; 116(14): 8193–8255, doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00010.
28. Koźma E.M., Głowacki A., Olczyk K., Jaźwiec M. Proteoglycans – structure and functions. [Article in Polish]. *Postepy Biochem.* 1997; 43(3): 158–172.
29. Kaji T., Sakurai S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Yamagishi S., Yamamoto H. et al. Characterization of chondroitin/dermatan sulfate proteoglycans synthesized by bovine retinal pericytes in culture. *Biol. Pharm. Bull.* 2004; 27(11): 1763–1768, doi: 10.1248/bpb.27.1763.
30. Han J., Zhang F., Xie J., Linhardt R.J., Hiebert L.M. Changes in cultured endothelial cell glycosaminoglycans under hyperglycemic conditions and the effect of insulin and heparin. *Cardiovasc. Diabetol.* 2009; 8: 46, doi: 10.1186/1475-2840-8-46.
31. Malavaki C., Mizumoto S., Karamanos N., Sugahara K. Recent advances in the structural study of functional chondroitin sulfate and dermatan sulfate in health and disease. *Connect. Tissue Res.* 2008; 49(3): 133–139, doi: 10.1080/03008200802148546.
32. Kinsella M.G., Bressler S.L., Wight T.N. The regulated synthesis of versican, decorin, and biglycan: extracellular matrix proteoglycans that influence cellular phenotype. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2004; 14(3): 203–234, doi: 10.1615/critrevueukaryotgeneexpr.v14.i3.40.
33. Penc S.F., Pomahac B., Winkler T., Dorschner R.A., Eriksson E., Herndon M. et al. Dermatan sulfate released after injury is a potent promoter of fibroblast growth factor-2 function. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(43): 28116–28121, doi: 10.1074/jbc.273.43.28116.
34. Echtermeyer F., Streit M., Wilcox-Adelman S., Saoncella S., Denhez F., Detmar M. et al. Delayed wound repair and impaired angiogenesis in mice lacking syndecan-4. *J. Clin. Invest.* 2001; 107(2): R9–R14, doi: 10.1172/JCI10559.
35. Iozzo R.V., Schaefer L. Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. *Matrix Biol.* 2015; 42: 11–55, doi: 10.1016/j.matbio.2015.02.003.
36. Farrugia B.L., Lord M.S., Melrose J., Whitelock J.M. The role of heparan sulfate in inflammation, and the development of biomimetics as anti-inflammatory strategies. *J. Histochem. Cytochem.* 2018; 66(4): 321–336, doi: 10.1369/0022155417740881.
37. Sobczak A.I.S., Pitt S.J., Stewart A.J. Glycosaminoglycan neutralization in coagulation control. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2018; 38(6): 1258–1270, doi: 10.1161/ATVBAHA.118.311102.
38. Prydz K. Determinants of glycosaminoglycan (GAG) structure. *Biomolecules* 2015; 5(3): 2003–2022, doi: 10.3390/biom5032003.
39. Li L., Ly M., Linhardt R.J. Proteoglycan sequence. *Mol. Biosyst.* 2012; 8(6): 1613–1625, doi: 10.1039/c2mb25021g.
40. Wang W., Wang J., Li F. Hyaluronidase and chondroitinase. In: M.Z. Atassi [ed.]. *Protein Reviews. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 925. Springer. Singapore 2016, pp. 75–87, doi: 10.1007/5584\_2016\_54.
41. Li J.P., Kusche-Gullberg M. Heparan sulfate: biosynthesis, structure, and function. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2016; 325: 215–273, doi: 10.1016/bs.icrmb.2016.02.009.
42. Collins L.E., Troeberg L. Heparan sulfate as a regulator of inflammation and immunity. *J. Leukoc. Biol.* 2019; 105(1): 81–92, doi: 10.1002/JLB.3RU0618-246R.
43. Lambers Heerspink H.J., Fowler M.J., Volgi J., Reutens A.T., Klein I., Herskovits T.A. et al. Rationale for and study design of the sulodexide trials in Type 2 diabetic, hypertensive patients with microalbuminuria or overt nephropathy: Short report. *Diabet. Med.* 2007; 24(11): 1290–1295, doi: 10.1111/j.1464-5491.2007.02249.x.
44. Lauer D.A., Lucchesi B.R. Sulodexide: a renewed interest in this glycosaminoglycan. *Cardiovasc. Drug Rev.* 2006; 24(3–4): 214–226, doi: 10.1111/j.1527-3466.2006.00214.x.
45. Rabenstein D.L. Heparin and heparan sulfate: structure and function. *Nat. Prod. Rep.* 2002; 19(3): 312–331, doi: 10.1039/b100916h.
46. Cecora A., Chwała M. Czy glikozaminoglikany zmieniają właściwości ściany żyłnej w warunkach zastoju krwi u chorych z przewlekłą niewydolnością żylną? *Przeg. Flebol.* 2003; 11: 85–89.
47. Ravera M., Re M., Weiss U., Deferrari L., Deferrari G. Emerging therapeutic strategies in diabetic nephropathy. *J. Nephrol.* 2007; 20 Suppl 12: S23–32.
48. Olczyk P., Mencner Ł., Komosińska-Vashev K. Diverse roles of heparan sulfate and heparin in wound repair. *Biomed Res. Int.* 2015; 2015: 549417, doi: 10.1155/2015/549417.
49. Funderburgh J.L. Keratan sulfate biosynthesis. *IUBMB Life* 2002; 54(4): 187–194, doi: 10.1080/15216540214932.
50. Catterson B., Melrose J. Keratan sulfate, a complex glycosaminoglycan with unique functional capability. *Glycobiology* 2018; 28(4): 182–206, doi: 10.1093/glycob/cwy003.
51. Czajkowska D., Milner-Krawczyk M., Kazanecka M. Kwas hialuronowy – charakterystyka, otrzymywanie i zastosowanie. *Biotechnol. Food Sci.* 2011; 76(2): 55–70, doi: 10.34658/bfs.2011.75.2.55-70.
52. Heinegård D. Proteoglycans and more – from molecules to biology. *Int. J. Exp. Pathol.* 2009; 90(6): 575–586, doi: 10.1111/j.1365-2613.2009.00695.x.
53. Rügheimer L. Hyaluronan: a matrix component. *AIP Conf. Proc.* 2008; 1049: 126–132, doi: 10.1063/1.2998008.



54. Kablik J., Monheit G.D., Yu L., Chang G., Gershkovich J. Comparative physical properties of hyaluronic acid dermal fillers. *Dermatol. Surg.* 2009; 35 Suppl 1: 302–312, doi: 10.1111/j.1524-4725.2008.01046.x.
55. Olczyk P., Komosińska-Vashev K., Winsz-Szczotka K., Kuźnik-Trocha K., Olczyk K. Hyaluronan: structure, metabolism, functions, and role in wound healing. [Article in Polish]. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2008; 62: 651–659.
56. Winsz-Szczotka K., Komosińska-Vashev K., Olczyk K. The metabolism of glycosaminoglycans in the course of Graves' disease. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2006; 60: 184–191.
57. Kucia M. Właściwości i zastosowanie kwasu hialuronowego w kosmologii i medycynie estetycznej. *Kosmetol. Estet.* 2017; 4(6): 329–335.
58. Karamanos N.K., Piperigkou Z., Theocharis A.D., Watanabe H., Franchi M., Baud S. et al. Proteoglycan chemical diversity drives multifunctional cell regulation and therapeutics. *Chem. Rev.* 2018; 118(18): 9152–9232, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00354.
59. Zhu Y., Kruglikov I.L., Akgul Y., Scherer P.E. Hyaluronan in adipogenesis, adipose tissue physiology and systemic metabolism. *Matrix Biol.* 2019; 78–79: 284–291, doi: 10.1016/j.matbio.2018.02.012.
60. Tammi M.I., Day A.J., Turley E.A. Hyaluronan and homeostasis: a balancing act. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(7): 4581–4584, doi: 10.1074/jbc.R100037200.
61. Taylor K.R., Gallo R.L. Glycosaminoglycans and their proteoglycans: host-associated molecular patterns for initiation and modulation of inflammation. *FASEB J.* 2006; 20(1): 9–22, doi: 10.1096/fj.05-4682rev.
62. Musiał C. Role and application of glycosaminoglycans in trichology and cosmetology. [Article in Polish]. *Aesth. Cosmetol. Med.* 2021; 10(1): 33–37, doi: 10.52336/acm.2021.10.1.05.
63. Kogan G., Soltés L., Stern R., Gemeiner P. Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol. Lett.* 2007; 29(1): 17–25, doi: 10.1007/s10529-006-9219-z.
64. Sobczak-Żmuda K., Pasker B., Sosada M. Hyaluronic acid and its derivatives as a component of contemporary pharmaceuticals, cosmetic products and dietary supplements. [Article in Polish]. *Farm. Pol.* 2014; 70(1): 48–54.
65. Salwowska N.M., Bebenek K.A., Żądło D.A., Wcisło-Dziadecka D.L. Physicochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review. *J. Cosmet. Dermatol.* 2016; 15(4): 520–526, doi: 10.1111/jocd.12237.
66. Korzeniowska K., Pawlaczek M. The hyaluronic acid is not only a cosmetic. *Farm. Współcz.* 2014; 7: 72–76.
67. Morla S. Glycosaminoglycans and glycosaminoglycan mimetics in cancer and inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(8): 1963, doi: 10.3390/ijms20081963.
68. Volpi N., Schiller J., Stern R., Soltés L. Role, metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan. *Curr. Med. Chem.* 2009; 16(14): 1718–1745, doi: 10.2174/092986709788186138.
69. Wan X., Chen Y., Geng F., Sheng Y., Wang F., Guo J. Narrative review of the mechanism of natural products and scar formation in wound repair. *Ann. Transl. Med.* 2022; 10(4): 236, doi: 10.21037/atm-21-7046.
70. desJardins-Park H.E., Foster D.S., Longaker M.T. Fibroblasts and wound healing: an update. *Regen. Med.* 2018; 13(5): 491–495, doi: 10.2217/rme-2018-0073.
71. Zomer H.D., Trentin A.G. Skin wound healing in humans and mice: Challenges in translational research. *J. Dermatol. Sci.* 2018; 90(1): 3–12, doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.12.009.
72. de Mendonça R.J., Coutinho-Netto J. Cellular aspects of wound healing. *An. Bras. Dermatol.* 2009; 84(3): 257–262, doi: 10.1590/s0365-05962009000300007.
73. Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev.* 2003; 83(3): 835–870, doi: 10.1152/physrev.2003.83.3.835.
74. Belvedere R., Bizzarro V., Parente L., Petrella F., Petrella A. Effects of Prisma® Skin dermal regeneration device containing glycosaminoglycans on human keratinocytes and fibroblasts. *Cell Adh. Migr.* 2018; 12(2): 168–183, doi: 10.1080/19336918.2017.1340137.
75. Plichta J.K., Radek K.A. Sugar-coating wound repair: a review of FGF-10 and dermatan sulfate in wound healing and their potential application in burn wounds. *J. Burn Care Res.* 2012; 33(3): 299–310, doi: 10.1097/BCR.0b013e318240540a.
76. Olczyk P., Komosińska-Vashev K., Winsz-Szczotka K., Stojko J., Klimek K., Kozma E.M. Propolis induces chondroitin/dermatan sulphate and hyaluronic acid accumulation in the skin of burned wound. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013; 2013: 290675, doi: 10.1155/2013/290675.
77. Deakin J.A., Blaum B.S., Gallagher J.T., Uhrin D., Lyon M. The binding properties of minimal oligosaccharides reveal a common heparan sulfate/dermatan sulfate-binding site in hepatocyte growth factor/scatter factor that can accommodate a wide variety of sulfation patterns. *J. Biol. Chem.* 2009; 284(10): 6311–6321, doi: 10.1074/jbc.M807671200.
78. Bentley J.P. Rate of chondroitin sulfate formation in wound healing. *Ann. Surg.* 1967; 165(2): 186–191, doi: 10.1097/0000658-196702000-00004.
79. Siméon A., Wegrowski Y., Bontemps Y., Maquart F.X. Expression of glycosaminoglycans and small proteoglycans in wounds: modulation by the tripeptide–copper complex glycyl-L-histidyl-L-lysine-Cu<sup>2+</sup>. *J. Invest. Dermatol.* 2000; 115(6): 962–968, doi: 10.1046/j.1523-1747.2000.00166.x.
80. Ghatak S., Maytin E.V., Mack J.A., Hascall V.C., Atanelishvili I., Moreno Rodriguez R. et al. Roles of proteoglycans and glycosaminoglycans in wound healing and fibrosis. *Int. J. Cell Biol.* 2015; 2015: 834893, doi: 10.1155/2015/834893.
81. Olczyk P., Komosińska-Vashev K., Winsz-Szczotka K., Koźma E.M., Wisowski G., Stojko J. et al. Propolis modulates vitronectin, laminin, and heparan sulfate/heparin expression during experimental burn healing. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 2012; 13(11): 932–941, doi: 10.1631/jzus.B1100310.
82. Tong M., Zbinden M.M., Hekking I.J.M., Vermeij M., Barritault D., van Neck J.W. RGTA OTR 4120, a heparan sulfate proteoglycan mimetic, increases wound breaking strength and vasodilatory capability in healing rat full-thickness excisional wounds. *Wound Repair Regen.* 2008; 16(2): 294–299, doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00368.x.
83. Xu D., Esko J.D. Demystifying heparan sulfate-protein interactions. *Annu. Rev. Biochem.* 2014; 83: 129–157, doi: 10.1146/annurev-biochem-060713-035314.
84. Oksala O., Salo T., Tammi R., Häkkinen L., Jalkanen M., Inki P. et al. Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. *J. Histochem. Cytochem.* 1995; 43(2): 125–135, doi: 10.1177/43.2.7529785.
85. Frenkel J.S. The role of hyaluronan in wound healing. *Int. Wound J.* 2014; 11(2): 159–163, doi: 10.1111/j.1742-481X.2012.01057.x.
86. Weigel P.H., Frost S.J., LeBoeuf R.D., McGary C.T. The specific interaction between fibrin(ogen) and hyaluronan: possible consequences in haemostasis, inflammation and wound healing. *Ciba Found. Symp.* 1989; 143: 248–261, doi: 10.1002/9780470513774.ch15.
87. Averbek M., Gebhardt C.A., Voigt S., Beilharz S., Anderegg U., Termeer C.C. et al. Differential regulation of hyaluronan metabolism in the epidermal and dermal compartments of human skin by UVB irradiation. *J. Invest. Dermatol.* 2007; 127(3): 687–697, doi: 10.1038/sj.jid.5700614.
88. Hamed S., Bennett C.L., Demiot C., Ullmann Y., Teot L., Desmoulière A. Erythropoietin, a novel repurposed drug: an innovative treatment for wound healing in patients with diabetes mellitus. *Wound Repair Regen.* 2014; 22(1): 23–33, doi: 10.1111/wrr.12135.
89. Hamed S., Ullmann Y., Egozi D., Keren A., Daod E., Anis O. et al. Topical erythropoietin treatment accelerates the healing of cutaneous burn wounds in diabetic pigs through an aquaporin-3-dependent mechanism. *Diabetes* 2017; 66(8): 2254–2265, doi: 10.2337/db16-1205.
90. Olczyk P., Wisowski G., Komosińska-Vashev K., Stojko J., Klimek K., Olczyk M. et al. Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013; 2013: 423809, doi: 10.1155/2013/423809.
91. Olczyk P., Komosińska-Vashev K., Wisowski G., Mencner L., Stojko J., Kozma E.M. Propolis modulates fibronectin expression in the matrix of thermal injury. *Biomed Res. Int.* 2014; 2014: 748101, doi: 10.1155/2014/748101.
92. Hoekstra M.J., Hupkens P., Dutrieux R.P., Bosch M.M., Brans T.A., Kreis R.W. A comparative burn wound model in the New Yorkshire pig for the histopathological evaluation of local therapeutic regimens: silver sulfadiazine cream as a standard. *Br. J. Plast. Surg.* 1993; 46(7): 585–589, doi: 10.1016/0007-1226(93)90111-N.



## Comparison of course of infections and antibiotherapy in patients with and without diabetes mellitus – one center experience

### Porównanie przebiegu infekcji oraz zastosowanej antybiotykoterapii u pacjentów chorych na cukrzycę i bez cukrzycy – doświadczenie jednego centrum medycznego

Maria Stec<sup>1</sup> , Agata Suleja<sup>1</sup> , Wiktoria Kuczmik<sup>1</sup>, Aleksandra Mroskowiak<sup>1</sup> ,  
Maciej Migacz<sup>2</sup> , Michał Holecki<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Students' Scientific Club at the Department of Internal Medicine, Autoimmune and Metabolic Diseases, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Autoimmune and Metabolic Diseases, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Infections affect all patients, including those with diabetes mellitus (DM), which can determine the course of infection. The aim of the study was to compare the course and treatment of infection in patients with DM and without DM.

**MATERIAL AND METHODS:** 180 medical records of patients hospitalized in 2021 at the Department of Internal Medicine, Autoimmune and Metabolic Diseases in Katowice, with infections were analyzed. The analysis included age, sex, clinical diagnosis, DM treatment, antibiotic therapy, and laboratory parameters. The Statistica program was used for statistical analysis.

**RESULTS:** The most prevalent reasons for hospitalization in both groups were: pneumonia in the course of COVID-19 (35.5% DM vs 33.7% non-DM) and urinary tract infections (26.3% DM vs 19.2% non-DM). Significantly more non-DM patients required polyantibiotic treatment (69.7% DM vs 89.4% non-DM). The most frequently used antibiotics were  $\beta$ -lactams (59.2% DM vs 57.7% non-DM). In-hospital mortality was 20% (21% DM vs 19.2% non-DM). The length of hospitalization was 1–35 days, the median in the whole group was 9 days (10 days DM vs 8 days non-DM). Both the initial and terminal CRP concentrations were analyzed. The median of the initial value was 71.6 (72.3 DM vs 66.2 non-DM) and the median of the terminal value was 17.15 (17.9 DM vs 15.3 non-DM). The glucose concentration on admission was assessed with the median 123.5 mg/dL (156 mg/dL DM vs 107 mg/dL non-DM).

**CONCLUSIONS:** Many DM complications are well known, yet the course and treatment of infection do not differ significantly in patients with DM and without DM. Despite that, each patient should be considered individually, so the chosen treatment constitutes an optimized therapy.

#### KEYWORDS

diabetes, infections, antibiotic therapy

Received: 06.03.2023

Revised: 15.04.2023

Accepted: 22.05.2023

Published online: 04.12.2023

Address for correspondence: Maria Stec, Students' Scientific Club at the Department of Internal Medicine, Autoimmune and Metabolic Diseases, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland, Medyków 14, 40-572 Katowice, tel. +48 32 789 43 01, e-mail: mariaannastec@gmail.com



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Zakażenia występują u wszystkich pacjentów, w tym także u chorych na cukrzycę (*diabetes mellitus* – DM), której współwystąpienie może jednak determinować przebieg zakażenia. Celem pracy było porównanie przebiegu i leczenia infekcji u chorych z DM i bez DM.

**MATERIAŁ I METODY:** Analizie poddano dokumentację medyczną 180 pacjentów hospitalizowanych w 2021 r. w Klinice Chorób Wewnętrznych, Autoimmunologicznych i Metabolicznych w Katowicach z powodu infekcji. W analizie uwzględniono wiek, płeć, rozpoznanie kliniczne, metodę leczenia DM, antybiotykoterapię i parametry laboratoryjne. Do analizy statystycznej wykorzystano program Statistica.

**WYNIKI:** Najczęstszymi przyczynami hospitalizacji w obu grupach były: zapalenie płuc w przebiegu COVID-19 (35,5% DM vs 33,7% bez DM) oraz infekcje dróg moczowych (26,3% DM vs 19,2% bez DM). Istotnie więcej pacjentów bez DM wymagało leczenia z użyciem wielu antybiotyków (69,7% DM vs 89,4% bez DM). Najczęściej stosowanymi antybiotykami były β-laktamy (59,2% DM vs 57,7% bez DM). Śmiertelność wewnątrzszpitalna wyniosła 20% (21% DM vs 19,2% bez DM). Czas hospitalizacji wynosił 1–35 dni, mediana w całej grupie wyniosła 9 dni (10 dni w przypadku DM vs 8 dni bez DM). Analizowano zarówno początkowe, jak i końcowe stężenie CRP. Mediana wartości początkowej wyniosła 71,6 (72,3 DM vs 66,2 bez DM), a mediana wartości końcowej 17,15 (17,9 DM vs 15,3 bez DM). Mediana stężenia glukozy przy przyjęciu wyniosła 123,5 mg/dL (156 mg/dL DM vs 107 mg/dL bez DM).

**WNIOSKI:** Wiele powikłań DM jest dobrze znanych, jednak przebieg i leczenie infekcji nie różnią się istotnie u pacjentów z DM i bez DM. Mimo to do każdego pacjenta należy podchodzić indywidualnie, tak aby wybrane leczenie stanowiło zoptymalizowaną terapię.

## SŁOWA KLUCZOWE

cukrzyca, infekcje, terapia antybiotykowa

## INTRODUCTION

Infections in patients with diabetes mellitus (DM) are believed to be more frequent and have a poorer clinical prognosis, which may be partially explained by a decreased T cell-mediated immune response or an impaired neutrophil function [1,2,3]. Persistent hyperglycemia may increase the number of inflammatory mediators produced by adipocytes and macrophages. Chronic inflammation may result in the damage of pancreatic beta cells, hence insufficient insulin production, resulting in hyperglycemia, which modulates immune cell function [4,5]. However, despite common belief, the link between DM and an increased susceptibility to infection is generally not supported by strong evidence.

DM describes a group of metabolic disorders characterized by a high level of glucose and it constitutes a tremendous worldwide health problem [1].

The prevalence of DM has been increasing in recent decades in all age groups and has risen rapidly in recent years mainly due to a sedentary lifestyle, unhealthy diet, obesity and minimal physical activity [2,3]. The International Diabetes Federation (IDF) estimated the global prevalence to be 151 million in 2000, yet it increased up to 537 million in 2021 [4,5] with over 61 million affected patients in Europe and 2.68 million affected patients in Poland [6].

According to meta-analyses and the SABRE prospective population-based study, DM is associated with double the risk of coronary heart disease, ischemic stroke and death attributed to other vascular causes [7,8] with significantly higher mortality in South Asians and African Caribbeans. Other cardiovascular diseases related to DM include ischemic heart disease,

heart failure, coronary artery disease and atherosclerosis, the latter two being the most prevalent [9].

In addition to cardiovascular complications, DM is associated with a higher incidence and severity of infectious diseases. The more frequent infections in diabetic patients result from a dysfunction of the immune system conducive to a hyperglycemic environment, including neutrophil dysfunction, depression of the antioxidant system and humoral immunity. Complications such as micro- and macro-angiopathies, neuropathy, a decrease in the antibacterial activity of urine, motility disorders of the gastrointestinal and urinary tract, as well as immunological disorders, result in a higher number of medical interventions in these patients [10]. Furthermore, diabetic patients, especially those with uncontrolled DM have alterations in delayed healing, resulting in a more severe case of the infection and a poorer prognosis [11].

DM disrupts immunity on all levels, including the complement system, inflammatory cytokines and antibodies.

### Complement system

The complement system is the main pillar of humoral immunity. It consists of a variety of serum and surface proteins, which induce the opsonization and phagocytosis of microorganisms by means of macrophages and neutrophils, hence resulting in the lysis of these microorganisms [12]. One of the components of the complement system is C4. It plays a role in the activation of classical and lectin complement cascades, resulting in the neutralization of pathogens. In diabetic patients, the C4 serum concentration is significantly lower than in non-diabetic patients. Thus, DM patients are more prone to microbial infections [10,13].



### Inflammatory cytokines

In hyperglycemic diabetic patients, the resting interleukin concentrations remain consistently elevated. Thus, in stimulation tests, cytokine production is impaired as a consequence of tolerance induced by prolonged hyperglycemia. As a result, the mononuclear cells and monocytes of people with diabetes secrete less interleukin 1 (IL-1) and IL-6 in response to lipopolysaccharide stimulation [10,14].

### Antibodies

In patients with type II diabetes, the level of glycation of immunoglobulins corresponds to the concentration of HbA1c, which is associated with a higher glycation of immunoglobulins in patients with uncontrolled or poorly controlled diabetes. Thus, a higher number of antibodies may be damaged in diabetic patients, resulting in a substandard immune response [11].

The overall effect of all these immune pathologies is an increased susceptibility to infections in patients with diabetes. Therefore, the aim of the presented study is to compare the clinical picture, course and treatment of infections in diabetic and non-diabetic patients.

Our primary objectives are to compare the clinical characteristics and course of the infections (including the history of diagnosis and treatment of DM, in-hospital pharmacotherapy, signs and symptoms, laboratory tests) in patients with and without DM and analyze and contrast the antibiotic treatment of patients with and without DM during hospitalization.

## MATERIAL AND METHODS

### Study design

We used a cross-sectional study design as the type of observational study, which allows measurement of the outcome (course of the infection) and the exposures (the administration of antibiotic therapy) in the study participants at the same time. This design allows assessment of the prevalence of the outcomes and exposures in the clinic-based samples.

### Setting

The primary analysis covered 1090 patients hospitalized at the Department of Internal Medicine, Auto-immune and Metabolic Diseases in Katowice between the 1st January 2021 and 31st December 2021. Initially, information was collected regarding the history of diabetes diagnosis and treatment as well as signs and symptoms, pharmacotherapy administered in the hospital and laboratory test results (including serum HbA1c concentration, glucose on admission, lipid profile, C-reactive protein – CRP, leukocytes, pro-

calcitonin on admission and discharge, creatinine and estimated glomerular filtration rate – eGFR).

### Participants

We retrospectively identified patients with a principal diagnosis of infection among all the patients hospitalized at the Department in Katowice, and from among this population, subjects fulfilling eligibility criteria were selected.

The eligibility criteria constituted both inclusion and exclusion criteria. The inclusion criteria were any infection. The exclusion criteria were a history of diagnosis of metabolic syndrome or oncological diseases. A total of 180 patients met the inclusion criteria and were included in the further analysis.

The patients were divided into two groups: with diabetes (N = 76, age 70.78 ± years, glucose level 199.67 ± 169.37 [mg/dL]) and without diabetes (N = 104, age 62.27 ± years, glucose level 116.25 ± 44.33 [mg/dL]), based on the diagnosis of DM.

### Bias

In order to minimize bias, the control group comprised patients hospitalized at the Department in Katowice between the 1st January 2021 and 31st December 2021, who fulfilled the eligibility criteria and had no diagnosis of DM. Thus, data regarding the compared groups was extracted from the same institution and within the same time frame, resulting in the minimization of bias.

### Study size

The number of patients hospitalized with a diagnosis of infection at the Department in Katowice during the study period determined the size of the analyzed population.

### Statistical analysis

All the statistical analyses were performed using Statistica 10 PL software. The comparison between the control and the DM groups was made by the Mann-Whitney U test. Correlation coefficients R were obtained according to Spearman's rank correlation coefficient.  $p < 0.05$  was considered statistically significant. The values are presented as means and standard deviations.

## RESULTS

The characteristics of the analyzed groups are presented in Table I. Blood samples were collected from non-fasting patients upon admission to the hospital.



180 medical history records of patients were analyzed. The cohort was divided into 2 groups: patients with DM (n = 76) and patients without DM (n = 104). The patients were hospitalized from 1 up to 35 days. The median in the whole group was 9 days (10 days for the patients with DM and 8 in patients without DM). Regarding mortality (20% in the whole group, 21% for the group with DM and 19% without DM), the median hospital stay was 7 days (7.5 days for the patients with DM and 7 without DM; Figure 1).

The vast majority of the DM patients were treated with antidiabetic pharmacotherapy (80.5% prior to hospitalization and 85.7% in-hospital). The most prevalent treatment was insulin therapy (41.6% vs 59.7% in-hospital), metformin (31.2% vs 28.6%) and sylphonylurea (18.2% vs 9.1%) in patients prior to hospitalization and in-hospital respectively.

In the statistical analysis of the characteristics such as the duration of hospitalization, mortality, CRP level, leukocytes, procalcitonin (on admission and at discharge) of the studied group, no statistical correlation was found between the DM and non-DM populations (Table I).

Table I. Characteristics of studied groups

Anthropometric parameters	DM	non-DM
	(N = 76)	(N = 104)
	1	2
Sex		
male [n]	44.74% (34)	57.69% (60)
female [n]	55.26% (42)	42.31% (44)
Age [y]	70.77 ± 13.13	62.27 ± 17.75
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	28.90 ± 8.57	26.62 ± 5.86
Body mass [kg]	80.27 ± 19.21	78.05 ± 19.90
Height [cm]	166.21 ± 8.92	170.85 ± 10.17
Mortality [n]	21.05% (16)	19.23% (20)
Duration of hospitalization [days]	10.68 ± 6.78	8.69 ± 5.02
Non-fasting glycaemia on admission [mg/dL]	199.67 ± 169.37	166.25 ± 44.33
Altered lipid profile	20.19% (21)	21.15% (22)
CRP on admission [mg/L]	92.65 ± 77.78	93.85 ± 81.80
CRP at discharge [mg/L]	40.03 ± 52.64	38.85 ± 58.63
Leukocytes on admission [10 <sup>3</sup> /μL]	11.18 ± 7.82	10.42 ± 5.96
Leukocytes at discharge [10 <sup>3</sup> /μL]	9.61 ± 7.75	10.33 ± 5.93
Procalcitonin on admission [ng/mL]	4.32 ± 10.52	2.37 ± 8.12
Procalcitonin at discharge [ng/mL]	0.63 ± 1.59	1.27 ± 3.65

	cd. tab. I		
	1	2	3
Creatinine [mg/dL]		1.50 ± 1.44	1.26 ± 1.07
eGFR [mL/min]		35.51 ± 13.33	30.46 ± 13.49
Pneumonia in the course of COVID-19		35.55% (27)	33.65% (35)
Urinary tract infections		26.32% (20)	19.23% (20)
Pneumonia		14.47% (11)	15.38% (16)
<i>C. difficile</i> infection		9.21% (7)	13.46% (14)
Diverticulitis		0% (0)	7.69% (8)
Urosepsis		5.26% (4)	6.73% (7)
Sepsis		6.58% (5)	4.08% (5)
<i>H. pylori</i> infection		6.58% (5)	2.88% (3)
Cholecystitis		3.95% (3)	5.77% (6)
Acute tubulointerstitial nephritis		3.95% (3)	1.92% (2)
Acute pancreatitis		1.32% (1)	3.85% (4)
Colitis		1.32% (1)	2.88% (3)
Abdominal abscess		0% (0)	2.88% (3)
Urethritis		2.63% (2)	0% (0)
Gastritis (other than <i>H. pylori</i> infection)		0% (0)	1.92% (2)
Esophagitis		1.32% (1)	0.96% (1)
Pericarditis		1.32% (1)	0% (0)
Yersiniosis		0% (0)	0.96% (1)
Perirectal abscess		0% (0)	0.96% (1)
Meningitis		0% (0)	0.96% (1)
Myocarditis		0% (0)	0.96% (1)
β-lactams		59.2% (45)	56.73% (59)
Quinolones		40.79% (31)	41.34% (43)
Nitroimidazoles		28.95% (22)	26.92% (28)
Glycopeptides		17.11% (13)	21.15% (22)
Sulphonamides		9.21% (7)	3.85% (4)
Macrolides		2.63% (2)	8.65% (9)
Fosfomycin		5.26% (4)	1.92% (2)
Aminoglycosides		1.31% (1)	5.77% (6)
Rifampicin		3.95% (3)	1.92% (2)
Linezolid		0% (0)	3.85% (4)
Lincosamides		0% (0)	2.88% (3)
Tetracycline		0% (0)	1.92% (2)
Polymyxin		0% (0)	1.92% (2)
Rifaximin		0% (0)	1.92% (2)
Penicillin		0% (0)	0.96% (1)

DM – diabetes mellitus; BMI – body mass index; CRP – C-reactive protein; eGFR – estimated glomerular filtration rate; COVID-19 – coronavirus disease 2019; *C. difficile* – *Clostridium difficile*; *H. pylori* – *Helicobacter pylori*.



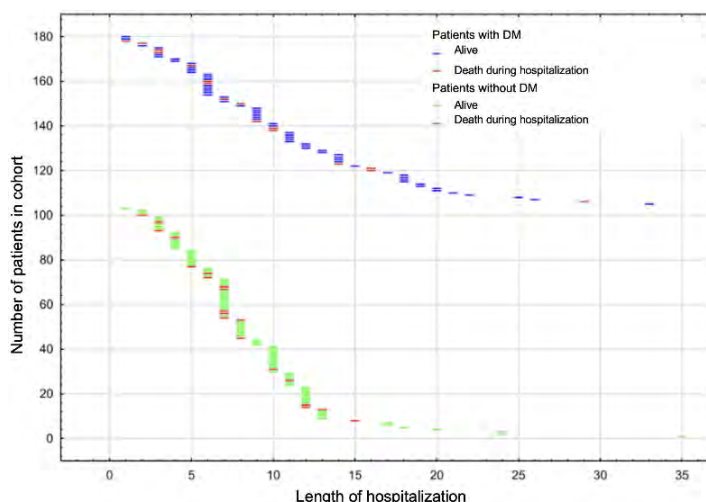


Fig. 1. Dispersion of patient death rate during hospitalization; DM – diabetes mellitus.

The most frequent reasons for hospitalization in both groups were: pneumonia in the course of coronavirus disease 2019 (COVID-19; 35.5% of diagnoses in DM patients and 33.7% in non-DM ones), urinary tract infections (26.3% diagnosed in DM patients and 19.2%

in non-DM ones), pneumonia (14.5% of diagnoses in DM patients and 15.4% in non-DM ones), *Clostridium difficile* (*C. difficile*) infection (9.2% of diagnoses in DM patients and 13.5% in non-DM ones) and others (Table I, II).

Table II. Reasons for hospitalization

	Reason for hospitalization (from most common)	
	with DM	without DM
pneumonia in course of COVID-19	35.5%	pneumonia in course of COVID-19 33.7%
urinary tract infections	26.3%	urinary tract infections 19.2%
pneumonia	14.5%	pneumonia 15.4%
<i>C. difficile</i> infection	9.2%	<i>C. difficile</i> infection 13.5%
<i>H. pylori</i> infection	6.6%	diverticulitis 7.7%
sepsis	6.6%	urosepsis 6.7%
urosepsis	5.3%	cholecystitis 5.8%
kidney inflammation	3.9%	sepsis 4.8%
cholecystitis	3.9%	pancreatitis 3.8%
		abscess in the abdomen
		<i>H. pylori</i> infection 2.9%
		colitis
acute pancreatitis		gastritis (other than <i>H. pylori</i> infection) 1.9%
colitis	1.3%	urethritis
esophagitis		yersiniosis
pericarditis		perirectal abscess
		meningitis 1%
		esophagitis
		pericarditis

DM – diabetes mellitus; COVID-19 – coronavirus disease 2019; *C. difficile* – *Clostridium difficile*; *H. pylori* – *Helicobacter pylori*.

The compared groups do not show any particular differences; however, minor differences can be found. It was observed that the DM patients were more likely to suffer from pneumonia in the course of COVID-19

than the non-DM patients (35.5% vs 33.7%). Moreover, the diabetic group was more often hospitalized due to urinary tract infections than the non-diabetic group (26.3% vs 19.2%). Pneumonia was



slightly more frequent in the non-DM patients (15.4% vs 14.5%) and *C. difficile* infection was also more common among the non-diabetic patients (13.5% vs 9.2%; Table I). There was no significant difference between the sexes in the incidence of the particular infections.  $\beta$ -lactams was the most frequently prescribed antibiotic in both groups. It were received by 59.2% of diabetic

patients and 56.7% of non-diabetic patients. Third-generation cephalosporin was the most often chosen with 66.7% and 85%, respectively, followed by quinolones (40.8% vs 41.3%; Table I, III). The need for more than 1 type of antibiotic treatment occurred in 69.7% of the DM patients and 89.4% of the non-DM patients (Figure 2).

Table III. Frequency of antibiotic therapy choice

Antibiotic (from most common)			
with DM		without DM	
$\beta$ -lactams	59.2%	$\beta$ -lactams	56.73%
quinolones	40.8%	quinolones	41.3%
nitroimidazoles	28.9%	nitroimidazoles	26.9%
glycopeptides	17.1%	glycopeptides	21.6%
sulphonamides	9.2%	macrolides	8.7%
fosfomycin	5.3%	aminoglycosides	5.8%
rifampicin	3.9%	linezolid	3.8%
macrolides	2.6%	sulphonamides	3.8%
		lincosamides	2.9%
		tetracycline	
		polymyxin	1.9%
aminoglycosides	1.3%	fosfomycin	
		rifaximin	
		penicillin	1%

DM – diabetes mellitus.

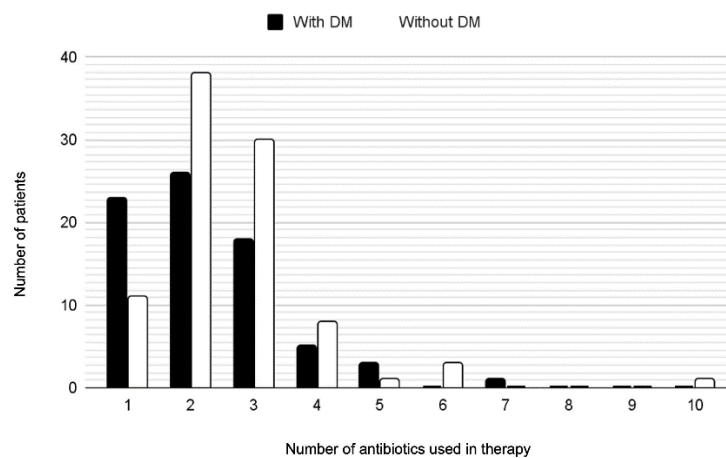


Fig. 2. Number of antibiotics used in treatment; DM – diabetes mellitus.

The initial and terminal CRP values were analyzed. The median baseline value was 71.6 mg/L (72.3 mg/L in the patients with DM and 66.2 mg/L in the patients without DM) and the median of the final value was 17.15 mg/L (17.9 mg/L in the patients with DM and 15.3 mg/L in the patients without DM). The differences were not significant ( $p = 0.952$  at baseline and  $p = 0.580$  at end). Similarly, the initial and final leukocyte values were measured. The median baseline value was  $8.61 \times 10^3/\mu\text{L}$  ( $8.56 \times 10^3/\mu\text{L}$  in the patients with DM and  $8.78 \times 10^3/\mu\text{L}$  in the patients without DM) and the

median final value was 17.15 ( $7.55 \times 10^3/\mu\text{L}$  in the patients with DM and  $8.64 \times 10^3/\mu\text{L}$  in the patients without DM). The differences were not significant ( $p = 0.906$  for baseline and  $p = 0.140$  for final). We also analyzed each major disease separately in each group and there were not significant differences either. The glucose values were also compared. The median was 123.5 mg/dL (156 mg/dL in the patients with DM and 107 mg/dL in the patients without DM). There was a significant difference between the glycemia values ( $p < 0.01$ ; Table IV).



Table IV. Differences in patients with and without DM

Patients	
with DM	without DM
most common antibiotic: $\beta$ -lactams (59.2%)	most common antibiotic: $\beta$ -lactams (57.7%)
death: 21%	death: 19.2%
glucose value: 156 mg/dL	glucose value: 107 mg/dL
CRP value: initial 72.3; terminal 17.9	CRP value: initial 66.2; terminal 13.3
length of hospitalization: 10 days	length of hospitalization: 8 days

DM – diabetes mellitus; CRP – C-reactive protein.

## DISCUSSION

Despite the wide and common preventive awareness, hyperglycemia and hypoglycemia are still major challenges in modern medicine. Hyperglycemia is associated with the risk of infections, cardiovascular events and even higher mortality during hospitalization. All these factors may prolong the patient's stay in hospital, which was one of the results in our study as well [15,16]. What is more, according to World Health Organization (WHO) data, 537 million people worldwide suffer from diabetes. It is estimated that by 2030 it will be the 7th leading cause of death [2].

The first large study which compared the infection risk in diabetic and non-diabetic patients was published in Ontario in 1999. It compared 513 749 patients in each group. In both groups, 51.7% of the patients were men. While the study found no differences between men and women, it showed that diabetic patients were more likely to die from infection, 1% for diabetic patients and 0.6% for non-diabetic patients ( $p < 0.0001$ ) [17,18,19]. In comparison, our study showed a completely opposite trend. It contained 53% men. 1090 records were analyzed but only 180 patients with infections were included. Of the 180 cases, 76 were diabetic (42%) and 104 non-diabetic (68%), 21% deaths were observed in the diabetic group and 19% in the non-diabetic group ( $p = 0.763$ ), hence the difference was not significant.

However, according to Zoppini et al. [20], mortality in diabetic patients peaked in younger patients (30–64 years) and declined afterwards. This idea aligns with our results – the DM cohort was generally older than the non-DM cohort, thus mortality could have been lower in the analyzed diabetic patients.

The Ontario study also indicated that the most common infection among diabetic patients was upper respiratory tract infection (61.8% of all cases). This was followed by cystitis (11.9%), pneumonia (10.7%) and cellulitis (10%). On the other hand, the least common were human immunodeficiency virus (0.12%), appendicitis (0.13%) and peritonitis (0.20%) [19].

Our results also prove that respiratory infections are the most common conditions. It should be emphasized that the study covered a year full of COVID-19 cases. The diabetic patients in our study suffered the most from pneumonia in the course of COVID-19 (35.5%),

urinary tract infections (26.3%) and pneumonia per se (14.5%). Nevertheless, the least common were acute pancreatitis, colitis, esophagitis and pericarditis (all together 1.3%).

The COVID-19 epidemic has also changed the patterns. It was observed that during the 28-day follow-up period, the in-hospital death rate was much higher for individuals with a newly developed type 2 diabetes (T2D) or with pre-existing T2D compared to nondiabetic patients (7.8% vs 2.7%). Furthermore, T2D subjects were more likely to develop complications such as acute respiratory distress syndrome (ARDS; 16.9% vs 7.2%), septic shock (3.8% vs 1.0%) and disseminated intravascular coagulation (DIC; 0.5% vs 0.2%). There was no difference in the symptoms, such as cough or fever, between the DM and non-DM groups, but the diabetic patients were characterized by more frequent albuminuria and a higher serum level of CRP and leukocytes [21,22]. Nonetheless, our study did not show those tendencies; mortality was not higher in the DM group (24% vs 26.5%), we did not observe significantly greater inflammation markers or an elevated proportion of complications either.

It was also stated that patients with both urinary tract infection and diabetes presented a more severe course of infection. We also performed an isolated analysis of this group of patients but found no significant difference [23].

*C. difficile* infection is seldom associated with diabetes but tends to occur more frequently in often-hospitalized DM patients [24]. Interestingly, in our study the incidence of *C. difficile* infection was higher in the non-DM cohort (13.5% vs 9.2%). Nevertheless, according to Meier et al. [25], the infection may be more frequent in patients with a lower body mass index (BMI) and without diabetes.

Although the frequent occurrence of infections in patients with DM is often claimed, it has never been fully explained. The review of the available literature done by Knapp [26] highlights that it is not certain if DM itself predisposes to infections. The author states that it is important to remember that diabetes is a complex disorder which often occurs with other diseases. For this reason, it is not clear if DM makes patients more likely to suffer from infections. The impact of DM on immune response is still debated – a variety of studies support this thesis, but there are still



studies suggesting an undisturbed inflammatory response [16,26].

Our results differ from those obtained in some studies; however, there is a limited number of studies covering this area, exploring infections and the course of the disease generally. Our paper is a part of the debate and in our opinion, another clinical trial should be conducted.

### Limitations

Our study also has several limitations. The first is the lack of HbA1c determination in every patient. Another is the small study group where some of the patients were admitted to hospital urgently, so fasting blood glucose was not measured. It should also be remembered that our study was conducted during the COVID-19 pandemic; some patients were transferred to other wards and temporary hospitals, so we could not collect data from the entire period of infection.

### CONCLUSIONS

Hyperglycemia plays an important role in the inflammatory process and adversely affects the progression of diabetes complications. Diabetic patients are susceptible to various types of infection, and glycemic control is a prerequisite for effective infection control. The degree and duration of hyperglycemia seem to be of greater prognostic importance. This in turn means that achieving optimal diabetes control is paramount, which can translate into a better prognosis in severe infection, and that each patient needs to be treated individually so that the chosen treatment is an optimized, effective therapy. Our study revealed that patients from the DM group presented a similar course of infections, were hospitalized for a comparable period of time and were treated with similar types of antibiotics in comparison with the non-DM group. Also, their prognosis in mortality was similar.

### Author's contribution

Study design – M. Stec, A. Suleja, W. Kuczmik, A. Mroskowiak, M. Migacz, M. Holecki

Data collection – M. Stec, A. Suleja, W. Kuczmik, A. Mroskowiak

Data interpretation – M. Stec, A. Suleja, W. Kuczmik, A. Mroskowiak, M. Migacz, M. Holecki

Statistical analysis – M. Stec, A. Suleja, W. Kuczmik, A. Mroskowiak

Manuscript preparation – M. Stec, A. Suleja, W. Kuczmik, A. Mroskowiak, M. Migacz, M. Holecki

Literature research – M. Stec, A. Suleja, W. Kuczmik, A. Mroskowiak, M. Migacz, M. Holecki

### REFERENCES

1. Baena-Diez J.M., Peñafiel J., Subirana I., Ramos R., Elosua R., Marín-Ibañez A. et al. Risk of cause-specific death in individuals with diabetes: A competing risks analysis. *Diabetes Care* 2016; 39(11): 1987–1995, doi: 10.2337/dc16-0614.
2. Cho N.H., Shaw J.E., Karuranga S., Huang Y., da Rocha Fernandes J.D., Ohlrogge A.W. et al. IDF Diabetes Atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2018; 138: 271–281, doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.
3. Shaw J.E., Sicree R.A., Zimmet P.Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2010; 87(1): 4–14, doi: 10.1016/j.diabres.2009.10.007.
4. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 1st edn.* Brussels, Belgium 2000.
5. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 10th edn.* Brussels, Belgium 2021.
6. Topor-Madry R., Wojtyniak B., Strojek K., Rutkowski D., Bogustawski S., Ignaszewska-Wrzykowska A. et al. Prevalence of diabetes in Poland: a combined analysis of national databases. *Diabet. Med.* 2019; 36(10): 1209–1216, doi: 10.1111/dme.13949.
7. Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet* 2010; 375(9733): 2215–2222, doi: 10.1016/s0140-6736(10)60484-9.
8. Abu-Ashour W., Twells L., Valcour J., Randell A., Donnan J., Howse P. et al. The association between diabetes mellitus and incident infections: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ Open Diabetes Res. Care* 2017; 5(1): e000336, doi: 10.1136/bmjdr-2016-000336.
9. Tillin T., Hughes A.D., Mayet J., Whincup P., Sattar N., Forouhi N.G. et al. The relationship between metabolic risk factors and incident cardiovascular disease in Europeans, South Asians, and African Caribbeans: SABRE (Southall and Brent Revisited) – a prospective population-based study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013; 61(17): 1777–1786, doi: 10.1016/j.jacc.2012.12.046.
10. Casqueiro J., Casqueiro J., Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: a review of pathogenesis. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 2012; 16(Suppl 1): S27–S36, doi: 10.4103/2230-8210.94253.
11. Peleg A.Y., Weeraratna T., McCarthy J.S., Davis T.M. Common infections in diabetes: pathogenesis, management and relationship to glycaemic control. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2007; 23(1): 3–13, doi: 10.1002/dmrr.682.
12. Flyvbjerg A. Diabetic angiopathy, the complement system and the tumor necrosis factor superfamily. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2010; 6(2): 94–101, doi: 10.1038/nrendo.2009.266.
13. Wang H., Liu M. Complement C4, infections, and autoimmune diseases. *Front. Immunol.* 2021; 12: 694928, doi: 10.3389/fimmu.2021.694928.
14. Geerlings S.E., Hoepelman A.I. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1999; 26(3–4): 259–265, doi: 10.1111/j.1574-695x.1999.tb01397.x.
15. Khazai N.B., Hamdy O. Inpatient diabetes management in the twenty-first century. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2016; 45(4): 875–894, doi: 10.1016/j.ecl.2016.06.013.
16. Gupta S., Koirala J., Khardori R., Khardori N. Infections in diabetes mellitus and hyperglycemia. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2007; 21(3): 617–638, doi: 10.1016/j.idc.2007.07.003.
17. van Niekerk G., Davis T., Patterson H.G., Engelbrecht A.M. How does inflammation induced hyperglycemia cause mitochondrial dysfunction in immune cells? *Bioessays* 2019; 41(5): 1800260, doi: 10.1002/bies.201800260.
18. Atreja A., Kalra S. Infections in diabetes. *J. Pak. Med. Assoc.* 2015; 65(9): 1028–1030.
19. Shah B.R., Hux J.E. Quantifying the risk of infectious diseases for people with diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26(2): 510–513, doi: 10.2337/diabetes.26.2.510.
20. Zoppini G., Fedeli U., Schievano E., Dauriz M., Targher G., Bonora E. et al. Mortality from infectious diseases in diabetes. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2018; 28(5): 444–450, doi: 10.1016/j.numecd.2017.12.007.
21. Zhu L., She Z.G., Cheng X., Qin J.J., Zhang X.J., Cai J. et al. Association of blood glucose control and outcomes in patients with COVID-19 and pre-



-existing type 2 diabetes. *Cell Metab.* 2020; 31(6): 1068–1077.e3, doi: 10.1016/j.cmet.2020.04.021.

22. Guo T., Shen Q., Ouyang X., Guo W., Li J., He W. et al. Clinical findings in diabetes mellitus patients with COVID-19. *J. Diabetes Res.* 2021; 2021: 7830136, doi: 10.1155/2021/7830136.

23. Fünfstück R., Nicolle L.E., Hanefeld M., Naber K.G. Urinary tract infection in patients with diabetes mellitus. *Clin. Nephrol.* 2012; 77(1): 40–48, doi: 10.5414/cn107216.

24. Davies K., Lawrence J., Berry C., Davis G., Yu H., Cai B. et al. Risk factors for primary *Clostridium difficile* infection; results from the

observational study of risk factors for *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with infective diarrhea (ORCHID). *Front. Public Health* 2020; 8: 293, doi: 10.3389/fpubh.2020.00293.

25. Meier K., Nordestgaard A.T., Eid A.I., Kongkaewpaisan N., Lee J.M., Kongwibulwut M. et al. Obesity as protective against, rather than a risk factor for, postoperative *Clostridium difficile* infection: a nationwide retrospective analysis of 1,426,807 surgical patients. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2019; 86(6): 1001–1009, doi: 10.1097/TA.0000000000002249.

26. Knapp S. Diabetes and infection: is there a link? A mini-review. *Gerontology* 2013; 59(2): 99–104, doi: 10.1159/000345107.



# Cardiac sarcoidosis

## Sarkoidoza serca

Małgorzata Niemiec, Bartosz Gruchlik , Jan Niemiec, Magdalena Balwierz , Katarzyna Mizia-Stec 

1st Department of Cardiology, Faculty of Medical Sciences in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### ABSTRACT

Cardiac sarcoidosis (CS) is a rare and difficult-to-diagnose condition that leads to conduction disorders, arrhythmias, and sudden cardiac death.

Diagnosing CS is extremely difficult because it can be asymptomatic in its early stages and often mimics other conditions. The diagnostic tools used in the diagnosis of CS are: echocardiography, magnetic resonance imaging, positron emission tomography and biopsy of the affected tissue. Treatment involves the use of drugs that suppress the immune system. Some of the arrhythmias and conduction disturbances associated with CS may be reversible, but more often they require protection with devices such as pacemakers or defibrillators.

More research is needed to develop more effective diagnostic strategies to improve the detection and treatment of this condition.

### KEYWORDS

cardiac sarcoidosis, sarcoidosis, arrhythmia, heart failure

### STRESZCZENIE

Sarkoidoza serca (*cardiac sarcoidosis* – CS) jest rzadkim i trudnym do zdiagnozowania schorzeniem prowadzącym do zaburzeń przewodzenia, rytmu i nagłej śmierci sercowej.

Rozpoznanie CS jest niezwykle trudne, ponieważ we wczesnych stadiach może nie dawać objawów i często imituje inne stany. Narzędziami diagnostycznymi wykorzystywanymi w diagnostyce CS są: echokardiografia, rezonans magnetyczny, pozytonowa tomografia emisyjna oraz biopsja zmienionej tkanki. Leczenie polega na zastosowaniu leków hamujących układ odpornościowy. Niektóre zaburzenia rytmu serca i przewodzenia związane z CS mogą mieć charakter odwracalny, jednak częściej wymagają one zabezpieczenia urządzeniami takimi jak rozruszniki serca czy defibrylatory. Konieczne są dalsze badania w celu opracowania skuteczniejszych strategii diagnostycznych dla poprawy wykrywania i leczenia tego stanu.

### SŁOWA KLUCZOWE

sarkoidoza serca, sarkoidoza, arytmie, niewydolność serca

Received: 10.05.2023

Revised: 09.06.2023

Accepted: 09.06.2023

Published online: 04.12.2023

Address for correspondence: Małgorzata Niemiec, I Katedra I Klinika Kardiologii, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, ul. Ziołowa 45/47, 40-635 Katowice, tel. +48 32 359 88 90, e-mail: s73238@365.sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## Introduction

Sarcoidosis is a rare multi-system disease in which the inflammatory process leads to the formation of granulomas. It is most often manifested by mild or asymptomatic lung disease [1,2]. It can also involve the heart and blood vessels. This condition can lead to serious complications, including arrhythmias, heart failure and sudden cardiac death [3,4]. Cardiac sarcoidosis (CS) was first described in 1929 in a 52-year-old shoemaker dying of heart failure [5]. The exact cause of CS is not fully understood, but is believed to be related to an abnormal immune response to an unknown trigger, such as infection or exposure to a specific substance that causes granulomatous pericarditis, myocarditis, and endocarditis [6].

The symptoms of CS may include shortness of breath, chest pain, fatigue, leg swelling, and ventricular arrhythmias, high-grade blocks, and sudden death [7]. Diagnosing CS can be difficult because it often mimics other conditions and may not cause any symptoms in the early stages. The diagnostic tools that can be used to confirm the diagnosis include imaging studies such as echocardiography, magnetic resonance imaging (MRI) and positron emission tomography (PET), as well as biopsy of the affected tissue [8,9].

The treatment of CS can be based on the use of medications that suppress the immune system and reduce inflammation, such as corticosteroids, immunosuppressants and biologics. In severe cases, surgery may be required to remove the affected tissue or the implantation of devices such as pacemakers or defibrillators to control the arrhythmia [10,11].

However, more research is needed to better understand the causes and risk factors for CS, and to develop more effective treatment options for the condition.

## Epidemiology

Myocardial sarcoidosis is more common in Scandinavian countries and among African Americans, and is estimated to affect 1–30 per 1,000,000 people [12,13,14]. Among patients diagnosed with sarcoidosis, CS concerns less than 10% of patients [15]. The condition is also more common in women than men [16,17,18,19,20,21,22,23,24,25] and usually develops in people between the ages of 20 and 50 [14,26,27].

Myocardial sarcoidosis can occur as a standalone condition or in association with other types of sarcoidosis, such as pulmonary sarcoidosis or cutaneous sarcoidosis. It is also more likely in people with a fa-

mily history of sarcoidosis. In addition, it has been proven that a low socioeconomic status is associated with a more severe course [28,29]. Recent studies suggest that as a result of the development of imaging technology and increased interest in this disease, the incidence of CS and the number of hospitalizations are increasing [15,30,31]. Interestingly, however, there is a decrease in in-hospital mortality [32].

## Pathogenesis and etiology

The exact cause of CS, despite many studies, is not fully understood, but it is believed to be associated with an abnormal immune response in individuals genetically exposed to an unknown trigger, such as infection or exposure to a specific substance [33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45]. As a result, noncaseating granulomas are formed, characterized by the presence of, among others, macrophages, giant cells, epithelioid histiocytes and lymphocytes [46]. It has been shown that myocardial involvement may be associated with DQB1\*0601 and DRB1\*0803 alleles [47,48,49,50]. Other non-HLA genes have also been associated with the disease: CCR2, CCR5, IL1A, IL23R, TNF- $\alpha$ , NOD2 and FCGR [51]. In the immune response, the key role is attributed to Th1 and Th17 lymphocytes, regulatory T cells and an increased number of cytokines such as IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  [46,52,53,54,55].

Several pathogens have also been suggested that may play an important role in the pathogenesis of CS, including *Propionibacterium acnes*, which was isolated from sarcoid lesions, and *Chlamydia pneumoniae*. In addition, some sources suggest that sarcoidosis is more common in people exposed to insecticides and mold [45,56,57,58,59,60,61]. An increased frequency in identical twins was also observed, which confirms the genetic background [62].

Interestingly, according to some sources, smoking may protect against sarcoidosis by disrupting the interaction between macrophages and lymphocytes [63,64,65].

## Location within the muscle

Sarcoid granulomas most commonly involve the interventricular septum, the basal segments of the left ventricle, and the lateral wall (Figure 1). Full-thickness myocardial involvement is usually sporadic and results in dilated cardiomyopathy, leading to left ventricular dysfunction. Right ventricular involvement may result from granulomatous infiltration (very rarely), but is usually a consequence of left ventricular failure and pulmonary hypertension [66,67].





Fig. 1. Myocardial involvement in cardiac sarcoidosis (based on: Bravo P.E., Singh A., Di Carli M.F., Blankstein R. Advanced cardiovascular imaging for the evaluation of cardiac sarcoidosis. J. Nucl. Cardiol. 2019; 26(1): 188–199); LV – left ventricular; RV – right ventricular.

### Symptoms

The symptoms of myocardial sarcoidosis can vary greatly. In some cases, the condition may not cause any symptoms. They also depend on the age, sex, ethnicity, primary clinical condition of the patient and the number of organs involved [68,69,70,71,72,73,74,75].

According to research conducted in the years 2003–2011, it was proved that Japanese patients have a much higher risk of eye and heart diseases in the course of sarcoidosis. It has also been suggested that ocular and skin lesions are much more common in women [76,77,78,79,80]. Nevertheless, the lungs are by far the most frequently affected organ in the course of sarcoidosis [81,82,83].

In 2018, a study was conducted on the basis of which 5 sarcoidosis phenotypes were distinguished. Myocardial involvement was of the ocular-cardiac-cutaneous-central nervous system phenotype [84]. Additionally, it has been proven that patients with CS may also have asymptomatic chest involvement or minimal extra cardiac disease [85].

The possible symptoms of myocardial sarcoidosis vary depending on the location, extent and degree of involvement of the organ (Figure 2). Generally, the symptoms may include:

- shortness of breath, especially during physical activity or when lying down
- chest pain, which may feel like pressure or squeezing
- tiredness
- swelling of the legs, ankles or feet
- palpitations or abnormal heart rhythms
- dizziness or fainting.

Nonetheless, the most common are arrhythmias caused by ventricular arrhythmias and atrioventricular blocks, and congestive heart failure caused by cardiomyopathy [86]. Untreated myocardial sarcoidosis can lead to

serious complications, including heart failure and sudden cardiac death [87,88].

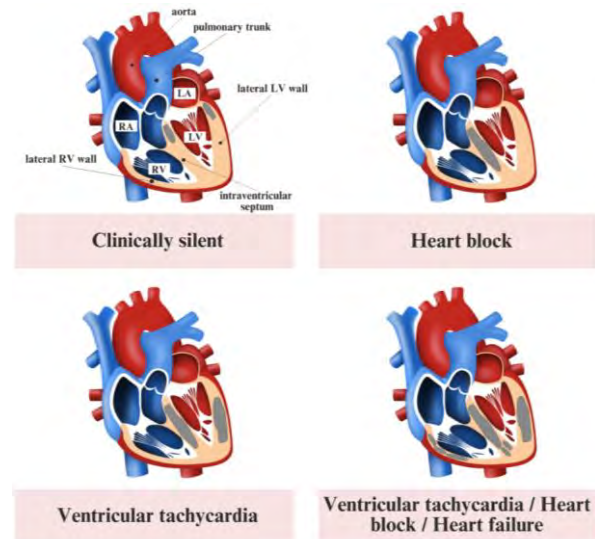


Fig. 2. Myocardial involvement in sarcoidosis and symptoms depending on location (based on [7]); LV – left ventricular; RV – right ventricular; sarcoid marked in grey color.

### Diagnostic tests

CS can be extremely difficult to recognize because it often mimics other conditions and may not cause any symptoms in its early stages. There is no single test that can confirm a diagnosis, so several diagnostic tools must be used to assess a person’s symptoms and rule out other potential causes (mainly ischemic heart disease). The classic triad of diagnosis includes: 1) concordant clinical/radiological findings, 2) the presence of noncaseating granulomas on histopathology, and 3) the exclusion of other possible diseases [1,89,90].

Table I. Diagnostic tests used to diagnose myocardial sarcoidosis (based on: Kouranos V., Sharma R. Cardiac sarcoidosis: state-of-the-art review. Heart 2021; 107(19): 1591–1599)

	Diagnostic tests		
	screening tests	imaging tests	others
history		chest X-ray	
physical examination		ECHO	
ECG/2-hour Holter		MRI	biopsy
blood tests for inflammation and myocardial damage markers		FDG-PET	

ECG – electrocardiography; ECHO – echocardiography; MRI – magnetic resonance imaging; FDG-PET – <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography.

The diagnostic tests that can be used to diagnose myocardial sarcoidosis are presented below (Table I).



### Screening test

The screening for myocardial sarcoidosis should begin with a thorough history, a physical examination, electrocardiogram (ECG), and blood tests for markers of inflammation and markers of myocardial damage [91,92]. A chest X-ray and 24-hour Holter monitoring may also prove necessary [93]. Patients with any disturbing symptoms, ECG abnormalities or cardiomegaly on a chest X-ray should be referred for further, more specialized examinations [94].

Patients with isolated CS without previously diagnosed sarcoidosis are a minority and require special suspicion and exclusion of other possible causes.

### Electrocardiogram and 24-hour Holter monitoring

An ECG can record any abnormalities associated with myocardial sarcoidosis, which mainly include:

- various degrees of conduction blocks, e.g. a bundle branch block and bundle blocks
- fragmentation of the QRS complex
- pathological Q waves
- ST segment changes
- epsilon waves [95].

The ECG is also an indispensable diagnostic tool in the long-term monitoring of extracardiac sarcoidosis because it is not uncommon for pathological ECG recordings to appear many years after the diagnosis of sarcoidosis [96].

Many studies also indicate that the Holter test shows a significant predictor of myocardial involvement with a sensitivity of 89% and a specificity of 21% [97]. It also has an important role in monitoring the response to immunosuppressive therapy [98].

### Echocardiography

An echocardiogram can help identify any abnormalities in the heart muscle. The results can be divided into primary and secondary diagnostic criteria [8,15,87,99,100]. One of the most characteristic pathologies is thinning of the interventricular base. In addition, there may also be:

- isolated abnormalities concerning the mobility of the walls of the heart muscle
- aneurysms
- left/right ventricular systolic and diastolic dysfunction [101,102,103,104].

The function determining the rate of myocardial strain is also very useful [105,106]. However, the results are not pathognomonic and cannot be used as part of the screening test owing to the low sensitivity of 25% [107].

### Biomarkers

Significantly specific and sensitive markers for myocardial sarcoidosis have not been demonstrated. In addition, many of them may also be affected by pharmacotherapy [108,109,110].

Nevertheless, several parameters have been identified that may support the diagnosis of CS:

- increased level of angiotensin-converting enzyme (increased level in 60% of patients, low sensitivity and specificity)
- elevated troponin levels
- increased level of brain natriuretic peptide (BNP)
- hypercalciuria
- increased IL-2 receptor
- increased level of neopterin
- increased activity of chitotriosidase
- bronchoalveolar lavage (BAL) biomarkers (elevated CD4+/CD8+ ratio and KL-6, decreased Natural Killer and CD103+ CD4+ cells) [108,111].

### Magnetic resonance imaging

MRI of the myocardium can identify areas of inflammation or damage to the myocardium and is considered the test of choice for the diagnosis of CS.

Characteristic changes that can be visualized in MRI are:

- late gadolinium enhancements (LGEs) [112]
- wall thinning
- aneurysms
- disturbances in the functional parameters of the ventricles.

Gadolinium reinforcement corresponds to scarring tissue, but also to inflamed tissue. The enhancement is often multifocal but not pathognomonic [113]. It most often involves the basal segments of the left ventricle, the septum and the lateral wall. Occasionally, full-thickness involvement of the myocardium and the free wall of the right ventricle is also observed. Simultaneous involvement of the basal antero-septal segment, the lower septum and the right ventricle is highly specific for CS. In contrast to sub-endocardial scarring, which is characteristic of myocardial infarction [114,115], LGEs occur in both the chronic and acute phases of CS.

Based on studies conducted in 2008–2015, it was confirmed that LGE is also a predictor of CS complications such as ventricular tachycardia (VT), atrioventricular blocks, heart failure and sudden cardiac death [116,117,118]. In addition, the presence of LGE in the presence of normal or near-normal left ventricular ejection fraction (LVEF) has been shown to



increase the risk of adverse events [111,119,120,121, 122,123,124]. Involvement of the right ventricle instead of the left one occurred to be an unfavorable predictive factor [125].

In the case of active inflammation, LGE seems to be a less sensitive parameter; however, the latest MR techniques using T1 and T2 mapping significantly increase the sensitivity towards active inflammation in CS and may be helpful in monitoring the response to treatment [126,127].

Due to the ability to identify small areas of myocardial damage, MR is increasingly used to assess the clinically silent forms of CS.

The main advantage of MR in CS is the high negative predictive value, which exceeds 90% [128].

#### *Positron emission tomography scan*

If the MR result is negative or access to it is limited, it is reasonable to perform a PET scan, which will allow differentiation of inflamed tissue from healthy tissue. Glucose analogue fluorodeoxyglucose (FDG) is used for this [129].

Nonetheless, the use of PET in the assessment of myocardial involvement in sarcoidosis should be preceded by extensive preparation. In order to inhibit the physiological uptake of glucose by normal myocardial cells, it is necessary to refrain from all meals and drinks for about 4 hours before the examination (the only exception being water). Then there is a decrease in the level of insulin in the body and, consequently, glucose uptake in the skeletal muscles, heart muscle and adipose tissue. About 24 hours before the examination, one should also refrain from any physical activity [130].

Although there are no specific imaging findings for myocardial sarcoidosis that would enable a reliable diagnosis, focal or diffuse FDG uptake is considered to support active CS [131,132]. The probability of CS occurrence may be determined on the basis of FDG uptake and perfusion abnormalities. Multifocal cardiac and extracardiac FDG uptake or multifocal cardiac FDG uptake and multifocal perfusion abnormalities allow CS detection in 90%. In addition, the presence of FDG uptake and perfusion defects in the right ventricle were associated with a worse prognosis, which was also observed in MRI [133].

Studies conducted in 2005 showed that the sensitivity of PET in diagnosing CS is 89%, while the specificity is 78% [131].

In recent years, PET has become the gold standard for detecting active myocarditis and monitoring response to immunosuppressive therapy in CS.

Table II. Description of PET examination (based on: Bravo P.E., Singh A., Di Carli M.F., Blankstein R. Advanced cardiovascular imaging for the evaluation of cardiac sarcoidosis. *J. Nucl. Cardiol.* 2019; 26(1): 188–199)

CS probability	Description of PET examination
< 10%	- FDG uptake (-) - perfusion abnormalities (-)
10–50%	- FDG uptake (-) - minor perfusion abnormalities (+) or - non-specific FDG uptake (+) - perfusion abnormalities (-)
50–90%	- focal FDG uptake (+) - resting perfusion abnormalities (+) or - multifocal FDG uptake (+) - perfusion abnormalities (-)
> 90%	- multifocal cardiac FDG uptake (+) - multifocal extracardiac FDG uptake (+) or - multifocal FDG uptake (+) - multifocal perfusion abnormalities (+)

CS – cardiac sarcoidosis; FDG – fluorodeoxyglucose; PET – positron emission tomography.

#### *Biopsy*

The histological confirmation of CS is difficult as a consequence of its low sensitivity (36%) [96,134]. This is due to the focal nature of the disease. However, based on a study conducted in 2019, it was shown that finding an increased number of lymphatic vessels in a biopsy, with the simultaneous absence of granulomas, can increase the sensitivity of the biopsy to 75% [135]. In addition, it has been proven that high specificity towards the diagnosis of CS is demonstrated by a high number of dendritic cells, a reduced percentage of M2 cells among all macrophages, and the absence of granulomas [136].

#### **Diagnosis**

The diagnostic criteria for CS are not universally agreed upon and may vary depending on the source. A multidisciplinary approach involving many specialists (such as cardiologists, pulmonologists and radiologists) is needed to make an accurate diagnosis. There are three recommended sets of diagnostic criteria for the diagnosis of CS.



One of the first diagnostic criteria according to the World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous diseases (WASOG) was published in 2014 and then modified by the American Thoracic Society [103,137] (Table III).

The second is the Heart Rhythm Society (HRS) consensus, also from 2014, which suggests two

diagnostic paths [8] (Table IV).

A third set of diagnostic criteria was proposed in 1993 and modified in 2017 by the Japanese HRS. It includes primary/major and secondary/minor criteria (Table V). To be diagnosed with CS, at least two major criteria or one major and two minor criteria must be met.

Table III. Diagnostic criteria according to World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous disease (WASOG) (based on [100,137])

Diagnostic criteria according to WASOG 2014	Modified diagnostic criteria by the American Thoracic Society 2020
1. Treatable cardiomyopathy or atrioventricular block	1. Sensitive cardiomyopathy or atrioventricular block
2. Decreased left ventricular ejection fraction in the absence of other clinical risk factors	2. Decreased left ventricular ejection fraction in the absence of other clinical risk factors
3. Spontaneous or inducible sustained ventricular tachycardia without other risk factors	3. Spontaneous or inducible sustained ventricular tachycardia without other risk factors
4. Second or third degree Mobitz-type atrioventricular block	4. New onset third-degree atrioventricular block in young or middle-aged adults
5. Non-uniform uptake on dedicated cardiac PET	5. Increased inflammatory activity in the heart (MRI, PET and gal)
6. Delayed amplification in CMR	
7. Positive gallium uptake	
8. Defect in perfusion scintigraphy or SPECT	
9. T2 extension on CMR	

PET – positron emission tomography; CMR – cardiac magnetic resonance; SPECT – single photon emission computed tomography; MRI – magnetic resonance imaging.

Table IV. Heart Rhythm Society diagnostic criteria (based on [8])

Diagnostic paths for diagnosis of myocardial sarcoidosis
1. Histological diagnosis from myocardial tissue The presence of a noncaseating granuloma on myocardial tissue histology without identifying an alternative cause
2. Clinical diagnosis based on invasive and non-invasive tests Possible occurrence of CS if: a) Histological diagnosis was extracardiac sarcoidosis And b) 1 or more of the following are present: – Cardiomyopathy responsive to steroid immunosuppression or heart block – Unexplained LVEF < 40% – Unexplained sustained (spontaneous or induced) ventricular tachycardia – Second degree or third degree Mobitz type II atrioventricular block – Non-uniform uptake in dedicated cardiac FDG-PET – LGE CMR – Positive gallium uptake And Other causes of cardiac symptoms were excluded

CS – cardiac sarcoidosis; LVEF – left ventricular ejection fraction; FDG-PET – <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography; LGE – late gadolinium enhancement; CMR – cardiac magnetic resonance.

Table V. Diagnostic criteria according to Japanese Heart Rhythm Society (based on [8,87] and Terasaki F., Yoshinaga K. New guidelines for diagnosis of cardiac sarcoidosis in Japan. Ann. Nucl. Cardiol. 2017; 3(1): 42–45)

Main criteria	Secondary criteria
1. Noncaseating granuloma confirmed by biopsy in myocardium or extracardiac tissue	1. Electrocardiogram abnormalities (such as atrioventricular block or ventricular arrhythmias)
2. Positive positron emission tomography scan of gallium-67 or fluorodeoxyglucose (FDG-PET)	2. Decreased left ventricular ejection fraction or wall motion abnormalities on echocardiography
3. Magnetic resonance imaging (MRI) or computed tomography (CT) showing delayed enhancement or nodular or band-like changes in the myocardium	3. Elevated level of angiotensin converting enzyme in serum
	4. Incorrect Holter monitoring
	5. Abnormal cardiac conduction test
	6. Histological evidence of granulomatous inflammation in other organs
	7. Response to steroid therapy

To be diagnosed with cardiac sarcoidosis, at least two major criteria or one major and two minor criteria must be met.



### Differential diagnosis

CS is a condition that causes significant diagnostic difficulties because its symptoms can mimic those of other heart diseases.

One of the diseases that should be differentiated from CS is myocarditis. Both conditions can cause symptoms of heart failure, chest pain, arrhythmias, the presence of LGE on MRI, and impaired FDG-PET uptake. Nevertheless, myocarditis is often caused by a viral infection, which is likely to cause prodromal symptoms. The course of giant cell myocarditis is usually more fulminant [138]. Endomyocardial biopsy may be necessary to distinguish myocarditis from sarcoidosis.

Another condition that can be confused with CS is arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC). ARVC is a genetic disease of the heart, leading to arrhythmias and heart failure. However, in the case of ARVC, the right ventricle is predominantly affected and LGE in the interventricular septum is virtually absent [139,140,141].

LGE in MRI may also be present in ischemic heart disease, Fabry disease, amyloidosis, hypertrophic cardiomyopathy and hemochromatosis. In the case of ischemic heart disease, the distribution of the LGE area, which correlates with the coronary artery system, may be helpful. Dark skin pigmentation and diabetes will also be present in the course of inherited haemochromatosis [142].

Granulomas can also be seen in tuberculosis, systemic vasculitis and mycosis [143]. Nonetheless, taking a detailed history will help to exclude these conditions owing to the different clinical course.

### Treatment

The treatment for myocardial sarcoidosis involves a combination of medications and lifestyle changes. The goals of treatment are to reduce inflammation, prevent complications, and improve the patient's quality of life. Lifestyle changes that may be recommended to treat myocardial sarcoidosis include regular exercise, a healthy diet, and reducing stress.

The European Society of Cardiology (ESC) has developed guidelines for the treatment of CS (Figure 3). According to these guidelines, in the case of a mild form of CS with mild symptoms, treatment may include only observation and control of the patient's condition, adherence to the principles of a healthy lifestyle, as well as anti-inflammatory medications and medications that reduce the risk of cardiovascular complications, such as angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) and beta-blockers. For moderate to severe cardiac sarcoidosis accompanied by arrhythmias, heart failure or

atrioventricular block, treatment with corticosteroids is recommended. In the absence of improvement or side effects associated with corticosteroids, immunosuppressants such as azathioprine or methotrexate may be used. For serious arrhythmias such as atrial fibrillation, ablation (removal) of the heart cells responsible for the arrhythmia is recommended. In heart failure, an implantable cardioverter defibrillator (ICD) may be required.

Medications that can be used to treat myocardial sarcoidosis include the ones described below.

#### *Corticosteroids*

The use of corticosteroids in the treatment of CS has been the subject of much discussion and research. While some studies have shown that corticosteroids may be effective in reducing inflammation and improving cardiac function in patients with CS, other studies have shown that corticosteroids may actually worsen the condition [117,144,145,146]. One of the potential benefits of corticosteroids in the treatment of CS is their ability to suppress the immune system, which can help reduce inflammation and prevent further damage to the heart muscle. Retrospective studies have shown that the use of corticosteroids in CS results in the interruption of atrioventricular (AV) block, a reduction in VT events, improvement in the ejection fraction, and improvement in survival [147,148,149,150,151]. However, the long-term use of corticosteroids can have a number of side effects, including weight gain, high blood pressure, diabetes, and osteoporosis [117,144,145,146]. Because of these potential risks, many doctors only prescribe corticosteroids for short periods of time, usually a few weeks to a few months, to control the symptoms and reduce inflammation. After this initial treatment period, the patient may be switched to another medication or therapy, depending on their individual needs.

The initial dose of corticosteroid used in patients with CS in monotherapy is 40 mg/day. In the case of people using an additional immunosuppressive medication –  $\leq 20$  mg/d. It has been shown that higher doses are not more effective and may be more toxic. Depending on the response to treatment, these doses should be reduced to 5/15 mg/d after 1–3 months and maintained for an additional 9–12 months. The follow-up period should be 3 years [152].

In silent CS, there is no clear evidence of benefit from corticosteroids. Therefore, the decision to include them, additionally considering the fact that the use of corticosteroids is associated with many side effects, can be extremely difficult [153,154,155,156].

Ultimately, the use of corticosteroids to treat CS should be carefully considered on a case-by-case basis, taking into account the patient's general health, medical history, and individual needs.



### *Immunosuppressants*

Although the use of methotrexate in the treatment of CS is still being studied, it is one of the most commonly used second-line medications in CS. Nevertheless, there are potential side effects to consider. They include nausea, vomiting, hair loss and weakened immune function. The dose of methotrexate used is 10–25 mg and is used once a week with an addition of 5 mg of folic acid [122].

Other immunosuppressants used in CS also include azathioprine, mycophenolate mofetil, cyclophosphamide, and infliximab [157,158].

In order to prevent a recurrence of the disease, immunosuppression is used for a long time. After the end of treatment, close observation of the patient and PET examination are recommended [159,160].

### *Angiotensin-converting enzyme inhibitors*

In the mild form of CS, ACEIs may also be included in the treatment due to their ability to improve myocardial function, reduce the risk of arrhythmias and cardiovascular complications, and their anti-inflammatory properties. In moderate to severe CS accompanied by arrhythmias, heart failure or atrioventricular block, ACEIs may be used as adjunctive therapy.

### *Beta blockers*

In the mild form of sarcoidosis, in addition to ACEI, beta-blockers are also used in the treatment.

Beta-blockers can help treat CS in several ways. First, they improve heart function and reduce the risk of arrhythmias. Secondly, they have anti-inflammatory effects and reduce inflammation in the heart. Third, they can reduce blood pressure and workload on the heart, which can improve heart function and reduce the risk of heart complications. In moderate to severe CS accompanied by arrhythmias, heart failure or atrioventricular block, beta blockers may be used as supportive medications.

The treatment of arrhythmia in CS depends on the severity of the disease, the symptoms experienced by the patient, and the degree of involvement of the heart. The classic choice of antiarrhythmic medications for VT includes amiodarone and sotalol. Nonetheless, amiodarone can cause severe side effects such as pneumonia and fibrosis. Therefore, the long-term use of amiodarone is contraindicated, especially in young patients.

Atrial arrhythmias may also require anticoagulation [8].

In severe, medication-resistant cases, ablation or an ICD may be required [161,162].

The goal of ablation is to eliminate the abnormal electrical signals that trigger the arrhythmia. This procedure is indicated when medication-resistant VT develops. In case of difficulties in making the decision to qualify a patient for ablation, the results of MR and PET examinations may be helpful [163]. Unfortunately, some studies suggest that despite a properly performed procedure, the recurrence rate of VT after ablation is still high. There are also more optimistic results, which have shown that the overall burden of arrhythmia can be reduced by up to 88% in patients after a properly performed course of ablation [164,165,166].

ICDs are mainly used to prevent sudden cardiac death and are usually recommended for patients with severe arrhythmias or those who have already had a cardiac arrest.

According to the HRS, atrioventricular block is an indication for the implantation of an ICD or a defibrillator for cardiac resynchronization therapy (CRT-D) [8].

Heart transplantation is a rare therapeutic option, mainly recommended in young patients with refractory VT or in the presence of severe heart failure [142].

In conclusion, the treatment of arrhythmia in CS is a complex process that requires a multidisciplinary approach. The goal of treatment is to control arrhythmias, prevent further events and improve the patient's quality of life.

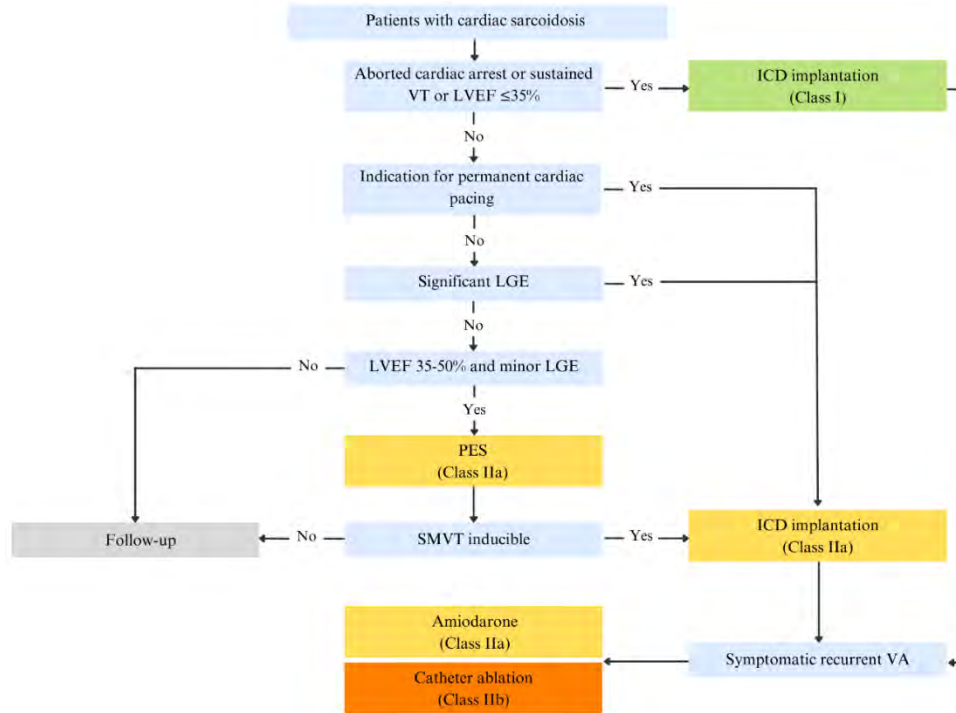


Fig. 3. Suggested treatment algorithm for patients with clinically manifested cardiac sarcoidosis (based on European Society of Cardiology 2023 guidelines); VT – ventricular tachycardia; LVEF – left ventricular ejection fraction; ICD – implantable cardioverter-defibrillators; LGE – late gadolinium enhancement; PES – programmed electrical stimulation; SMVT – sustained monomorphic ventricular tachycardia.

### Prognosis

The prognosis of CS may be affected by the degree of cardiac involvement, the presence of other organ involvement, and the severity of cardiac dysfunction. Clinically manifested heart failure and reduced left ventricular ejection fraction carry a worse prognosis, with a 10-year survival rate of 19–53% [155]. Patients with abnormalities in MR (LGE) and PET (abnormal FDG uptake) are also associated with an increased risk of death [151]. It is not fully clear whether silent CS has a better prognosis [155].

The early detection and treatment of CS is critical. The use of immunosuppressive medications has been shown to be effective in reducing inflammation and preventing disease progression.

### Clinical case

We would like to present an unusual clinical case of a 39-year-old patient with a history of pulmonary sarcoidosis admitted to the cardiology department due to chest pain, arthralgia, palpitations and an episode of pre-syncope.

The level of troponin was elevated, and the ECG showed dynamic changes in the T wave in leads V3-V6. Further examinations revealed abnormalities in left ventricular contractility and the suspicion of non-ST-segment elevation myocardial infarction (NSTEMI) was raised. However, coronary angiography showed no abnormalities. Neither hypercalcemia nor hypercalciuria were found during hospitalization. Owing to the suspicion of myocarditis or active CS, additional tests were ordered. Nevertheless, despite extensive diagnostic tests, including PET (Figure 4 A–C), the presence of active sarcoidosis in the heart could not be confirmed. This created a dilemma as to whether steroids should be used for treatment. Finally, a month after hospitalization, the laboratory tests showed hypercalcemia and hypercalciuria in the patient, which led to the introduction of steroids. After some time, temporary regression of the symptoms and improvement of left ventricular systolic function was observed.

This case highlights the diagnostic challenges and uncertainties associated with the treatment of sarcoidosis, especially in cases where active sarcoidosis cannot be confirmed despite extensive testing.



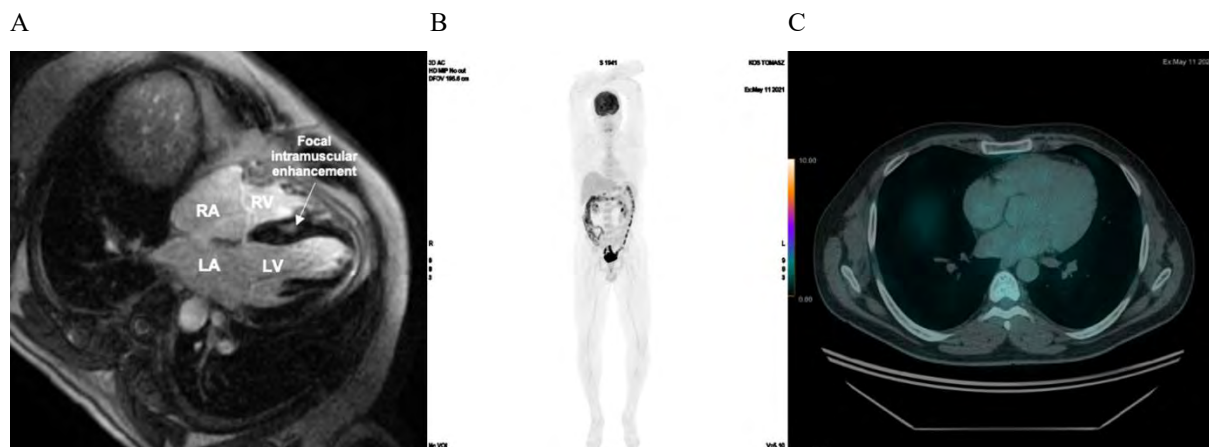


Fig. 4. A – cardiac magnetic resonance, four chamber view: RA – right atrium, LA – left atrium, LV – left ventricular, RV – right ventricular; B, C –  $^{18}\text{F}$ FDG-PET/CT: no active foci of increased  $^{18}\text{F}$ FDG uptake were found, presence of active disease process in heart and other parts of body was excluded.

## Summary

Myocardial sarcoidosis is the second leading cause of death from sarcoidosis, hence it is extremely important that it is diagnosed quickly and treated appropriately.

CS may be asymptomatic, present with conduction disturbances or advanced blocks, tachyarrhythmias or heart failure, or cause sudden cardiac death.

Thanks to the development of new imaging techniques (MR, PET), the diagnosis of sarcoidosis has become easier, and endomyocardial biopsy may no longer be necessary. Nonetheless, the diagnosis of isolated CS continues to be a challenge for modern medicine.

Corticosteroids are the primary treatment for CS, and identifying patients at risk for arrhythmias is critical as further electrophysiological testing and additional treatment may be required.

CS is a complex condition that requires constant monitoring. More research is needed to develop new diagnostic strategies to improve the detection and treatment of this condition. One of the key issues to be addressed in the future is the diagnosis of the probable cases of CS, especially in isolated forms, the monitoring of patients with already diagnosed CS, and the management of clinically silent cases.

## Author's contribution

Study design – M. Niemiec, M. Balwierz, B. Gruchlik

Data collection – M. Niemiec, M. Balwierz, B. Gruchlik

Manuscript preparation – M. Niemiec, M. Balwierz, B. Gruchlik, J. Niemiec

Literature research – M. Niemiec, M. Balwierz, B. Gruchlik

Final approval of the version to be published – K. Mizia-Stec

## REFERENCES

1. Costabel U. Sarcoidosis: clinical update. *Eur. Respir. J. Suppl.* 2001; 32: 56s–68s, doi: 10.1183/09031936.01.18s320056.
2. Yamamoto M., Sharma O. P., Hosoda Y. Special report: The 1991 descriptive definition of sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1992; 9(Suppl. 1): 33–34.
3. Swigris J.J., Olson A.L., Huie T.J., Fernandez-Perez E.R., Solomon J., Sprunger D. et al. Sarcoidosis-related mortality in the United States from 1988 to 2007. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 183(11): 1524–1530, doi: 10.1164/rccm.201010-1679OC.
4. Viskum K., Vestbo J. Vital prognosis in intrathoracic sarcoidosis with special reference to pulmonary function and radiological stage. *Eur. Respir. J.* 1993; 6(3): 349–353, doi: 10.1183/09031936.93.06030349.
5. Bernstein M., Konzelmann F.W., Sidlick D.M. Boeck's sarcoid report of a case with visceral involvement. *Arch. Intern. Med.* 1929; 44: 721–734.
6. Roberts W.C., McAllister H.A. Jr, Ferrans V.J. Sarcoidosis of the heart. A clinicopathologic study of 35 necropsy patients (group I) and review of 78 previously described necropsy patients (group II). *Am. J. Med.* 1977; 63(1): 86–108, doi: 10.1016/0002-9343(77)90121-8.
7. Birnie D.H., Nery P.B., Ha A.C., Beanlands R.S. Cardiac sarcoidosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016; 68(4): 411–421, doi: 10.1016/j.jacc.2016.03.605.
8. Birnie D.H., Sauer W.H., Bogun F., Cooper J.M., Culver D.A., Duvernoy C.S. et al. HRS expert consensus statement on the diagnosis and management of arrhythmias associated with cardiac sarcoidosis. *Heart Rhythm* 2014; 11(7): 1305–1323, doi: 10.1016/j.hrthm.2014.03.043.
9. Mc Ardle B.A., Birnie D.H., Klein R., de Kemp R.A., Leung E., Renaud J. et al. Is there an association between clinical presentation and the location and extent of myocardial involvement of cardiac sarcoidosis as assessed by  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose positron emission tomography? *Circ. Cardiovasc. Imaging* 2013; 6(5): 617–626, doi: 10.1161/CIRCIMAGING.112.000289.
10. Nagai T., Nagano N., Sugano Y., Asaumi Y., Aiba T., Kanzaki H. et al. Effect of corticosteroid therapy on long-term clinical outcome and left ventricular function in patients with cardiac sarcoidosis. *Circ. J.* 2015; 79(7): 1593–1600, doi: 10.1253/circj.CJ-14-1275.
11. Yazaki Y., Isobe M., Hiroe M., Morimoto S., Hiramitsu S., Nakano T. et al. Prognostic determinants of long-term survival in Japanese patients with



- cardiac sarcoidosis treated with prednisone. *Am. J. Cardiol.* 2001; 88(9): 1006–1010, doi: 10.1016/s0002-9149(01)01978-6.
12. James D.G., Hosoda Y. Epidemiology. In: D.G. James [ed.]. *Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders*. New York: Marcel Dekker, 1994, pp. 729–743.
13. Morimoto T., Azuma A., Abe S., Usuki J., Kudoh S., Sugisaki K. et al. Epidemiology of sarcoidosis in Japan. *Eur. Respir. J.* 2008; 31(2): 372–379, doi: 10.1183/09031936.00075307.
14. Sharma O.P. Sarcoidosis around the world. *Clin. Chest Med.* 2008; 29(3): 357–363, doi: 10.1016/j.ccm.2008.03.013.
15. Patel M.R., Cawley P.J., Heitner J.F., Klem I., Parker M.A., Jaroudi W.A. et al. Detection of myocardial damage in patients with sarcoidosis. *Circulation* 2009; 120(20): 1969–1977, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.851352.
16. Byg K.E., Milman N., Hansen S. Sarcoidosis in Denmark 1980–1994. A registry-based incidence study comprising 5536 patients. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2003; 20(1): 46–52.
17. Deubelbeiss U., Gemperli A., Schindler C., Baty F., Brutsche M.H. Prevalence of sarcoidosis in Switzerland is associated with environmental factors. *Eur. Respir. J.* 2010; 35(5): 1088–1097, doi: 10.1183/09031936.00197808.
18. Erdal B.S., Clymer B.D., Yildiz V.O., Julian M.W., Crouser E.D. Unexpectedly high prevalence of sarcoidosis in a representative U.S. Metropolitan population. *Respir. Med.* 2012; 106(6): 893–899, doi: 10.1016/j.rmed.2012.02.007.
19. Gribbin J., Hubbard R.B., Le Jeune I., Smith C. J., West J., Tata L.J. Incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis in the UK. *Thorax* 2006; 61(11): 980–985, doi: 10.1136/thx.2006.062836.
20. Henke C.E., Henke G., Elveback L.R., Beard C.M., Ballard D.J., Kurland L.T. The epidemiology of sarcoidosis in Rochester, Minnesota: a population-based study of incidence and survival. *Am. J. Epidemiol.* 1986; 123(5): 840–845, doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a114313.
21. Hillerdal G., Nöu E., Osterman K., Schmekel B. Sarcoidosis: epidemiology and prognosis. A 15-year European study. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1984; 130(1): 29–32, doi: 10.1164/arrd.1984.130.1.29.
22. Parkes S.A., Baker S.B., Bourdillon R.E., Murray C.R., Rakshit M., Sarkis J.W. et al. Incidence of sarcoidosis in the Isle of Man. *Thorax* 1985; 40(4): 284–287, doi: 10.1136/thx.40.4.284.
23. Rybicki B.A., Major M., Popovich J. Jr., Maliarik M.J., Iannuzzi M.C. Racial differences in sarcoidosis incidence: a 5-year study in a health maintenance organization. *Am. J. Epidemiol.* 1997; 145(3): 234–241, doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a090996.
24. Thomeer M., Demeds M., Vandeurzen K. Registration of interstitial lung diseases by 20 centres of respiratory medicine in Flanders. *Acta Clin. Belg.* 2001; 56(3): 163–172, doi: 10.1179/acb.2001.026.
25. Ungprasert P., Crowson C.S., Matteson E.L. Seasonal variation in incidence of sarcoidosis: a population-based study, 1976–2013. *Thorax* 2016; 71(12): 1164–1166, doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209032.
26. Kowalska M., Niewiadomska E., Zejda J.E. Epidemiology of sarcoidosis recorded in 2006–2010 in the Silesian voivodeship on the basis of routine medical reporting. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2014; 21(1): 55–58.
27. Selroos O. The frequency, clinical picture and prognosis of pulmonary sarcoidosis in Finland. *Acta Med. Scand. Suppl.* 1969; 503: 3–73.
28. Rabin D.L., Richardson M.S., Stein S.R., Yeager H. Jr. Sarcoidosis severity and socioeconomic status. *Eur. Respir. J.* 2001; 18(3): 499–506, doi: 10.1183/09031936.01.00056201.
29. Rabin D.L., Thompson B., Brown K.M., Judson M.A., Huang X., Lackland D.T. et al. Sarcoidosis: social predictors of severity at presentation. *Eur. Respir. J.* 2004; 24(4): 601–608, doi: 10.1183/09031936.04.00070503.
30. Okumura W., Iwasaki T., Toyama T., Iso T., Arai M., Oriuchi N. et al. Usefulness of fasting 18F-FDG PET in identification of cardiac sarcoidosis. *J. Nucl. Med.* 2004; 45(12): 1989–1998.
31. Soejima K., Yada H. The work-up and management of patients with apparent or subclinical cardiac sarcoidosis: with emphasis on the associated heart rhythm abnormalities. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2009; 20(5): 578–583, doi: 10.1111/j.1540-8167.2008.01417.x.
32. Patel N., Kalra R., Doshi R., Arora H., Bajaj N.S., Arora G. et al. Hospitalization rates, prevalence of cardiovascular manifestations, and outcomes associated with sarcoidosis in the United States. *J. Am. Heart Assoc.* 2018; 7(2): e007844, doi: 10.1161/JAHA.117.007844.
33. Chen E.S., Moller D.R. Etiology of sarcoidosis. *Clin. Chest Med.* 2008; 29(3): 365–377, doi: 10.1016/j.ccm.2008.03.011.
34. Verleden G.M., du Bois R.M., Bouros D., Drent M., Millar A., Müller-Quernheim J. et al. Genetic predisposition and pathogenetic mechanisms of interstitial lung diseases of unknown origin. *Eur. Respir. J. Suppl.* 2001; 32: 17s–29s.
35. Abe S., Yamaguchi E., Makimura S., Okazaki N., Kunikane H., Kawakami Y. Association of HLA-DR with sarcoidosis. Correlation with clinical course. *Chest* 1987; 92(3): 488–490, doi: 10.1378/chest.92.3.488.
36. Berlin M., Fogdell-Hahn A., Olerup O., Eklund A., Grunewald J. HLA-DR predicts the prognosis in Scandinavian patients with pulmonary sarcoidosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156(5): 1601–1605, doi: 10.1164/ajrcm.156.5.9704069.
37. Brennan N.J., Crean P., Long J.P., Fitzgerald M.X. High prevalence of familial sarcoidosis in an Irish population. *Thorax* 1984; 39(1): 14–18, doi: 10.1136/thx.39.1.14.
38. Cozier Y.C., Ruiz-Narvaez E.A., McKinnon C.J., Berman J.S., Rosenberg L., Palmer J.R. Fine-mapping in African-American women confirms the importance of the 10p12 locus to sarcoidosis. *Genes Immun.* 2012; 13(7): 573–578, doi: 10.1038/gene.2012.42.
39. Cozier Y., Ruiz-Narvaez E., McKinnon C., Berman J., Rosenberg L., Palmer J. Replication of genetic loci for sarcoidosis in US black women: data from the Black Women's Health Study. *Hum. Genet.* 2013; 132(7): 803–810, doi: 10.1007/s00439-013-1292-5.
40. Cozier Y.C., Coogan P.F., Govender P., Berman J.S., Palmer J.R., Rosenberg L. Obesity and weight gain in relation to incidence of sarcoidosis in US black women: data from the Black Women's Health Study. *Chest* 2015; 147(4): 1086–1093, doi: 10.1378/chest.14-1099.
41. Iannuzzi M.C., Rybicki B.A., Teirstein A.S. Sarcoidosis. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357(21): 2153–2165, doi: 10.1056/NEJMra071714.
42. Kucera G.P., Rybicki B.A., Kirkey K.L., Coon S.W., Major M.L., Maliarik M.J. et al. Occupational risk factors for sarcoidosis in African-American siblings. *Chest* 2003; 123(5): 1527–1535, doi: 10.1378/chest.123.5.1527.
43. Martinetti M., Tinelli C., Kolek V., Cuccia M., Salvaneschi L., Pasturenzi L. et al. "The sarcoidosis map": a joint survey of clinical and immunogenetic findings in two European countries. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 152(2): 557–564, doi: 10.1164/ajrcm.152.2.7633707.
44. McGrath D.S., Daniil Z., Foley P., du Bois J.L., Lympy P.A., Cullinan P. et al. Epidemiology of familial sarcoidosis in the UK. *Thorax* 2000; 55(9): 751–754, doi: 10.1136/thorax.55.9.751.
45. Newman L.S., Rose C.S., Bresnitz E.A., Rossman M.D., Barnard J., Frederick M. et al. A case control etiologic study of sarcoidosis: environmental and occupational risk factors. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170(12): 1324–1330, doi: 10.1164/rccm.200402-249OC.
46. Korsten P., Tampe B., König M.F., Nikiphorou E. Sarcoidosis and autoimmune diseases: differences, similarities and overlaps. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2018; 24(5): 504–512, doi: 10.1097/MCP.0000000000000500.
47. Grubić Z., Peros-Golubović T., Stingl K., Zuneć R. The investigation of HLA microsatellites influence in predisposition to sarcoidosis among Croatsians. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2011; 28(1): 18–26.
48. Naruse T.K., Matsuzawa Y., Ota M., Katsuyama Y., Matsumori A., Hara M. et al. HLA-DQB1\*0601 is primarily associated with the susceptibility to cardiac sarcoidosis. *Tissue Antigens* 2000; 56(1): 52–57, doi: 10.1034/j.1399-0039.2000.560107.x.
49. Rybicki B.A., Iannuzzi M.C. Epidemiology of sarcoidosis: recent advances and future prospects. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 28(1): 22–35, doi: 10.1055/s-2007-970331.
50. Sato H., Woodhead F.A., Ahmad T., Grutters J.C., Spagnolo P., van den Bosch J.M. et al. Sarcoidosis HLA class II genotyping distinguishes differences of clinical phenotype across ethnic groups. *Hum. Mol. Genet.* 2010; 19(20): 4100–4111, doi: 10.1093/hmg/ddq325.
51. Rivera N.V., Ronninger M., Shchetynsky K., Franke A., Nöthen M.M., Müller-Quernheim J. et al. High-density genetic mapping identifies new susceptibility variants in sarcoidosis phenotypes and shows genomic-driven phenotypic differences. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 193(9): 1008–1022, doi: 10.1164/rccm.201507-1372OC.
52. Darlington P., Haugom-Olsen H., von Sivers K., Wahlström J., Runold M., Svjataha V. et al. T-cell phenotypes in bronchoalveolar lavage fluid, blood and lymph nodes in pulmonary sarcoidosis—indication for an airborne antigen as the triggering factor in sarcoidosis. *J. Intern. Med.* 2012; 272(5): 465–471, doi: 10.1111/j.1365-2796.2012.02543.x.
53. Huang H., Lu Z., Jiang C., Liu J., Wang Y., Xu Z. Imbalance between Th17 and regulatory T-Cells in sarcoidosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14(11): 21463–21473, doi: 10.3390/ijms141121463.
54. Sakhivel P., Bruder D. Mechanism of granuloma formation in sarcoidosis. *Curr. Opin. Hematol.* 2017; 24(1): 59–65, doi: 10.1097/MOH.0000000000000301.
55. Ten Berge B., Paats M.S., Bergen I.M., van den Blink B., Hoogsteden H.C., Lambrecht B.N. et al. Increased IL-17A expression in granulomas and in circulating memory T cells in sarcoidosis. *Rheumatology* 2012; 51(1): 37–46, doi: 10.1093/rheumatology/ker316.
56. Abe C., Iwai K., Mikami R., Hosoda Y. Frequent isolation of *Propionibacterium* acnes from sarcoidosis lymph nodes. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A* 1984; 256(4): 541–547, doi: 10.1016/s0174-3031(84)80032-3.
57. Baughman R.P., Lower E.E., du Bois R.M. Sarcoidosis. *Lancet* 2003; 361(9363): 1111–1118, doi: 10.1016/S0140-6736(03)12888-7.
58. Homma J.Y., Abe C., Chosa H., Ueda K., Saegusa J., Nakayama M. et al. Bacteriological investigation on biopsy specimens from patients with sarcoidosis. *Jpn. J. Exp. Med.* 1978; 48(3): 251–255.
59. Ishige I., Usui Y., Takemura T., Eishi Y. Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. *Lancet* 1999; 354(9173): 120–123, doi: 10.1016/S0140-6736(98)12310-3.



60. Negi M., Takemura T., Guzman J., Uchida K., Furukawa A., Suzuki Y. et al. Localization of propionibacterium acnes in granulomas supports a possible etiologic link between sarcoidosis and the bacterium. *Mod. Pathol.* 2012; 25(9): 1284–1297, doi: 10.1038/modpathol.2012.80.
61. Kern D.G., Neill M.A., Wrenn D.S., Varone J.C. Investigation of a unique time-space cluster of sarcoidosis in firefighters. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993; 148(4 Pt 1): 974–980, doi: 10.1164/ajrccm/148.4.Pt.1.974.
62. Hosoda Y., Sasagawa S., Yasuda N. Epidemiology of sarcoidosis: new frontiers to explore. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2002; 8(5): 424–428, doi: 10.1097/00063198-200209000-00014.
63. Möller W., Barth W., Pohlit W., Rust M., Siekmeier R., Stahlhofen W. et al. Smoking impairs alveolar macrophage activation after inert dust exposure. *Toxicol. Lett.* 1996; 88(1–3): 131–137, doi: 10.1016/0378-4274(96)03728-9.
64. Silverstein M.D., Lashner B.A., Hanauer S.B. Cigarette smoking and ulcerative colitis: a case-control study. *Mayo Clin. Proc.* 1994; 69(5): 425–429, doi: 10.1016/s0025-6196(12)61637-1.
65. Valeyre D., Soler P., Clerici C., Prê J., Battesti J.P., Georges R. et al. Smoking and pulmonary sarcoidosis: effect of cigarette smoking on prevalence, clinical manifestations, alveolitis, and evolution of the disease. *Thorax* 1988; 43(7): 516–524, doi: 10.1136/thx.43.7.516.
66. Dubrey S.W., Bell A., Mittal T.K. Sarcoid heart disease. *Postgrad. Med. J.* 2007; 83(984): 618–623, doi: 10.1136/pgmj.2007.060608.
67. Trivieri M.G., Spagnolo P., Birnie D., Liu P., Drake W., Kovacic J.C. et al. Challenges in cardiac and pulmonary sarcoidosis: JACC state-of-the-art review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020; 76(16): 1878–1901, doi: 10.1016/j.jacc.2020.08.042.
68. Cozier Y.C. Assessing the worldwide epidemiology of sarcoidosis: challenges and future directions. *Eur. Respir. J.* 2016; 48(6): 1545–1548, doi: 10.1183/13993003.01819-2016.
69. Izumi T. Symposium: population differences in clinical features and prognosis of sarcoidosis throughout the world. *Sarcoidosis* 1992; 9: S105–S118.
70. Jain R., Yadav D., Puranik N., Guleria R., Jin J.O. Sarcoidosis: causes, diagnosis, clinical features, and treatments. *J. Clin. Med.* 2020; 9(4): 1081, doi: 10.3390/jcm9041081.
71. Lill H., Kliiman K., Altraja A. Factors signifying gender differences in clinical presentation of sarcoidosis among Estonian population. *Clin. Respir. J.* 2016; 10(3): 282–290, doi: 10.1111/crj.12213.
72. Loddenkemper R., Kloppenborg A., Schoenfeld N., Grosser H., Costabel U. Clinical findings in 715 patients with newly detected pulmonary sarcoidosis—results of a cooperative study in former West Germany and Switzerland. WATL Study Group. *Wissenschaftliche Arbeitsgemeinschaft für die Therapie von Lungenerkrankheiten. Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 1998; 15(2): 178–182.
73. Pereira C.A., Dornfeld M.C., Baughman R., Judson M.A. Clinical phenotypes in sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2014; 20(5): 496–502, doi: 10.1097/MCP.0000000000000077.
74. Prasse A., Katic C., Germann M., Buchwald A., Zissel G., Müller-Quernheim J. Phenotyping sarcoidosis from a pulmonary perspective. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 177(3): 330–336, doi: 10.1164/rccm.200705-742OC.
75. Siltzbach L.E., James D.G., Neville E., Turiaf J., Battesti J.P., Sharma O.P. et al. Course and prognosis of sarcoidosis around the world. *Am. J. Med.* 1974; 57(6): 847–852, doi: 10.1016/0002-9343(74)90160-0.
76. Birnbaum A.D., Oh F.S., Chakrabarti A., Tessler H.H., Goldstein D.A. Clinical features and diagnostic evaluation of biopsy-proven ocular sarcoidosis. *Arch. Ophthalmol.* 2011; 129(4): 409–413, doi: 10.1001/archophthalmol.2011.52.
77. Brito-Zerón P., Sellarés J., Bosch X., Hernández F., Kostov B., Sisó-Almirall A. et al. Epidemiologic patterns of disease expression in sarcoidosis: age, gender and ethnicity-related differences. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2016; 34(3): 380–388.
78. Pasadhika S., Rosenbaum J.T. Ocular sarcoidosis. *Clin. Chest Med.* 2015; 36(4): 669–683, doi: 10.1016/j.ccm.2015.08.009.
79. Yanardag H., Pamuk O.N., Karayel T. Cutaneous involvement in sarcoidosis: analysis of the features in 170 patients. *Respir. Med.* 2003; 97(8): 978–982, doi: 10.1016/s0954-6111(03)00127-6.
80. Yanardag H., Tetikkurt C., Bilir M., Demirci S., Iscimen A. Diagnosis of cutaneous sarcoidosis: clinical and the prognostic significance of skin lesions. *Multidiscip. Respir. Med.* 2013; 8(1): 26–31, doi: 10.1186/2049-6958-8-26.
81. Iannuzzi M.C., Fontana J.R. Sarcoidosis: clinical presentation, immunopathogenesis, and therapeutics. *JAMA* 2011; 305(4): 391–399, doi: 10.1001/jama.2011.10.
82. Neville E., Walker A.N., James D.G. Prognostic factors predicting the outcome of sarcoidosis: an analysis of 818 patients. *Q. J. Med.* 1983; 52(208): 525–533.
83. Rao D.A., Dellaripa P.F. Extrapulmonary manifestations of sarcoidosis. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2013; 39(2): 277–297, doi: 10.1016/j.rdc.2013.02.007.
84. Schupp J.C., Freitag-Wolf S., Bargagli E., Mihailović-Vučinić V., Rottoli P., Grubanovic A. et al. Phenotypes of organ involvement in sarcoidosis. *Eur. Respir. J.* 2018; 51(1): 1700991, doi: 10.1183/13993003.00991-2017.
85. Nery P.B., Mc Ardle B.A., Redpath C.J., Leung E., Lemery R., Dekemp R. et al. Prevalence of cardiac sarcoidosis in patients presenting with monomorphic ventricular tachycardia. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 2014; 37(3): 364–374, doi: 10.1111/pace.12277.
86. Terasaki F., Azuma A., Anzai T., Ishizaka N., Ishida Y., Isobe M. et al. JCS 2016 Guideline on diagnosis and treatment of cardiac sarcoidosis – digest version. *Circ. J.* 2019; 83(11): 2329–2388, doi: 10.1253/circj.CJ-19-0508.
87. Kandolin R., Lehtonen J., Graner M., Schildt J., Salmenkivi K., Kivistö S.M. et al. Diagnosing isolated cardiac sarcoidosis. *J. Intern. Med.* 2011; 270(5): 461–468, doi: 10.1111/j.1365-2796.2011.02396.x.
88. Nery P.B., Keren A., Healey J., Leung E., Beanlands R.S., Birnie D.H. Isolated cardiac sarcoidosis: establishing the diagnosis with electroanatomic mapping-guided endomyocardial biopsy. *Can. J. Cardiol.* 2013; 29(8): 1015.e1–1015.e3, doi: 10.1016/j.cjca.2012.09.009.
89. Hunninghake G.W., Costabel U., Ando M., Baughman R., Cordier J.F., du Bois R. et al. ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 1999; 16(2): 149–173.
90. Bargagli E., Prasse A. Sarcoidosis: a review for the internist. *Intern. Emerg. Med.* 2018; 13(3): 325–331, doi: 10.1007/s11739-017-1778-6.
91. Dubrey S.W., Falk R.H. Diagnosis and management of cardiac sarcoidosis. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2010; 52(4): 336–346, doi: 10.1016/j.pcad.2009.11.010.
92. Mantini N., Williams B. Jr, Stewart J., Rubinsztain L., Kacharava A. Cardiac sarcoid: a clinician’s review on how to approach the patient with cardiac sarcoid. *Clin. Cardiol.* 2012; 35(7): 410–415, doi: 10.1002/clc.21982.
93. Kim J.S., Judson M.A., Donnino R., Gold M., Cooper L.T. Jr, Prystowsky E.N. et al. Cardiac sarcoidosis. *Am. Heart J.* 2009; 157(1): 9–21, doi: 10.1016/j.ahj.2008.09.009.
94. From A.M., Maleszewski J.J., Rihal C.S. Current status of endomyocardial biopsy. *Mayo Clin. Proc.* 2011; 86(11): 1095–1102, doi: 10.4065/mcp.2011.0296.
95. Martusewicz-Boros M.M., Boros P.W., Wiatr E., Zych J., Piotrowska-Kownacka D., Roszkowski-Sliż K. Prevalence of cardiac sarcoidosis in white population: a case-control study; Proposal for a novel risk index based on commonly available tests. *Medicine* 2016; 95(32): e4518, doi: 10.1097/MD.00000000000004518.
96. Yodogawa K., Seino Y., Ohara T., Iwasaki Y.K., Hayashi M., Miyauchi Y. et al. Prognostic significance of ventricular late potentials in patients with pulmonary sarcoidosis. *Heart Rhythm.* 2018; 15(6): 798–802, doi: 10.1016/j.hrthm.2018.03.013.
97. Freeman A.M., Curran-Everett D., Weinberger H.D., Fenster B.E., Buckner J.K., Gottschall E.B. et al. Predictors of cardiac sarcoidosis using commonly available cardiac studies. *Am. J. Cardiol.* 2013; 112(2): 280–285, doi: 10.1016/j.amjcard.2013.03.027.
98. Padala S.K., Peaslee S., Sidhu M.S., Steckman D.A., Judson M.A. Impact of early initiation of corticosteroid therapy on cardiac function and rhythm in patients with cardiac sarcoidosis. *Int. J. Cardiol.* 2017; 227: 565–570, doi: 10.1016/j.ijcard.2016.10.101.
99. Hiraga H.H.M., Iwai K. Guidelines for diagnosis of cardiac sarcoidosis: study report on diffuse pulmonary diseases (in Japanese). Japanese Ministry of Health and Welfare. Tokyo 1993, pp. 23–24.
100. Judson M.A., Costabel U., Drent M., Wells A., Maier L., Koth L. et al. The WASOG sarcoidosis organ assessment instrument: an update of a previous clinical tool. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2014; 31(1): 19–27.
101. Agarwal A., Sulemanjee N.Z., Cheema O., Downey F.X., Tajik A.J. Cardiac sarcoid: a chameleon masquerading as hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy in the same patient. *Echocardiography* 2014; 31(5): E138–E141, doi: 10.1111/echo.12536.
102. Sköld C.M., Larsen F.F., Rasmussen E., Pehrsson S.K., Eklund A.G. Determination of cardiac involvement in sarcoidosis by magnetic resonance imaging and Doppler echocardiography. *J. Intern. Med.* 2002; 252(5): 465–471, doi: 10.1046/j.1365-2796.2002.01058.x.
103. Burstow D.J., Tajik A.J., Bailey K.R., DeRemee R.A., Talierecio C.P. Two-dimensional echocardiographic findings in systemic sarcoidosis. *Am. J. Cardiol.* 1989; 63(7): 478–482, doi: 10.1016/0002-9149(89)90323-8.
104. Sun B.J., Lee P.H., Choi H.O., Ahn J.M., Seo J.S., Kim D.H. et al. Prevalence of echocardiographic features suggesting cardiac sarcoidosis in patients with pacemaker or implantable cardiac defibrillator. *Korean Circ. J.* 2001; 41(6): 313–320, doi: 10.4070/kcj.2011.41.6.313.
105. Joyce E., Ninaber M.K., Katsanos S., Debonnaire P., Kamperidis V., Bax J.J. et al. Subclinical left ventricular dysfunction by echocardiographic speckle-tracking strain analysis relates to outcome in sarcoidosis. *Eur. J. Heart Fail.* 2015; 17(1): 51–62, doi: 10.1002/ejhf.205.
106. Murtagh G., Laffin L.J., Patel K.V., Patel A.V., Bonham C.A., Yu Z. et al. Improved detection of myocardial damage in sarcoidosis using



- longitudinal strain in patients with preserved left ventricular ejection fraction. *Echocardiography* 2016; 33(9): 1344–1352, doi: 10.1111/echo.13281.
107. Kouranos V., Tzelepis G.E., Rapti A., Mavrogeni S., Aggeli K., Douskou M. et al. Complementary role of CMR to conventional screening in the diagnosis and prognosis of cardiac sarcoidosis. *JACC Cardiovasc. Imaging* 2017; 10(12): 1437–1447, doi: 10.1016/j.jcmg.2016.11.019.
108. d'Alessandro M., Bergantini L., Perrone A., Cameli P., Cameli M., Prasse A. et al. Serial investigation of angiotensin-converting enzyme in sarcoidosis patients treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Eur. J. Intern. Med.* 2020; 78: 58–62, doi: 10.1016/j.ejim.2020.04.006.
109. Kandolin R., Lehtonen J., Airaksinen J., Vihinen T., Miettinen H., Ylitalo K. et al. Cardiac sarcoidosis: epidemiology, characteristics, and outcome over 25 years in a nationwide study. *Circulation* 2015; 131(7): 624–632, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011522.
110. Vorseleers A.D.M., van Moorsel C.H.M., Zanen P., Ruven H.J.T., Claessen A.M.E., van Velzen-Blad H. et al. ACE and sIL-2R correlate with lung function improvement in sarcoidosis during methotrexate therapy. *Respir. Med.* 2015; 109(2): 279–285, doi: 10.1016/j.rmed.2014.11.009.
111. Cameli P., Gonnelli S., Bargagli E., d'Alessandro M., Bergantini L., Favetta V. et al. The role of urinary calcium and chitotriosidase in a cohort of chronic sarcoidosis patients. *Respiration* 2020; 99(3): 207–212, doi: 10.1159/000505653.
112. Smedema J.P., Snoep G., van Kroonenburgh M.P.G., van Geuns R.J., Dassen W.R.M., Gorgels A.P.M. et al. Evaluation of the accuracy of gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance in the diagnosis of cardiac sarcoidosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 45(10): 1683–1690, doi: 10.1016/j.jacc.2005.01.047.
113. Cummings K.W., Bhalla S., Javidan-Nejad C., Bierhals A.J., Gutierrez F.R., Woodard P.K. A pattern-based approach to assessment of delayed enhancement in nonischemic cardiomyopathy at MR imaging. *Radiographics* 2009; 29(1): 89–103, doi: 10.1148/rg.291085052.
114. Crawford T., Mueller G., Sarsam S., Prasitdumrong H., Chaiyen N., Gu X. et al. Magnetic resonance imaging for identifying patients with cardiac sarcoidosis and preserved or mildly reduced left ventricular function at risk of ventricular arrhythmias. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2014; 7(6): 1109–1115, doi: 10.1161/CIRCEP.113.000156.
115. Patel A.R., Klein M.R., Chandra S., Spencer K.T., Decara J.M., Lang R.M. et al. Myocardial damage in patients with sarcoidosis and preserved left ventricular systolic function: an observational study. *Eur. J. Heart Fail.* 2011; 13(11): 1231–1237, doi: 10.1093/eurjhf/hfr099.
116. Ichinose A., Otani H., Oikawa M., Takase K., Saito H., Shimokawa H. et al. MRI of cardiac sarcoidosis: basal and subepicardial localization of myocardial lesions and their effect on left ventricular function. *Am. J. Roentgenol.* 2008; 191(3): 862–869, doi: 10.2214/AJR.07.3089.
117. Nagai T., Kohsaka S., Okuda S., Anzai T., Asano K., Fukuda K. Incidence and prognostic significance of myocardial late gadolinium enhancement in patients with sarcoidosis without cardiac manifestation. *Chest* 2014; 146(4): 1064–1072, doi: 10.1378/chest.14-0139.
118. Nadel J., Lancefield T., Voskoboinik A., Taylor A.J. Late gadolinium enhancement identified with cardiac magnetic resonance imaging in sarcoidosis patients is associated with long-term ventricular arrhythmia and sudden cardiac death. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging* 2015; 16(6): 634–641, doi: 10.1093/ehjci/jeu294.
119. Agoston-Coldea L., Kouaho S., Sacre K., Dossier A., Escoubet B., Chillan S. et al. High mass (>18g) of late gadolinium enhancement on CMR imaging is associated with major cardiac events on long-term outcome in patients with biopsy-proven extracardiac sarcoidosis. *Int. J. Cardiol.* 2016; 222: 950–956, doi: 10.1016/j.ijcard.2016.07.233.
120. Coleman G.C., Shaw P.W., Balfour P.C. Jr, Gonzalez J.A., Kramer C.M., Patel A.R. et al. Prognostic value of myocardial scarring on CMR in patients with cardiac sarcoidosis. *JACC Cardiovasc. Imaging* 2017; 10(4): 411–420, doi: 10.1016/j.jcmg.2016.05.009.
121. Ekström K., Lehtonen J., Hänninen H., Kandolin R., Kivistö S., Kupari M. Magnetic resonance imaging as a predictor of survival free of life-threatening arrhythmias and transplantation in cardiac sarcoidosis. *J. Am. Heart Assoc.* 2016; 5(5): e003040, doi: 10.1161/JAHA.115.003040.
122. Ise T., Hasegawa T., Morita Y., Yamada N., Funada A., Takahama H. et al. Extensive late gadolinium enhancement on cardiovascular magnetic resonance predicts adverse outcomes and lack of improvement in LV function after steroid therapy in cardiac sarcoidosis. *Heart* 2014; 100(15): 1165–1172, doi: 10.1136/heartjnl-2013-305187.
123. Shafee M.A., Fukuda K., Wakayama Y., Nakano M., Kondo M., Hasebe Y. et al. Delayed enhancement on cardiac magnetic resonance imaging is a poor prognostic factor in patients with cardiac sarcoidosis. *J. Cardiol.* 2012; 60(6): 448–453, doi: 10.1016/j.jicc.2012.08.002.
124. Yasuda M., Iwanaga Y., Kato T., Izumi T., Inuzuka Y., Nakamura T. et al. Risk stratification for major adverse cardiac events and ventricular tachyarrhythmias by cardiac MRI in patients with sarcoidosis. *Open Heart* 2016; 3(2): e000437, doi: 10.1136/openhrt-2016-000437.
125. Smedema J.P., van Geuns R.J., Ainslie G., Ector J., Heidbuchel H., Crijns H.J.G.M. Right ventricular involvement in cardiac sarcoidosis demonstrated with cardiac magnetic resonance. *ESC Heart Fail.* 2017; 4(4): 535–544, doi: 10.1002/ehf2.12166.
126. Crouser E.D., Ono C., Tran T., He X., Raman S.V. Improved detection of cardiac sarcoidosis using magnetic resonance with myocardial T2 mapping. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 189(1): 109–112, doi: 10.1164/rccm.201309-1668LE.
127. Puntmann V.O., Isted A., Hinojar R., Foote L., Carr-White G., Nagel E. T1 and T2 mapping in recognition of early cardiac involvement in systemic sarcoidosis. *Radiology* 2017; 285(1): 63–72, doi: 10.1148/radiol.2017162732.
128. Cheong B.Y.C., Muthupillai R., Nemeth M., Lambert B., Dees D., Huber S. et al. The utility of delayed-enhancement magnetic resonance imaging for identifying nonischemic myocardial fibrosis in asymptomatic patients with biopsy-proven systemic sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2009; 26(1): 39–46.
129. Pellegrino D., Bonab A.A., Dragotakes S.C., Pitman J.T., Mariani G., Carter E.A. Inflammation and infection: imaging properties of 18F-FDG-labeled white blood cells versus 18F-FDG. *J. Nucl. Med.* 2005; 46(9): 1522–1530.
130. Osborne M.T., Hulten E.A., Murthy V.L., Skali H., Taqueti V.R., Dorbala S. et al. Patient preparation for cardiac fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging of inflammation. *J. Nucl. Cardiol.* 2017; 24(1): 86–99, doi: 10.1007/s12350-016-0502-7.
131. Ishimaru S., Tsujino I., Takei T., Tsukamoto E., Sakaue S., Kamigaki M. et al. Focal uptake on 18F-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography images indicates cardiac involvement of sarcoidosis. *Eur. Heart J.* 2005; 26(15): 1538–1543, doi: 10.1093/eurheartj/ehi180.
132. Youssef G., Leung E., Mylonas I., Nery P., Williams K., Wisenberg G. et al. The use of 18F-FDG PET in the diagnosis of cardiac sarcoidosis: a systematic review and metaanalysis including the Ontario experience. *J. Nucl. Med.* 2012; 53(2): 241–248, doi: 10.2967/jnumed.111.090662.
133. Blankstein R., Osborne M., Naya M., Waller A., Kim C.K., Murthy V.L. et al. Cardiac positron emission tomography enhances prognostic assessments of patients with suspected cardiac sarcoidosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014; 63(4): 329–336, doi: 10.1016/j.jacc.2013.09.022.
134. Uemura A., Morimoto S., Hiramitsu S., Kato Y., Ito T., Hishida H. Histologic diagnostic rate of cardiac sarcoidosis: evaluation of endomyocardial biopsies. *Am. Heart J.* 1999; 138(2 Pt 1): 299–302, doi: 10.1016/s0002-8703(99)70115-8.
135. Oe Y., Ishibashi-Ueda H., Matsuyama T.A., Kuo Y.H., Nagai T., Ikeda Y. et al. Lymph vessel proliferation on cardiac biopsy may help in the diagnosis of cardiac sarcoidosis. *J. Am. Heart Assoc.* 2019; 8(2): e010967, doi: 10.1161/JAHA.118.010967.
136. Honda Y., Nagai T., Ikeda Y., Sakakibara M., Asakawa N., Nagano N. et al. Myocardial immunocompetent cells and macrophage phenotypes as histopathological surrogates for diagnosis of cardiac sarcoidosis in Japanese. *J. Am. Heart Assoc.* 2016; 5(11): e004019, doi: 10.1161/JAHA.116.004019.
137. Crouser E.D., Maier L.A., Wilson K.C., Bonham C.A., Morgenthau A.S., Patterson K.C. et al. Diagnosis and detection of sarcoidosis: an official American Thoracic Society clinical practice guideline. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2020; 201(8): e26–e51, doi: 10.1164/rccm.202002-0251ST.
138. Doltra A., Amundsen B.H., Gebker R., Fleck E., Kelle S. Emerging concepts for myocardial late gadolinium enhancement MRI. *Curr. Cardiol. Rev.* 2013; 9(3): 185–190, doi: 10.2174/1573403x113099990030.
139. Philips B., Madhavan S., James C.A., te Riele A.S., Murray B., Tichnell C. et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy and cardiac sarcoidosis: distinguishing features when the diagnosis is unclear. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2014; 7(2): 230–236, doi: 10.1161/CIRCEP.113.000932.
140. Vasaiwala S.C., Finn C., Delpriore J., Leya F., Gagermeier J., Akar J.G. et al. Prospective study of cardiac sarcoid mimicking arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2009; 20(5): 473–476, doi: 10.1111/j.1540-8167.2008.01351.x.
141. Tandri H., Castillo E., Ferrari V.A., Nasir K., Dalal D., Bomma C. et al. Magnetic resonance imaging of arrhythmogenic right ventricular dysplasia: sensitivity, specificity, and observer variability of fat detection versus functional analysis of the right ventricle. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 48(11): 2277–2284, doi: 10.1016/j.jacc.2006.07.051.
142. Anderson L.J., Holden S., Davis B., Prescott E., Charrier C.C., Bunce N.H. et al. Cardiovascular T2-star (T2\*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur. Heart J.* 2001; 22(23): 2171–2179, doi: 10.1053/ehj.2001.2822.
143. Prasse A. The diagnosis, differential diagnosis, and treatment of sarcoidosis. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2016; 113(33–34): 565–574, doi: 10.3238/arztebl.2016.0565.
144. Baughman R.P., Drent M., Kavuru M., Judson M.A., Costabel U., du Bois R. et al. Infliximab therapy in patients with chronic sarcoidosis and pulmonary involvement. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174(7): 795–802, doi: 10.1164/rccm.200603-4020C.
145. Uthman I., Touma Z., Khoury M. Cardiac sarcoidosis responding to monotherapy with infliximab. *Clin. Rheumatol.* 2007; 26(11): 2001–2003, doi: 10.1007/s10067-007-0614-1.



146. Cox C.E., Donohue J.F., Brown C.D., Kataria Y.P., Judson M.A. Health-related quality of life of persons with sarcoidosis. *Chest* 2004; 125(3): 997–1004, doi: 10.1378/chest.125.3.997.
147. Furushima H., Chinushi M., Sugiura H., Kasai H., Washizuka T., Aizawa Y. Ventricular tachyarrhythmia associated with cardiac sarcoidosis: its mechanisms and outcome. *Clin. Cardiol.* 2004; 27(4): 217–222, doi: 10.1002/clc.4960270409.
148. Banba K., Kusano K.F., Nakamura K., Morita H., Ogawa A., Ohtsuka F. et al. Relationship between arrhythmogenesis and disease activity in cardiac sarcoidosis. *Heart Rhythm* 2007; 4(10): 1292–1299, doi: 10.1016/j.hrthm.2007.06.006.
149. Stees C.S., Khoo M.S.C., Lowery C.M., Sauer W.H. Ventricular tachycardia storm successfully treated with immunosuppression and catheter ablation in a patient with cardiac sarcoidosis. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 2011; 22(2): 210–213, doi: 10.1111/j.1540-8167.2010.01826.x.
150. Kusano K.F. Effect of corticosteroid on arrhythmic events in patients with cardiac sarcoidosis. *J. Cardiol.* 2013; 62(5): 326–327, doi: 10.1016/j.jjcc.2013.09.004.
151. Hulten E., Agarwal V., Cahill M., Cole G., Vita T., Parrish S. et al. Presence of late gadolinium enhancement by cardiac magnetic resonance among patients with suspected cardiac sarcoidosis is associated with adverse cardiovascular prognosis: a systematic review and meta-analysis. *Circ. Cardiovasc. Imaging* 2016; 9(9): e005001, doi: 10.1161/CIRCIMAGING.116.005001.
152. Fussner L.A., Karlstedt E., Hodge D.O., Fine N.M., Kalra S., Carmona E.M. et al. Management and outcomes of cardiac sarcoidosis: a 20-year experience in two tertiary care centers. *Eur. J. Heart Fail.* 2018; 20(12): 1713–1720, doi: 10.1002/ehf.1319.
153. Hamzeh N.Y., Wamboldt F.S., Weinberger H.D. Management of cardiac sarcoidosis in the United States: a Delphi study. *Chest* 2012; 141(1): 154–162, doi: 10.1378/chest.11-0263.
154. Chapelon-Abrie C., de Zuttere D., Duhaut P., Veyssier P., Wechsler B., Huong D.L.T. et al. Cardiac sarcoidosis: a retrospective study of 41 cases. *Medicine* 2004; 83(6): 315–334, doi: 10.1097/01.md.0000145367.17934.75.
155. Chiu C.Z., Nakatani S., Zhang G., Tachibana T., Ohmori F., Yamagishi M. et al. Prevention of left ventricular remodeling by long-term corticosteroid therapy in patients with cardiac sarcoidosis. *Am. J. Cardiol.* 2005; 95(1): 143–146, doi: 10.1016/j.amjcard.2004.08.083.
156. Sperry B.W., Tamarappoo B.K., Oldan J.D., Javed O., Culver D.A., Brunken R. et al. Prognostic impact of extent, severity, and heterogeneity of abnormalities on <sup>18</sup>F-FDG PET scans for suspected cardiac sarcoidosis. *JACC Cardiovasc. Imaging* 2018; 11(2 Pt 2): 336–345, doi: 10.1016/j.jcmg.2017.04.020.
157. Demeter S.L. Myocardial sarcoidosis unresponsive to steroids. Treatment with cyclophosphamide. *Chest* 1988; 94(1): 202–203, doi: 10.1378/chest.94.1.202.
158. Müller-Quernheim J., Kienast K., Held M., Pfeifer S., Costabel U. Treatment of chronic sarcoidosis with an azathioprine/prednisolone regimen. *Eur. Respir. J.* 1999; 14(5): 1117–1122, doi: 10.1183/09031936.99.14511179.
159. Bremer W., Sweiss N.J., Lu Y. Serial FDG-PET/CT imaging in the management of cardiac sarcoidosis. *Clin. Nucl. Med.* 2018; 43(2): e50–e52, doi: 10.1097/RLU.0000000000001919.
160. Mankad P., Mitchell B., Birnie D., Kron J. Cardiac sarcoidosis. *Curr. Cardiol. Rep.* 2019; 21(12): 152, doi: 10.1007/s11886-019-1238-1.
161. Naruse Y., Sekiguchi Y., Nogami A., Okada H., Yamauchi Y., Machino T. et al. Systematic treatment approach to ventricular tachycardia in cardiac sarcoidosis. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2014; 7(3): 407–413, doi: 10.1161/CIRCEP.113.000734.
162. Segawa M., Fukuda K., Nakano M., Kondo M., Satake H., Hirano M. et al. Time course and factors correlating with ventricular tachyarrhythmias after introduction of steroid therapy in cardiac sarcoidosis. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2016; 9(6): e003353, doi: 10.1161/CIRCEP.115.003353.
163. Sohn D.W., Park J.B., Lee S.P., Kim H.K., Kim Y.J. Viewpoints in the diagnosis and treatment of cardiac sarcoidosis: proposed modification of current guidelines. *Clin. Cardiol.* 2018; 41(10): 1386–1394, doi: 10.1002/clc.23060.
164. Okada D.R., Smith J., Derakhshan A., Gowani Z., Misra S., Berger R.D. Ventricular arrhythmias in cardiac sarcoidosis. *Circulation* 2018; 138(12): 1253–1264, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034687.
165. Papageorgiou N., Providência R., Bronis K., Dechering D.G., Srinivasan N., Eckardt L. Catheter ablation for ventricular tachycardia in patients with cardiac sarcoidosis: a systematic review. *Europace* 2018; 20(4): 682–691, doi: 10.1093/europace/eux077.
166. Muser D., Santangeli P., Pathak R.K., Castro S.A., Liang J.J., Magnani S. et al. Long-term outcomes of catheter ablation of ventricular tachycardia in patients with cardiac sarcoidosis. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2016; 9(8): e004333, doi: 10.1161/CIRCEP.116.004333.F.



## Renal ectopia as cause of diagnostic difficulties in 43-year-old man hospitalized due to suspicion of colorectal cancer

### Ektopia nerki jako przyczyna trudności diagnostycznych u 43-letniego mężczyzny hospitalizowanego z powodu podejrzenia raka jelita grubego

Grzegorz K. Jakubiak , Mikołaj Pietrzak , Grzegorz Cieślak , Agata Stanek 

Department of Internal Medicine, Angiology and Physical Medicine, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

Colorectal cancer and its diagnosis remain a significant clinical problem. Renal ectopia is one of the major developmental anomalies of the urinary system, although it is relatively rare in the general population. It is most often asymptomatic and is revealed by chance. This study presents a case report of a 43-year-old man, in whom colorectal cancer was suspected due to the suggestive clinical picture (abdominal pain, constipation, weight loss, a family history of colorectal cancer) and the suspicion of a proliferative process described in an outpatient ultrasound examination of the abdominal cavity. As a result of the performed diagnostics, no proliferative process was found in the patient, and the previously diagnosed lesion that raised the suspicion of cancer turned out to be the right kidney located in the pelvis. The presented case report shows that renal ectopia may cause diagnostic difficulties, among others in patients diagnosed with a neoplastic process.

#### KEYWORDS

renal ectopia, abdominal pain, constipation, weight loss, colorectal cancer

#### STRESZCZENIE

Rak jelita grubego i jego diagnostyka pozostają istotnym problemem klinicznym. Ektopia nerki jest jedną z głównych anomalii rozwojowych układu moczowego, chociaż występuje stosunkowo rzadko w populacji ogólnej. Najczęściej przebiega bez objawów i jest wykrywana przypadkowo. W pracy przedstawiono opis przypadku 43-letniego mężczyzny, u którego podejrzewano raka jelita grubego z powodu sugestywnego obrazu klinicznego (ból brzucha, zaparcie, spadek masy ciała, obciążający wywiad rodzinny w kierunku raka jelita grubego) oraz podejrzenia procesu rozrostowego na podstawie wykonanego ambulatoryjnie badania ultrasonograficznego jamy brzusznej. W wyniku przeprowadzonej

Received: 10.05.2023

Revised: 26.06.2023

Accepted: 04.07.2023

Published online: 07.12.2023

Address for correspondence: dr n. med. Grzegorz K. Jakubiak, Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Angiologii i Medycyny Fizycznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Stefana Batorego 15, 41-902 Bytom, tel. +48 32 786 16 30, e-mail: grzegorz.jakubiak@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



diagnostyki nie stwierdzono u chorego procesu rozrostowego, rozpoznawana zaś uprzednio zmiana budząca podejrzenie nowotworu okazała się położoną w miednicy prawą nerką. Przedstawiony opis przypadku pokazuje, że ektopia nerki może powodować trudności diagnostyczne, m.in. u chorych diagnozowanych w kierunku procesu rozrostowego jelita.

## SŁOWA KLUCZOWE

ektopia nerki, ból brzucha, zaparcie, spadek masy ciała, rak jelita grubego

## INTRODUCTION

Malignant neoplasms are among of the main causes of morbidity and mortality in developed countries [1], next to cardiovascular diseases [2]. Despite the development of ever more effective therapeutic options, the diagnosis of cancer at a too late stage often prevents the use of effective causal treatment. Therefore, the early diagnosis of cancer remains an important challenge for contemporary medicine.

Colorectal cancer is one of the most important malignancies. Among neoplasms, it is the third cause of morbidity and the fourth cause of mortality worldwide [3]. Although there is a screening program for colorectal cancer in Poland, the clinical practice shows that sometimes the disease is diagnosed at a stage when full recovery is no longer possible. It is also worth noting that the symptomatology of colorectal cancer is diverse and depends on the location of the tumour; however, in some cases, in the early stages of the disease, the symptoms may be atypical, which makes it difficult to make a proper diagnosis [4]. For example, in some cases, the deterioration of exercise tolerance conditioned by exercise dyspnoea is the first symptom of colorectal cancer, without typical gastrointestinal symptoms [5,6,7].

Therefore, the diagnosis of malignant tumours is associated with two difficulties: on the one hand, unusual symptoms may be overlooked in some cases, which may lead to a delay in diagnosis, and on the other hand, high oncological vigilance among physicians may sometimes lead to the overinterpretation of certain facts and an exaggerated suspicion of cancer. The purpose of this paper is to present a case report of a 43-year-old man with a suggestive medical anamnesis leading to the diagnosis of colorectal cancer, in whom newly diagnosed right renal ectopia was initially interpreted as a tumour in an ultrasound examination.

## CASE REPORT

### Anamnesis and physical examination

A 43-year-old man, until then without a significant history of chronic diseases or permanent medications, was admitted to the Clinic for urgent diagnostics. The patient was referred by a family doctor who suspected a neoplastic disease. The same doctor, on the day of the

referral to the hospital, performed an abdominal ultrasound examination of the patient, in which he suspected a nodular structure within the pelvic cavity. In the anamnesis, the patient reported abdominal pain for about two months, accompanied by constipation and a little weight loss. The patient was unable to report an accurate amount of weight loss. According to his relation, he was always thin. In addition, he drew attention to the family history of colorectal cancer. The patient's cousin was diagnosed with colorectal cancer at the age of thirty-eight. No significant abnormalities were found in the physical examination.

### Laboratory tests

The laboratory tests included the determination of peripheral blood count parameters, percentage of glycated haemoglobin, red blood cell sedimentation rate, electrolyte concentration (sodium, potassium, calcium, phosphorus), glucose, creatinine, urea, C-reactive protein, total protein, albumin, vitamin B12, coagulation parameters (prothrombin time, activated partial thromboplastin time, as well as D-dimer and fibrinogen concentration), selected tumour markers (carcinoembryonic antigen, alpha fetoprotein, prostate-specific antigen), lipid profile parameters (total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides), parameters for the assessment of liver and pancreatic damage (amylase, transaminases, gamma glutamyl transpeptidase and alkaline phosphatase activity, bilirubin concentration), thyroid function parameters (thyrotropin, free thyroxine and free triiodothyronine), parameters of muscle and myocardial damage (creatine kinase, creatine kinase MB, and troponin) and iron metabolism parameters (blood iron concentration and total iron binding capacity). In addition, a general examination of the urine with sediment was performed. The laboratory tests showed a slightly elevated fasting plasma glucose (100.2 mg/dl) with a normal glycated haemoglobin percentage (5.66%) and the presence of ketone bodies in the urine test. No other abnormalities were found in the laboratory tests.

### Diagnostic imaging

During hospitalization, abdominal ultrasound was repeated. It was noted that the right kidney was not visualized in its typical position, and in the small pelvis, in the vicinity of the bladder on the right side,



a structure was seen that most likely corresponded to an ectopically rotated right kidney (Figures 1 and 2). In addition, a deposit was found in the gallbladder.

The remaining structures of the abdominal cavity and retroperitoneal space, routinely assessed in ultrasound examination, were described as normal.

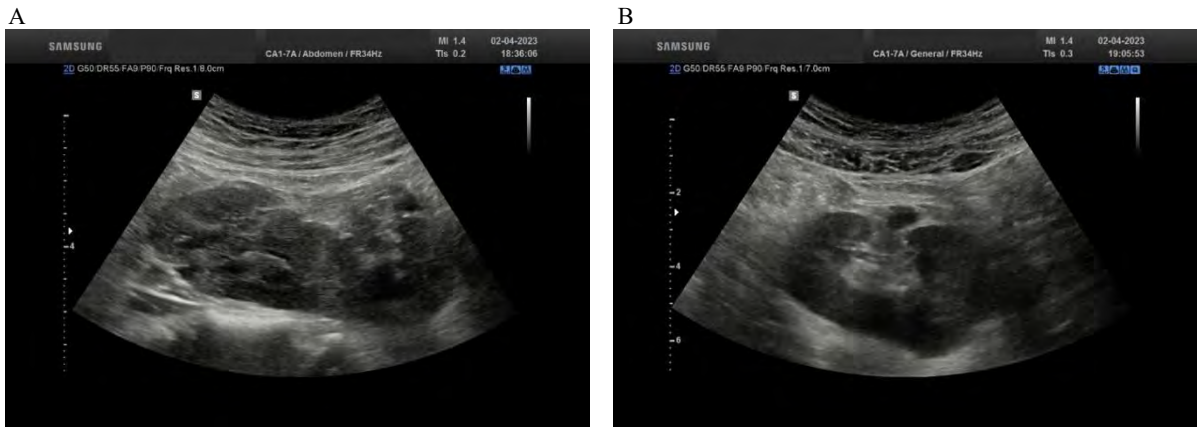


Fig. 1. Ectopic right kidney, visible in various projections.



Fig. 2. Right kidney located ectopically in small pelvis adjacent to well-filled bladder.

As shown, in the ultrasound examination performed at the Clinic, the previously described lesion had a kidney morphology, which was confirmed by contrast-enhanced computed tomography (CT) of the abdomen and small pelvis, which was performed

primarily because of the anamnesis and family history of malignancy. The CT scan images are shown in Figures 3–5. A chest radiograph was also taken, which was described as normal.



Fig. 3. Image reconstruction from contrast-enhanced CT scan of abdomen and small pelvis in arterial phase. Absence of right kidney in its typical position.



Fig. 4. Image reconstruction from contrast-enhanced CT scan of abdomen and small pelvis in arterial phase. Ectopic right kidney is marked with arrow.



Fig. 5. Image reconstruction from a contrast-enhanced CT scan of abdomen and small pelvis in arterial phase. Ectopic right kidney is marked with arrow.

### Endoscopic diagnosis of gastrointestinal tract

During hospitalization at the Clinic, an endoscopy of the upper and lower gastrointestinal tract was performed. The gastroscopy revealed the presence of three small polyps within the stomach (up to five millimetres in size) and reddening of the gastric mucosa around the pylorus. In the histopathological examination of the removed polyps, fundic gland polyps were found. No abnormalities were found in the colonoscopy, and the quality of the patient's preparation for the examination was assessed as good.

### Body composition analysis

During hospitalization, body composition analysis was performed using the bioelectrical impedance method employing a TANITA MC-780 apparatus. The procedure was conducted owing to the decrease in body weight reported by the patient, as a supplement to the basic anthropometric measurements. Table I presents the values of selected anthropometric indices and body composition analysis parameters.

Table I. Values of selected anthropometric and body composition parameters

BMI	WHR	Total body mass	Fat mass	Muscle mass	Bone mass	TBW
18.6 kg/m <sup>2</sup>	0.91	63.8 kg	10.5 kg/16.4%	50.6 kg	2.7 kg	38.0 kg/59.6%

BMI – body mass index; WHR – waist-to-hip ratio; TBW – total body water.

## DISCUSSION

The presented description shows the case of a patient in whom an ultrasound image of an ectopic kidney was initially interpreted as a tumour in the abdominal cavity. It should be noted that in view of the patient's reported symptoms and family history of colorectal cancer, regardless of the outpatient ultrasound examination, there were strong indications for a detailed clinical assessment of the patient with a wide range of additional tests. Nevertheless, the presented case encourages us to consider the issue of renal ectopia as a possible cause of diagnostic difficulties and doubts,

which in some cases may imply unnecessary additional tests.

The incidence of simple renal ectopia is not exactly known. Depending on the research methodology (autopsy studies or the analysis of clinical material based on imaging studies), it is estimated in the range of 1:900 to 1:3000. The frequency is similar in women and men [8]. On the other hand, the frequency of crossed renal ectopia is estimated at 0.05% to 0.1% [9]. Renal ectopia can be cranial (usually intrathoracic) or caudal (abdominal and pelvic). A pelvic kidney is the most common form of renal ectopia [10]. Although the clinical course of pelvic renal ectopia is usually asymptomatic and it is diagnosed in clinical imaging



performed due to other causes, in some cases the renal ectopia is associated with a higher incidence of hydro-nephrosis, lithiasis, and urinary tract infection [11].

There are publications in the literature showing that renal ectopia may cause difficulties in diagnosis. Ogbeter [12] described a case report that crossed fused renal ectopia with pyelonephritis mimicking appendix mass. A case of a tumour in the area of the skin around the sacrum in a newborn girl was described, which, as it turned out in the course of diagnostics, originated from the ectopic immature renal tissue [13]. Although the second example cited is not an ectopy of the kidney in the strict sense, it has been shown as a striking case of the presence of kidney tissue in an abnormal position.

Data available in the literature also show that renal ectopia may in some cases be of importance in the performance of certain invasive therapeutic procedures. In the literature, there are case reports showing the technical aspects of the endovascular treatment of abdominal aortic aneurysm in patients with renal ectopia [14,15,16]. Tsuboi et al. [17] reported a case of partial nephrectomy in patients with left-to-right crossed fused renal ectopia with clear cell renal cell carcinoma. Aspects of the operational treatment of nephrolithiasis in an ectopic kidney have been also discussed [18,19]. Tayeb et al. [20] reported a case of angiomyolipoma embolization in a patient with crossed-fused renal ectopia.

Renal cancer in patients with renal ectopy has been described in the literature [21,22], showing that the clinical manifestation of renal cancer may have an atypical course in this population [23]. Adamakis et al. [24] described their experiences regarding the difficulties that a pelvic kidney may cause in performing a cystectomy and lymphadenectomy in

patients suffering from urothelial carcinoma of the bladder. There are few publications in the literature that combine the issue of renal ectopia with the issue of proliferative disease of the colon. Sakamoto et al. [25] described a case of a patient operated laparoscopically owing to sigmoid cancer. As a consequence of the intraoperatively found atypical arrangement of blood vessels, it was decided to convert to laparotomy, in which an ectopic kidney was found. 10 years later, Nakai et al. [26] presented a case report of a patient with crossed-fused renal ectopia, successfully treated laparoscopically for sigmoid cancer, but in this case, unlike the previous one, the atypical anatomical arrangement was recognized before surgery using CT, which allowed precise planning of the procedure.

To our knowledge, no case of renal ectopia in a patient diagnosed due to the suspicion of colorectal cancer has been reported to date. In the case described by us, the suspicion of neoplastic disease was not confirmed; however, the case presented by us shows that renal ectopia may contribute to the emergence of diagnostic difficulties in patients with suspected proliferative disease. The present case also demonstrates that whenever an ultrasound examination fails to locate a kidney in a typical field, the possibility of an ectopic kidney should be considered and actively searched for in other locations, primarily in the pelvis.

## CONCLUSION

In conclusion, the presented case report shows that renal ectopia may cause diagnostic difficulties and it is worth remembering about the possibility of this anatomical variation in everyday clinical practice.

---

### Author's contribution

Study design – G.K. Jakubiak, M. Pietrzak, G. Cieślár, A. Stanek

Manuscript preparation – G.K. Jakubiak, M. Pietrzak, G. Cieślár, A. Stanek

Literature research – G.K. Jakubiak

Final approval of the version to be published – G.K. Jakubiak, M. Pietrzak, G. Cieślár, A. Stanek

---

### REFERENCES

1. Vineis P., Wild C.P. Global cancer patterns: causes and prevention. *Lancet* 2014; 383(9916): 549–557, doi: 10.1016/S0140-6736(13)62224-2.
2. Mučka S., Miodońska M., Jakubiak G.K., Starzak M., Cieślár G., Stanek A. Endothelial function assessment by flow-mediated dilation method: a valuable tool in the evaluation of the cardiovascular system. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022; 19(18): 11242, doi: 10.3390/ijerph191811242.
3. Buccafusca G., Proserpio I., Tralongo A.C., Rametta Giuliano S., Tralongo P. Early colorectal cancer: diagnosis, treatment and survivorship care. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2019; 136: 20–30, doi: 10.1016/j.critrevonc.2019.01.023.
4. Calanzani N., Chang A., Van Melle M., Pannebakker M.M., Funston G., Walter F.M. Recognising colorectal cancer in primary care. *Adv. Ther.* 2021; 38(5): 2732–2746, doi: 10.1007/s12325-021-01726-6.
5. Jakubiak G.K., Ochab-Jakubiak J., Król-Zybura A., Cieślár G., Stanek A. Dyspnoea as the first symptom of colon cancer. *Wiad. Lek.* 2020; 73(10): 2313–2315, doi: 10.36740/WLek202010140.
6. Cramer L., Hildebrandt B., Kung T., Wichmann K., Springer J., Doehner W. et al. Cardiovascular function and predictors of exercise capacity in patients with colorectal cancer. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014; 64(13): 1310–1319, doi: 10.1016/j.jacc.2014.07.948.
7. Walter F.M., Emery J.D., Mendonca S., Hall N., Morris H.C., Mills K. et al. Symptoms and patient factors associated with longer time to diagnosis for colorectal cancer: results from a prospective cohort study. *Br. J. Cancer* 2016; 115(5): 533–541, doi: 10.1038/bjc.2016.221.
8. Mikuz G. Ectopias of the kidney, urinary tract organs, and male genitalia. *Pathologie* 2019; 40(Suppl 1): 1–8, doi: 10.1007/s00292-018-0505-z.



9. Polak-Jonkisz D., Fornalczyk K., Musiał K., Zaleska-Dorobisz U., Apoznański W., Zwolińska D. Crossed renal ectopia: can it be a diagnostic problem? *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)* 2012; 66: 210–214, doi: 10.5604/17322693.991491.
10. Srinivas M.R., Adarsh K.M., Jeerson R., Ashwini C., Nagaraj B.R. Congenital anatomic variants of the kidney and ureter: a pictorial essay. *Jpn. J. Radiol.* 2016; 34(3): 181–193, doi: 10.1007/s11604-015-0514-2.
11. Aslam F. Pelvic renal ectopia, an incidental finding. *BMJ Case Rep.* 2017; 2017: bcr2016218894, doi: 10.1136/bcr-2016-218894.
12. Ogbetere F.E. Left-to-right crossed fused renal ectopia with pyelonephritis mimicking appendix mass. *Urol. Ann.* 2021; 13(1): 73–75, doi: 10.4103/UA.UA.67.20.
13. Nag S., Dayrit-Castro C.A.F., Ho N.T.C. Ectopic immature renal tissue presenting as a pedunculated sacral mass in a neonate. *Pediatr. Dermatol.* 2019; 36(4): 542–543, doi: 10.1111/pde.13809.
14. Kfoury E., Almanfi A., Dougherty K.G., Krajcer Z. Endovascular abdominal aortic aneurysm repair by means of the chimney technique in a patient with crossed fused renal ectopia. *Tex. Heart Inst. J.* 2016; 43(3): 232–235, doi: 10.14503/THIJ-15-5025.
15. Colacchio E.C., Coggia M., Salcuni M., Giorgio D., De Robertis G., Colacchio G. Endovascular repair of an abdominal aortic aneurysm associated with crossed fused renal ectopia. *J. Vasc. Surg. Cases Innov. Tech.* 2020; 6(1): 140–142, doi: 10.1016/j.jvscit.2020.01.009.
16. Ertugay S., Posacioglu H., Bozkaya H., Parildar M. Chimney technique for solitary pelvic kidney. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2020; 31(5): 743–744, doi: 10.1093/icvts/ivaa154.
17. Tsuboi I., Ogawa K., Yokoyama S., Araki A., Kadota K., Wada K. Open partial nephrectomy of a left-to-right crossed fused renal ectopia with clear cell renal cell carcinoma: Case report and review of the literature. *Urol. Case Rep.* 2021; 41: 101964, doi: 10.1016/j.eucr.2021.101964.
18. Patandung R., Prapiska F.F., Kadar D.D. Open pyelolithotomy in an ectopic kidney: A case report. *Urol. Case Rep.* 2020; 35: 101528, doi: 10.1016/j.eucr.2020.101528.
19. Bhatnagar A., Choudhary M.K., Kumar S. Minimally invasive approaches for stone clearance in crossed fused renal ectopia. *J. Endourol. Case Rep.* 2020; 6(4): 374–376, doi: 10.1089/cren.2020.0119.
20. Tayeb W., Aldibane R., Justaniah A., Badr H. Embolization of an angiomyolipoma in a crossed fused renal ectopia. *Urol. Case Rep.* 2020; 33: 101297, doi: 10.1016/j.eucr.2020.101297.
21. Hamano I., Hatakeyama S., Soma O., Ishibashi Y., Yoneyama T., Yoneyama T. et al. Renal cell carcinoma in a lumbar ectopic kidney. *IJU Case Rep.* 2019; 2(3): 124–127, doi: 10.1002/iju5.12056.
22. Krishna R.K.G., Sinha K., Ahmad P., Mishra S.K., Gaurav K. Renal cell carcinoma in ectopic pelvic kidney: A rare case report with relevant surgical anatomy. *Urol. Case Rep.* 2019; 27: 100963, doi: 10.1016/j.eucr.2019.100963.
23. Nowroozi M.R., Ghorbani H., Amini E., Arbab A., Ghadian A. Unusual presentation of renal cell carcinoma in crossed ectopic kidney. *Nephrourol. Mon.* 2015; 7(3): e26760, doi: 10.5812/numonthly.7(3)2015.26760.
24. Adamakis I., Pourmaras C., Katafigiotis I., Kousournas G., Fragkiadis E., Leotsakos I. et al. Radical cystectomy and lymphadenectomy to two patients with pelvic kidney: surgical pitfalls and considerations. *Case Rep. Med.* 2013; 2013: 841806, doi: 10.1155/2013/841806.
25. Sakamoto K., Kojima Y., Takeda R., Terai K., Matsuda M. Solitary pelvic kidney encountered during laparoscopic colectomy. *J. Minim. Access Surg.* 2005; 1(3): 133–135, doi: 10.4103/0972-9941.18998.
26. Nakai N., Yamaguchi T., Kinugasa Y., Shiomi A., Tomioka H., Kagawa H. et al. Laparoscopic sigmoid colectomy for a patient with sigmoid colon cancer and crossed-fused renal ectopia: a case report. *Int. Surg.* 2015; 100(3): 423–427, doi: 10.9738/INTSURG-D-13-00255.1.



## Assessment of consumption of light, “lekki” and fit products among students of dietetics

### Ocena spożycia wyrobów typu light, lekki oraz fit wśród studentów kierunku dietetyka

Anna Szczyrba<sup>1</sup> , Marek Kardas<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Doctoral School, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Food Technology and Quality Evaluation, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Light, “lekki” and fit products appear increasingly more often on the Polish market, and food producers, although they are obliged to include information on the labels of products with a reduced energy value and appropriate markings, do not always do it correctly. The lack of strict legal regulations on the naming of low-energy products gives food producers the opportunity to market products whose name may mislead consumers in terms of their nutritional and health values. The aim of this study is to assess the consumption of light, “lekki” and fit products among students of dietetics.

**MATERIAL AND METHODS:** An anonymous survey was conducted using an original questionnaire, in which 117 students of dietetics took part. The results were compiled using an Excel spreadsheet.

**RESULTS:** From the analysis of the results, people with normal body weight most often consume light products several times a month (34.9%), with excessive body weight 2–3 times a week (41.2%), and those underweight less than once a month (28.6%).

**CONCLUSIONS:** Regardless of their degree and place of residence, students of dietetics most often consume light, “lekki” and fit products several times a month. People with a normal body weight, as well as those who pay attention and control their body weight, consume these products several times a month.

#### KEYWORDS

light, “lekki”, fit, consumption assessment, students

Received: 13.04.2023

Revised: 22.06.2023

Accepted: 18.07.2023

Published online: 13.12.2023

Address for correspondence: mgr Anna Szczyrba, Szkoła Doktorska, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Poniatowskiego 15, 40-055 Katowice, Polska, e-mail: anna.szczyrba.09@gmail.com



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland





## STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Produkty typu light, lekki oraz fit pojawiają się coraz częściej na polskim rynku, a producenci żywności, chociaż mają obowiązek umieszczania na etykietach produktów informacji o obniżonej wartości energetycznej i odpowiednich oznaczeń, nie zawsze robią to prawidłowo. Brak ścisłych regulacji prawnych w zakresie nazewnictwa produktów niskoenergetycznych daje producentom żywności możliwość wprowadzania na rynek produktów, których nazwa może wprowadzić konsumentów w błąd w zakresie ich wartości odżywczych i zdrowotnych. Celem niniejszej pracy jest ocena spożycia wyrobów typu light, lekki oraz fit wśród studentów kierunku dietetyka.

**MATERIAŁ I METODY:** Wykorzystując autorski kwestionariusz ankiety, przeprowadzono anonimowe badanie, w którym wzięło udział 117 studentów dietetyki. Wyniki opracowano za pomocą arkusza kalkulacyjnego Excel.

**WYNIKI:** Z przeprowadzonej analizy wynika, że osoby z prawidłową masą ciała najczęściej spożywają produkty typu light kilka razy w miesiącu (34,9%), z nadmierną masą ciała 2–3 razy w tygodniu (41,2%), a z niedowagą rzadziej niż raz w miesiącu (28,6%).

**WNIOSKI:** Niezależnie od stopnia studiów oraz miejsca zamieszkania studenci dietetyki najczęściej spożywają produkty light, „lekki” oraz fit kilka razy w miesiącu. Osoby o prawidłowej masie ciała, a także osoby, które zwracają uwagę i kontrolują masę ciała, spożywają te produkty kilka razy w miesiącu.

## SŁOWA KLUCZOWE

light, lekki, fit, ocena spożycia, studenci

## INTRODUCTION

Nowadays, almost every food product in the world has its equivalent in a lower-energy version. A rich offer of low-energy products is offered in the United States, where food with a reduced energy value is popular and willingly purchased, which may be related to the large number of people struggling with overweight and obesity [1,2]. Also on the Polish market, we can increasingly more often find products labelled “lekki”. According to the law, the manufacturer of such a product may use such a name if its energy value is reduced by at least 30% (total energy value) in relation to the primary product. In addition, the manufacturer should also include on the label information about the property that determines that the product can be described as “lekki”. However, in Poland the market of low-energy food products is not properly systematized, and a certain amount of the terminology used is not regulated by law [3,4,5]. Food producers are eager to take advantage of legal loopholes and introduce food with names suggesting a product with a reduced energy value. In connection with the above, there are products on the market that have the word “fit”, “fitness” or “slim” in their names. Nevertheless, products marked in this way very often do not differ from their traditional counterparts, and may even be more caloric than them. Furthermore, on store shelves in Poland one can find both products marked as “light” and “lekki” [5,6]. According to the analysis of food products carried out on the Warsaw market in 2013, where 150 different food products described as light were analyzed, only ¼ of them met the conditions of the statement contained in Regulation (EC) No. 1924/2006 [7].

There is a systematic increase in the range of products with a reduced energy value offered on the market.

There are ever more products described as “light”, “lekki” or “fit”, which can be placed on the market without major problems owing to legal inaccuracies in the food sector. The dairy industry is the most developed industry in terms of the production of “light”, “lekki” and “fit” products, and the smallest amount of “low-calorie” products is introduced by the meat industry. It is difficult for consumers to choose products that will provide the right amount of calories to meet their physiological needs and what is more, the process of purchasing food is determined by many factors. The factors most often determining the choice of a product are the chemical composition, nutritional value, functional features, economic and social factors. Sometimes consumers are guided by fashion when choosing a product, especially in the case of products labeled “light”, “lekki”, “fit” or “fitness”. Sometimes the choice of food by consumers is accidental because not every consumer has sufficient knowledge about food [8,9,10,11,12]. The insufficiently regulated food market and the producers’ desire to achieve high profits from the sale of products cause the situation that there are products on the Polish market that do not meet the standards. It is therefore important to assess the consumption of energy-reduced food by consumers, in particular by consumers with knowledge of proper nutrition.

## MATERIAL AND METHODS

An anonymous survey was conducted among students of dietetics at universities in Poland, which included 120 people. Due to incorrect completion of the questionnaire, 3 questionnaires were excluded from the analysis, thus 117 people ultimately took part in the survey. The share of surveys not included in the analysis is 2.5%. The study involved 109 women and





8 men, which accounted for 93% and 7% of the respondents. The average age of the respondents was 24. The second year of 2nd cycle students accounted for 33%, the third year of 1st cycle students 32%, the first year of 1st cycle students 16%, the first year of 2nd cycle students 12% and the second year of 1st cycle students 7% of the respondents. Most of the students participating in the study live in the city (71% – urban; 29% – rural). For each of the surveyed students, the body mass index (BMI, kg/m<sup>2</sup>) was calculated on the basis of body height and weight. As a result of the assessment of the BMI and the analysis of the results in accordance with the interpretation of the BMI by according to World Health Organization (WHO), 2 people were diagnosed with obesity of the 2nd degree, 1 person with the 1st degree of obesity, and

14 people were overweight. 86 respondents had normal body weight and 14 were underweight. The results were compiled using an Excel spreadsheet.

## RESULTS

According to the analysis, the largest number of women declared the consumption of light, “lekki” and fit products “less than once a month”, while the largest number of men declared the consumption of this type of products “once a day”. None of the men declared that they “do not consume” such products. Light and “lekki” products, in turn, each are not consumed by 22.9%, and fit by 19.3% of the surveyed women (Figures 1 and 2).

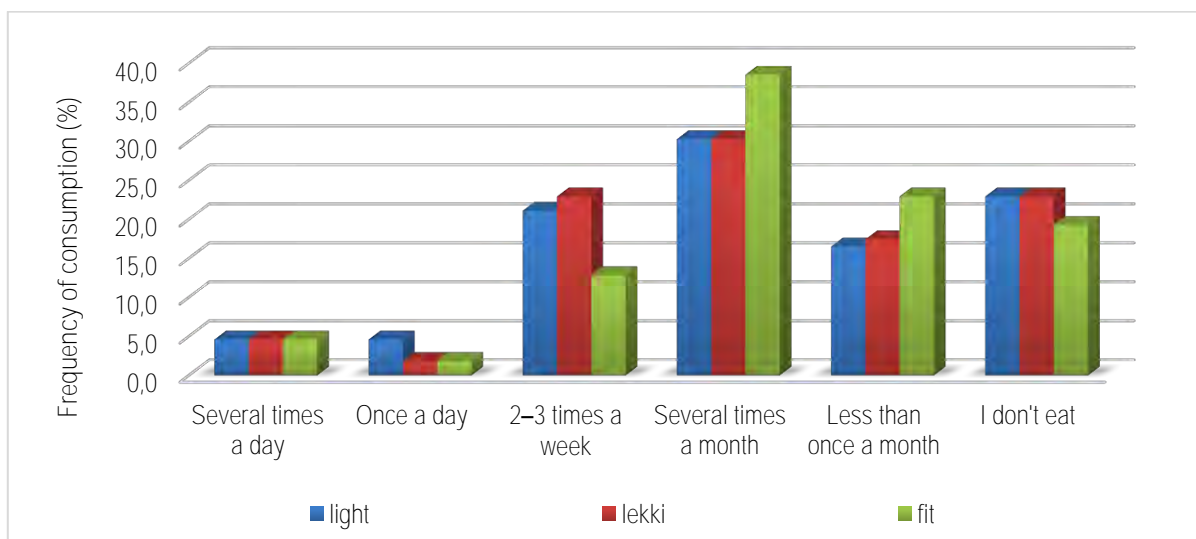


Fig. 1. Frequency of consumption of light, “lekki”, fit products in group of surveyed women (n = 109).

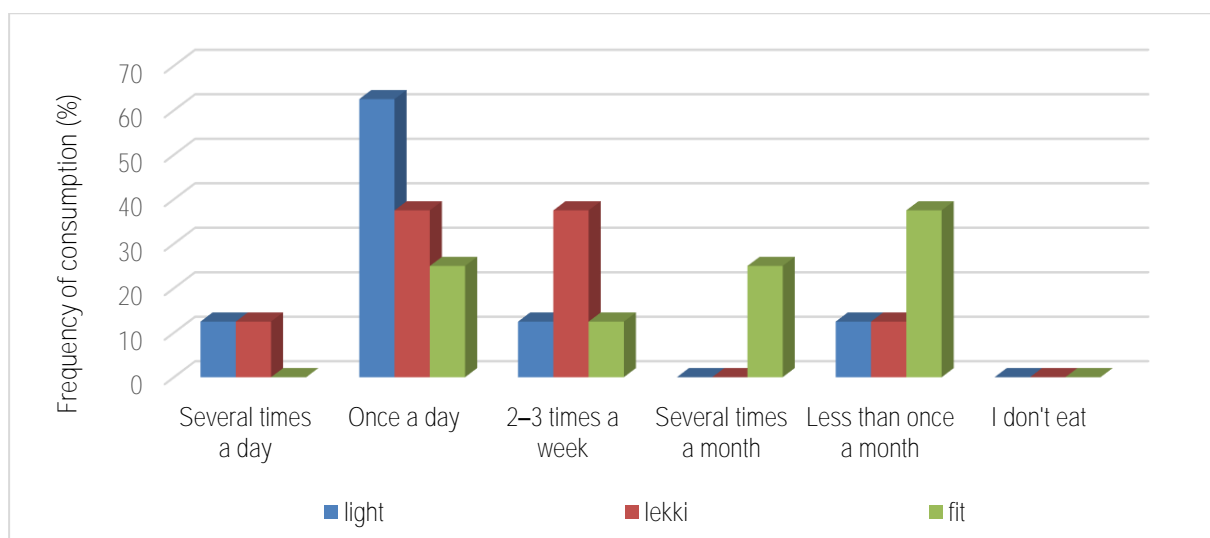


Fig. 2. Frequency of consumption of light, “lekki”, fit products in group of surveyed men (n = 8).



Regardless of the cycle of studies, the consumption of light, “lekki” and fit products “several times a day” and “once a day” was always declared by less than 4 people. Fit products are more often not consumed by the respondents from the 1st cycle of studies compared to light and “lekki” products (17.2% for light and “lekki”, 21.9% for fit). In turn, fit products are more likely to be chosen by 2nd cycle students compared to light and “lekki” products (“I don’t eat” for “lekki”, light 28.3% for each, for fit 18.7%; Table I). Both people living in

rural and urban areas usually consume light, “lekki” and fit products “several times a month”. These products are not consumed by approx. 21.4% of the respondents living in the city. Irrespective of the group of products with a reduced energy value, their consumption “several times a day” was declared by 6% of the respondents living in the city. None of the people living in rural areas declared the consumption of light, “lekki” and fit products “several times a day” (Table II).

Table I. Frequency of consumption of light, “lekki”, fit products by students depending on cycle of studies (n = 117)

Cycle of studies	Answer	Light products (number of people)	“Lekki” products (number of people)	Fit products (number of people)
1st cycle	several times a day	3	3	4
	once a day	4	1	1
	2–3 times a week	19	18	8
	several times a month	22	22	21
	less than once a month	5	9	16
	I don't eat	11	11	14
2nd cycle	several times a day	2	2	1
	once a day	2	2	1
	2–3 times a week	9	10	8
	several times a month	12	14	22
	less than once a month	13	10	11
	I don't eat	15	15	10

Table II. Frequency of consumption of light, “lekki” and fit products by students depending on place of residence (n = 117)

Place of residence	Answer	Light products (number of people)	“Lekki” products (number of people)	Fit products (number of people)
Urban area	several times a day	5	5	5
	once a day	5	2	0
	2–3 times a week	19	20	13
	several times a month	24	26	30
	less than once a month	13	14	18
	I don't eat	18	17	18
Rural area	several times a day	0	0	0
	once a day	1	1	2
	2–3 times a week	9	8	3
	several times a month	10	10	13
	less than once a month	5	5	9
	I don't eat	8	9	6

According to the survey analysis, the largest number of people with a normal body weight declared the consumption of light, “lekki” and fit products “several times a month” – the consumption of these products was respectively 34.9%, 31.4% and 39.5% of the respondents. In the group of people with excessive body weight, the largest number of respondents declared the consumption of light and “lekki” products “2–3 times a week”, and fit products “several times

a month”. The consumption of light and fit products in this group of respondents, “2–3 times a week”, was declared by 41.2% for each, and “lekki” products by 35.3%. On the other hand, in the group of underweight people, the consumption of light, “lekki” and fit products was most often declared “less than once a month” (respectively: 28.6%, 42.9%, 35.7%; Table III). Most of the respondents (85%) control their body weight and pay attention to it. The students from



this group most often declared the consumption of food with a reduced energy value “several times a month”. People who do not pay attention to their body weight usually do not consume light and “lekki” products. Fit products in this group are most often eaten “several times a month” (Table IV).

In the largest group of students, i.e. in the group of people who are physically active several times a week,

light, “lekki” and fit products are most often consumed “several times a month” (light – 31.4%, “lekki” – 32.9%, fit – 38.6%). Light and “lekki” products are equally willingly consumed in this group “2–3 times a week” (28.6% for each). People who declare a lack of physical activity most often do not consume light, “lekki” and fit products at all (Table V).

Table III. Frequency of consumption of light, “lekki”, fit products by respondents depending on body mass index (BMI: n = 117)

BMI interpretation	Answer	Light products (number of people)	“Lekki” products (number of people)	Fit products (number of people)
Underweight	several times a day	1	2	1
	once a day	1	0	1
	2–3 times a week	3	1	2
	several times a month	2	3	2
	less than once a month	4	6	5
	I don't eat	3	2	3
Correct body weight	several times a day	4	2	4
	once a day	2	2	1
	2–3 times a week	18	21	12
	several times a month	30	27	34
	less than once a month	12	13	18
	I don't eat	20	21	17
Excessive body weight	several times a day	2	1	1
	once a day	1	1	0
	2–3 times a week	7	6	2
	several times a month	2	6	7
	less than once a month	2	0	4
	I don't eat	3	3	3

Table IV. Frequency of consumption of light, “lekki”, fit products by students depending on control of their body weight (n = 117)

Body mass control	Answer	Light products (number of people)	“Lekki” products (number of people)	Fit products (number of people)
Pay attention and control their body mass	several times a day	5	5	5
	once a day	6	2	2
	2–3 times a week	24	24	16
	several times a month	32	32	34
	less than once a month	15	18	24
	I don't eat	17	18	18
Do not pay attention and do not control their body mass	several times a day	0	0	0
	once a day	0	1	0
	2–3 times a week	4	4	0
	several times a month	2	4	9
	less than once a month	3	1	3
	I don't eat	9	8	6



Table V. Frequency of consumption of light, “lekki”, fit products by students depending on physical activity (n = 117)

Physical activity	Answer	Light products (number of people)	“Lekki” products (number of people)	Fit products (number of people)
Every day	several times a day	0	0	0
	once a day	2	1	0
	2–3 times a week	2	2	1
	several times a month	2	2	4
	less than once a month	3	4	3
	I don't eat	0	0	1
A few times a week	several times a day	2	1	2
	once a day	3	1	1
	2–3 times a week	20	20	9
	several times a month	22	23	27
	less than once a month	10	13	19
	I don't eat	13	12	12
Once a week	several times a day	3	3	2
	once a day	0	0	0
	2–3 times a week	5	2	4
	several times a month	5	9	6
	less than once a month	4	2	5
	I don't eat	2	3	2
Less than once a week	several times a day	0	1	1
	once a day	1	1	0
	2–3 times a week	1	3	2
	several times a month	4	2	5
	less than once a month	1	0	0
	I don't eat	5	5	4
Never	several times a day	0	0	0
	once a day	0	0	1
	2–3 times a week	0	1	0
	several times a month	1	0	1
	less than once a month	0	0	0
	I don't eat	6	6	5

## DISCUSSION

According to the results of this study, light, “lekki” and fit products are consumed daily (“several times a day”, “once a day”) by 9%, 7% and 6% of the surveyed students, respectively. Light and “lekki” products were consumed 2–3 times a week by 24% of the respondents, and fit products by 14%. The largest percentage of the surveyed students consume products with a reduced energy value several times a month (29% – light, 31% – “lekki”, 37% – fit). Light products are consumed less than once a month by 15%, “lekki” products by 16% and fit products by 23% of the dietetics students. Light and “lekki” products are not consumed by 22% of the respondents, while fit products by 21%. It was revealed that 13% of the people did not consume any of the three groups of products with a reduced energy value (light,

“lekki”, fit). In the study by Dąbrowska and Babicz-Zielińska [11], concerning consumer behavior towards new generation food, only 7% of the respondents declare that they do not consume this type of food. This food is most often consumed once a month by the people surveyed (27%). Also in the study by Górecka et al. [13], the majority of the respondents included low-calorie products in their diet. In addition, regardless of the body weight of the respondents, the average frequency of consumption of this type of products was similar, and products with a reduced energy value were not commonly used by people with excessive body weight. In our own study, only 18% of the overweight or obese people do not eat such products at all (Table III). The research by Grzelak et al. [14] shows that as many as 83% of students of Poznań universities have consumed an item from the group of products with a reduced energy value at least once in



their lives. Nevertheless, despite such a high percentage result, as many as 65% of the respondents did not decide to consume low-energy products on a regular basis. Only 24% of the surveyed students repeatedly reached for this type of products after trying them before. According to the research results of Jeżewska-Zychowicz et al. [10], the interest in light food is relatively low. As many as 32.2% of their respondents do not eat this food at all, and 38.1% eat it rarely. Out of a thousand surveyed people, only ¼ declare their willingness to buy such food in the near future. The research focusing on dairy products with a reduced energy value conducted by Gniedziejko and Lesiów [15] shows that as many as 60% of the respondents do not buy this type of food. Light dairy products are bought by 9% of the respondents every day, 19% buy them several times a week, and 15% less than once a month. Most of the respondents buy this type of product once a week (47%). In our study, light products are consumed daily (“several times a day” and “once a day”) by 14.3% of underweight students and by 7% of students with normal body weight (Table III). On the other hand, students from Morocco [16] who are underweight usually do not consume light products every day (0.73%). The respondents with normal body weight consuming this type of products every day account for 3.28%. Light products are not eaten at all by 1.5% of the underweight respondents and 12.3% with normal body weight, while in our own study the

students who do not consume light products at all, those underweight constitute 21.4%, and 23.3% with a normal body weight.

## CONCLUSIONS

Based on the conducted research and analysis of the results, it can be concluded that:

1. Regardless of the degree of study, students of dietetics consume light, “lekki”, fit products usually several times a month.
2. Regardless of the place of residence (urban area/rural area), students most often consume light, “lekki” and fit products several times a month.
3. People with a normal weight consume light products usually several times a month. Underweight people consume this type of products less than once a month, while people with excessive body weight usually consume light products 2–3 times a week.
4. Most of the surveyed students pay attention to and control their body weight. These people usually eat energy-reduced food several times a month.

## Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

---

### Author's contribution

Study design – A. Szczyrba, M. Kardas

Data collection – A. Szczyrba

Data interpretation – A. Szczyrba

Manuscript preparation – A. Szczyrba

Literature research – A. Szczyrba

Final approval of the version to be published – M. Kardas

---

## REFERENCES

1. Korbutowicz T. Żywność funkcjonalna na rynku światowym. *Studia i Prace WNEiZ US* 2018; 53(2): 209–220, doi: 10.18276/sip.2018.53/2-16.
2. Daniek K. Nutritional needs as a determinant of the growing functional food market. [Article in Polish]. *Problemy Drobnych Gospodarstw Rolnych – Problems of Small Agricultural Holdings* 2018; 4: 5–18, doi: 10.15576/PDGR/2018.4.5.
3. Grochowicz J., Fabisiak A. Functional food – legal aspects and the meaning of selected bioactive ingredients. [Article in Polish]. *ZNUV* 2018; 60(3): 143–153.
4. Korbutowicz T. Functional foods in the European Union – the concept, requirements and development of markets. *Ekonomia – Wrocław Economic Review* 2017; 23(4): 151–167, doi: 10.19195/2084-4093.23.4.12.
5. Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *EUR-Lex* [online] <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2006/1924/oj> [accessed on 6 December 2023].
6. Szczepańska E., Grudowska E. Consumption of light foods and drinks among adults. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2020; 74: 68–76, doi: 10.18794/aams/113688.
7. Derewiaka D., Sobiecka A., Ciecierska M., Drużyńska B., Majewska E., Kowalska J. Characteristic of energy-reduced functional foods. [Article in Polish]. *Post. Tech. Przetw. Spoż.* 2013; 2: 70–74.
8. Tomaszewska M., Bilska B., Grzezińska W., Przybylski W. Functional food as a possibility for development of Polish food companies. [Article in Polish]. *Roczn. Nauk. Stow. Ekon. Roln. Agrob.* 2014; 16(3): 293–298.
9. El S.N., Simsek S. Food technological applications for optimal nutrition: An overview of opportunities for the food industry. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2012; 11(1): 2–12, doi: 10.1111/j.1541-4337.2011.00167.x.
10. Jeżewska-Zychowicz M., Jeznach M., Kosicka-Gębska M. Consumers' willingness to eat light food. [Article in Polish]. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2012; 45(3): 603–607.



11. Dąbrowska A., Babicz-Zielińska E. Consumers' behaviors with reference to novel food. [Article in Polish], *Hygeia Public Health* 2011; 46(1): 39–46.
12. Babicz-Zielińska E., Jeżewska-Zychowicz M. Impact of the environmental factors on food choice and consumption. [Article in Polish]. *Handel Wewnętrzny* 2015; 2(355): 5–18.
13. Górecka D., Czarnocińska J., Adamska D. Evaluation of frequency of consumption of low calorie products in a selected group of people. [Article in Polish]. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2015; 96(3): 648–651.
14. Grzelak T., Grubińska J., Kramkowska M., Walczak M., Czyżewska K. Student assessment of knowledge about low-calorie food and analysis of its consumption. [Article in Polish]. *Forum Zab. Metab.* 2014; 5(2): 77–86.
15. Gniedziejko M., Lesiów T. Consumer behaviour connected with the choice of dairy light products and their conditions. [Article in Polish]. *Engin. Sci. Technol.* 2018; 4(31): 31–51, doi: 10.15611/nit.2018.4.02.
16. Mestaghanmi H., Labriji A., Kaoutar S., Kehailou FZ., Mehdi M., M'Touguy I. et al. Consumption of light products and prevalence of obesity among a population of academics in Casablanca, Morocco. *IJASRE* 2020; 6(3): 150–165, doi: 10.31695/IJASRE.2020.3376.



## Cadmium and lead content in gluten and gluten-free bread available on Polish market – potential health risk to consumers

### Zawartość kadmu i ołowiu w pieczywie glutenowym i bezglutenowym dostępnym na polskim rynku – potencjalne ryzyko zdrowotne konsumentów

Magdalena Gacał<sup>1</sup> , Klaudia Gut-Pietrasz<sup>2</sup> , Małgorzata Ćwieląg-Drabek<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Department of Human Nutrition, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>2</sup>Department of Environmental Health, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

<sup>3</sup>Department of Environmental Health Risk Factors, Faculty of Public Health in Bytom, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Grain products, especially bread, play an essential role in the nutrition of people around the world. However, due to the release of excessive amounts of pollutants into the environment, grain products may also contain some amounts of potentially toxic elements, which may have a negative effect on the human body.

**MATERIAL AND METHODS:** The aim of the study is to analyze the content of heavy metals in selected gluten and gluten-free breads available on the Polish market, and to assess the non-cancerous and cancerous exposure of consumers to cadmium (Cd) and lead (Pb). This assessment covered the exposure of eight age groups. The content of Cd and Pb was determined by the ET-AAS method.

**RESULTS:** The highest mean concentration of Cd was recorded in wheat-rye bread (0.072 mg/kg), the lowest in gluten-free bread (0.021 mg/kg). The general distribution of Cd in individual types of bread was as follows: wheat-rye > wheat > rye > gluten-free bread.

**CONCLUSIONS:** The estimation of exposure to Cd and Pb of the consumers of wheat and wheat-rye bread showed that a significant health risk may occur in the population of children < 11 years of age.

#### KEYWORDS

bread, gluten, gluten-free, lead, cadmium, health risk

Received: 16.06.2023

Revised: 25.09.2023

Accepted: 25.09.2023

Published online: 13.12.2023

Address for correspondence: dr n. o zdr. Małgorzata Ćwieląg-Drabek, Zakład Środowiskowych Czynników Ryzyka Zdrowia, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Piekarska 18, 41-902 Bytom, tel. +48 32 397 65 29, e-mail address: mdrabek@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland





## STRESZCZENIE

**WSTĘP:** Produkty zbożowe, zwłaszcza pieczywo, odgrywają istotną rolę w żywieniu ludzi na całym świecie. Jednak ze względu na uwalnianie nadmiernych ilości zanieczyszczeń do środowiska produkty zbożowe mogą również zawierać pewne ilości pierwiastków potencjalnie toksycznych, które mogą mieć negatywny wpływ na organizm człowieka.

**MATERIAŁ I METODY:** Celem pracy jest analiza zawartości metali ciężkich w wybranych chlebach glutenowych i bezglutenowych dostępnych na polskim rynku oraz ocena nienowotworowego i nowotworowego narażenia konsumentów na kadm (Cd) i ołów (Pb). Ocena ta obejmowała narażenie ośmiu grup wiekowych. Zawartość Cd i Pb oznaczono metodą ET-AAS.

**WYNIKI:** Najwyższą średnią zawartość Cd odnotowano w pieczywie pszenno-żytnim (0,072 mg/kg), najniższą w pieczywie bezglutenowym (0,021 mg/kg). Ogólny rozkład Cd w poszczególnych rodzajach chleba przedstawiał się następująco: pszenno-żytni > pszenno-żytni > pszenno-żytni > bezglutenowy.

**WNIOSEK:** Oszacowanie narażenia na Cd i Pb konsumentów pieczywa pszenno-żytniego i pszenno-żytniego wykazało, że w populacji dzieci w wieku < 11 lat może wystąpić istotne ryzyko zdrowotne.

## SŁOWA KLUCZOWE

chleb, gluten, bezglutenowy, ołów, kadm, ryzyko zdrowotne

## INTRODUCTION

Grain products, especially bread, play a vital role in the nutrition of people around the world. Therefore, in recent years, nutritionists have paid special attention to bread, taking into account modern nutritional recommendations, which consider grain products as the basis of a balanced diet. In all the schemes promoting the principles of proper nutrition (so-called food pyramids) developed to date, grain products are placed almost at the base of the triangle, which should constitute the basis of the daily food ration of a healthy person, whereby their recommended consumption differs [1]. The consumption of bread in Poland is falling from year to year. Bread consumption is constantly decreasing, although it is a product rooted in the Polish culinary tradition. In 2020, a statistical resident of Poland ate on average less than 2.75 kg of bread per month, a year earlier it was 2.98 kg [2]. However, bread is still the most frequently consumed product in the group of grain products and in the largest quantities. The regularly declining sales are mainly influenced by the trend for healthy eating, which requires the elimination of carbohydrates from the daily diet, especially white bread. The decrease in consumption is also influenced by the reduced quality of most bread, compared to the “old times”, although Polish domestic bread is largely unique compared to foreign ones – it has an individual taste and is diverse. Whole grain, wheat, rye, yeast and sourdough bread are made, with the addition of, for example, bran, herbs, nuts, tomatoes and even dried fruit.

A diet based on grain products guarantees the proper development of our body because these products provide energy from the complex carbohydrates contained in them (mainly starch), proteins – an essential building component, B vitamins (in particular B1, B2, PP), minerals (calcium, iron, magnesium, zinc) and fiber [3]. Nevertheless, as a result of the release of

excessive amounts of pollutants into the environment related to industrial or agricultural activities (the use of artificial fertilizers and plant protection products), the grain products that we eat on a daily basis may also contain certain amounts of potentially toxic elements, which may have negative effects on the human body. As is commonly known, both cadmium (Cd) and lead (Pb) belong to the group of elements potentially dangerous to human health, and excessive amounts accumulated in the body can cause chronic or even acute poisoning. Heavy metals, including Cd and Pb, are neither degradable nor biodegradable. Once taken into the body, they bioaccumulate in it, most often in parenchymal organs such as the kidneys or liver, and are also deposited in the bones or the brain. They demonstrate mutagenic, embryotoxic, teratogenic, hepatotoxic, nephrotoxic, neurotoxic and even carcinogenic effects [4]. According to the classification of the International Agency for Research on Cancer (IARC), Cd is an element with confirmed carcinogenic activity in the human body (group I), inorganic Pb compounds are included in group 2A (possibly carcinogenic), and Pb itself in group 2B (presumably carcinogenic) [5].

In recent years, there has been growing public interest in gluten and a gluten-free diet. A gluten-free diet has become very popular and is promoted by many celebrities. It is estimated that approximately 10–20% of US and Australian residents consume gluten-free foods [6]. Nonetheless, this is not always related to medical indications. Gluten is a protein fraction found in the seeds of cereals such as wheat (gliadin), rye (secalin) and barley (hordein) [7]. The technological properties of gluten is the reason why gluten is so common. It gives the characteristic elasticity and texture to products made of gluten cereals. It is a protein that cannot be fully digested by the human body; it contains a 33-amino acid fragment consisting of, among others, glutamine and proline, which are resistant to gastric juice and all proteolytic enzymes in the human gastrointestinal tract [7,8].



There are many disorders associated with the consumption of gluten. Celiac disease, i.e. gluten-dependent celiac disease, gluten-sensitive enteropathy, or non-tropical sprue is an inflammatory enteropathy of the small intestine of autoimmune etiology. It applies to people with a genetic predisposition and it is associated with a permanent intolerance to gluten. Contrary to popular belief, there is no way to “outgrow celiac disease”. This is because celiac disease is misconceived as a food allergy. It is estimated that it affects 0.3–1% of people, but symptoms appear in about one in 3,345 people [8]. In patients diagnosed with celiac disease and Duhring’s disease, the only effective method of treatment is to follow an absolutely gluten-free diet until the end of life [9].

According to the Commission Implementing Regulation (EU) No 828/2014, gluten-free products are those that do not naturally contain gluten or contain gluten in a concentration of less than 20 ppm, i.e. 20 mg/kg [10]. Only products containing less than 20 ppm gluten may bear the word “gluten-free” on the packaging, which should be next to the product name. Naturally gluten-free products should not be labeled as special dietary products, however, they may be described as naturally gluten-free, provided that the requirements for gluten-free food are met. Gluten-free products, unlike gluten ones, are characterized by a low content of B vitamins, iron, zinc, magnesium, calcium and dietary fiber. Moreover, they contain large amounts of fat (including saturated and hydrogenated fats), sucrose and starch [10]. Additionally, increasingly more studies show that people on a gluten-free diet are exposed to higher concentrations of toxic elements such as Cd, Pb, mercury and arsenic than those who do not follow such a diet. The increased exposure results, among other things, from the way of cultivating gluten-free cereals (e.g. rice), as well as the greater ability to accumulate heavy metals by these cereals [11].

The study assumes that gluten-free bread, due to its composition – a high content of rice or maize flour, will be highly contaminated with heavy metals, and therefore their consumption will constitute a significant health risk.

In order to verify the hypothesis, the aim of the study was outlined, which is to analyze the content of Cd and Pb in selected gluten and gluten-free breads available on the Polish market, and then to assess the non-cancerous and cancerous exposure of consumers of different ages to these heavy metals.

## MATERIAL AND METHODS

The research material consisted of 50 bread samples in total, in which the content of Cd and Pb was analyzed. The tested breads were purchased in various cities in the Silesia Province (Poland). The collected research

material was characterized by a diverse composition, mainly in terms of the type of flour used for baking. Taking into account the increasing number of people diagnosed with food intolerances (e.g. allergy to gluten or celiac disease), 10 samples of gluten-free bread were tested in the study, taking into account the availability and dissemination of the brand on the Polish market. The characteristics of the collected samples are presented in Table I.

Table I. Characteristics of analyzed samples

Kind of bread	Number of samples
Gluten-free	10
Wheat-rye	12
Wheat	20
Rye	8

The preparation of the purchased bread for analysis first of all involved thorough homogenization of the research material, and then the preparation of 1 g ( $\pm 3\%$ ) samples. All the samples were subjected to the microwave mineralization process in a closed system Magnum II mineralizer (Ertec, Poland). 8 ml of ultrapure nitric acid (V) and 1 ml of hydrogen peroxide (Merck, Germany) were used as reactants. After the completion of mineralization, the samples were poured into 25 ml volumetric flasks and made up to the required volume with ultrapure water. The parameters of the microwave mineralization process are presented in Table II.

Table II. Parameters of microwave mineralization process

Stage	Time	Power	Pressure	Temperature
I	5 min	60%	17–20 bar	295–300°C
II	5 min	80%	30–32 bar	295–300°C
III	10 min	100%	42–45 bar	295–300°C
IV (sample cooling)	10 min	–	–	–

The content of Cd and Pb in the mineralized bread samples was determined by the method of atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization (ET-AAS) on a Savanta Sigma spectrometer by GBC (Australia). Before starting the analysis, a calibration curve was made. In order to monitor the validity of the results, during the determination of Cd and Pb in the bread samples, the analysis also included double samples and tests with the addition of a standard (Cd and Pb), the determinations of which fell within the acceptable range. Additionally, a matrix modifier was used to determine the Pb content (10 mg/ml  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  & 600  $\mu\text{g/ml}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  in 2%  $\text{HNO}_3$ ). The LOD (limit of detection) and LOQ (limit of quantification) values for Cd and Pb, wavelengths and other method parameters are presented in Table III.



Table III. Method parameters

Parameter	Cd	Pb
LOD	0.0043 mg/kg	0.044 mg/kg
LOQ	0.008 mg/kg	0.08 mg/kg
Wavelength	228.8 nm	217 nm
Lamp current	0.3 mA	5.0 mA
Slit width	0.5 nm	1.0 nm

Cd – cadmium; Pb – lead; LOD – limit of detection; LOQ – limit of quantification.

Based on the obtained results, an estimated, lifetime assessment of the exposure of gluten and gluten-free bread consumers to Cd and Pb was performed. This assessment covered the exposure of eight age groups and examined non-cancerous and cancerous health risks. The assessment was made on the basis of the formulas recommended by the American Environmental Protection Agency (US EPA) [12,13]. At the outset, the average daily dose (ADD) was calculated, which was the starting value for further calculations – both non-cancerous and cancerous exposure. Then, based on the obtained ADD values, the hazard quotient (HQ) was calculated. Based on the obtained HQ values, calculated for Cd and Pb, the hazard index (HI) was calculated for both elements. Based on the slope factor (SF) and the baseline ADD value, the cancer risk (CR) and the cancer risk index (CRI) were calculated. The formulas used to calculate the individual indicators are presented below.

$$ADD \left[ \frac{mg}{kg} \right] = \frac{C \left[ \frac{mg}{kg} \right] \times IngR \left[ \frac{kg}{day} \right]}{BW [kg]}$$

where: ADD – average daily dose, C – concentration, IngR – ingestion rate, BW – body weight [12]. The consumption (IngR) used in the calculation was 100 g, which corresponds to an average of 4 slices of bread.

*Non-cancerous exposure*

$$HQ = \frac{ADD \left[ \frac{mg}{kg} \right]}{RfD \left[ \frac{mg}{kg} \right]}$$

where: HQ – hazard quotient, RfD – reference dose [12].

$$HI = HQ1 + HQ2 + \dots + HQx$$

where: HI – hazard index, HQx – the hazard quotient for a given x element [12].

*Cancerous exposure*

$$CR = \frac{ADD \left[ \frac{mg}{kg} \right]}{SF \left[ \frac{mg}{kg} \right]}$$

where: CR – cancer risk, SF – slope factor [13].

$$CRI = CR1 + CR2 + \dots + CRx$$

where: CRI – cancer risk index, CRx – cancer risk for a given x element [13].

The HQ, HI, CR, and CRI scores are unitless values. In the case of HQ and HI, a result of less than or equal to 1 is considered a safe level for the study population. A score of more than 1 is associated with the possibility of negative, non-cancerous health effects in the exposed population, where the amount consumed and the degree of contamination of consumed products will remain at the current level. However, it is only an indicative value, which does not mean that these effects will occur or will not occur at all [12,13].

The CR index is defined as the lifetime probability of developing cancer in an exposed population/person as a result of 24-hour exposure to a given daily amount of a carcinogen for seventy years. Acceptable CR limits are assumed to be from  $1 \times 10^{-6}$  to  $< 1 \times 10^{-4}$  for a single carcinogen and multi-element carcinogens. For example, a CR of  $10^{-4}$  suggests that 1 in 10,000 people is likely to develop cancer. The SF factor is defined as the risk generated by the lifetime mean amount of 1 mg/kg/day of a carcinogen and is specific to the pollutant – the element [13]. Table IV shows the values of the reference doses (RfDs) and slope factors (SFs) for Cd and Pb [14,15,16,17].

Table IV. Reference dose (RfD) and slope factor (SF) for cadmium (Cd) and lead (Pb)

Element	RfD [mg/kg/day]	SF [mg/kg/day]
Cd	0.0010	6.1
Pb	0.0036	8.5

The risk was estimated for the age groups recommended by US EPA [18], taking into account the average body weight in a given group (Table V).

Table V. Age groups and their assigned average body weight

Population	Body weight [kg]
Child 6–11 months	9.20
Child 1–<2 years	11.40
Child 2–<3 years	13.80
Child 3–<6 years	18.60
Child 6–<11 years	31.80
Child 11–<16 years	56.80
Child 16–<21 years	71.60
Adult	80.00

RESULTS

The highest average Cd concentration in the analyzed types of bread was recorded in wheat-rye bread



(0.072 mg/kg), while the lowest was in gluten-free bread (0.021 mg/kg). A Pb concentration above the limit of quantification (> LOQ) was recorded only in one wheat bread sample (Table VI). The general distribution of Cd in individual types of bread was as follows: wheat-rye bread > wheat bread > rye bread > gluten-free bread (Figure 1).

Table VI. Descriptive statistics of distribution of cadmium (Cd) and lead (Pb) concentrations in tested bread samples

Type of bread	Cd [mg/kg]			Pb [mg/kg]		
	min	max	mean	min	max	mean
Gluten-free	< LOQ	0.040	0.021	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Wheat-rye	0.030	0.164	0.072	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Wheat	0.022	0.090	0.050	< LOQ	0.152	–
Rye	0.008	0.088	0.041	< LOQ	< LOQ	< LOQ

LOQ – limit of quantification

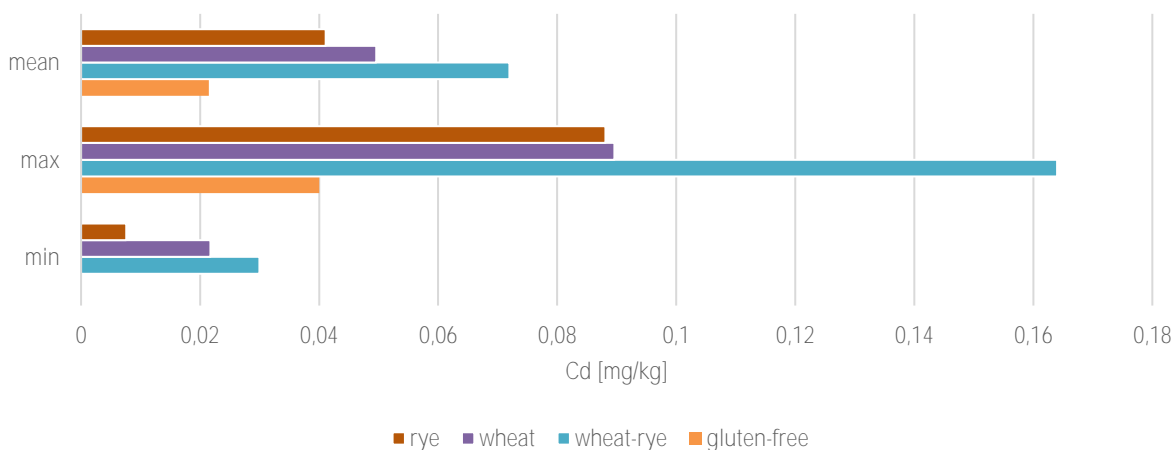


Fig. 1. Descriptive statistics of cadmium (Cd) concentration distribution in tested bread samples.

Pursuant to Regulation 2021/1323 on the maximum levels for Cd in certain foodstuffs [19], no separate limit values have been established for bread. Nevertheless, the maximum allowable level of Cd in cereals is indicated, amounting to 0.10 mg/kg of fresh weight, distinguishing rye from this group, for which the limit value is 0.050 mg/kg [19]. Similar regulations apply to the content of Pb, the limit value of which in cereals according to Regulation 2021/1317 [20] is 0.20 mg/kg fresh weight. In the only sample where the Pb content was > LOQ, which was a wheat bread sample, the maximum level was not exceeded. In the

case of rye bread, the limit value of Cd was exceeded in 2 of 8 samples. In the case of the remaining samples, the permissible Cd content of 0.10 mg/kg was exceeded in one sample and it applied to wheat-rye bread. Taking into account the hazard quotient calculated for the minimum, average and maximum Cd concentration determined in the tested bread samples, the value of HQ > 1 was recorded in 3 exposure cases, in the scenario assuming the maximum concentration of Cd determined in the tested samples of wheat-rye bread, in the population of children aged from 6 months to < 3 years (Table VII, VIII and IX).

Table VII. Average daily dose (ADD) and hazard quotient (HQ) calculated for minimum cadmium concentration determined in tested bread samples

Type of bread	Child 6–11 months	Child 1–<2 years	Child 2–<3 years	Child 3–<6 years	Child 6–<11 years	Child 11–< 16 years	Child 16–< 21 years	Adult
	ADD							
Wheat-rye	0.000326	0.000263	0.000217	0.000161	0.000094	0.000053	0.000042	0.000037
Wheat	0.000236	0.000191	0.000157	0.000117	0.000068	0.000038	0.000030	0.000027
Rye	0.000083	0.000067	0.000055	0.000041	0.000024	0.000013	0.000011	0.000009
HQ								
Wheat-rye	0.33	0.26	0.22	0.16	0.09	0.05	0.04	0.04
Wheat	0.24	0.19	0.16	0.12	0.07	0.04	0.03	0.03
Rye	0.08	0.07	0.06	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01



Table VIII. Average daily dose (ADD) and hazard quotient (HQ) calculated for mean cadmium concentration determined in tested bread samples

Type of bread	Child 6–11 months	Child 1–<2 years	Child 2–<3 years	Child 3–<6 years	Child 6–<11 years	Child 11–<16 years	Child 16–<21 years	Adult
	ADD							
Gluten-free	0.000234	0.000188	0.000156	0.000116	0.000068	0.000038	0.000030	0.000027
Wheat-rye	0.000782	0.000631	0.000522	0.000387	0.000226	0.000127	0.000101	0.000090
Wheat	0.000539	0.000435	0.000359	0.000267	0.000156	0.000087	0.000069	0.000062
Rye	0.000447	0.000361	0.000298	0.000221	0.000129	0.000072	0.000057	0.000051
HQ								
Gluten-free	0.23	0.19	0.16	0.12	0.07	0.04	0.03	0.03
Wheat-rye	0.78	0.63	0.52	0.39	0.23	0.13	0.10	0.09
Wheat	0.54	0.44	0.36	0.27	0.16	0.09	0.07	0.06
Rye	0.45	0.36	0.30	0.22	0.13	0.07	0.06	0.05

Table IX. Average daily dose (ADD) and hazard quotient (HQ) calculated for maximum cadmium concentration determined in tested bread samples

Type of bread	Child 6–11 months	Child 1–<2 years	Child 2–<3 years	Child 3–<6 years	Child 6–<11 years	Child 11–<16 years	Child 16–<21 years	Adult
	ADD							
Gluten-free	0.000435	0.000351	0.000290	0.000215	0.000126	0.000070	0.000056	0.000050
Wheat-rye	0.001783	0.001439	0.001188	0.000882	0.000516	0.000289	0.000229	0.000205
Wheat	0.000974	0.000786	0.000649	0.000482	0.000282	0.000158	0.000125	0.000112
Rye	0.000083	0.000067	0.000055	0.000041	0.000024	0.000013	0.000011	0.000009
HQ								
Gluten-free	0.44	0.35	0.29	0.22	0.13	0.07	0.06	0.05
Wheat-rye	1.78	1.44	1.19	0.88	0.52	0.29	0.23	0.21
Wheat	0.97	0.79	0.65	0.48	0.28	0.16	0.13	0.11
Rye	0.08	0.07	0.06	0.04	0.02	0.01	0.01	0.01

The CR at a level equal to and higher than  $10^{-4}$  was recorded in the exposure scenario assuming the average Cd concentration determined in the tested samples of wheat-rye bread – for the population of children from 6 months to < 2 years of age, and the maximum concentration of Cd determined in the tested samples of wheat-rye bread – for the population of children aged 6 months to < 6 years of age and in the studied samples of wheat bread – for the population of children from 6 months to < 3 years of age (Table X). The HQ value determined for the maximum concentration of Pb in the tested sample of wheat bread

for any of the analyzed age groups did not exceed a value equal to 1. However, a cancer risk exceeding  $10^{-4}$  was reported for the population of children from 6 months to < 3 years of age (Table XI). The non-cancer hazard index (HI) calculated for the maximum concentration of Pb and Cd determined in the samples of wheat bread exceeded a value equal to 1 in two cases – for the population of children from 6 months to < 2 years of age. The cancer risk index at a level higher than  $10^{-4}$  was obtained for 5 of the analyzed age groups – for children aged 6 months to < 11 years (Table XII).



Table X. Cancer risk (CR) calculated for cadmium (Cd) contained in tested bread samples

Type of bread	Child 6–11 months	Child 1–<2 years	Child 2–<3 years	Child 3–<6 years	Child 6–<11 years	Child 11–<16 years	Child 16–<21 years	Adult
CR for <u>minimal</u> concentration of Cd								
Wheat-rye	$5.3 \times 10^{-5}$	$4.3 \times 10^{-5}$	$3.6 \times 10^{-5}$	$2.6 \times 10^{-5}$	$1.5 \times 10^{-5}$	$9.0 \times 10^{-6}$	$7.0 \times 10^{-6}$	$6.0 \times 10^{-6}$
Wheat	$3.9 \times 10^{-5}$	$3.1 \times 10^{-5}$	$2.6 \times 10^{-5}$	$1.9 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$6.0 \times 10^{-6}$	$5.0 \times 10^{-6}$	$4.0 \times 10^{-6}$
Rye	$1.4 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$9.0 \times 10^{-6}$	$7.0 \times 10^{-6}$	$4.0 \times 10^{-6}$	$2.0 \times 10^{-6}$	$2.0 \times 10^{-6}$	$2.0 \times 10^{-6}$
CR for <u>mean</u> concentration of Cd								
Gluten-free	$3.8 \times 10^{-5}$	$3.1 \times 10^{-5}$	$2.6 \times 10^{-5}$	$1.9 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$6.2 \times 10^{-6}$	$4.9 \times 10^{-6}$	$4.4 \times 10^{-6}$
Wheat-rye	$1.3 \times 10^{-4}$	$1.0 \times 10^{-4}$	$8.6 \times 10^{-5}$	$6.3 \times 10^{-5}$	$3.7 \times 10^{-5}$	$2.1 \times 10^{-5}$	$1.7 \times 10^{-5}$	$1.5 \times 10^{-5}$
Wheat	$8.8 \times 10^{-5}$	$7.1 \times 10^{-5}$	$5.9 \times 10^{-5}$	$4.4 \times 10^{-5}$	$2.6 \times 10^{-5}$	$1.4 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$1.0 \times 10^{-5}$
Rye	$7.3 \times 10^{-5}$	$5.9 \times 10^{-5}$	$4.9 \times 10^{-5}$	$3.6 \times 10^{-5}$	$2.1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-5}$	$9.4 \times 10^{-6}$	$8.4 \times 10^{-6}$
CR for <u>maximum</u> concentration of Cd								
Gluten-free	$7.1 \times 10^{-5}$	$5.8 \times 10^{-5}$	$4.8 \times 10^{-5}$	$3.5 \times 10^{-5}$	$2.1 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-5}$	$9.2 \times 10^{-6}$	$8.2 \times 10^{-6}$
Wheat-rye	$2.9 \times 10^{-4}$	$2.4 \times 10^{-4}$	$2.0 \times 10^{-4}$	$1.5 \times 10^{-4}$	$8.5 \times 10^{-5}$	$4.7 \times 10^{-5}$	$3.8 \times 10^{-5}$	$3.4 \times 10^{-5}$
Wheat	$1.6 \times 10^{-4}$	$1.3 \times 10^{-4}$	$1.1 \times 10^{-4}$	$7.9 \times 10^{-5}$	$4.6 \times 10^{-5}$	$2.6 \times 10^{-5}$	$2.1 \times 10^{-5}$	$1.8 \times 10^{-5}$
Rye	$1.4 \times 10^{-5}$	$1.1 \times 10^{-5}$	$9.0 \times 10^{-6}$	$6.7 \times 10^{-6}$	$3.9 \times 10^{-6}$	$2.2 \times 10^{-6}$	$1.7 \times 10^{-6}$	$1.6 \times 10^{-6}$

Table XI. Average daily dose (ADD), hazard quotient (HQ) and cancer risk (CR) calculated for maximum lead concentration determined in tested bread sample

Parameter	Child 6–11 months	Child 1–<2 years	Child 2–<3 years	Child 3–<6 years	Child 6–<11 years	Child 11–<16 years	Child 16–<21 years	Adult
ADD	0.001650	0.001332	0.001100	0.000816	0.000477	0.000267	0.000212	0.000190
HQ	0.46	0.37	0.31	0.23	0.13	0.07	0.06	0.05
CR	$1.9 \times 10^{-4}$	$1.6 \times 10^{-4}$	$1.3 \times 10^{-4}$	$9.6 \times 10^{-5}$	$5.6 \times 10^{-5}$	$3.1 \times 10^{-5}$	$2.5 \times 10^{-5}$	$2.2 \times 10^{-5}$

Table XII. Non-cancer hazard index (HI) and cancer risk index (CRI) calculated for maximum concentration of lead and cadmium determined in wheat bread samples

Parameter	Child 6–11 months	Child 1–<2 years	Child 2–<3 years	Child 3–<6 years	Child 6–<11 years	Child 11–<16 years	Child 16–<21 years	Adult
HI	1.43	1.16	0.95	0.71	0.41	0.23	0.18	0.16
CRI	$3.54 \times 10^{-4}$	$2.86 \times 10^{-4}$	$2.36 \times 10^{-4}$	$1.75 \times 10^{-4}$	$1.02 \times 10^{-4}$	$5.73 \times 10^{-5}$	$4.55 \times 10^{-5}$	$4.07 \times 10^{-5}$

## DISCUSSION

In the past, only people diagnosed with celiac disease, about 1% of the population, avoided gluten in their diets. In recent years, the mass media have often misrepresented gluten-free food as a healthier choice, as a result of which ever more people say that gluten is a harmful part of the diet and should be eliminated [21]. A market study conducted in the US in 2013 by the Mintel Group found that 17% of the respondents avoided gluten, while 31% replied that a gluten-free diet is a “fad diet”. Nonetheless, two years later, when asked the same question, 25% of the respondents answered that they were on a gluten-free diet, and 47% of the respondents indicated that a gluten-free diet was a diet caused by a whim. It is worrying that only 11% of the respondents on a gluten-free diet consulted their doctor or other health care professional on the decision

to introduce it. It is especially dangerous because the self-exclusion of gluten may make it impossible to diagnose celiac disease later [22].

Naghipour et al. [23] examined 40 different grades of gluten bread available in Iran. In the tested samples they examined, among others, the Cd and Pb content. The obtained Pb concentrations for all the tested samples ranged from 0 to 3.3 mg/kg, while the Cd concentrations ranged from 0 to 0.4 mg/kg. The results of the Iranian researchers were higher than those obtained in the present study. Basaran [24] tested 60 samples of bread available on the Turkish market. The average Cd content in the tested material was 0.015 mg/kg, and Pb was 0.034 mg/kg. Analyzing only the Cd content, these values were lower than those obtained in the present research. In Polish studies by Hajok et al. [25], the Cd content was determined, among others, in wheat and wheat-rye bread. The obtained concentration range was as follows: wheat



bread 0.01–0.07 mg/kg, wheat-rye bread 0.01–0.05 mg/kg. Comparing the concentration values obtained in the selected types of bread, in the author's own work, comparable Cd values in wheat bread and higher values in wheat-rye bread were determined. In a Nigerian study by Irogbeyi et al. [26], the Pb content was found at the level of 0.05–0.45 mg/kg.

Basaran [24] assessed the non-cancer risk of the Turkish population in his research, and the resulting HQ was lower than 1. Hajok et al. [25] also obtained a value of HQ below 1, and the assessment covered the Polish population. The assessments carried out by the researchers covered the general population and did not take into account a division into age groups, which, as shown in the present study, is crucial in estimating individual health risk. The authors are aware that for the youngest age groups (especially children from 6 months to under a year), the assumed consumption of 100 g of bread a day is high, but not impossible.

Due to the fact that a gluten-free diet is often based on rice products, people who follow it are exposed to an additional portion of arsenic. Scientists have found that such a diet can provide up to twice as much of this compound, which is a known cause of cancer. Experts also point out that the amount of mercury, another toxic chemical found in gluten-free products, is nearly 70 percent greater than in a normal diet. Researchers warn that people who do not need to follow such a diet, i.e. people who do not experience stomach problems after eating gluten-containing products, should not switch to it. Gluten-free versions of grain products, including bread and spaghetti, often contain rice flour as a wheat substitute. However, rice can contain up to ten times more arsenic than other foods because of the way it is grown [27,28,29]. In the studies by Raehsler et al. [30] it was found that those on a gluten-free diet had significantly higher levels of total arsenic in their urine and levels of mercury, Pb, and Cd in their blood than those who did not avoid gluten. The authors also emphasized that research is needed to determine the long-term effects of the accumulation of these elements in people on a gluten-free diet. The current study did not include the determination of mercury or arsenic in the tested bread samples, both gluten and gluten-free, which is a work limitation and should be supplemented with these analyses. In the study by Naghipour et al. [23] the arsenic concentrations in the tested samples of gluten bread were each time below the limit of quantification (< LOQ). In the Basaran study [24] the mean concentration of arsenic in gluten breads was 0.019 mg/kg, and the concentration of mercury was 0.0004 g/kg. No studies were found in which these elements were determined in gluten-free bread.

After examining the available scientific papers, the authors would like to point out that the presented results are innovative owing to the inclusion of gluten-free bread in the research and because of the estimated cancer and non-cancer health risks related to the consumption of Cd-contaminated bread (and in the case of one sample, also Pb).

## CONCLUSIONS

1. The highest concentrations of Cd were recorded in wheat-rye bread. In turn, the content of this element was the lowest in gluten-free bread.
2. The concentrations of Cd and Pb were definitely lower in gluten-free than in gluten breads. In subsequent studies, mercury and arsenic should be included in the analyses.
3. In the study population, with a constant level of consumption and the persistent degree of Cd contamination of bread, there may be a significant non-cancer health risk. This risk concerns the group of children < 3 years of age and includes the consumption of wheat-rye bread.
4. The estimation of exposure to Cd and Pb of consumers of wheat and wheat-rye bread allowed us to conclude that with a constant level of consumption and a constant degree of contamination of these products, a significant cancer health risk may occur in the population of children < 11 years of age.

## Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## Declaration of originality

This manuscript has not been published elsewhere and it has not been simultaneously submitted for publication elsewhere. All the tables and figures are our original work and no permissions are required.

## Funding

The present study was funded by the Medical University of Silesia, Katowice, Poland – grant number PCN-2-018/N/0/Z.

**Author's contribution**

Study design – M. Gacal, M. **Ćwieląg**-Drabek  
Data collection – M. Gacal, K. Gut-Pietrasz, M. **Ćwieląg**-Drabek  
Data interpretation – K. Gut-Pietrasz, M. **Ćwieląg**-Drabek  
Statistical analysis – M. **Ćwieląg**-Drabek  
Manuscript preparation – M. Gacal, K. Gut-Pietrasz, M. **Ćwieląg**-Drabek  
Literature research – M. Gacal, M. **Ćwieląg**-Drabek

**REFERENCES**

1. Piramida zdrowego żywienia i aktywności fizycznej dla osób dorosłych. M. Jarosz [ed.], Instytut żywności i żywienia. Warszawa 2016.
2. Statistics Poland / Statistical Products Department. Statistical Yearbook of the Republic of Poland 2020 [pdf]. Statistical Publishing Establishment. Warsaw 2020 [online] <https://stat.gov.pl/en/topics/statistical-yearbooks/statistical-yearbooks/statistical-yearbook-of-the-republic-of-poland-2020,2,22.html> [accessed: 14.08.2022].
3. Ceglńska A. Importance of breads in daily life of man. [Article in Polish]. ZNUV 2017; 54(3): 30–37.
4. Briffa J., Sinagra E., Blundell R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon* 2020; 6(9): e04691, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04691.
5. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–132. IARC [online] <https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/> [accessed: 12.08.2022].
6. Makharia A., Catassi C., Makharia G.K. The overlap between irritable bowel syndrome and non-celiac gluten sensitivity: a clinical dilemma. *Nutrients* 2015; 7(12): 10417–10426, doi: 10.3390/nu7125541.
7. Interna Szczeklika: podręcznik chorób wewnętrznych 2014. A. Szczeklika, P. Gajewski [eds.]. Medycyna Praktyczna. Kraków 2014.
8. Dittfeld A., Gwizdek K., Parol D., Michalski M. Glutenfree diet – characteristics of target groups. [Article in Polish]. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2018; 72: 227–239, doi: 10.5604/01.3001.0011.7376.
9. Celiakia i dieta bezglutenowa: praktyczny poradnik. G. Konińska, A. Marczewska, P. Sabak-Huzior, M. Zródlak [eds.]. Polskie Stowarzyszenie Osób z Celiakią i na Diecie Bezglutenowej. Warszawa 2021 [online] <https://celiakia.pl/publikacja/poradnik-celiakia-dieta-bezglutenowa/> [accessed: 11.12.2023].
10. Food and Agriculture Organization. Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten (CXS 118-1979) [pdf]. Codex Alimentarius; International Food Standards. FAO/WHO 2015 [online] [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B118-1979%252FCXS\\_118e\\_2015.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B118-1979%252FCXS_118e_2015.pdf) [accessed: 11.12.2023].
11. Myszkowska-Rygiak J. Długotrwałe stosowanie diety bezglutenowej – problemy praktyczne i zagrożenia. *Bez glutenu* 2013; 5: 26–27.
12. Exposure Assessment Tools by Routes – Ingestion (Calculations). US EPA, 2022 [online] <https://www.epa.gov/expobox/exposure-assessment-tools-routes-ingestion#main-content> [accessed: 13.06.2022].
13. Risk Assessment Forum. Guidelines for Carcinogen Risk Assessment [pdf]. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC 2005 [online] [https://www.epa.gov/sites/default/files/2013-09/documents/cancer\\_guidelines\\_final\\_3-25-05.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2013-09/documents/cancer_guidelines_final_3-25-05.pdf) [accessed: 08.06.2022].
14. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission / Report of the Fifth Session of the Codex Committee on Contaminants in Foods [pdf]. FAO/WHO 2011 [online] [https://www.fao.org/input/download/report/758/REP11\\_CFe.pdf](https://www.fao.org/input/download/report/758/REP11_CFe.pdf) [accessed: 13.06.2022].
15. Mohammadi A.A., Zarei A., Majidi S., Ghaderpoury A., Hashempour Y., Saghi M.H. et al. Carcinogenic and non-carcinogenic health risk assessment of heavy metals in drinking water of Khorramabad, Iran. *MethodsX* 2019; 6: 1642–1651, doi: 10.1016/j.mex.2019.07.017.
16. Cadmium (CASRN 7440-43-9). IRIS / EPA [online] [https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance\\_nmbr=141](https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=141) [accessed: 13.06.2022].
17. Lead (CASRN 7439-92-1). IRIS / EPA [online] [https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance\\_nmbr=277](https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=277) [accessed: 13.06.2022].
18. Exposure Factors Handbook. Chapter 8: Body weight studies. 2011. US EPA, 2022. [online] <https://www.epa.gov/expobox/exposure-factors-handbook-chapter-8> [accessed: 14.06.2022].
19. Commission Regulation (EU) 2021/1323 of 10 August 2021 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in certain foodstuffs.
20. Commission Regulation (EU) 2021/1317 of 9 August 2021 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of lead in certain foodstuffs.
21. Diez-Sampedro A., Olenick M., Maltseva T., Flowers M. A gluten-free diet, not an appropriate choice without a medical diagnosis. *J. Nutr. Metab.* 2019; 2019: 2438934, doi: 10.1155/2019/2438934.
22. Half of Americans think gluten-free diets are a fad while 25% eat gluten-free foods. Mintel, December 4, 2015 [online] <https://www.mintel.com/press-centre/half-of-americans-think-gluten-free-diets-are-a-fad-while-25-eat-gluten-free-foods/> [accessed: 10.08.2022].
23. Naghipour D., Amouei A., Nazmara S. A comparative evaluation of heavy metals in the different breads in Iran: A case study of Rasht city. *Health Scope* 2014; 3(4): e18175, doi: 10.17795/jhealthscope-18175.
24. Basaran B. Comparison of heavy metal levels and health risk assessment of different bread types marketed in Turkey. *J. Food Comp. Anal.* 2022; 108:104443, doi: 10.1016/j.jfca.2022.104443.
25. Hajok I., Rogala D., Gut K., Osmala W. Health risk resulting from exposure to cadmium contained in some types of bread. [Article in Polish]. *Environ. Med.* 2018; 21(2): 30–35, doi: 10.19243/2018204.
26. Irogbeyi L.A., Nweke I.N., Akuodor G.C., Prince U.C., Ebere A.C. Evaluation of levels of potassium bromate and some heavy metals in bread and wheat flour sold in Aba metropolis, South Eastern Nigeria. *APJMT* 2019; 8(3): 71–77, doi: 10.22038/apjmt.2019.13792.
27. Freeman H.J. Adverse effects of gluten-free diets. *Int. J. Celiac Dis.* 2018; 6(3): 71–73, doi: 10.12691/ijcd-6-3-7.
28. Niland B., Cash B.D. Health benefits and adverse effects of a gluten-free diet in non-celiac disease patients. *Gastroenterol. Hepatol. (N Y)* 2018; 14(2): 82–91.
29. Wünsche J., Lambert C., Gola U., Biesalski H.K. Consumption of gluten free products increases heavy metal intake. *NFS Journal* 2018; 12: 11–15, doi: 10.1016/j.nfs.2018.06.001.
30. Raehsler S.L., Choung R.S., Marietta E.V., Murray J.A. Accumulation of heavy metals in people on a gluten-free diet. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2018; 16(2): 244–251, doi: 10.1016/j.cgh.2017.01.034.





## Triple knot of umbilical cord – case report and review of literature

### Potrójny węzeł pępowinowy – opis przypadku i przegląd literatury

Maisa Manasar-Dyrbuś , Joanna Sójka-Kupny, Piotr Gibała , Rafał Stojko 

Department of Gynaecology, Obstetrics and Oncological Gynaecology, Faculty of Health Science in Katowice,  
Medical University of Silesia, Katowice, Poland

#### ABSTRACT

Multiple true nodes of the umbilical cord are rarely described in literature and refer to patients suffering from pregnancy complications, such as intrauterine growth restriction, or oligohydramnios. We present a case of a 30-year-old woman, admitted for labor induction in the 41st week of her first pregnancy. After rupture of the membranes with no signs of infection, the patient had labor induced with oxytocin infusion, which had to be discontinued due to abnormalities in the cardiotocography, which persisted after infusion cessation and required an emergency cesarean section to be performed, during which a healthy male baby was born.

The triple true node located 24 cm from the placental umbilical insertion was discovered in the 62 cm long umbilical cord, which had not been suspected ultrasonographically during the pregnancy.

To our knowledge, our case is the first to date to illustrate the presence of multiple nodes of the umbilical cord, which did not lead to complications during pregnancy, but resulted in an urgent cesarean section. Our case illustrates a possible clinical challenge that may be faced by almost every practicing obstetrician-gynecologist.

#### KEYWORDS

cesarean section, knot, obstetrics, umbilical cord

Received: 22.10.2022

Revised: 15.08.2023

Accepted: 25.09.2023

Published online: 14.12.2023

Address for correspondence: lek. Maisa Manasar-Dyrbuś, Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, Wydział Nauk o Zdrowiu w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Ks. Leopolda Markiecki 87, 40-211 Katowice, Polska, tel. +48 32 357 62 10, e-mail: m.manasar@bonifratrzy.katowice.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

Mnogie węzły prawdziwe pępowiny są rzadko opisywane w literaturze i zazwyczaj dotyczą pacjentek, u których dochodzi do powikłań ciąży takich jak wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu czy małowodzie. W pracy przedstawiono opis przypadku 30-letniej kobiety, przyjętej do indukcji porodu w 41. tygodniu pierwszej ciąży. Po pęknięciu błon płodowych bez cech infekcji pacjentce indukowano poród wlewem oksytocyny, który jednak musiał zostać przerwany z powodu nieprawidłowości w zapisie kardiokograficznym utrzymujących się po zaprzestaniu wlewu, co skutkowało koniecznością wykonania pilnego cięcia cesarskiego, podczas którego urodził się zdrowy noworodek płci męskiej.

Analiza 62-centymetrowej pępowiny wykazała potrójny węzeł prawdziwy zlokalizowany 24 cm od końca łożyskowego pępowiny, którego nie uwidocznilo ultrasonograficznie podczas ciąży.

Według naszej wiedzy opisany przypadek jest pierwszym do tej pory, ilustrującym obecność mnogiego węzła pępowinowego, który nie prowadził do powikłań w czasie ciąży, ale skutkowało koniecznością pilnego cięcia cesarskiego. Przypadek ilustruje możliwe wyzwania kliniczne, z którym może się spotkać niemal każdy położnik-ginekolog.

## SŁOWA KLUCZOWE

cięcie cesarskie, pępowina, położnictwo, węzeł

## INTRODUCTION

True umbilical knots represent one of the less frequent pathologies of the placental-umbilical complex. Literature data report their frequency at 0.3–1.5% [1,2]. The occurrence of umbilical knots does not often lead to fetal complications; however, if the blood flow in the umbilical cord is restricted due to excessive constriction, the risk of fetal growth restriction and even stillbirth and other perinatal complications increases significantly [1,3].

## CASE REPORT

A 30-year-old woman with no prior comorbidities was admitted in the 41st week of her first pregnancy to induce labor. During the pregnancy, she had been regularly monitored ambulatorily, had no hospitalizations, and received no medications. The pregnancy was spontaneous, and the serial ultrasound assessments revealed no pathology, with fetal biometrics consistent with the time of amenorrhea. On the first night after admission, the patient's membranes ruptured, despite no cervical dilation and no contractions. At that time, she had no laboratory signs of infection, with reference values of C-reactive

protein and white blood count, and a negative vaginal-rectal swab for group B streptococcus (GBS).

As a result of the post-term pregnancy and the fact that the membranes had already ruptured, labor was induced by oxytocin infusion. Due to the late and variable decelerations observed in the cardiotocography recording, it was decided to discontinue the oxytocin infusion. In the following minutes, the persistence of uterine contractile action and the presence of abnormalities in the cardiotocography (CTG) recording were continuously observed (Figure 1A).

A decision was made to perform an emergency cesarean section. A male baby was born, with a weight of 3460 g, a body length of 55 cm, and 10 Apgar points.

Analysis of the umbilical cord and placenta showed an umbilical cord length of 62 cm, with the presence of a triple true node located 24 cm from the placental umbilical insertion (Figure 1B). The neonate was transferred to the neonatal unit, where no abnormalities were observed in the physical examination or laboratory tests. The umbilical cord blood showed a pH of 7.345, with a mildly elevated dioxide concentration ( $p\text{CO}_2$  – 48.4 mm Hg) and bicarbonate concentration at the lower limit of reference ( $\text{HCO}_3$  – 21.1 mmol/L) and a slightly elevated lactate concentration of 2.7 mmol/L. The patient gave informed consent for publication of the case report, provided her utmost anonymity.

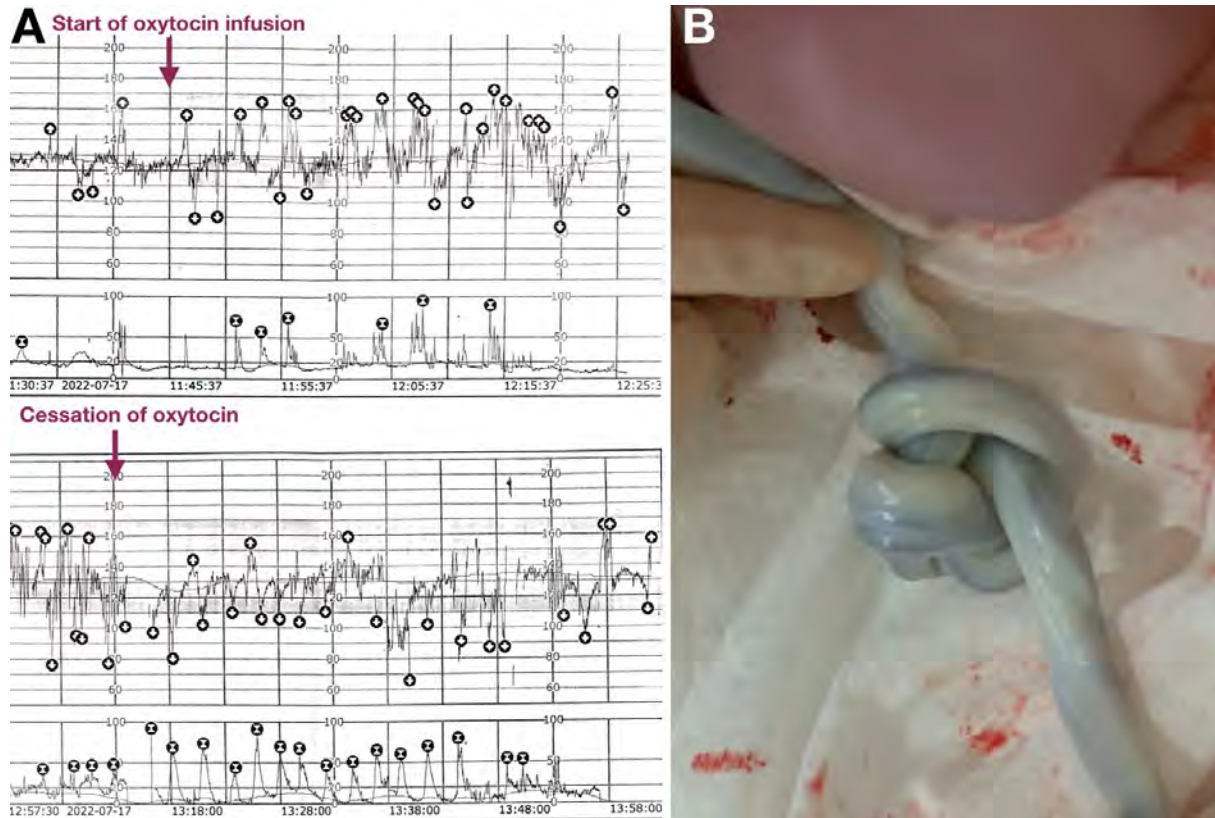


Fig. 1. A – cardiotocographic recording demonstrating late and variable decelerations (arrows down) and contractions (hourglasses) after administration and cessation of oxytocin infusion; B – photograph of triple umbilical cord knot immediately after cesarean section.

## DISCUSSION

Numerous risk factors for true umbilical knots have been identified, including multiple pregnancies, short fetal length, and low weight, a male fetus, or the presence of gestational diabetes [4]. It should be noted that none of the aforementioned risk factors were described in either the patient or the fetus and serial repeat ultrasound examinations during pregnancy did not identify any abnormalities.

It must be added, however, that ultrasound can identify the presence of an umbilical node only in a limited number of pregnant women. In a large analysis of 5.575 deliveries, a true umbilical cord knot at birth was found in 18 patients. In all these women the ultrasound images were retrospectively analyzed, finding that all had normal ultrasound findings in the second trimester with no umbilical cord abnormalities, while 72% had color Doppler ultrasound in the third trimester, in which no umbilical cord abnormalities were found [2]. Without a doubt, the significantly better quality of the ultrasound devices that are currently in use should be taken into account, but the results indicate the possible difficulties in identifying umbilical nodes during pregnancy. Worth noting is the fact that in the case that we presented, despite the presence of a triple

umbilical node, there were no abnormalities in the umbilical artery Doppler assessment.

Our case illustrates the clinical challenges that almost every practicing obstetrician-gynecologist may face. Indeed, it should be noted that, although references to cases of multiple true nodes on the umbilical cord can be found in the literature, we have not come across a case of a patient in whom multiple nodes would not lead to complications already during pregnancy. For example, a 2007 paper by Clerici et al. [5] described five nodes on an umbilical cord that had caused complications – i.e. anhydramnios and fetal growth restriction – diagnosed as early as at the 18th week of gestation.

In the second case described, in which four umbilical cord knots were identified, the first ultrasound abnormality (placenta previa) was found at 15 + 1 weeks gestation, while at 20 + 5 weeks gestation the patient was diagnosed with oligohydramnios, which resolved in the further course of the pregnancy [6]. Furthermore, regularly assessed flow in the umbilical arteries indicated continuously maintained abnormalities from 27 + 2 weeks' gestation onwards. Therefore both of the above cases refer to situations where it is possible to identify in advance that the patient might be at higher risk of perinatal complications. Meanwhile, in the case of multiple



umbilical cord nodes presented by us, no abnormalities were identified by antenatal testing until the onset of labor.

Despite multiple studies assessing the possible association between the presence of true umbilical cord nodes and complications during pregnancy or labor, the

phenomenon is still being debated. In our study, we presented the case of a patient who, despite the presence of a triple true umbilical cord node, had no abnormalities during pregnancy, but after the onset of labor, multiple decelerations occurred, resulting in the need for an emergency cesarean section.

---

#### Author's contribution

Study design – M. Manasar-Dyrbuś, R. Stojko

Manuscript preparation – M. Manasar-Dyrbuś, P. Gibala

Literature research – J. Sójka-Kupny, P. Gibala

Final approval of the version to be published – R. Stojko

---

#### REFERENCES

1. Airas U., Heinonen S. Clinical significance of true umbilical knots: a population-based analysis. *Am. J. Perinatol.* 2002; 19(3): 127–132, doi: 10.1055/s-2002-25311.
2. Sepulveda W., Shennan A.H., Bower S., Nicolaidis P., Fisk N.M. True knot of the umbilical cord: a difficult prenatal ultrasonographic diagnosis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 1995; 5(2): 106–108, doi: 10.1046/j.1469-0705.1995.05020106.x.
3. Hershkovitz R., Silberstein T., Sheiner E., Shoham-Vardi I., Holcberg G., Katz M. et al. Risk factors associated with true knots of the umbilical cord. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2001; 98(1): 36–39, doi: 10.1016/s0301-2115(01)00312-8.
4. Szczepanik M.E., Wittich A.C. True knot of the umbilical cord: a report of 13 cases. *Mil. Med.* 2007; 172(8): 892–894, doi: 10.7205/mil-med.172.8.892.
5. Clerici G., Koutras I., Luzietti R., Di Renzo G.C. Multiple true umbilical knots: a silent risk for intrauterine growth restriction with anomalous hemodynamic pattern. *Fetal Diagn. Ther.* 2007; 22(6): 440–443, doi: 10.1159/000106351.
6. Srinivasan A., Graves L. Four true umbilical cord knots. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 2006; 28(1): 32–35, doi: 10.1016/S1701-2163(16)32053-9.



## Gastrointestinal parasitosis diagnosed by colonoscopy as cause of weight loss in 46-year-old woman with three negative stool tests for presence of parasites

Parazytoza przewodu pokarmowego rozpoznana w kolonoskopii jako przyczyna spadku masy ciała u 46-letniej kobiety z ujemnym wynikiem trzykrotnie wykonanego badania kału na obecność pasożytów

Grzegorz K. Jakubiak , Mikołaj Pietrzak , Grzegorz Cieślak , Agata Stanek 

Department of Internal Medicine, Angiology and Physical Medicine, Faculty of Medical Sciences in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

### ABSTRACT

Parasitic infections of the digestive tract remain an important health problem on a global scale. The current epidemiological situation in Poland is unknown because most parasitic diseases, including all caused by helminths, are not subject to reporting. Clinical practice shows that diseases of such etiology are sometimes overlooked in the process of differential diagnosis. In addition, the commonly available classical examination of a stool sample utilizing a light microscope is a relatively low-sensitivity test. This study presents a case report of a 46-year-old patient admitted to the Clinic for planned diagnostics due to weight loss without other gastrointestinal symptoms. In the course of the diagnosis, it occurred that the cause of the weight loss was a parasitic infestation of the gastrointestinal tract with roundworms, which were observed in a colonoscopy, but no parasites were found in the collected material in stool examinations performed three times. The presented case report demonstrates that parasitic diseases still should be taken into consideration in clinical practice in the process of differential diagnosis. In addition, further effort is needed to improve the sensitivity of parasitological diagnostic methods. Moreover, there is a need for research on the current epidemiological situation in Poland in the field of gastrointestinal parasitosis.

### KEYWORDS

intestinal parasitosis, roundworms, stool test, weight loss

Received: 16.07.2023

Revised: 17.09.2023

Accepted: 28.09.2023

Published online: 14.12.2023

Address for correspondence: dr n. med. Grzegorz K. Jakubiak, Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Angiologii i Medycyny Fizycznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Stefana Batorego 15, 41-902 Bytom, tel. +48 32 786 16 30, e-mail: grzegorz.jakubiak@sum.edu.pl



This is an open access article made available under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license, which defines the rules for its use. It is allowed to copy, alter, distribute and present the work for any purpose, even commercially, provided that appropriate credit is given to the author and that the user indicates whether the publication has been modified, and when processing or creating based on the work, you must share your work under the same license as the original. The full terms of this license are available at <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode>.

Publisher: Medical University of Silesia, Katowice, Poland



## STRESZCZENIE

Zarażenia pasożytnicze przewodu pokarmowego pozostają ważnym problemem zdrowotnym w skali globalnej. Aktualna sytuacja epidemiologiczna w Polsce nie jest znana, ponieważ większość chorób pasożytniczych, w tym wszystkie robaczyce, nie podlega obowiązkowi raportowania. Praktyka kliniczna pokazuje, że choroby o takiej etiologii bywają pomijane w procesie diagnostyki różnicowej. Ponadto powszechnie dostępne klasyczne badanie próbki kału w mikroskopie świetlnym jest badaniem o stosunkowo niskiej czułości. W pracy przedstawiono opis przypadku 46-letniej pacjentki, przyjętej do Kliniki w celu planowej diagnostyki z powodu spadku masy ciała, bez innych dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego. W toku diagnostyki wykazano, że przyczyną spadku masy ciała była infestacja pasożytnicza przewodu pokarmowego robakami obłymi, co stwierdzono w kolonoskopii, natomiast trzykrotnie wykonane badanie kału nie wykazało obecności pasożytów w pobranym materiale. Przedstawiony opis przypadku pokazuje, że o chorobach pasożytniczych nadal należy pamiętać w praktyce klinicznej i uwzględniać je w procesie diagnostyki różnicowej. Ponadto potrzebne są prace nad poprawą czułości metod diagnostyki parazytologicznej. Konieczne są również badania dotyczące aktualnej sytuacji epidemiologicznej w Polsce w zakresie parazytoz przewodu pokarmowego.

## SŁOWA KLUCZOWE

parazytoza jelitowa, robaki obłe, badanie kału, spadek masy ciała

## INTRODUCTION

Parasitic diseases of the gastrointestinal tract are still among the most important public health problems worldwide. Among the parasitic infestations of the

gastrointestinal tract, diseases caused by protozoa and diseases caused by helminths can be distinguished. Helminths can be further divided into flatworms and roundworms. The list of the most important etiological factors of parasitic infestations of the gastrointestinal tract is presented in Table I [1,2,3].

Table I. List of selected major etiological factors of intestinal parasitic infestations

Protozoa	Helminths	
	flatworms	roundworms
<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Taenia saginata</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Taenia solium</i>	<i>Enterobius vermicularis</i>
<i>Balantidium coli</i>	<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Ancylostoma duodenale</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Echinococcus granulosus</i>	<i>Trichuris trichura</i>
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Echinococcus multilocularis</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i>

Experience in medical practice shows that parasitic diseases of the gastrointestinal tract are often not taken into account in the process of the differential diagnosis of such symptoms as weight loss, abdominal pain, and irregular bowel movements. Therefore, it is not surprising that the term “neglected diseases” is sometimes used in relation to parasitic diseases of the gastrointestinal tract [4]. The clinical picture of gastrointestinal parasitic infestations is variable and depends on such factors as the location of the infection, secondary changes in the mucosa, competition for nutrients, and the severity of the invasion. The most common symptoms associated with gastrointestinal helminths include weight loss, abdominal pain, and diarrhoea [3]. Diseases caused by helminths are often mildly symptomatic and the mortality rate of these diseases remains low. It is postulated to be the result of evolutionary mechanisms that led to a certain adaptation between the parasite and the host, which is associated with the modulation of the immune response [5]. There are some reports suggesting that helminth therapy may be useful in the treatment of selected autoimmune diseases [6].

The purpose of this article is to present the case report of a patient hospitalized in the Clinic of Internal Medicine, Angiology, and Physical Medicine, diagnosed with gastrointestinal parasitosis based on colonoscopy, whereas three stool tests for the presence of parasites were negative.

## CASE REPORT

**Anamnesis and physical examination**

A 46-year-old patient was admitted to the Clinic for planned diagnostics. In the medical history she reported a weight loss of about fifteen kilograms in a month with no other complaints from the digestive tract. No abnormalities were found in the physical examination. The patient had been treated until then for microcytic anaemia with oral iron supplementation with good results (no features of anaemia were found in the laboratory tests during hospitalization). She declared that she had no allergies but admitted to smoking cigarettes.





### Laboratory tests

In terms of laboratory diagnostics, the following tests were performed: peripheral blood count parameters, coagulation parameters (prothrombin time and activated partial thromboplastin time), inflammation parameters (red blood cell sedimentation rate, C-reactive protein – CRP, and fibrinogen levels in the blood), kidney function parameters (creatinine), parameters of damage and function of the liver and pancreas (activity of aminotransferases, amylase, alkaline phosphatase, and gamma-glutamyl transpeptidase as well as the blood concentration of bilirubin), lipid profile parameters (total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, and triglycerides), tumour markers (alpha-fetoprotein, carcinoembryonic antigen, and carcinoma antigen 125) as well as the concentration of electrolytes (sodium, potassium), glucose, uric acid, thyrotropin, beta-gonadotropin subunit, vitamin B12, and a general urine test.

The performed laboratory tests showed an increased concentration of glucose in the fasting venous blood plasma (103.1 mg/dL), an increased value of the red blood cell distribution width – a coefficient of variation (17.8%) as well as the presence of bacteria, leukocytes, erythrocytes, and nitrites in a general urine test.

The results of the other tests were normal. Especially the inflammatory parameters were normal (including CRP 0.37 mg/L). The number of leukocytes in the peripheral blood count was normal (7 200/ $\mu$ l), and what

is important, the percentage of individual leukocyte subpopulations was within normal limits, including the number of eosinophils in the peripheral blood, which was normal (400/ $\mu$ l; 6.1% of white blood cells).

### Diagnostic imaging

As part of the imaging diagnostics of weight loss, an abdominal ultrasound, chest X-ray, and computed tomography (CT) of the abdomen and small pelvis after the administration of oral and intravenous contrast agents were performed. Abdominal ultrasound revealed a borderline liver size with features of steatosis and uterine myoma was suspected, which was confirmed by CT scan of the abdominal cavity and small pelvis. CT also revealed a functional ovarian cyst with no other changes. The chest X-ray was described by the radiologist as normal.

### Endoscopic diagnosis of gastrointestinal tract

As part of the diagnosis of weight loss, endoscopic examinations of the gastrointestinal tract (i.e. gastroscopy and colonoscopy) were performed. The gastroscopy revealed features of chronic gastritis with *Helicobacter pylori* infection. The colonoscopy showed numerous mobile white roundworms in the cecum and ascending colon. In addition, inflammatory changes were found in the mucosa of the appendix opening. Photos taken during the colonoscopy are presented in Figure 1 (A and B).

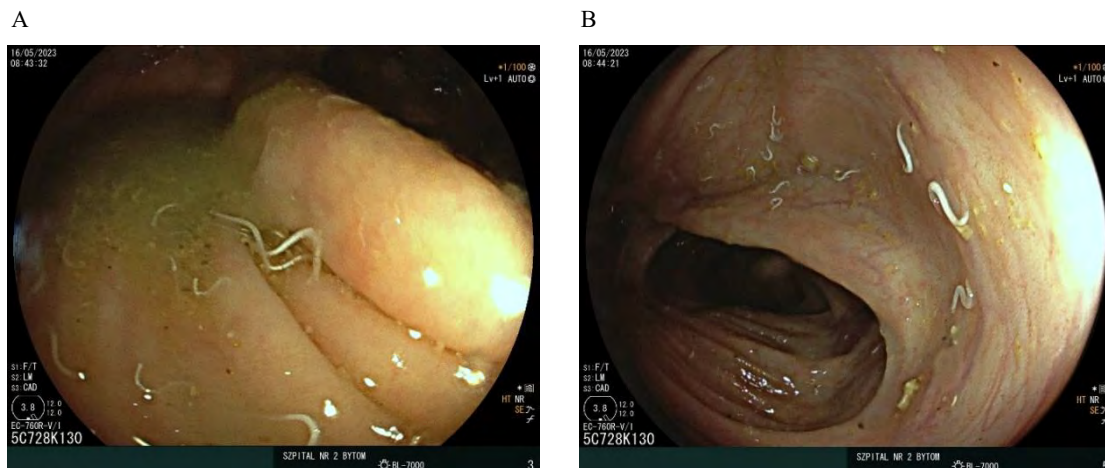


Fig. 1. Roundworms in colonoscopy image.

### Stool tests for parasites

After receiving the colonoscopy results, a stool examination for the presence of parasites was performed. Nevertheless, it turned out that no parasites

were found in the stool sample. The test was repeated two times within a week and no parasites were found in the test samples. Despite this, antiparasitic treatment was prescribed due to the unequivocal colonoscopy findings.



## Treatment

Owing to the diagnosis of parasitic infestation with roundworms, pharmacological treatment with mebendazole was started. After the end of hospitalization, the patient remained under the care of the Gastroenterology Out-Patient Clinic at Specialist Hospital No. 2 in Bytom. After the treatment, the patient felt better and she began to gain weight.

## DISCUSSION

### Epidemiology of intestinal parasitic infections

The results of epidemiological studies show that intestinal parasitosis continues to be a serious problem in the world. According to the results of a systematic review and meta-analysis by Holland et al. [7], in 2021 around 732 million people were infected with *Ascaris* roundworms worldwide. The incidence of this infection was estimated at 11.01% (95% confidence interval: 10.27–11.78%) and it varied geographically, ranging from 28.77% in Melanesia (Oceania) to 1.39% (1.07–1.74%) in Eastern Asia. The results of most of the epidemiological studies available in the literature on gastrointestinal parasitic diseases come mainly from countries with a lower socioeconomic status. At a tertiary care center in Lebanon, the incidence of intestinal parasitic infections slightly decreased after the period of restrictions related to the COVID-19 pandemic although it remains relatively high (13.2% vs. 7.5%) [8]. Among children in pastoralist and agro-pastoralist communities in the Adadle woreda of the Somali Regional State of Ethiopia, the incidence of single parasitic infestations was estimated at 30.6% and at 4.4% for multiple infections, whereas the prevalence of intestinal helminthiasis was 14.5% [9]. According to Gebru et al. [10], intestinal parasitic infections continue to be an important public health problem in rural parts of Dire Dawa (Eastern Ethiopia). The following factors are significantly associated with the risk of the occurrence of such an infection: solid waste management, latrine cleanliness, the mothers' level of education, and child swimming habits in unclean accumulated water. According to Wondimu and Mihret [11], 45.71% of food handlers in Northwest Ethiopia have such parasites as *Ascaris lumbricoides* (35.63%), hookworm (19.38%), *Entamoeba histolytica/dispar* (16.25%), *Trichuris trichiura* (10.00%), *Strongyloides stercoralis* (8.13%), *Schistosoma mansoni* (6.88%), *Cystoisospora belli* (1.25%), *Hymenolepis nana* (1.25%), and *Taenia* sp. (1.25%). The prevalence of intestinal parasitic infestations in rural and urban areas in Pakistan has been found at a level of 21% [12].

The epidemiological situation in Poland concerning the majority of gastrointestinal parasitoses, including all infections caused by roundworms and flatworms, remains unknown because there is no obligation to report the disease to the state sanitary authorities [13]. The case report presented by us confirms that research is needed to show the current epidemiological situation in Poland regarding parasitic infestations of the gastrointestinal tract. Contrary to popular belief, this problem does not affect only people with a low socioeconomic status but can affect any patient, thus this group of diseases should not be forgotten in the differential diagnosis of such disease symptoms as weight loss, diarrhoea, and abdominal pain. In a study conducted on a group of 206 schoolchildren in Spain, it was found that the incidence of intestinal parasitosis is as high as 49.5%, while the incidence of multiple infections was estimated at 14.6%. Infections were mainly caused by *Giardia intestinalis*, *Blastocystis* sp., and *Enterobius vermicularis* [14]. It is worth noting that Spain is a country with a socioeconomic status similar to Poland.

### Efficiency of parasitology diagnostics

The presented case report shows that the sensitivity of parasitological diagnostics is currently not satisfactory. In the presented case, the stool examination for the presence of parasites was performed three times and each time no parasites were found in the sample although parasitic infestation of the gastrointestinal tract with roundworms was evident. In most hospitals in Poland, including our laboratory, stool tests for the presence of parasites are performed only by the method of assessing the direct preparation by means of light microscopy. The sensitivity of the test increases when additional concentration methods are used. Such modification increases the probability of recognizing the structure of the parasite actually present in the test sample. These techniques include flotation and sedimentation methods [15]. The mentioned methods are available only in a few centres in Poland [13]. According to the literature reports, research is being conducted in the world to improve the quality of parasitology diagnostics, especially in countries where this problem is considered to be more widespread. Molecular methods meet with growing interest in parasitology diagnostics. Such methods have already been developed for such parasites as *Cryptosporidium* spp., *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Ancylostoma duodenale*, *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Strongyloides stercoralis*, and *Opisthorchis viverrini*, among others [16,17,18]. The literature describes studies that aimed to develop available tools and methods to improve the sensitivity of parasitological diagnostics. Recently, a study was





published that evaluated the usefulness of the AVE-562 automatic analyzer (AVE Science & Technology Co., Hunan, China) in the diagnostics of infections caused by *Clonorchis sinensis*, which is the most common intestinal parasite in Korea [19]. Moreover, research is underway to improve disposable equipment employed to concentrate faecal samples for parasitology tests and Mini Parasep® solvent-free (SF) tubes is an example of such equipment [20].

## CONCLUSIONS

The presented case report demonstrates that parasitic intestinal infestations should not be omitted in the

differential diagnosis of symptoms suggesting a gastrointestinal disease, also in countries with a high level of socioeconomic development. Furthermore, the presented case report shows the limited diagnostic value of the classic stool test for intestinal parasitic infestations with roundworms. The presented case report leads to the reflection that parasitic diseases of the gastrointestinal tract should focus more attention both on the side of the organization of sanitary services and the health care system, among practitioners and scientists, because it is necessary to broaden the knowledge about the current epidemiological situation in Poland, and it is necessary to search for more effective diagnostic methods.

### Author's contribution

Study design – G.K. Jakubiak, M. Pietrzak, G. Cieślak, A. Stanek

Manuscript preparation – G.K. Jakubiak, M. Pietrzak, G. Cieślak, A. Stanek

Literature research – G.K. Jakubiak

Final approval of the version to be published – G.K. Jakubiak, M. Pietrzak, G. Cieślak, A. Stanek

## REFERENCES

1. Ranasinghe S., Aspinall S., Beynon A., Ash A., Lymbery A. Traditional medicinal plants in the treatment of gastrointestinal parasites in humans: A systematic review and meta-analysis of clinical and experimental evidence. *Phytother. Res.* 2023; 37(9): 3675–3687, doi: 10.1002/ptr.7895.
2. Harhay M.O., Horton J., Olliaro P.L. Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children. *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.* 2010; 8(2): 219–234, doi: 10.1586/eri.09.119.
3. Rymer W., Wroczyńska A. Choroby pasożytnicze przewodu pokarmowego. [In:] P. Gajewski et al. [eds.]. *Interna Szczeklika 2022. Medycyna Praktyczna. Kraków 2022*, pp. 1143–1145.
4. Horton J. Human gastrointestinal helminth infections: are they now neglected diseases? *Trends Parasitol.* 2003; 19(11): 527–531, doi: 10.1016/j.pt.2003.09.007.
5. Wammes L.J., Mpairwe H., Elliott A.M., Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(11): 1150–1162, doi: 10.1016/S1473-3099(14)70771-6.
6. Maruszewska-Cheruiyot M., Donskow-Lysoniewska K., Doligalska M. Helminth therapy – local and systemic activity, on example of inflammatory bowel diseases and multiple sclerosis. [Article in Polish]. *Postepy Hig. Med. Dosw.* (online) 2019; 73: 645–653, doi: 10.5604/01.3001.0013.6092.
7. Holland C., Sepidarkish M., Deslyper G., Abdollahi A., Valizadeh S., Mollalo A. et al. Global prevalence of *Ascaris* infection in humans (2010–2021): a systematic review and meta-analysis. *Infect. Dis. Poverty* 2022; 11(1): 113, doi: 10.1186/s40249-022-01038-z.
8. El Achkar H., Ghandour L., Farran S., Araj G.F. Prevalence of intestinal parasites during pre- and post-COVID-19 pandemic at a tertiary care center in Lebanon. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2023; 17(6): 826–831, doi: 10.3855/jidc.17495.
9. Lanker K.C., Muhummed A.M., Cissé G., Zinsstag J., Hattendorf J., Yusuf R.B. et al. Prevalence and associated risk factors of intestinal parasitic infections among children in pastoralist and agro-pastoralist communities in the Adadle woreda of the Somali Regional State of Ethiopia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2023; 17(7): e0011448, doi: 10.1371/journal.pntd.0011448.
10. Gebru H., Deyissia N., Medhin G., Kloos H. The association of sanitation and hygiene practices with intestinal parasitic infections among under-14 children in rural Dire Dawa, Eastern Ethiopia: a community based cross-sectional study. *Environ. Health Insights.* 2023; 17: 11786302231180801, doi: 10.1177/11786302231180801.
11. Wondimu H., Mihret M. Prevalence and associated factors of intestinal parasites among food handlers working in food service establishments in Northwest Ethiopia, 2022. *J. Parasitol. Res.* 2023; 2023: 3230139, doi: 10.1155/2023/3230139.
12. Karim A., Zartashia B., Khwaja S., Akhter A., Raza A.A., Parveen S. Prevalence and risk factors associated with human Intestinal Parasitic Infections (IPIs) in rural and urban areas of Quetta, Pakistan. *Braz. J. Biol.* 2023; 84: e266898, doi: 10.1590/1519-6984.266898.
13. Korzeniewski K. Parasitic diseases of the gastrointestinal tract in Poland. [Article in Polish]. *Forum Med. Rodz.* 2016; 10(1): 10–18.
14. Tapia-Veloz E., Guillén M., Trelis M., Carpio-Arias T.V., Gozalbo M. Assessment of the health status of Spanish schoolchildren based on nutrimetry, lifestyle and intestinal parasites. *Nutrients* 2023; 15(12): 2801, doi: 10.3390/nu15122801.
15. Soares F.A., Benitez A.D.N., Santos B.M.D., Loliola S.H.N., Rosa S.L., Nagata W.B. et al. A historical review of the techniques of recovery of parasites for their detection in human stools. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2020; 53: e20190535, doi: 10.1590/0037-8682-0535-2019.
16. Taniuchi M., Verweij J.J., Noor Z., Sobuz S.U., van Lieshout L., Petri W.A. Jr et al. High throughput multiplex PCR and probe-based detection with Luminex beads for seven intestinal parasites. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2011; 84(2): 332–337, doi: 10.4269/ajtmh.2011.10-0461.
17. Phadungsil W., Pumpa S., Sirisabhabhorn K., Geadkaew-Kreng A., Grams R., Mungthin M. et al. Efficiency of the stool-PCR test targeting NADH dehydrogenase (*Nad*) subunits for detection of *Opisthorchis viverrini* eggs. *J. Trop. Med.* 2021; 2021: 3957545, doi: 10.1155/2021/3957545.
18. Iamrod K., Chaidee A., Rucksaken R., Kopolrat K.Y., Worasith C., Wongphutorn P. et al. Development and efficacy of droplet digital PCR for detection of *Strongyloides stercoralis* in stool. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2021; 106(1): 312–319, doi: 10.4269/ajtmh.21-0729.
19. Lee Y.J., Won E.J., Cho Y.C., Kim S.H., Shin M.G., Shin J.H. Utility of an automatic vision-based examination system (AVE-562) for the detection of *Clonorchis sinensis* eggs in stool. *Ann. Lab. Med.* 2021; 41(2): 221–224, doi: 10.3343/alm.2021.41.2.221.
20. Couturier B.A., Jensen R., Arias N., Heffron M., Gubler E., Case K. et al. Clinical and analytical evaluation of a single-vial stool collection device with formalin-free fixative for improved processing and comprehensive detection of gastrointestinal parasites. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(8): 2539–2548, doi: 10.1128/JCM.00838-15.



## RECENZENCI ROCZNIKA 2023/ANNALS REVIEWERS IN 2023

dr n. farm. Anna BIAŁECKA (Kraków)  
prof. dr hab. n. med. Anna BOROŃ-KACZMARSKA (Kraków)  
dr hab. n. med. Ryszard BRACZKOWSKI (em., Bytom)  
prof. dr hab. Marzanna CECHOWSKA-PASKO (Białystok)  
prof. dr hab. n. med. Zenon CZUBA (Zabrze)  
dr hab. n. med. Filip DĄBROWSKI (Warszawa)  
dr hab. n. med. Sylwia DZIĘGIELEWSKA-GĘSIĄK (Bytom)  
dr n. med. Anna ERKIERT-POLGUJ (Łódź)  
dr n. med. Edyta FATYGA (Bytom)  
prof. dr hab. n. med. Zbigniew GAŚSIOR (Katowice)  
prof. dr hab. n. farm. Elżbieta GROCHOWSKA-NIEDWOROK (em., Katowice)  
prof. dr hab. Ewa GRZYBOWSKA (Gliwice)  
prof. dr hab. n. med. Marek HARTLEB (Katowice)  
dr hab. Diana IVANOVA, prof. ucz. (Warna)  
dr hab. n. med. Ewa JANCZEWSKA (Mysłowice)  
prof. dr hab. n. med. Dariusz JASTRZĘBSKI (Zabrze)  
dr hab. Katarzyna JELONEK (Zabrze)  
mgr Natalia JENERALSKA (Warszawa)  
prof. dr hab. n. med. Jerzy JOCHEM (Zabrze)  
dr hab. Alicja KALINOWSKA-ŁYSZCZARZ (Poznań)  
dr Yoana KISELOVA-KANEVA, prof. ucz. (Warna)  
dr hab. Małgorzata KNAPIK-CZAJKA (Kraków)  
prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Teresa KOKOT (Katowice)  
dr n. med. Adrianna KONDRACKA, prof. ucz. (Lublin)  
dr hab. Małgorzata KOSTECKA, prof. ucz. (Lublin)  
prof. dr hab. n. med. Małgorzata KOWALSKA (Katowice)  
dr hab. n. med. Ewa KRZYSTANEK, prof. ucz. (Katowice)  
dr hab. n. med. Jacek KURZEPA (Lublin)  
prof. dr hab. Jacek LEWANDOWSKI (Poznań)  
prof. dr hab. n. med. Piotr LIPIEC (Łódź)  
dr hab. n. med. Beata ŁABUZ-ROSZAK, prof. ucz. (Opole)  
dr inż. Ewa MALCZYK (Nysa)  
prof. dr hab. n. med. Krzysztof MAŁYSZCZAK (Wrocław)  
prof. dr hab. n. med. Marek MANDERA (Katowice)  
dr Michał MASTERNAK, prof. ucz. (Orlando)



prof. dr hab. n. med. Urszula MAZUREK (em., Sosnowiec)  
prof. dr hab. n. med. Marta MISIUK-HOJŁO (Wrocław)  
prof. dr hab. n. med. Małgorzata MUC-WIERZGOŃ (Katowice)  
dr hab. n. med. Jolanta NOWAK (Zabrze)  
dr hab. n. med. Ewa NOWAKOWSKA-ZAJDEL (Katowice)  
dr hab. n. o zdr. Agata PIEKUT (Bytom)  
dr hab. Anna POKRYSZKO-DRAGAN, prof. ucz. (Wrocław)  
dr Alicja RÓŻYK-MYRTA (Nysa)  
dr hab. n. farm. Marian SOSADA, prof. ucz. (Nysa)  
prof. dr hab. n. med. Mariusz STASIOŁEK (Łódź)  
prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Grażyna SYGITOWICZ (Warszawa)  
dr hab. n. med. Krzysztof SZYDŁO, prof. ucz. (Katowice)  
dr n. med. Janusz WIERZGOŃ (Gliwice)  
dr hab. n. med. Maciej WYBRANIEC (Katowice)  
prof. dr hab. n. med. Andrzej WYSOKIŃSKI (Lublin)  
prof. dr hab. Urszula ZALESKA-DOROBISZ (Wrocław)  
dr Aleksandra ZYSKA (Opole)  
dr n. med. Michał ŻORNIAK (Gliwice)  
dr hab. n. med. Wojciech ŻURAWIŃSKI (Katowice)  
dr hab. n. med. Joanna ŻYWIEC (Katowice)



# ANNALES ACADEMIAE MEDICAE SILESIENSIS

## ZASADY EDYCJI ORAZ INFORMACJE DLA AUTORÓW

Czasopismo „Annales Academiae Medicae Silesiensis” (nazywane dalej AAMS) jest oficjalnym pismem Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, publikującym w języku polskim i angielskim recenzowane artykuły poglądowe, oryginalne prace badawcze, dotyczące medycyny i farmacji oraz podstawowych nauk medycznych, opisy przypadków, listy, recenzje książek oraz komentarze redakcyjne. Preferowane są artykuły w języku angielskim.

**Od lutego 2021 r. AAMS wydawane jest w modelu open access (OA), a artykuły udostępniane są na licencji CC BY-SA 4.0 (Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe), określającej zasady ich wykorzystania. Artykuły przesłane do Redakcji za pośrednictwem Editorial System do końca stycznia 2021 r. są publikowane na dawnych zasadach (z notą copyright i przekazaniem praw autorskich Wydawcy czasopisma, a artykuły mogą być wykorzystywane wyłącznie w ramach dozwolonego użytku).**

Redakcja AAMS przestrzega zasad zawartych w *Deklaracji Helsińskiej* i oczekuje, że badania dotyczące ludzi zostały przeprowadzone zgodnie z tymi zasadami. W przypadku badań z wykorzystaniem modeli zwierzęcych redakcja oczekuje przestrzegania zasad zawartych w *Interdisciplinary Principles and Guidelines for the Use of Animals in Research, Testing and Education*, wydanych przez New York Academy of Sciences' Ad Hoc Committee on Animal Research. Wszystkie prace odnoszące się do ludzi lub zwierząt muszą być zaakceptowane przez odpowiednią lokalną komisję etyczną, co należy zaznaczyć w tekście.

Wszystkie prace przesyłane do AAMS poddawane są weryfikacji przez system antyplagiatowy. W celu przeciwdziałania nieetycznym praktykom publikacyjnym redakcja AAMS w razie wykrycia nierzetelności naukowej postępuje zgodnie z procedurami Committee on Publication Ethics (COPE; polskie tłumaczenie wytycznych COPE autorstwa E. Rozkosz i S. Ufnalskiej). Więcej informacji na stronie [annaes.sum.edu.pl](http://annaes.sum.edu.pl).

## ZASADY RECENZOWANIA PRAC

Nadesłane prace są oceniane pod względem takich wartości, jak nowatorskie przedstawienie tematu, znaczenie dla dalszego rozwoju badań naukowych oraz dla postępowania klinicznego.

Prace rejestrowane w systemie obsługi recenzentki czasopisma AAMS przesyłane są automatycznie do systemu antyplagiatowego użytkowanego przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Wynik postępo-

wania weryfikacyjnego w postaci raportu oceny dołączany jest w formie elektronicznej do pracy i dostępny dla recenzenta/recenzentów oraz redaktora naczelnego czasopisma. W wypadku wykrycia przez system plagiatu ostateczna decyzja o dopuszczeniu lub odrzuceniu pracy należy do osób recenzujących.

Prace wstępnie ocenia redakcja AAMS: prace niespełniające podstawowych warunków publikacji są odrzucane; prace niekompletne lub przygotowane w stylu niezgodnym z zasadami czasopisma redakcja odsyła autorom bez oceny merytorycznej; pozostałe prace zostają zarejestrowane, a następnie przekazane do oceny dwóch niezależnych, niejawnych recenzentów pochodzących spoza ośrodka, w którym praca powstała (recenzenci i autorzy nie znają swoich tożsamości).

Praca przygotowana w języku angielskim zostaje przesłana do oceny co najmniej jednego recenzenta zagranicznego.

Decyzję o zakwalifikowaniu pracy do publikacji redakcja przesyła do autora odpowiedzialnego za korespondencję drogą elektroniczną (e-mail) wraz z podaniem numeru referencyjnego, który powinien być używany w trakcie dalszych kontaktów z wydawcą.

Akceptacja pracy do publikacji odbywa się na podstawie pozytywnych opinii recenzentów, z uwzględnieniem następujących kryteriów: oryginalność pracy, znaczenie uzyskanych wyników, metodyka i jakość danych, sposób przedstawienia wyników, jakość dyskusji, dobór piśmiennictwa.

Recenzenci wydają również opinię, czy praca spełnia wymogi etyczne. Wnioski zawierają informację, czy pracę można zaakceptować do publikacji bez zmian/zaakceptować po uwzględnieniu poprawek sugerowanych przez recenzenta/ponownie rozważyć po dokonaniu istotnych poprawek i ponownej recenzji, czy też należy ją odrzucić.

W końcowym etapie recenzenci przekazują poufne uwagi do redakcji, a także ogólne oraz szczegółowe (opcjonalnie) uwagi do autorów.

Recenzenci mają możliwość przesłania – w formie załącznika – treści pracy z naniesionymi poprawkami.

W razie sprzecznych opinii, tj. gdy jedna recenzja jest pozytywna, druga negatywna, praca przesyłana jest do opinii trzeciego recenzenta.

Jeśli obie recenzje są pozytywne, jednak akceptacja pracy uzależniona jest od wprowadzenia sugerowanych przez recenzenta (lub obu recenzentów) poprawek, praca jest odsyłana do autora z prośbą o poprawę.

W wypadku gdy obie recenzje są pozytywne, ale suma przyznanych w jednej z nich punktów jest mniejsza niż 18 (przy maksymalnej liczbie punktów wynoszącej 36), redaktor naczelny może – po uzasadnieniu – podjąć decyzję o odrzuceniu pracy.

Autor zapoznaje się z recenzją, jednak bez możliwości uzyskania informacji o osobie recenzenta.

Autor ma obowiązek sformułowania pisemnej odpowiedzi na recenzję (z opisem wprowadzonych zmian)



i przekazania jej wraz z tekstem poprawionej pracy w ustalonym terminie.

Jeżeli autor odmówi wprowadzenia zalecanych zmian, redaktor naczelny może podjąć decyzję o odrzuceniu pracy.

Po odesłaniu przez autora poprawionej wersji pracy ostateczna decyzja o zakwalifikowaniu do publikacji należy do redaktora naczelnego.

Redakcja zobowiązuje się do publikacji raz w roku na łamach AAMS listy wszystkich recenzentów danego rocznika czasopisma.

## KONFLIKT INTERESÓW

Jednocześnie ze złożeniem pracy autorzy prac badawczych są zobowiązani do ujawnienia wszelkich zobowiązań finansowych, jeżeli takie istnieją, pomiędzy autorami i firmą, której produkt ma istotne znaczenie w nadesłanej pracy, lub firmą konkurencyjną. Informacje te nie będą ujawniane recenzentom i nie wpłyną na decyzję o publikacji. Po akceptacji pracy redakcja ustali z autorami formę, w jakiej informacje o źródłach finansowania powinny zostać udostępnione czytelnikom. Każda dotacja badań czy też dostarczenie reagentów lub narzędzi analitycznych powinny być wskazane w „Podziękowaniach”.

Poza wskazaniem ewentualnych źródeł finansowania autorzy są również zobowiązani do ujawnienia informacji o jakimkolwiek wkładzie instytucji naukowo-badawczych, stowarzyszeń i innych podmiotów w powstaniu pracy.

W związku z tym, że prace przeglądowe i komentarze redakcyjne polegają na wyborze i interpretacji danych z dostępnego piśmiennictwa, redakcja AAMS oczekuje, iż autorzy tego typu opracowań będą wolni od finansowych związków z firmami, których produkty są przedmiotem pracy (lub z firmami konkurencyjnymi). Wymaga się, by recenzenci, członkowie redakcji, zastępcy redaktora naczelnego ujawnili w liście do redaktora naczelnego wszelkie zobowiązania i okoliczności mogące wpłynąć niekorzystnie na proces wydawniczy pracy podlegającej recenzji. List ten powinien zawierać oświadczenie o jakichkolwiek powiązaniach finansowych (o ile takie istnieją), np. z firmą produkującą lek będący przedmiotem pracy.

## ROZTRZYGANIE SPORÓW

Ewentualne spory z wydawcą czasopisma dotyczące publikacji będą rozstrzygane przez sąd właściwy dla siedziby wydawcy. Stosunki prawne łączące wydawcę czasopisma i autora podlegają prawu polskiemu i obowiązującym Polskę konwencjom międzynarodowym.

## POZWOLENIE NA PUBLIKACJĘ

Materiały wcześniej publikowane i chronione prawem autorskim, w tym materiały ilustracyjne (tabele, ryciny, fotografie, rysunki itp.), należy zaopatrzyć w pisemną

zgody – zarówno od poprzedniego wydawcy, jak i autorów oryginalnej pracy – na ponowną publikację. Ewentualne koszty z tym związane ponoszą autorzy. Jeżeli informacje zawarte w opisie przypadku, na ilustracji lub w tekście pracy oryginalnej pozwalają na identyfikację osób, należy dostarczyć ich pisemną zgodę na publikację wizerunku.

## POLITYKA PRAWNO-ARCHIWIZACYJNA

Przesyłając pracę wraz z ilustracjami i tabelami, autor/współautor oświadcza, że nadesłana praca nie była uprzednio publikowana ani nie została złożona do redakcji innego czasopisma (z wyłączeniem streszczeń nieprzekraczających 400 słów) oraz że przysługuje mu pełnia praw autorskich majątkowych i osobistych do utworu (pracy), rozporządza tymi prawami i w tym zakresie zwalnia wydawcę z odpowiedzialności za wady prawne utworu wobec osób trzecich.

Czasopismo AAMS wydawane jest w systemie *open access*, a artykuły (finalna wersja pracy po recenzji oraz korektach redakcyjnej i autorskiej) udostępniane są na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa-Na tych samych warunkach 4.0 Międzynarodowe, znanej również jako CC BY-SA 4.0 (Uchwała Nr 8/2020 Senackiej Komisji ds. Nauki z dn. 14 kwietnia 2020 r.). Licencja ta zezwala na darmowe kopiowanie, zmienianie, rozprowadzanie, przedstawianie artykułu w dowolnym celu, także komercyjnym, pod warunkiem oznaczenia autorstwa (tj. podania informacji o twórcy/twórcach albo innym niż twórca/twórcy licencjodawcy, tytułu artykułu, nazwy czasopisma, rocznika, numeru tomu, zakresu stron, identyfikatora DOI w formie linku, nazwy licencji, na jakiej artykuł jest udostępniany, oraz linku do pełnego tekstu licencji) i oznaczenia wykonanych modyfikacji (np.: *Oryginal został przetłumaczony z języka polskiego na angielski* lub *Tłumaczenie zawiera zmiany w stosunku do oryginału*), jeśli takie zostały wykonane, a przetwarzając lub tworząc na podstawie artykułu, należy udostępniać swoje dzieło na tej samej licencji co oryginał.

Przesyłając pracę wraz z ilustracjami i tabelami, autor dołącza podpisany przez siebie *List przewodni (Oświadczenie autora/współautora)*, zgadzając się na warunki publikacji w AAMS, w tym na udzielenie wydawcy nieodpłatnej i niewyłącznej licencji CC BY-SA 4.0. Autor zachowuje prawa autorskie.

Do samodzielnego udostępniania/archiwizowania prac, a także metadanych w dowolnych repozytoriach oraz bazach danych indeksujących czasopisma wydawca zaleca autorom posługiwanie się wersją opublikowaną na stronie AAMS (finalna wersja pracy po recenzji oraz korektach redakcyjnej i autorskiej). Przy udostępnianiu/archiwizowaniu pre-printów (wersja autorska przed recenzją) oraz post-printów (wersja autorska po recenzji, przed redakcją wydawniczą) obowiązuje podanie następujących informacji: a) pre-print – np. „Niniejsza praca została przesłana do redakcji *Annales Academiae Medicae Silesiensis* ([annales.sum.edu.pl](http://annales.sum.edu.pl)) i oczekuje na recenzję”; po opublikowaniu na stronie czasopisma



wersji finalnej należy o tym poinformować – np. „Ostateczna wersja pracy jest dostępna na stronie ... [należy podać link do pracy] na licencji ... [wpisać nazwę licencji]”; b) post-print – np. „Niniejsza praca jest wersją autorską poprawioną zgodnie z uwagami recenzenta, zakwalifikowaną do publikacji w czasopiśmie *Annales Academiae Medicae Silesiensis* (annales.sum.edu.pl)”; po opublikowaniu na stronie czasopisma wersji finalnej należy o tym poinformować – np. „Ostateczna wersja pracy jest dostępna na stronie ... [należy podać link do pracy] na licencji ... [wpisać nazwę licencji]”. Autorzy nie ponoszą żadnych kosztów związanych z publikacją ani też nie otrzymują za to wynagrodzenia.

## ZASTRZEŻENIE

Redakcja oraz wydawca dokładają wszelkich starań, by treści publikowane w AAMS były wiarygodne i dokładne. Opinie wyrażane na łamach czasopisma są jednak publikowane na wyłączną odpowiedzialność autorów. W związku z tym ani redakcja, ani wydawca nie ponoszą odpowiedzialności za konsekwencje wykorzystania jakichkolwiek nieściślych informacji. Dawki leków i inne wartości liczbowe są sprawdzane z należytą starannością, jednak wszelkie schematy leczenia opisywane w AAMS powinny być stosowane zgodnie z informacjami o leku publikowanymi przez producenta.

## PRZYGOTOWANIE PRACY

Praca powinna być przygotowana w formacie A4, z wykorzystaniem powszechnie używanych edytorów tekstu (Word, Open Office etc.). Zaleca się stosowanie standardowych fontów o rozmiarze 12 pkt, marginesy 2,5 cm, interlinia 1,5.

Układ pracy:

- 1) strona tytułowa,
- 2) streszczenie w języku polskim, słowa kluczowe w języku polskim (3–10 oddzielone przecinkami),
- 3) streszczenie w języku angielskim, słowa kluczowe w języku angielskim (3–10 oddzielone przecinkami),
- 4) tekst pracy z wklejonymi w odpowiednich miejscach tabelami i rycinami,
- 5) ewentualne podziękowania lub informacje o grantach lub źródłach finansowania pracy,
- 6) wkład poszczególnych autorów w powstanie pracy,
- 7) piśmiennictwo.

Kolejne strony należy ponumerować, zaczynając od strony tytułowej. Skrót, wraz z rozwinięciem, należy podać w nawiasie za skracanym określeniem przy pierwszym jego wystąpieniu w tekście. Należy unikać skrótów nieakceptowanych przez międzynarodowe grupy ekspertów.

Prace powinny mieć następującą strukturę:

**Strona tytułowa.** Powinna zawierać w kolejności od góry:

- 1) pełne imiona i nazwiska wszystkich autorów\*,
- 2) nazwę (nazwy) instytucji, z której pochodzi praca,
- 3) pełny tytuł pracy (polski i angielski),
- 4) tytuł skrócony (polski i angielski; maksimum 40 znaków łącznie z odstępami),
- 5) adres do korespondencji zawierający tytuł naukowy, imię i nazwisko, nazwę instytucji, adres (miasto, ulica), numer telefonu, faksu i adres e-mail (najlepiej służbowy) autora odpowiedzialnego za korespondencję z redakcją.

\* UWAGA: W przypadku gdy pracę współtworzyło kilku autorów (dotyczy to wszystkich rodzajów prac, tj. o charakterze pogładowym, oryginalnym, opisu przypadku), należy ujawnić wkład poszczególnych autorów w jej powstanie (podając informacje, kto jest autorem koncepcji, założeń, zastosowanej metody, przeprowadzonych badań, analizy danych, kto napisał pracę etc.). Wszelkie przypadki nierzetelności naukowej, w tym zjawiska *ghostwriting* i *guest authorship* będą demaskowane, włącznie z powiadomieniem odpowiednich podmiotów (instytucje zatrudniające autorów, towarzystwa naukowe, stowarzyszenia edytorów naukowych itp.). Ze zjawiskiem typu *ghostwriting* mamy do czynienia wówczas, gdy ktoś wniósł istotny wkład w powstanie pracy, ale nie został ujawniony jako jeden z autorów lub w postaci zamieszczonego podziękowania w treści pracy. *Guest authorship* obrazuje sytuację, gdy udział autora jest znikomy lub w ogóle nie miał miejsca, a pomimo to jest autorem/współautorem pracy.

Redakcja zobowiązana jest do dokumentacji wszelkich przejawów nierzetelności naukowej, zwłaszcza dotyczących łamania i naruszania zasad etyki obowiązujących w nauce.

**Streszczenie** (w języku polskim i angielskim). Nie powinno zawierać więcej niż 250 słów. W streszczeniu pracy oryginalnej należy wyodrębnić cztery akapity za tytułowane: Wstęp, Materiał i metody, Wyniki, Wnioski.

**Słowa kluczowe** (w języku polskim i angielskim). Pod streszczeniem (odpowiednio w języku polskim i angielskim) należy umieścić od 3 do 10 słów lub wyrażen kluczowych, w miarę możliwości zgodnych z Medical Subject Headings Index Medicus (MeSH).

**Tekst.** Prace oryginalne należy podzielić na następujące części: Wstęp, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski. Prace pogładowe mogą być podzielone w inny sposób. Nie należy przekraczać zalecanych



objętości prac: praca oryginalna – 3000 słów, poglądowa – 6000 słów, opis przypadku – 2000 słów, list – 1000 słów. Przedstawione limity nie obejmują streszczenia, tabel, piśmiennictwa. We właściwych miejscach tekstu pracy należy wkleić tabele i ryciny.

Użyte metody statystyczne należy opisać na tyle szczegółowo, aby czytelnik mający dostęp do danych źródłowych i posiadający wiedzę statystyczną był w stanie zweryfikować przedstawione wyniki. Wszędzie, gdzie to możliwe, należy stosować opis ilościowy wraz z odpowiednimi miarami błędu lub niepewności (np. przedziały ufności). Należy unikać opierania się wyłącznie na poziomie prawdopodobieństwa (p-value) obliczanym podczas testowania hipotez statystycznych, który pomija istotne informacje dotyczące wielkości obserwowanego efektu.

**Piśmiennictwo.** Pozycje piśmiennictwa powinny być ponumerowane zgodnie z kolejnością cytowania w tekście (system vancouverki).

**Czasopisma.** W wypadku cytowanych czasopism należy podać: kolejny numer pozycji, nazwiska autorów i pierwsze litery imion (jeśli autorów jest nie więcej niż sześciu, należy wymienić wszystkich, jeśli siedmiu i więcej, należy podać sześciu pierwszych z dopiskiem „i wsp.” w pracach polskojęzycznych lub „et al.” w pracach anglojęzycznych), tytuł pracy, tytuł czasopisma (skrótów tytułów czasopism powinny być zgodne z Index Medicus), rok, tom i numer czasopisma (cyframi arabskimi), numer strony początkowej i końcowej, identyfikator DOI. Prosimy nie używać określeń: „w druku”, „w przygotowaniu”, „informacja ustna”, w uzasadnionych wypadkach można je zastosować w odpowiednim miejscu w tekście.

Przykład: Eliasson M., Jansson J., Nilsson P., Asplund K. Increased levels of tissue plasminogen activator antigen in essential hypertension. A population-based study in Sweden. *J. Hypertens.* 1997; 15(4): 349–356. doi: 10.1097/00004872-199715040-00005.

**Książki.** W wypadku cytowanych książek należy wymienić: kolejny numer pozycji, nazwiska autorów i pierwsze litery imion, tytuł, wydawcę, miejsce i rok wydania.

Przykład: Domagalska-Szopa A., Szopa A. Postępowanie usprawniające w mózgowym porażeniu dziecięcym. Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Katowice 2018.

Powołując się na treść rozdziału książki, należy podać: nazwisko autora rozdziału, inicjały imion, tytuł rozdziału, nazwisko autora (redaktora) książki, inicjały imion, tytuł książki, wydawcę, miejsce i rok wydania, przedział stron.

Przykład: Kubicek C.P., Karaffa L. Kwasy organiczne. W: Ratledge C., Kristiansen B. [red.]. Podstawy biotechnologii. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2011, s. 249–265.

**Strony internetowe.** Opis ten powinien zawierać: nazwę autora tekstu, tytuł, nazwę witryny internetowej i rok ukazania się tekstu, adres witryny internetowej, datę dostępu.

Przykład: Dreisinger E. McKenzie Therapy Classifications. *Spine-health*, 2007 [online] <http://www.spinehealth.com/wellness/exercise/mckenzie-therapy-classifications> [dostęp: 2 września 2019].

**Tabele, ryciny, fotografie.** Mogą być czarno-białe lub kolorowe, ponumerowane (tabele cyframi rzymskimi, ryciny cyframi arabskimi) oraz opisane w języku polskim i poniżej w języku angielskim. Jakość bitmap nie powinna być niższa od 300 dpi przy 100% wielkości (wysokość i szerokość).

#### WYSYŁANIE PRACY I LISTU PRZEWODNIEGO DO REDAKCJI

Wysyłanie pracy odbywa się wyłącznie za pośrednictwem strony [annales.sum.edu.pl](http://annales.sum.edu.pl) (zakładka „Wyślij swój artykuł”), zgodnie z formularzem Editorial System.

Dopuszczalne formaty plików:

- dla tekstu: dowolna wersja edytora Microsoft Word (doc, docx), rich text format (rtf),
- dla rycin: pliki jpg, jpeg, gif, tif, tiff, bmp, png.

Wymagane dokumenty, tj. *List przewodni (Oświadczenie autora/współautora)*, należy przesłać do redakcji w formie:

- a) elektronicznej (e-mail), podpisany za pomocą bezpiecznego podpisu elektronicznego, zgodnie z obowiązującymi przepisami (podpis zaufany),
- b) tradycyjnej (przesyłka poleconą) na adres redakcji – podpisany czytelnie druk *Listu przewodniego (Oświadczenia autora/współautora)*.

Jeśli pracę współtworzyło kilku autorów, *List przewodni* podpisuje i odsyła każdy współautor oddzielnie.

#### Adres redakcji:

Redakcja „Annales Academiae Medicae Silesiensis”  
Katedra i Zakład Propedeutyki  
Chorób Wewnętrznych i Medycyny Ratunkowej  
Wydziału Zdrowia Publicznego w Bytomiu  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
41-902 Bytom  
ul. Piekarska 18  
tel./fax + 48 32 397 65 27  
e-mail: [aams@sum.edu.pl](mailto:aams@sum.edu.pl)  
<https://annales.sum.edu.pl>



# ANNALES ACADEMIAE MEDICAE SILESIENSIS

## EDITORIAL POLICY AND INFORMATION FOR AUTHORS

“Annales Academiae Medicae Silesiensis” (hereinafter referred to as AAMS) is the official journal of the Medical University of Silesia in Katowice, publishing peer-reviewed review articles, original research works on medicine and pharmacy, as well as basic medical sciences, case studies, letters, book reviews and editorial commentaries in Polish and English. Publications in English are preferred.

**Since February 2021, AAMS is published in the open access (OA) system, and articles are made available under the CC BY-SA 4.0 license (Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International), specifying the rules for their use.**

**Articles sent to the Editorial Board via the Editorial System by the end of January 2021 will be published on the old terms (with a copyright notice and the transfer of the copyrights to the Publisher of AAMS, and the articles may be used only under fair use).**

The AAMS Editorial Office conforms to the principles provided in the *Declaration of Helsinki* and expects that research on humans has been conducted in accordance with these principles. With regard to the research using animal models, the Editorial Office expects compliance with the principles contained in the *Interdisciplinary Principles and Guidelines for the Use of Animals in Research, Testing and Education*, issued by the New York Academy of Sciences' Ad Hoc Committee on Animal Research. All works relating to humans or animals must be approved by the relevant local ethics committee, which should be indicated in the work.

All works submitted to AAMS are verified in the anti-plagiarism system. To prevent unethical publication practices, in the event of detecting scientific misconduct, the AAMS Editorial Office follows the procedures of the Committee on Publication Ethics (COPE).

More information at [annales.sum.edu.pl](http://annales.sum.edu.pl).

### REVIEW PROCESS

Submitted works are evaluated in terms of values such as innovative presentation of the topic, importance for the further development of scientific research and for clinical management.

Works registered in the reviewing system of AAMS journal are automatically forwarded to the anti-plagiarism system used by the Medical University of Silesia in Katowice. The results of the verification procedure in the form of an electronic evaluation report is attached to the work and made available to the reviewer(s), as well as the journal's Editor-in-Chief.

In the event the system detects plagiarism, the final decision on whether or not to accept the work rests with the reviewers.

Works are initially evaluated by the AAMS Editorial Office (editorial review): works which do not meet the basic conditions for publication are rejected; works which are incomplete or prepared in a style inconsistent with the journal rules are returned to the authors without any content evaluation; the remaining works are registered and subsequently submitted to two independent reviewers, whose identity is hidden and who are not connected with the institution where the work originated; both the reviewer and author identities are concealed (double-blind peer review).

Works written in English are sent to at least one foreign reviewer for evaluation.

The decision on qualifying the work for publication is sent by the Editorial Office via e-mail to the author responsible for correspondence, together with a reference number which should be used during further contact with the publisher.

The manuscript is approved for publication on the basis of positive opinions of the reviewers.

The reviewers issue their opinion on the basis of a detailed evaluation of the work compared with other papers published on the subject, taking into account the following criteria: originality of the work, significance of the obtained results, quality of the methodology and data, manner of presenting the results, quality of discussions, selection of reference literature.

An opinion on whether the work meets the ethical requirements is also provided by the reviewers.

The conclusions contain information on whether the work may be accepted for publication without changes/accepted after taking into account the corrections suggested by the reviewer/reconsidered after significant corrections and re-review, or whether it should be rejected.

In the final stage, the reviewers provide confidential comments to the Editorial Office, as well as general and detailed (optional) comments to the authors.

The reviewers have the opportunity to submit the content of the amended work in the form of an attachment.

In the event of conflicting opinions, i.e. when one review is positive while the other is negative, the work is evaluated by a third reviewer.

If both reviews are positive, but the acceptance of the work depends on the introduction of amendments suggested by a reviewer (or both reviewers), the work is sent back to the author, together with a request for improvement.

In the event that both reviews are positive, but the sum of points awarded in one of them amounts to less than 18 (with a maximum of 36 points), the Editor-in-Chief may, after justification, decide to reject the work.





The author familiarizes him/herself with the review, but without the possibility of obtaining information about the reviewer.

The author is obliged to formulate a written response to the review (with a description of the introduced changes) and submit it along with the text of the amended work within the established deadline.

If the author refuses to introduce the recommended amendments, the Editor-in-Chief may decide to reject the work.

After the author sends back the amended version of the work, the final decision on qualifying the paper for publication belongs to the Editor-in-Chief.

The Editorial Office undertakes to publish a list of all the reviewers of a given annual in AAMS once a year.

### CONFLICT OF INTEREST

Upon submitting the work, the authors of research papers are obliged to disclose any financial obligations, if any, between the authors and the company whose product has significant importance in the submitted work, or a competitor. This information will not be disclosed to the reviewers nor will it affect the decision on publication of the work. After accepting the work, the Editorial Office and authors will decide on the form in which information on the sources of financing should be made available to readers. Any research subsidies or provisions of reagents or analytical tools should be indicated in the "Acknowledgements".

Apart from indicating any possible sources of financing, authors are also obliged to disclose information about any contribution of scientific and research institutions, associations and other entities to the creation of the work.

Due to the fact that review papers and editorial commentaries consist in selecting and interpreting data from the available literature, the AAMS Editorial Office expects authors of such works to be free from financial ties with companies whose products constitute the subject of the work (or rival companies).

The reviewers, members of the Editorial Office and Deputy Editor-in-Chief are required to disclose in a letter to the Editor-in-Chief any obligations and circumstances that may adversely affect the publishing process of the work under review. The letter should include a declaration of any existing financial relationships, e.g., with the company that produces the pharmaceuticals being the subject of the work.

### DISPUTE SETTLEMENT

Any disputes with the Publisher of the journal arising regarding the publication will be settled by the court relevant for the Publisher's registered office. Legal relationships between the Publisher of the journal and the author are subject to Polish law and binding international conventions.

### PERMISSION FOR PUBLICATION

Written consent of the prior publisher and authors of the original work is required in the case of republishing materials, including illustrative materials (tables, figures, photographs, drawings, etc.), protected by copyright. Any possible, associated costs are borne by the authors. If the information provided in the case study, illustration or text of the original work allows the identification of persons, their written consent for publication of the image must be obtained.

### REGULATORY AND ARCHIVAL POLICY

By submitting the work along with illustrations and tables, the author/co-author declares that the submitted work has not been previously published and has not been submitted to the editorial office of other journal publishers (except for abstracts not exceeding 400 words) and that the author is entitled to full economic and moral rights to the work, to dispose of these rights, and in this respect the author/co-author releases the publisher from liability to third persons for legal defects of the work.

AAMS journal is published in the open access system, and articles (the final version of the work after the review and editor and author corrections) are made available under the Creative Commons – Attribution-ShareAlike 4.0 International license, also known as CC BY-SA 4.0 (Resolution No 8/2020 of the Senate's Committee for Science of 14 April 2020). The license allows free copying, altering, disseminating, presenting the article for any, including commercial, purpose, provided that its authors are indicated (i.e. information is provided about its author(s) or about licensors other than the author(s), the title of the article, name of the journal, year, volume number, range of pages, DOI number as a link, name of the license under which the article is made available and a link to the full text of the license) and indicating the modifications introduced to it (e.g., *The original was translated from Polish into English* or *The translation includes changes in relation to the original*), if any. Moreover, when modifying and creating work based on the article, the work shall be made available under the same license as the original.

When submitting work with illustrations and tables, the author/co-author includes a *Cover Letter (Author/Co-author declaration)* signed by him/her, agreeing to the terms of publication in AAMS, including granting the publisher a free and non-exclusive CC BY-SA 4.0 license. The author shall retain his/her copyrights.

The publisher recommends that authors use the version published on the AAMS website (the final version after the review and editor and author corrections) for autonomous sharing/archiving of works and metadata in any repositories and journal indexing databases. The sharing/archiving of preprints (author's version before the review) and postprints (author's version after the review, before publisher editing) requires providing the



following information: a) preprint – e.g., “This work has been submitted to the Editorial Office of *Annales Academiae Medicae Silesiensis* (annales.sum.edu.pl), pending review”; after publishing the final version on the website of the journal, additional information shall be provided about it, e.g. “The final version of the work is available at ... [link to the work] under the license ... [name of the license]”; b) postprint – e.g. “This work is the author’s version corrected in accordance with reviewers’ comments, admitted for publication in *Annales Academiae Medicae Silesiensis* (annales.sum.edu.pl)”; after publishing the final version on the website of the journal, additional information shall be provided about it, e.g. “The final version of the work is available at ... [link to the work] under the license ... [name of the license]”.

Authors do not bear for any costs related to the publication, nor do they receive any remuneration for it.

## DISCLAIMER

The Editorial Office and the Publisher make every effort to ensure that the content published in AAMS is reliable and accurate. However, opinions expressed in the journal are published under the sole responsibility of their authors. Therefore, neither the Editorial Office nor the Publisher can be held responsible for the consequences of using any inaccurate information. Doses of medications and other numerical values are checked with due diligence; however, any treatment regimens described in AAMS should be applied in accordance with the manufacturer’s information about the medication.

## PREPARATION OF WORK

The work should be prepared in the A4 format, using common text editors (MS Word, Open Office etc.). It is recommended that standard fonts be used, 12 pt font size, 2.5 cm margins, 1.5 line spacing.

Layout:

- 1) title page,
- 2) abstract in Polish, keywords in Polish (3–10, separated with commas),
- 3) abstract in English, keywords in English (3–10, separated with commas),
- 4) text of the work with tables and figures pasted in appropriate places,
- 5) if applicable, acknowledgements or information about grants or sources of financing of the work,
- 6) contributions of individual authors to the work,
- 7) references.

Pages should be numbered consecutively, starting with the title page. Abbreviations with the full term should be provided in round brackets next to the first occurrence of the abbreviated term in the text. Abbreviations

not accepted by international groups of experts should be avoided.

Works should be structured as follows:

**Title page.** It should contain, starting from the top:

- 1) full names and surnames of all the authors\*,
- 2) name(s) of the institution(s) from which the work originates,
- 3) full title of the work (Polish and English)
- 4) abbreviated title (Polish and English; up to 40 characters with spaces),
- 5) address for correspondence with academic title, name and surname, name of the institution, address (city, street), phone and facsimile number and (preferably official) e-mail address of the corresponding author.

\* PLEASE NOTE: If the work was co-authored (this applies to all types of works, i.e. review papers, original works, case studies), the contributions of individual authors to its creation shall be disclosed (by providing information on who was the author of the concept, assumptions, employed methods, conducted research, data analysis, who wrote the paper etc.).

Any cases of lack of scientific misconduct, including *ghostwriting* and *guest authorship*, will be exposed, including the notification of relevant entities (institutions employing the authors, scientific societies, associations of science editors etc.). *Ghostwriting* is when a person who contributed significantly to the work is not listed as its author, or their contribution is not acknowledged in the content of the work. *Guest authorship* illustrates a situation in which the participation of an author is negligible or did not occur at all, and yet they are listed as an author/co-author of the work.

The Editorial Office is obligated to document all manifestations of scientific misconduct, especially those pertaining to the infringement and violation of the rules of ethics that apply in science.

**Abstract** (in Polish and English). It should not include more than 250 words. In the abstract of an original work, four paragraphs should be distinguished: Introduction, Material and Methodology, Results and Conclusions.

**Key words** (in Polish and English). Between 3 and 10 key words, if possible, consistent with the Medical Subject Headings Index Medicus (MeSH), should be placed under the abstract (both in Polish and English).

**Text.** Original works should be divided into the following parts: Introduction, Material and Methodology, Results, Discussion, Conclusions. Review articles may be divided differently. The recommended volume of work should not be exceeded: original work – 3000 words, review article – 6000 words, case study – 2000 words, letter – 1000 words.



The presented limits do not include abstracts, tables and reference literature. Tables and figures should be placed in the appropriate places in the text.

The applied statistical methods should be described in detail in order to enable a reader who has access to the source data and possesses statistical knowledge to verify the presented results. Wherever possible, a quantitative description should be used, together with appropriate measures of error or uncertainty (e.g. confidence intervals). It is necessary to avoid relying solely on the level of probability (p-value), calculated in the process of testing statistical hypotheses, which omits relevant information about the magnitude of the observed effect.

**Reference literature.** Reference literature items should be numbered according to the order they appear in the text (the Vancouver system).

*Journals.* In the case of citing journals, it is necessary to provide the following information: the item number, authors' surnames and initial letters of first names (if there are less than six authors, all of them should be listed, if seven or more – the first six along with the annotation “i wsp.” in Polish, or “et al.” in works written in English), title of the work, title of the journal (abbreviations of journal titles should comply with Index Medicus), year, volume and number of the journal (in Arabic numerals), number of the first and last page, DOI number. Please refrain from using terms such as: “in print”, “in preparation”, “oral information”. In substantiated cases, they may be used in appropriate places in the text.

Example: Eliasson M., Jansson J., Nilsson P., Asplund K. Increased levels of tissue plasminogen activator antigen in essential hypertension. A population-based study in Sweden. *J. Hypertens.* 1997; 15(4): 349–356. DOI: 10.1097/00004872-199715040-00005.

*Books.* In the case of citing books, it is necessary to include the following information: the item number, authors' surnames and initial letters of first names, title, publisher, as well as the place and year of the publication.

Example: Domagalska-Szopa A., Szopa A. Postępowanie usprawniające w mózgowym porażeniu dziecięcym. Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach. Katowice 2018.

When referring to the content of a book chapter, it is necessary to provide the following information: the surname of the chapter's author, initials of the first name, chapter title, surname of the book's author (editor), initials of the first name, book title, publisher, place and year of publication, as well as the page range. Example: Kubicek C.P., Karaffa L. Kwasy organiczne. In: Ratledge C., Kristiansen B. [ed.]. *Podstawy biotechnologii.* Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2011, p. 249–265.

*Websites.* Such a description should include: the author of the text, title, name of the website and the year the text was published, the website address and the date of access.

Example: Dreisinger E. McKenzie Therapy Classifications. *Spine-health*, 2007 [online] <http://www.spinehealth.com/wellness/exercise/mckenzie-therapy-classifications> [accessed 2 September 2019].

**Tables, figures, photographs.** They may be black and white or in colour, numbered (tables in Roman numerals, figures in Arabic numerals) and described in Polish and below in English. The value of bitmap quality should not be lower than 300 dpi at 100% size (height and width).

#### SUBMITTING WORKS AND THE COVER LETTER TO EDITORIAL OFFICE

The submission of work occurs exclusively via [www.annales.sum.edu.pl](http://www.annales.sum.edu.pl) (the “Submit your paper” tab), according to the Editorial System form.

The following file formats are accepted:

- for text: any version of Microsoft Word (doc, docx), rich text format (rtf),
- for figures: jpg, jpeg, gif, tif, tiff, bmp, png files.

The required documents, i.e. the *Cover Letter (Author/Co-author declaration)* shall be sent to the Editorial Office:

- a) in electronic format (by e-mail), sent with a safe electronic signature, in accordance with the applicable regulations,
- b) in a letter (registered mail) to the address of the Editorial Office – as a legibly signed form of the *Cover Letter (Author/Co-author declaration)*.

If the work was co-authored, the *Cover Letter* shall be signed and returned by each co-author separately.

#### Editorial Address:

Redakcja „Annales Academiae Medicae Silesiensis”  
Katedra i Zakład Propedeutyki  
Chorób Wewnętrznych i Medycyny Ratunkowej  
Wydziału Zdrowia Publicznego w Bytomiu  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
41-902 Bytom  
ul. Piekarska 18  
tel./fax + 48 32 397 65 27  
e-mail: [aams@sum.edu.pl](mailto:aams@sum.edu.pl)  
<https://annales.sum.edu.pl>