

LEKARZ WOJSKOWY

MILITARY PHYSICIAN



2023

NR 1 VOL. 101

ISSN 0024-0745

- Jesteśmy gotowi na wyzwania współczesności – wywiad na 20-lecie WIM-PIB
- Zastosowanie lasera femtosekundowego w okulistyce
- Directed evolution of AAV capsids for improved efficacy and specificity of delivery to preclinical models of human liver
- Nabyta hemofilia A i zespół antyfosfolipidowy w przebiegu toczenia rumieniowatego układuowego z zajęciem nerek

**WOJSKOWY
INSTYTUT MEDYCZNY
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY**

Informacje dla autorów

Informacje ogólne

„Lekarz Wojskowy” jest czasopismem ukazującym się nieprzerwanie od 1920 r., obecnie jako kwartalnik wydawany przez Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie.

1. „Lekarz Wojskowy” zamieszcza prace oryginalne (doświadczalne i kliniczne), prace poglądowe, doniesienia dotyczące zagadnień wojskowych, opracowania deontologiczne, opracowania ciekawych przypadków klinicznych, artykuły z historii medycyny, aspekty prawa medycznego, opisy wyników racjonalizatorskich, wspomnienia pośmiertne, listy do Redakcji, oceny książek, streszczenia (przeglądy) artykułów z czasopism zagranicznych dotyczących szczególnie wojskowej służby zdrowia, sprawozdania ze zjazdów i konferencji naukowych, komunikaty o zjazdach.
2. Każda praca przed przyjęciem do druku jest oceniana przez 2 niezależnych recenzentów z zachowaniem anonimowości. Czas na odpowiedź na zaproszenie do recenzji 7 dni, czas na recenzję 30 dni, czas na recenzję poprawionej pracy 14 dni.
3. Przesyłając pracę kliniczną należy zadbać o jej zgodność z wymogami Deklaracji Helsińskiej, w szczególności o podanie w rozdziale „Materiał i metody” informacji o zgodzie Komisji Bioetycznej, jak również o świadomej zgodzie chorych na udział w badaniu. W przypadku wykorzystania wyników badań z innych ośrodków należy to zaznaczyć w tekście lub podziękowaniu.
4. Autorzy badań klinicznych dotyczących leków (nazwa międzynarodowa) i procedur medycznych powinni przedstawić opis finansowania badań i wpływu sponsora na treść publikacji.
5. Autor ma obowiązek dostarczyć Redakcji zgodę właściciela ilustracji na ich użycie w artykule.
6. Prace należy nadsyłać przez Editorial System.
7. Redakcja zwraca się z prośbą do wszystkich Autorów pragnących zamieścić swe prace na łamach „Lekarza Wojskowego” o dokładne zapoznanie się z niniejszymi zasadami i ścisłe ich przestrzeganie. Niestosowanie się do wymagań Redakcji utrudnia badanie, zwiększa koszty i opóźnia ukazywanie się prac. Prace napisane niezgodnie z niniejszymi zasadami nie będą publikowane, a przygotowane niewłaściwie będą zwracane Autorom w celu ich ponownego opracowania.

Maszynopis wydawniczy

1. Artykuły należy przygotować w edytorze tekstu WORD i przesać przez Editorial System.
2. Liczba stron maszynopisu (łącznie z tabelami, rycinami i piśmiennictwem) nie może przekraczać w przypadku prac: oryginalnych – 30, poglądowych – 20, kazuistycznych – 10, z historii medycyny – 20, racjonalizatorskich – 15 stron. Streszczenia ze zjazdów, kongresów itp. powinny być zwięzłe, do 5 stron i zawierać tylko rzeczy istotne. W każdym przypadku piśmiennictwo nie powinno zawierać więcej niż 35 pozycji.
3. Publikacja oryginalna może mieć także formę krótkiego doniesienia tymczasowego.
4. Materiały do druku:
 - 1) Tekst (z piśmiennictwem) umieszcza się w odrębnym pliku. Tekst musi być napisany czcionką Times New Roman 12 pkt, z podwójnym odstępem między wierszami (dotyczy to też piśmiennictwa, tabel, podpisów itd.). Nowy akapit zaczyna się od lewego marginesu bez wcięcia akapitowego. Nie wstawia się pustych wierszy między akapitami lub wyliczeniami. Prace oryginalne powinny być przygotowane zgodnie z układem: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, omówienie, wnioski, piśmiennictwo; prace kazuistyczne: wstęp, opis przypadku, omówienie, podsumowanie (wnioski), piśmiennictwo. Skróty i akronimy powinny być objaśnione w tekście przy pierwszym użyciu, a potem konsekwentnie stosowane.
 - 2) W tekście głównym trzeba zaznaczyć miejsca włamania rycin i tabel, np.: „na rycinie 1”, „(tab. 1)”. Tabele, ryciny i zdjęcia załącza się w osobnych plikach. Liczbę tabel należy ograniczyć do minimum. Zdjęcia cyfrowe powinny mieć min. rozdzielczość 300 dpi.
5. Prace powinny być przygotowane starannie i zgodnie z zasadami pisowni polskiej, ze szczególną dbałością o komunikatywność i polskie mianownictwo medyczne. Teksty niespełniające tych kryteriów będą odsyłane do poprawy.
6. Informacje afiliacyjne: imię i nazwisko Autora lub Autorów (maks. 10 osób) z tytułami naukowymi, pełną nazwą zakładu (zakładów) pracy umieszcza się w programie Editorial System. Należy wskazać także autora do korespondencji. Proszę nie zamieszczać tych informacji bezpośrednio w wysłanym manuskrypcie.
7. Streszczenie (do 250 słów) w języku polskim lub angielskim ze słowami kluczowymi w języku polskim i angielskim także należy załączyć przez program Editorial System, proszę nie umieszczać streszczenia dodatkowo w pliku manuskryptu. Piśmiennictwo powinno być ułożone zgodnie z kolejnością pojawiania się odsyłaczy w tekście. Jeśli artykuł ma nie więcej niż czterech autorów, należy podać nazwiska wszystkich, jeśli autorów jest więcej – maksymalnie trzech pierwszych z dopiskiem „et al”. Numerację piśmiennictwa należy wprowadzać z klawiatury, nie korzystając z możliwości automatycznego numerowania. Przykłady cytowań:

Artykuły z czasopism:
Calpin C, Macarthur C, Stephens D, et al. Effectiveness of prophylactic inhaled steroids in childhood asthma: a systemic review of the literature. *J Allergy Clin Immunol*, 1997; 100: 452-457

Książki:
Rudziński E. Alergia na leki: z uwzględnieniem odczynów anafaktycznych i idiosynkrazji. Lublin, Wydawnictwo Czelej, 2002: 338-340

Rozdziały książki:
Wantz GE. Groin hernia. In: Cameron JJ, ed. *Current surgical therapy*. St Louis, Mosby, 1998: 557-561

W wykazie piśmiennictwa należy uwzględnić tylko te prace, z których Autor korzystał, a ich liczbę należy ograniczyć do 10 w tekście artykułu, należy się powołać na wszystkie wykorzystane pozycje piśmiennictwa, a numer piśmiennictwa umieścić w nawiasie kwadratowym. Tytuły należy kopiować z medycznych baz danych w celu uniknięcia pomyłek.
8. Przesłany artykuł musi spełniać kryteria zgody na publikację zgodnie z zasadami przyjętymi w jednostce afiliacyjnej autora. Do pracy należy dołączyć: oświadczenie, że praca nie została wcześniej opublikowana i nie jest złożona do innego czasopisma, oświadczenie o sprzeczności interesów, ewentualne podziękowanie.
9. Redakcja zastrzega sobie prawo poprawienia mianownictwa i usterek stylistycznych oraz dokonanie skrótów bez uzgodnienia z Autorem.
10. W przypadku nieprzyjęcia pracy do publikacji Redakcja pisemnie poinformuje Autora o takiej decyzji.

Zasady etyki publikacyjnej

Zasady etyki publikacyjnej stosowane w czasopiśmie „Lekarz Wojskowy”:

1. Czasopismo „Lekarz Wojskowy” stosuje zasady etyki publikacyjnej mające na celu przeciwdziałanie nieuczciwym praktykom publikacyjnym.
2. Materiały zgłoszone Redakcji „Lekarza Wojskowego” do publikacji są weryfikowane pod kątem zgodności z zasadami etyki wydawniczej opisanymi m.in. w następujących dokumentach:
 - 1) wytyczne Komitetu ds. Etyki Publikacyjnej (Committee on Publication Ethics – COPE), „Kodeksu etyki pracownika naukowego” (opracowany przez Komisję do spraw etyki w nauce, wydanie drugie, PAN, Warszawa 2017);
 - 2) „Dobre praktyki w procedurach recenzyjnych w nauce” (opracowane przez Zespół do spraw Etyki w Nauce, który doradzał Ministrowi Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2009-2010);
 - 3) „Rzetelność w badaniach naukowych oraz poszanowanie własności intelektualnej” (Warszawa, 2012, MNiSW).
3. Redakcja „Lekarza Wojskowego” w szczególności:
 - 1) przeciwdziała zjawiskom ghostwritingu i guest authorship, które są przejawem nierzetelności naukowej;
 - 2) przestrzega przepisów prawa autorskiego zgodnie z ustawą z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (Dz. U. z 2021 r. poz. 1062, z późn. zm.);
 - 3) dokłada należytej staranności, by zapobiegać plagiatom i autoplagiatom poprzez stosowanie systemu antyplagiatowego Crossref Similarity Check przy użyciu oprogramowania iThenticate;
 - 4) ma prawo wycofać tekst (nawet po opublikowaniu), jeśli istnieją dowody świadczące o braku wiarygodności wyników badań i/lub fałszowaniu danych i/lub praca nosi znamiona plagiatu albo narusza zasady etyki wydawniczej;
 - 5) z chwilą wykrycia nieuczciwych praktyk jest zobowiązana:
 - a) skierować sprawę do Rzecznika Dyscyplinarnego WIM, jeśli dotyczy utworu pracownika naukowego;
 - b) w uzasadnionych przypadkach niezwłocznie informować o tych praktykach stosowne instytucje naukowe, jak również odpowiednie organy ścigania;
 - 6) zapewnia profesjonalny proces wydawniczy;
 - 7) zapewnia poufność i bezpieczeństwo przetwarzania danych osobowych zgodnie z obowiązującymi przepisami (m.in. RODO).

Information for the authors

General information

“Military Physician” has been published continuously since 1920, currently as a quarterly of the Military Institute of Medicine in Warsaw, Poland.

1. “Military Physician” publishes original (experimental and clinical) articles, reviews, reports on military issues, deontological papers, interesting case reports, articles on the history of medicine, descriptions of rationalisation results, posthumous memoirs, letters to the editor, book reviews, article (reviews) summaries from international journals particularly on military health service, reports on meetings and scientific conferences, and announcements of events.
2. Before publication, each article is reviewed by 2 independent reviewers while maintaining anonymity. The time to respond to a review invitation is 7 days, the time to complete a review is 30 days, and the time to complete the review of a corrected article is 14 days.
3. A clinical article for submission should be in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki, and the “Material and methods” section should contain both information on the approval of the Bioethical Committee and the patients’ informed consent to participate in the study. In the case of using the results of studies conducted by other centres, such information should appear either in the text or in the acknowledgements.
4. Authors of clinical studies on medications (international name) and medical procedures should provide a description of the research funding and the influence of the sponsor on the content of the publication.
5. The author must provide the editorial board with the consent of the owner of an image to use the image in an article.
6. Please submit your article using the Editorial System.
7. All authors who wish to publish their papers in Military Physician are asked to carefully read and strictly follow the guidelines listed below. Failure to follow the requirements of the Editorial Board makes editing more difficult, increases costs and delays publication. Manuscripts not meeting the requirements will not be published, and those considered inadequately prepared will be returned to the authors for revision.

Manuscript

1. Articles should be in MS Word and sent by Editorial System.
 2. The number of pages of the manuscript (including tables, figures and references) cannot exceed 30 pages for original articles, 20 for review articles, 10 for reports, 20 for articles on the history of medicine and 15 for rationalisation articles. Reports on meetings and conferences should be concise (up to 5 pages) and discuss only significant issues. The number of references should never exceed 35.
 3. An original publication may also have the form of a short temporary report.
 4. Materials for printing:
 - 1) Text (with references) should be uploaded as a separate file. The text must be written in Times New Roman 12 point font, double spaced (this also applies to references, tables, captions, etc.). A new paragraph should be started from the left margin without paragraph indentation. Please do not insert blank lines between paragraphs or enumerations. Original articles should be prepared according to the following structure: introduction, aim, material and methods, results, discussion, conclusions, references. Case reports: introduction, case description, discussion, summary (conclusions), and references. Abbreviations and acronyms should be defined when first mentioned in the text and consequently used in the paper.
 - 2) Figures and tables should be referenced in the body of the text as follows: “in Figure 1”, “(Table 1)”. Tables, figures and images should be saved in a separate file. The number of tables should be reduced to a minimum. Digital images should have a resolution of 300 dpi.
 5. Papers should be prepared carefully, in accordance with Polish spelling and with special attention to communicativeness and Polish medical nomenclature. Manuscripts that do not meet the criteria will be sent back to the authors for revision.
 6. Affiliation information: author’s or authors’ (max. 10 people) first and last names, including academic degrees, full name of affiliated institute (institutes) should be introduced in the Editorial System. Please indicate the corresponding author. Please do not include this information directly in the manuscript.
 7. An abstract (up to 250 words) in Polish or English with keywords in Polish and English should also be saved in the Editorial system. Please do not also include the abstract in the manuscript. References should be presented according to the order in which they appear in the text. If the article has up to four authors then all of them should be named, while if there are more, then name only the first three, followed by “et al”. References should be numbered using the keyboard, please do not use automatic numbering.
- Examples of citations:
- Journal articles:
Calpin C, Macarthur C, Stephens D, et al. Effectiveness of prophylactic inhaled steroids in childhood asthma: a systemic review of the literature. *J Allergy Clin Immunol*, 1997; 100: 452-457
- Books:
Rudziński E. Alergia na leki: z uwzględnieniem odczynów anafaktycznych i idiosynkrazji. Lublin, Wydawnictwo Czelej, 2002: 338-340
- Chapter of a book:
Wantz GE. Groin hernia. In: Cameron JJ, ed. *Current surgical therapy*. St Louis, Mosby, 1998: 557-561
- The list of references should include only those publications that were used by the author and should be reduced to 10. All references should be cited in the text and the numbers of references should be put in square brackets. In order to avoid errors, titles should be copied from medical databases.
8. The submitted article must comply with the criteria for consent to publication adopted in the author’s institution. The paper should be accompanied by: a declaration that the article has not been published before or simultaneously submitted to any other journal, Declaration of Conflict of Interest and acknowledgements, if applicable.
9. The Editorial Board reserves the right to correct nomenclature and stylistic errors as well as to introduce abbreviations without consultation with the author.
10. If the manuscript is not accepted for publication, the Editorial Board will inform the author in writing about the decision.

Principles of publication ethics

Principles of publication ethics applied in the journal “Lekarz Wojskowy” (“Military Physician”):

1. The journal “Lekarz Wojskowy” applies principles of publication ethics aimed at preventing unfair publication practices.
2. Materials submitted to the editorial board of “Lekarz Wojskowy” for publication are reviewed for compliance with the principles of publication ethics described in the following documents:
 - 1) the guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE), the Code of Ethics for a Scientific Employee (developed by the Commission on Ethics in Science, second edition, PAN, Warsaw 2017);
 - 2) Good practices in review procedures in science (developed by the Team for Ethics in Science, which advised the Minister of Science and Higher Education in 2009-2010);
 - 3) Reliability in scientific research and respect for intellectual property (Warsaw, 2012, Ministry of Science and Higher Education).
3. The editorial board of “Lekarz Wojskowy” in particular:
 - 1) counteracts the phenomena of ghostwriting and guest authorship, which are manifestations of scientific unreliability;
 - 2) observes the provisions of copyright law in accordance with the Act of 4 February 1994 on Copyright and Related Rights (Journal of Laws of 2021, item 1062, as amended);
 - 3) exercises due diligence to prevent plagiarism and self-plagiarism through the use of the Crossref Similarity Check anti-plagiarism system using the iThenticate software;
 - 4) has the right to withdraw a text (even after publication) if there is evidence of unreliability of research results and/or falsification of data and/or the work shows signs of plagiarism or breaches the rules of publishing ethics;
 - 5) as soon as it discovers unfair practices, it is obliged to:
 - a) refer the matter to the Disciplinary Ombudsman of the WIM, if it concerns the work of a researcher;
 - b) in justified cases, immediately inform the relevant scientific institutions, as well as the appropriate law enforcement authorities about these practices;
 - 6) ensure a professional publishing process;
 - 7) ensure confidentiality and security of personal data processing in accordance with applicable regulations (including GDPR).



■ List Redaktora Naczelnego

Szanowni Czytelnicy

Rozpoczynamy kolejny rok wydawniczy. W grudniu 2022 r. na spotkaniu Komitetów Redakcyjnego i Naukowego naszego pisma postanowiliśmy rozszerzyć składy obu komitetów z nadzieją na szerszą współpracę i szerszą tematykę publikowanych prac. Na rok 2023 mamy ambitne plany, zamierzamy wydawać numery tematyczne. Nie będą one jednak w 100 procentach poświęcone jednemu działowi medycyny. Planujemy utrzymać w każdym numerze dział prawno-historyczny, sprawozdania z konferencji oraz wywiady.

W numerze pierwszym 101. tomu „Lekarza Wojskowego” polecamy pracę omawiającą zastosowanie lasera femtosekundowego w okulistyce, oryginalną pracę z zakresu laryngologii omawiającą nową metodę oceny poprawy słuchu u chorych z nagłą idiopatyczną jego utratą oraz prace z zakresu biologii molekularnej, czy też ciekawe przypadki z Kliniki Nefrologii.

Przedstawiamy też wywiad z Dyrektorem Wojskowego Instytutu Medycznego - Państwowego Instytutu Badawczego z okazji 20 lat działalności Instytutu, w którym prezentujemy rozwój Instytutu, dotychczasowe osiągnięcia i plany na kolejne lata.

Życzę ciekawej lektury oraz zachęcam do składania kolejnych prac.

prof. dr hab. n. med. Bolesław Kalicki



Redaktor Naczelny:
prof. dr hab. n. med. Bolesław Kalicki

Z-cy Redaktora Naczelnego:
prof. dr hab. n. med. Krzysztof Korzeniewski
mjr dr n. med. Agata Będzichowska

Sekretarz Redakcji:
mgr Ewa Jędrzejczak



Redaktorzy tematyczni:

dr hab. n. med. Beata Uziębło-Życzkowska
dr hab. n. med. Jacek Staszewski
płk dr hab. n. med. Marek Saracyn
płk dr hab. n. med. Arkadiusz Lubas
dr n. med. Andrzej Kwiatkowski
ppłk dr hab. n. med. Kornel Szczygielski
płk dr n. med. Marcin Możański
płk dr n. med. Radosław Tworus
dr Katarzyna Czarnek
dr n. biol. Robert Zdanowski
dr n. praw. Wawrzyniec Kowalski

dziedzina: kardiologia, choroby wewnętrzne
dziedzina: neurologia, rehabilitacja medyczna
dziedzina: endokrynologia, nefrologia, choroby wewnętrzne
dziedzina: nefrologia, biostatystyka, choroby wewnętrzne
dziedzina: chirurgia ogólna, chirurgia onkologiczna
dziedzina: otorynolaryngologia, chirurgia ogólna
dziedzina: anestezjologia i intensywna terapia, medycyna ratunkowa
dziedzina: psychiatria, psychologia
dziedzina: biologia, nauki podstawowe
dziedzina: nauki podstawowe
dziedzina: bezpieczeństwo, prawo medyczne

Komitet Naukowy

Przewodniczący:

gen. broni prof. dr hab. n. med. Grzegorz Gielerak

Członkowie honorowi:

prof. dr hab. n. med. Teofan Domżał
prof. dr hab. n. med. Eugeniusz Dziuk
dr hab. n. med. Stanisław Ilnicki
prof. dr hab. n. med. Anna Jung-Hauska
prof. dr hab. n. med. Jerzy Kruszewski
dr n. med. Jacek Siewiera
prof. dr hab. n. med. Edward Stanowski
prof. dr hab. n. med. Zofia Wańkowicz

Członkowie krajowi:

prof. dr hab. n. med. Andrzej Chciałowski
prof. dr hab. n. med. Renata Duchnowska
prof. dr hab. n. med. Mirosław Dziuk
prof. dr hab. n. med. Maciej Gonciarz
dr hab. n. med. Mariusz Goniewicz
prof. dr hab. n. med. Wiesław W. Jędrzejczak
prof. dr hab. n. med. Karina Jahnz-Różyk
prof. dr hab. n. med. Kuba Jałoszyński
prof. dr hab. n. med. Dariusz Jurkiewicz
płk prof. dr hab. n. med. Grzegorz Kamiński
dr hab. n. med. Jolanta Korsak
płk dr hab. n. med. Paweł Krzesiński
dr n. praw. Łukasz Młynarkiewicz
prof. dr hab. n. med. Stanisław Niemczyk
płk prof. dr hab. n. med. Witold Owczarek
prof. dr hab. n. med. Robert Rejda
płk prof. dr hab. n. med. Marek Rękas
prof. dr hab. n. med. Piotr Rzepecki
prof. dr hab. n. med. Adam Stępień
prof. dr hab. n. med. Witold Tłustochowicz
prof. dr hab. n. med. Barbara Wróblewska
prof. dr hab. n. med. Piotr Zaborowski
płk prof. dr hab. n. med. Grzegorz Zieliński

Członkowi zagraniczni:

Massimo Barozzi (Włochy)
Elspeth Cameron Ritchie (USA)
Nihad El-Ghoul (Palestyna)
Claudia E. Frey (Niemcy)
Anselm Jünemann (Niemcy)
Paweł Kaliński (USA)
Małgorzata Kloc (USA)
Frederic C. Lough (USA)
Marc Morillon (Belgia)
Arnon Nagler (Izrael)
Tomasz Rozmystowicz (USA)
Marek Rudnicki (USA)
Daniel Schneditz (Austria)
Eugeny Tishchenko (Białoruś)
Mario DamianoToro (Włochy)
Brenda Widerhold (USA)

Redakcja techniczna:

Redaktor prowadząca:
mgr Zuzanna Chodzeńska
Korekta:
APOGEA Mariola Łotysz
Korekta j. angielskiego:
dr hab. n. med. Katarzyna Jobs
Projekt okładki:
mgr inż. Krzysztof Gontarski
Typografia:
mgr inż. Krzysztof Gontarski
DTP:
APOGEA Mariola Łotysz

Adres Redakcji

Wojskowy Instytut Medyczny
– Państwowy Instytut Badawczy
ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa
tel. +48 261 817 380
e-mail: lekarzwojskowy@wim.mil.pl
lekarzwojskowy.wim.mil.pl

© Copyright by WIM-PIB

SPIS TREŚCI

LIST REDAKTORA NACZELNEGO

LIST REDAKTORA NACZELNEGO	3
--	----------

B. Kalicki

PRACE POGLĄDOWE

ZASTOSOWANIE LASERA FEMTOSEKUNDOWEGO W OKULISTYCE	7
--	----------

Application of the femtosecond laser in ophthalmology

M. W. Juda, J. Wierzbowska

ODRĘBNOŚCI W PROWADZENIU PŁYNOTERAPII W OPARZENIACH U DZIECI W PRAKTYCE ZESPOŁÓW RATOWNICTWA MEDYCZNEGO ORAZ SZPITALNEGO ODDZIAŁU RATUNKOWEGO	13
--	-----------

Differences in fluid therapy for burns in children in the prehospital settings and Hospital Emergency Department

J. Zachaj, Ł. Jabłoński

OŚRODKOWY GENERATOR WZORCA I KONTROLA ODDYCHANIA.	19
--	-----------

Central pattern generator and control of breathing

J. R. Romaniuk

PRACE ORYGINALNE

MULTI-FREQUENCY HEARING IMPROVEMENT ANALYSIS AS A METHOD EVALUATING RECOVERY IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC SUDDEN SENSORINEURAL HEARING LOSS	26
---	-----------

P. W. Rozbicki, J. Usowski, J. Siewiera, D. J. Jurkiewicz

DIRECTED EVOLUTION OF AAV CAPSIDS FOR IMPROVED EFFICACY AND SPECIFICITY OF DELIVERY TO PRECLINICAL MODELS OF HUMAN LIVER	32
---	-----------

M. Kwiatek, A. Michalski, K. Abramowicz, P. Rutyna, M. Wasiak, M. Reichert, L. Lisowski

PREDYKTORY SKUTECZNEJ INDUKCJI PORODU	41
--	-----------

Predictors for successful labour induction. The role of cervical scores

A. M. Maliszewska, A. Warska, J. Sierdziński, B. J. Bałan

OPIS PRZYPADKU

IgA NEPHROPATHY – ONE OF THE POSSIBLE CAUSES OF MALIGNANT HYPERTENSION.	48
--	-----------

M. Markowska, A. Zając, K. Romejko, S. Niemczyk

NABYTA HEMOFILIA A I ZESPÓŁ ANTYFOSFOLIPODOWY W PRZEBIEGU TOCZNIA RUMIENIOWATEGO UKŁADOWEGO Z ZAJĘCIEM NEREK	51
---	-----------

Acquired hemophilia A and antiphospholipid syndrome in a woman with systemic lupus erythematosus with renal manifestation

H. Minkiewicz, J. Olędzka, M.

HISTORIA MEDYCYNY I WOJSKOWEJ SŁUŻBY ZDROWIA	
MOJE 70 LAT Z NEUROLOGIĄ	57
My 70 years with neurology	
T. M. Domżał	
SPRAWOZDANIE	
SPRAWOZDANIE Z 20. EDYCJI INTERNATIONAL VASCULITIS AND ANCA WORKSHOP 2022	66
Report of the 20-th International Vasculitis and Anca Workshop 2022	
A. Rymarz	
WYWIAD	
JESTEŚMY GOTOWI NA WYZWANIA WSPÓŁCZESNOŚCI	69
We are ready for the challenges of modern times	
G. Gielerak, Z. Chodzeńska	



ZASTOSOWANIE LASERA FEMTOSEKUNDOWEGO W OKULISTYCE

Application of the femtosecond laser in ophthalmology



Maciej Juda¹, Joanna Wierzbowska^{1,2}

1. Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Okulistyki, Polska
2. Klinika Optegra w Warszawie, Optegra, Polska

Streszczenie: Wprowadzenie na rynek lasera femtosekundowego było niewątpliwym kamieniem milowym w rozwoju nowoczesnej medycyny. Laser ten znalazł zastosowanie także w okulistyce, gdzie wykorzystywany jest podczas wielu różnych procedur zabiegowych. Mimo że technologia ta może nadal kojarzyć się głównie z chirurgią refrakcyjną, to okazało się, że ma szereg użytecznych zastosowań także w innych gałęziach okulistyki. Laser femtosekundowy, znany z zabiegów laserowej korekcji wzroku, jest coraz częściej wykorzystywany m.in. podczas transplantacji rogówki, w leczeniu stożka rogówki oraz w trakcie operacji zaćmy. W niniejszym artykule omówiono najważniejsze zastosowania, skuteczność i bezpieczeństwo lasera femtosekundowego w nowoczesnej chirurgii okulistycznej.

Abstract: The launch of the femtosecond laser technology was an unquestionable milestone in the development of modern medicine. This laser has been successfully implemented in ophthalmology, where it helps during various surgical procedures. Although this technology may still be associated mainly with refractive surgery, it has turned out to have dozens of applications in many different branches of ophthalmology. The femtosecond laser has not only been used in laser vision correction procedures, but also in corneal transplantation, keratoconus treatment and cataract surgery. This article discusses the most important applications, effectiveness and safety of the femtosecond assisted procedures in modern ophthalmic surgery.

Słowa kluczowe: laser femtosekundowy, chirurgia refrakcyjna rogówki, starczowzroczność, chirurgia zaćmy, laser in situ keratomileusis.

Keywords: femtosecond laser, corneal refractive surgery, presbyopia, cataract surgery, laser in situ keratomileusis.

DOI: 10.53301/lw/151937

Praca wpłynęła do Redakcji: 30.06.2022

Zaakceptowano do druku: 07.07.2022

Autor do korespondencji:

lek. Maciej Juda

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Okulistyki, Warszawa

e-mail: mjuda@wim.mil.pl

Wstęp

Technologia lasera femtosekundowego, opracowana w Stanach Zjednoczonych na przełomie XX i XXI wieku, relatywnie szybko znalazła zastosowanie w medycynie, a zwłaszcza w chirurgii okulistycznej [1]. Lasery femtosekundowe wykorzystują promieniowanie podczerwone, które praktycznie nie jest absorbowane przez przezierne ośrodki optyczne oka, takie jak rogówka i soczewka.

Zasada działania lasera femtosekundowego polega na emisji impulsów świetlnych o czasie trwania zaledwie kilkuset femtosekund (10-15 s), długości fali 1053 nm i średnicy wiązki 0,001 mm. Co ważne, wiązka ta nie wywiera negatywnego wpływu na sąsiednie tkanki [1]. W przeciwieństwie do laserów argonowych i ekscymerowych, wykorzystujących zjawiska odpowiednio fotokoagulacji i fotoablacji, działanie laserów femtosekundowych oparte jest na efekcie fotodysrupcji. Jest to proces, w wyniku którego uwalniane są wolne elektrony i zjonizowane cząsteczki, a one w formie pęcherzyków

mikrokawitacyjnych i akustycznych fal uderzeniowych powodują przerwanie ciągłości i oddzielenie fragmentów tkanki bez traumatyzacji sąsiednich warstw [1]. Rana wycięta w taki sposób ma gładkie i równe brzegi, co znacznie przyspiesza proces gojenia i zapewnia przewidywalne wyniki pooperacyjne. To właśnie m.in. dzięki unikatowym właściwościom lasera femtosekundowego możliwe jest powtarzalne wykonywanie wyjątkowo precyzyjnych nacięć o różnych kształtach na dowolnych głębokościach w wielu rodzajach tkanek.

Zastosowanie technologii lasera femtosekundowego w praktyce umożliwiły wieloletnie badania fizyków m.in. Gerarda Mourou i Donny Strickland, którzy zostali uhonorowani Nagrodą Nobla w dziedzinie fizyki w 2018 r. za opracowanie metody generowania ultrakrótkich impulsów optycznych o wysokiej intensywności (*chirped pulse amplification*).

W artykule dokonano przeglądu aktualnego piśmiennictwa na temat zastosowań lasera femtosekundowego we współczesnej okulistyce.

Zastosowania lasera femtosekundowego w chirurgii refrakcyjnej

Na rynku komercyjnym technologia lasera femtosekundowego zadebiutowała w 2001 r. pod nazwą handlową Intralase™ i od razu spotkała się z ogromnym zainteresowaniem branży medycznej [2]. Miała na celu wytwarzanie płatków rogówki laserem femtosekundowym w trakcie zabiegów LASIK (*laser-assisted in situ keratomileusis*) i zastąpienie wykorzystywanych dotychczas w tym celu mechanicznych mikrokeratomów.

Dzięki krótkiemu okresowi rehabilitacji, bezpieczeństwu i szybkiej stabilizacji ostrości wzroku FemtoLASIK (*femtosecond LASIK*) wykazuje znaczną przewagę nad zabiegami refrakcyjnymi starszego typu [3]. Od momentu wprowadzenia na rynek znacznie rozwinęto i dopracowano tę technologię. Najnowsze sprzęty tego typu osiągają częstotliwości nawet 2 MHz, przygotowując płatek rogówki w ciągu zaledwie kilku sekund. Zwiększenie częstotliwości pracy pozwoliło zminimalizować zarówno ilość energii dostarczanej do tkanek, jak i podciśnienie potrzebne do stabilizacji gałki ocznej (znacznie niższe niż przy użyciu mikrokeratomu), co istotnie zwiększyło bezpieczeństwo procedury, a także pozwoliło uzyskać lepsze poczucie kontrastu [4] i mniejszą ilość aberracji sferycznych w porównaniu z metodą LASIK.

Płatek

We wprowadzonej w 1990 r. metodzie LASIK płatek wytwarzany był za pomocą mechanicznych urządzeń zwanych mikrokeratomami. Nadejście lasera femtosekundowego bez wątplenia wyznaczyło nowy kierunek rozwoju światowej okulistyki, a zwłaszcza chirurgii refrakcyjnej. FemtoLASIK jest aktualnie jednym z najchętniej wykonywanych zabiegów refrakcyjnych w krajach rozwiniętych. Duże zainteresowanie tą metodą wynika głównie z jej bezpieczeństwa i przewidywalności. Procedura ta polega na tym, że wytworzony przy użyciu lasera femtosekundowego płatek jest unoszony przez chirurga, a znajdująca się poniżej stroma jest następnie remodelowana wiązką lasera ekscymerowego. Na koniec płatek jest ponownie przykładany na miejsce. Dzięki technologii lasera femtosekundowego wytwarzany płatek może mieć różny kształt w zależności od preferencji i techniki chirurga. Dodatkowo, dla lepszej precyzji i bezpieczeństwa zabiegu, można zmienić kąt, pod jakim wykonuje się cięcie boczne, szerokość, kąt położenia i pozycję zawiasu płatk. Femtolaser daje możliwość regulacji nachylenia kąta bocznego, zmniejszając ryzyko potencjalnego wrastania nabłonka pod płatkem oraz ma pozytywny wpływ na jego stabilność. Preparowanie płatków rogówki przez laser femtosekundowy zajmuje maksymalnie kilkanaście sekund, a dzięki możliwości preparowania cienkich płatków (o grubości poniżej 110 mikronów) istnieje możliwość przeprowadzenia zabiegu płatkowego u pacjentów także z relatywnie cienkimi rogówkami. Dodatkowo zapewnia to znacznie niższe ryzyko powstania otworu płatk (*buttonhole*) oraz wolnego płatk pozbawionego zawiasu (*free cap*). Metoda laserowa sprzyja także ograniczeniu wystąpienia objawów suchego oka w okresie pooperacyjnym.

W badaniu Keziran i wsp. [5] porównującym wyniki zabiegów FemtoLASIK i LASIK na grupie 375 oczu udo- wodniono, że w grupie FemtoLASIK osiągnięto bardziej przewidywalną grubość płatk, niższe wartości astygmatyzmu pooperacyjnego i mniejszą traumatyzację nabłonka rogówki. Różnice w pooperacyjnej nieskorygowanej ostrości wzroku do dali (UDVA – *uncorrected distance visual acuity*) w obu grupach okazały się nieistotne statystycznie. Odsetek pacjentów z pełną (20/20) UDVA do dali w 1. dobie po zabiegu był podobny we wszystkich grupach. Po 3 miesiącach obserwacji ok. 99% pacjentów osiągnęło UDVA co najmniej 20/40, a ok. 70% z nich 20/20 lub lepszą. FemtoLASIK okazał się jednak znacznie bardziej przewidywalny pod względem wartości ekwiwalentu sferycznego (SE – *spherical equivalent*). SE +/- 0,5 D osiągnęło 91% operowanych pacjentów, podczas gdy w grupie LASIK było to odpowiednio 74% i 73% w zależności od użytego mikrokeratomu. Także Chen i wsp. [6] potwierdzili wyższość płatków wykonanych femtolasem nad wyciętymi przez manualne mikrokeratomy.

Lentikula

Nowsze metody laserowej korekcji wzroku, takie jak FLEEx® (*femtosecond lenticule extraction*) z 2006 r. i ReLEEx®/SMILE® (*refractive lenticule extraction/small incision lenticule extraction*) z 2010 r. pozwalają na całkowite wyeliminowanie konieczności wykorzystywania lasera ekscymerowego, a metoda ReLEEx® nie wymaga przy tym wytworzenia płatków rogówki. Takie postępowanie pozwala na uniknięcie potencjalnych powikłań związanych z obecnością płatk m.in. otworu w płatk (*buttonhole*) i wrastania nabłonka pod płatkem.

W metodzie FLEEx® laser przygotowuje w stromie rogówki lentikulę, którą następnie wydobywa się na zewnątrz poprzez standardowe, znane z techniki FemtoLASIK, cięcie okrężne.

Z kolei w technice ReLEEx® lentikulę wydobywa się poprzez niewielki 2-4 mm port. Głównymi zaletami metody SMILE® są: wysoka efektywność procedury, większa ochrona biomechaniczna rogówki poprzez znaczne ograniczenie wielkości nacięcia wertykalnego i mniejsze ryzyko wystąpienia zespołu suchego oka czy ektazji rogówki w porównaniu do metody FemtoLASIK [7]. Badania naukowe dowodzą, że zarówno FLEEx®, jak i SMILE® wykazują dobre i stabilne wyniki parametrów refrakcyjnych, ostrości wzroku, profilu bezpieczeństwa oraz przewidywalności [8].

Liu i wsp. [9] wykazali, że w oczach poddanych zabiegowi SMILE® obserwuje się mniejszą indukcję aberracji wyższego rzędu i większą czułość na kontrast niż w oczach poddanych korekcji równoważnej krótkowzroczności metodą FemtoLASIK.

W badaniu wykazano, że UDVA do dali w 1. dobie po zabiegu była lepsza u pacjentów w grupie FemtoLASIK, jednak w 6-miesięcznej obserwacji nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami FemtoLASIK i SMILE®. Odpowiednio 99% i 96% oczu uzyskało UDVA do dali 20/20 lub lepszą. Obie grupy nie różniły się istotnie także pod względem pooperacyjnych wartości SE.

Zastosowanie lasera femtosekundowego w korekcji starczowzroczności

Starczowzroczność (prezbiopia) to postępujące, związane z wiekiem, obniżenie zdolności soczewki oka do akomodacji powodujące wystąpienie objawów astenopijnych do blizy i odległości pośrednich. Mimo że nadal to okulary pozostają najpopularniejszą metodą korekcji prezbiopii zastosowanie metody Presbyond® (FemtoLASIK z jednoczesnym wytworzeniem monowizji) pozwala u odpowiednio zakwalifikowanych pacjentów na osiągnięcie co najmniej akceptowalnej ostrości wzroku do blizy. Jest to zabieg preferowany u pacjentów w wieku powyżej 38 lat i może być przeprowadzony u osób z krótkowzrocznością do -8,0 D, nadwzrocznością do +3,5 D, z astygmatyzmem do 2,0 D oraz u osób z normowzrocznością wymagających jedynie poprawy widzenia do blizy. Dodatkowym warunkiem zastosowania tej metody korekcji jest pozytywny wynik testu tolerancji monowizji podczas badania kwalifikacyjnego. Plan zabiegu układany jest indywidualnie dla każdego pacjenta w celu wytworzenia wyraźnego widzenia obuocznego do dali, blizy i odległości pośredniej.

Inną metodą korekcji starczowzroczności jest wprowadzona w 2009 r. procedura Intracore® oparta na technologii lasera femtosekundowego FEMTEC® firmy Bausch&Lomb. Technika polega na wykonaniu femtolaserem w stromie rogówki oka niedominującego 5 okrągłych, współśrodkowych nacięć, z których najszerze ma średnicę 3,5 mm. Rogówka po zabiegu staje się wielogniskowa, a wartość centralnej keratometrii ulega stopniowej zmianie, stabilizując się po 12 miesiącach na poziomie około 1 D. Metoda cechuje się niską inwazyjnością, gdyż nie wiąże się z naruszeniem nabłonka ani zmniejszeniem centralnej grubości rogówki. Do istotnych powikłań zalicza się efekt halo występujący po roku u 36% pacjentów, a brak poprawy ostrości wzroku do blizy odnotowano u 12% pacjentów [10], co powoduje, że metoda ta jest obecnie rzadko wykorzystywana.

Na całym świecie prowadzone są badania w celu opracowania nowych metod korekcji starczowzroczności z wykorzystaniem pobranej podczas zabiegu SMILE® lentikuli.

Jedną z obiecujących technik jest metoda PEARL (*presbyopic allogenic refractive lenticule*), opisana w 2017 r. przez Jacoba i wsp. [11], polegająca na wszczępieniu odpowiednio wypreparowanego fragmentu lentikuli pozyskanej od krótkowzrocznego dawcy w trakcie zabiegu SMILE® do kieszonki wytworzonej laserem femtosekundowym w rogówce biorcy. Zastosowanie metody odwróconego płątka do wytworzenia kieszonki zapobiega powikłaniom i pozytywnie wpływa na gojenie się rany. Implantacja lentikuli modyfikuje rogówkę biorcy w taki sposób, że uzyskuje ona właściwości płaszczyzny wielogniskowej.

Badacze opisali kilkusobową grupę normowzrocznych pacjentów ze starczowzrocznością, u których wszczępienia implantu dokonano w oku niedominującym. Przed pobraniem lentikuli wykonano odpowiednie testy serologiczne wykuczające obecność antygenów powierzchniowych u dawców. Po operacji nieskorygowana ostrość wzroku do blizy poprawiła się w badanej grupie od 3 do 5 rzędów Jaegera. Należy podkreślić, że zmianie nie ule-

gła wyjściowa, pełna ostrość wzroku do dali. Pacjenci w trakcie półrocznego okresu obserwacji byli zadowoleni z efektów zabiegu. Nie potrzebowali korekcji okularowej do blizy, odległości pośrednich, a także nie zgłaszali objawów dysfotopsji, efektów halo czy olśnienia.

Konieczne są dalsze badania na większej grupie badanych i z dłuższym okresem obserwacji w celu ostatecznego potwierdzenia skuteczności tej metody w korekcji starczowzroczności.

Zastosowanie lasera femtosekundowego i lentikuli w leczeniu stożka rogówki

Stożek rogówki (*keratoconus*) jest chorobą degeneracyjną objawiającą się postępującym ścięceniem i uwypukleniem części rogówki, co w konsekwencji powoduje powstanie astygmatyzmu nieregularnego i pogorszenie ostrości wzroku.

Sieciowanie rogówki (*crosslinking*, CXL) za pomocą ryboflawiny i światła ultrafioletowego A (UVA) jest uznawane za skuteczną i bezpieczną opcję leczenia stożka rogówki w oczach, w których grubość rogówki centralnej wynosi co najmniej 400 mikrometrów [12]. W celu „pogrubienia” zbyt cienkich rogówek, dla ochrony warstwy śródbłonki przed promieniowaniem stosowane są hipoosmolarne preparaty ryboflawiny oraz soczewki kontaktowe. Modyfikacje te wiążą się jednak z obniżeniem skuteczności procedury CXL [13]. Uwaga naukowców skupiła się zatem na możliwości wykorzystania allogenicznej lentikuli pozyskanej podczas zabiegu SMILE®. W badaniu z 2015 r. Sachdev i wsp. [14] wykazali, że w procedurze *Tailored Stromal Expansion CXL* grubość rogówki pacjenta ze stożkiem można zwiększyć poprzez bezpośrednie ułożenie allogenicznej lentikuli na zrębie rogówki biorcy. Badacze nie stwierdzili poważnych powikłań śródoperacyjnych ani pooperacyjnych. O osiągnięciu optymalnych wyników pooperacyjnych i zahamowaniu progresji stożka - po 6 miesiącach obserwacji - świadczą zarówno stabilne wartości pachymetrii, jak i keratometrii. Nie zaobserwowano przy tym znaczącej utraty komórek śródbłonki.

O powodzeniu przeprowadzonej procedury sieciowania z zastosowaniem lentikuli świadczyła obecność opisywanej w stromie każdego pacjenta linii demarkacyjnej widocznej w badaniu AS-OCT.

Kolejnym przykładem skutecznego zastosowania lentikuli w leczeniu stożka było opublikowane w 2015 r. przez Ganesha i wsp. [15] badanie, w którym oceniali procedurę FILI (*femtosecond intrastromal lenticular implantation*) w połączeniu z CXL u pacjentów z postępującym stożkiem i nietolerancją soczewek kontaktowych.

W badaniu sprawdzano m.in. wpływ procedury na kształt powierzchni rogówki, parametry refrakcyjne i ogólne bezpieczeństwo zabiegu. W celu uzyskania efektu spłaszczenia stożka dokonano wszczępienia 6 uprzednio kriokonserwowanych lentikul – alloimplantów, które pochodziły od nadwzrocznych pacjentów operowanych metodą SMILE®. Lentikule nasączono 0,25% ryboflawiną i odpowiednio wypreparowano, uzyskując kształt „donut-cake” celem zwiększenia grubości obwodowej rogówki biorcy z wypłaszczeniem jej centrum (wraz ze szczytem

stożka). Implanty wszczepiono do kieszonek zrębowych wytworzonych laserem femtosekundowym i poddano działaniu promieniowania UV.

Po 6-miesięcznym okresie obserwacji uzyskano znaczną poprawę zarówno nieskorygowanej, jak i skorygowanej ostrości wzroku do dali, sięgającą nawet kilku rzędów w skali logMAR oraz uzyskano istotną statystycznie poprawę wartości ekwiwalentu sferycznego. Opisano także uogólnione spłaszczenie średniej keratometrii z redukcją aberracji wyższego rzędu i obniżeniem parametrów asferyczności (współczynnik Q), dzięki uzyskaniu bardziej regularnej przedniej powierzchni rogówki. Nie wykazano istotnych powikłań śród- i pooperacyjnych. Dla potwierdzenia skuteczności tej alternatywnej metody leczenia stożka rogówki konieczne są dalsze badania randomizowane.

Tunele rogówkowe

Technologia lasera femtosekundowego umożliwia tworzenie tuneli (kieszonek) zrębowych o różnych wielkościach i kształcie w obrębie centralnej 6-milimetrowej strefy rogówki. Umieszcza się w nich dobierany indywidualnie dwuczęściowy implant (*ring*) w kształcie pierścienia w celu korekcyjnej krótkowzroczności do -3,5D, stożka rogówki czy jatrogennej ektazji po zabiegach keratorefrakcyjnych [1].

Do niewątpliwych zalet wszczępienia tego typu pierścieni należy m.in. stabilizacja lub zahamowanie rozwoju stożka już po kilku miesiącach od zabiegu oraz możliwość usunięcia implantów w razie potrzeby. Efekt pooperacyjny może być modyfikowany np. poprzez wymianę segmentu na inny lub zmianę jego położenia.

Piñero i wsp [16]. dowiedli, że wprowadzenie pierścieni do tuneli utworzonych przy użyciu lasera femtosekundowego pozwoliło osiągnąć porównywalne wyniki ostrości wzroku i refrakcji do tych wytworzonych z użyciem mechanicznego ekspandera, co więcej, metoda laserowa okazała się korzystniejsza pod względem pooperacyjnych wartości aberracji wyższego rzędu.

Z kolei Hashemi i wsp. [17] wykazali, że połączenie tej procedury z interwencją wzmacniającą tkankę, taką jak crosslinking, poprawia UDVA u tych pacjentów ze stożkiem, którzy nie tolerują korekcji za pomocą soczewek kontaktowych. Ryzyko ciężkich powikłań tej procedury wynosi ok. 1%. Są nimi perforacja rogówki, zakaźne zapalenie rogówki oraz wysunięcie implantu.

Zastosowania lasera femtosekundowego w chirurgii zaćmy

Chirurgia zaćmy wspomagana laserem femtosekundowym FLACS (*femtosecond laser-assisted cataract surgery*) to najnowsza z technik chirurgicznych zaćmy.

Pierwszy zabieg tego typu został przeprowadzony na Węgrzech w 2008 r. przez Nagy'ego [18]. Metoda ta, m.in. dzięki swojej precyzji i powtarzalności, dość szybko zyskała popularność na całym świecie. Technologia lasera femtosekundowego zmniejsza potrzebną energię i umożliwia zastosowanie lasera na dokładnie określonej

głębokości przy minimalnym uszkodzeniu sąsiednich tkanek. Wszystkie dostępne na rynku platformy FLACS są wyposażone w system obrazowania optycznej tomografii koherentnej (OCT) lub kamerę Scheimpfluga, która precyzyjnie naprowadza wiązkę laserową.

W celu prawidłowego nakierowania wiązki lasera operowane oko musi zostać odpowiednio ufixowane za pomocą systemu dokowania próżniowego. Dostępne na rynku platformy wykorzystują różne rozwiązania techniczne. Niektóre posiadają specjalną soczewkę aplanacyjną i system ssący (*LenSx®*, *Alcon* i *Victus*, *Bausch & Lomb*), inne - wypełniony płynem pierścień ssący (*Catalys®*, *Johnson & Johnson* i *LensAR*) [19].

Głównymi zaletami operacji zaćmy z użyciem lasera femtosekundowego są: niezwykła precyzja i powtarzalność umiejscowienia, rozmiaru i głębokości wykonywanych nacięć rogówki, przewidywalność rozmiaru i umiejscowienia kapsulotomii oraz zmniejszenie energii ultradźwiękowej potrzebnej do emulsyfikacji jądra soczewki poprzez wstępne pocięcie go na mniejsze fragmenty, co zmniejsza negatywny wpływ na śródbłonek.

Pomimo wspomnianych zalet opublikowane metaanalizy nie wykazały istotnych statystycznie korzyści płynących z wykonywania operacji wspomaganą laserem w porównaniu z konwencjonalną, manualną fakoemulsyfikacją wykonywaną przez doświadczonego chirurga [20]. Potwierdzono natomiast, że zastosowanie lasera femtosekundowego u chorych z obniżoną liczbą komórek śródbłonek jest korzystniejsze niż klasyczna operacja zaćmy, m.in. ze względu na ograniczenie traumatyzacji rogówki poprzez użycie mniejszej ilości ultradźwięków potrzebnych do fragmentacji jądra soczewki [21].

Ograniczeniem metody femtofakoemulsyfikacji jest bardzo wysoki koszt procedury wynikający z zakupu i eksploatacji platformy femtolasera.

Laser femtosekundowy w keratoplastyce drążącej

Nowoczesna keratoplastyka to kolejny przykład niebywałego postępu, jaki nastąpił w światowej okulistyce od 1905 r., kiedy to E. Zirm po raz pierwszy wykonał przeszczepienie rogówki. Laser femtosekundowy wydaje się być obiecującym narzędziem w uzyskaniu poprawy wyników pooperacyjnych, pozwalając na osiągnięcie większej precyzji podczas trepanacji, a w związku z tym lepszego dopasowania i stabilności przeszczepianej rogówki.

Skutkuje to zwiększeniem powierzchni stycznej pomiędzy płatkami a tkanką biorcy, pozytywnie wpływając na zmniejszenie astygmatyzmu pooperacyjnego i proces gojenia [22]. Wykorzystanie lasera femtosekundowego w keratoplastyce drążącej jest rozwinięciem koncepcji zaproponowanej w latach 60. XX wieku przez J. Barraquera charakteryzującej się różną grubością przeszczepu (graftu) w przedniej i tylnej części rogówki [23].

Badania naukowe dowiodły, że transplantacja z wykorzystaniem jednego z dwóch najczęściej wykonywanych obecnie wzorców trepanacji laserowej, tj. „top-hut” i „zigzag”, pozwoliła na osiągnięcie lepszej skorygowanej ostrości wzroku (CDVA – corrected distance visual

acuity) przy mniejszym astygmatyzmie pooperacyjnym i szybszym usunięciu szwów niż w przypadku klasycznej keratoplastyki. Należy zaznaczyć, że odsetek niepowodzeń i odrzutów jest podobny dla obu grup.

W badaniu oceniającym laserowe metody „top-hut” i „zigzag” osiągnięto porównywalne wartości ostrości wzroku, parametrów refrakcyjnych, liczby komórek śródbłonka oraz czasu gojenia [24]. Z kolei laserowa keratoplastyka drażąca techniką typu „mushroom” okazała się skuteczną opcją terapeutyczną zwłaszcza u dzieci. Metoda ta pozwoliła na osiągnięcie optymalnych wartości refrakcji oraz zmniejszenie astygmatyzmu pooperacyjnego z jednoczesnym ograniczeniem ryzyka odrzutu dzięki relatywnie mniejszej tylnej części przeszczepianego płatka [25].

Laser femtosekundowy w keratoplastyce warstwowej

Selektywne przeszczepianie warstw rogówki ma liczne zalety, a jedną z najważniejszych jest ograniczenie reakcji immunologicznej (i ryzyka wystąpienia odrzutu) dzięki transplantacji mniejszej ilości obcej tkanki. Dzięki możliwości wytwarzania przewidywalnych i precyzyjnych nacięć, w dowolnych konfiguracjach i na różnych głębokościach, laser femtosekundowy jest uznawany za użyteczne narzędzie także w keratoplastyce warstwowej. W przedniej głębokiej keratoplastyce warstwowej DALK (*deep anterior lamellar keratoplasty*) około 95% przedniej części rogówki jest usuwane z pozostawieniem jej najbardziej wewnętrznych fragmentów oraz błony Descemeta i warstwy komórek śródbłonka [26]. Możliwe jest oddzielenie błony Descemeta od przednich warstw zrębu poprzez podanie powietrza w tzw. procedurze „big-bubble” [27]. Trudność stanowi znalezienie odpowiedniego sposobu iniekcji powietrza, który w skuteczny sposób pozwoliłby na oddzielenie od siebie warstw rogówki bez towarzyszącego uszkodzenia błony Descemeta i konieczności konwersji procedury chirurgicznej do keratoplastyki drażącej.

Najnowsze rozwiązania wykorzystujące technologię lasera femtosekundowego pozwalają chirurgowi na wypreparowanie w rogówce kanału, przez który wprowadzana jest specjalna kaniula, aż do osiągnięcia odpowiedniej głębokości. Wykonanie tak precyzyjnej procedury jest możliwe dzięki jednoczesnej śródoperacyjnej wizualizacji warstw rogówki w optycznej tomografii koherentnej (OCT) [27].

Buzzonetti i wsp. [28] porównali DALK wspomagany laserem femtosekundowym z klasycznym zabiegiem tego typu u 20 dzieci i wskazali, że w grupie oczu operowanych z użyciem femtolasera, dzięki równym, laserowym nacięciom bocznym, dopasowanie tkanek dawcy i biorcy było bardzo precyzyjne i skutkowało mniejszym pooperacyjnym ekwiwalentem sferycznym i szybszym gojeniem się ran. Wprowadzenie keratoplastyki warstwowej tylnej bez wątplenia zrewolucjonizowało chirurgię rogówki do tego stopnia, że technika ta jest obecnie powszechnie wykorzystywana w ośrodkach okulistycznych na całym świecie w leczeniu zaawansowanych dystrofii Fuchsa lub innych chorób śródbłonka rogówki. Śródbłonek rogówki zbudowany jest z wysoko wyspecjalizowanych komórek, które mimo że nie są zdolne do regeneracji,

to odgrywają kluczową rolę w utrzymywaniu jej przezierności. Przeszczepienie tych komórek, czy to z niewielką ilością zrębu rogówki w tzw. procedurze DSEK/ DSAEK (*Descemet's stripping endothelial keratoplasty*), czy z samą błoną Descemeta jako ich nośnikiem, tzw. DMEK (*Descemet's membrane endothelial keratoplasty*) zwłaszcza w przypadku DMEK-a, pozwala na osiągnięcie bardzo dobrej pooperacyjnej ostrości wzroku [29]. Kluczowym etapem operacji jest usunięcie nieprawidłowo funkcjonującej błony Descemeta biorcy. Ten proces jest zwykle wykonywany manualnie.

Sorkin i wsp. [30] opublikowali w 2019 r. artykuł porównujący descemetoreksję, tj. usuwanie nieprawidłowej błony Descemeta, w sposób manualny i za pomocą lasera femtosekundowego. Wynika z nich, że do najważniejszych zalet metody laserowej można zaliczyć przede wszystkim osiągnięcie precyzyjnego wyśrodkowania, pożądanego kształtu i wielkości usuwanego obszaru błony.

Przyszłe zastosowania lasera femtosekundowego

Trwają intensywne prace nad miniaturyzacją i zwiększeniem mobilności platform laserowych. W nieodległej perspektywie powinna pojawić się możliwość wykonywania femtolaserowej pierwotnej kapsulotomii tylnej oraz nanoszenia odpowiednich oznaczeń na torebkę soczewki w celu idealnego ustawienia osi w przypadku implantacji torycznej soczewki wewnątrzgałkowej. Dodatkowo, na horyzoncie rysuje się możliwość pooperacyjnej modyfikacji mocy sztucznych soczewek wewnątrzgałkowych za pomocą wiązki femtolasera.

Podsumowanie

Technologia lasera femtosekundowego zrewolucjonizowała współczesną chirurgię okulistyczną. Stworzyła szereg nowych możliwości oraz pozwoliła nie tylko na zwiększenie skuteczności i bezpieczeństwa dotychczas wykonywanych procedur, ale także na opracowanie zupełnie nowych, przełomowych zastosowań.

Piśmiennictwo

1. Soong HK, Malta JB. Femtosecond lasers in ophthalmology. *Am J Ophthalmol*, 2009; 147 (2): 189-197
2. Ratkay-Traub I, Juhasz T, Horvath C, et al. Ultra-short pulse (femtosecond) laser surgery: initial use in LASIK flap creation. *Ophthalmol Clin North Am*, 2001; 14 (2): 347-55
3. McAlinden C. Corneal refractive surgery: past to present. *Clin Exp Optom*, 2012; 95 (4): 386-398
4. Montés-Micó R, Rodríguez-Galietero A, Alió JL. Femtosecond laser versus mechanical keratome LASIK for myopia. *Ophthalmology*, 2007; 114 (1): 62-68
5. Kezirian GM, Stonecipher KG. Comparison of the IntraLase femtosecond laser and mechanical keratomes for laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*, 2004; 30 (4): 804-811
6. Chen S, Feng Y, Stojanovic A, et al. IntraLase femtosecond laser vs mechanical microkeratomes in LASIK for myopia: a systematic review and meta-analysis. *J Refract Surg*, 2012; 28 (1): 15-24
7. Ganesh S, Gupta R. Comparison of visual and refractive outcomes following femtosecond laser-assisted lasik with smile in patients with myopia or myopic astigmatism. *J Refract*

- Surg, 2014; 30 (9): 590-596
8. Kamiya K, Shimizu K, Igarashi A, et al. Visual and refractive outcomes of femtosecond lenticule extraction and small-incision lenticule extraction for myopia. *Am J Ophthalmol*, 2014; 157 (1): 128-134
 9. Liu M, Chen Y, Wang D, et al. Clinical Outcomes After SMILE and Femtosecond Laser-Assisted LASIK for Myopia and Myopic Astigmatism: A Prospective Randomized Comparative Study. *Cornea*, 2016; 35 (2): 210-216
 10. Menassa N, Fitting A, Auffarth GU, et al. Visual outcomes and corneal changes after intrastromal femtosecond laser correction of presbyopia. *J Cataract Refract Surg.*, 2012; 38 (5): 765-773
 11. Jacob S, Kumar DA, Agarwal A, et al. Preliminary Evidence of Successful Near Vision Enhancement With a New Technique: PrEsbyopic Allogenic Refractive Lenticule (PEARL) Corneal Inlay Using a SMILE Lenticule. *J Refract Surg*, 2017; 33 (4): 224-229
 12. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, et al. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea*, 2007; 26 (4): 385-389
 13. Jacob S, Kumar DA, Agarwal A, et al. Contact lens-assisted collagen cross-linking (CACXL): A new technique for cross-linking thin corneas. *J Refract Surg*, 2014; 30 (6): 366-372
 14. Sachdev MS, Gupta D, Sachdev G, et al. Tailored stromal expansion with a refractive lenticule for crosslinking the ultrathin cornea. *J Cataract Refract Surg*, 2015; 41 (5): 918-923
 15. Ganesh S, Brar S. Femtosecond Intrastromal Lenticular Implantation Combined With Accelerated Collagen Cross-Linking for the Treatment of Keratoconus--Initial Clinical Result in 6 Eyes. *Cornea*, 2015; 34 (10): 1331-1339
 16. Piñero DP, Alio JL, El Kady B, et al. Refractive and aberrometric outcomes of intracorneal ring segments for keratoconus: mechanical versus femtosecond-assisted procedures. *Ophthalmology*, 2009; 116 (9): 1675-1687
 17. Hashemi H, Alvani A, Seyedian MA, et al. Appropriate Sequence of Combined Intracorneal Ring Implantation and Corneal Collagen Cross-Linking in Keratoconus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cornea*, 2018; 37 (12): 1601-1607
 18. Nagy Z, Takacs A, Filkorn T, et al. Initial clinical evaluation of an intraocular femtosecond laser in cataract surgery. *J Refract Surg*, 2009; 25 (12): 1053-1060
 19. Wang J, Su F, Wang Y, et al. Intra and post-operative complications observed with femtosecond laser-assisted cataract surgery versus conventional phacoemulsification surgery: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol*, 2019; 19 (1): 177
 20. Schweitzer C, Brezin A, Cochener B, et al. Femtosecond laser-assisted versus phacoemulsification cataract surgery (FEMCAT): a multicentre participant-masked randomised superiority and cost-effectiveness trial. *Lancet*, 2020; 395 (10219): 212-224
 21. Kanclerz P, Alio JL. The benefits and drawbacks of femtosecond laser-assisted cataract surgery. *Eur J Ophthalmol*, 2021; 31 (3): 1021-1030
 22. Steinert RF, Ignacio TS, Sarayba MA. "Top hat"-shaped penetrating keratoplasty using the femtosecond laser. *Am J Ophthalmol*, 2007; 143 (4): 689-691
 23. Barraquer JI. Two-level Keratoplasty. *Int Ophthalmol Clin*, 1963; 3: 515-539
 24. Shehadeh Mashor R, Bahar I, Rootman DB, et al. Zig Zag versus Top Hat configuration in IntraLase-enabled penetrating keratoplasty. *Br J Ophthalmol*, 2014; 98 (6): 756-759
 25. Elkamshoushy A, Gonnah R, Madi S, et al. Single-piece femtosecond-assisted mushroom keratoplasty in children. *J AAPOS*, 2019; 23 (1): 28, e1-28.e5
 26. Reinhart WJ, Musch DC, Jacobs DS, et al. Deep anterior lamellar keratoplasty as an alternative to penetrating keratoplasty a report by the american academy of ophthalmology. *Ophthalmology*, 2011; 118 (1): 209-218
 27. Buzzonetti L, Laborante A, Petrocelli G. Standardized big-bubble technique in deep anterior lamellar keratoplasty assisted by the femtosecond laser. *J Cataract Refract Surg*, 2010; 36 (10): 1631-1636
 28. Buzzonetti L, Petrocelli G, Valente P, et al. Refractive outcome of keratoconus treated by big-bubble deep anterior lamellar keratoplasty in pediatric patients: two-year follow-up comparison between mechanical trephine and femtosecond laser assisted techniques. *Eye Vis (Lond)*, 2019; 6:1
 29. Stuart AJ, Romano V, Virgili G, et al. Descemet's membrane endothelial keratoplasty (DMEK) versus Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) for corneal endothelial failure. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018; 6 (6): CD012097
 30. Sorkin N, Mednick Z, Einan-Lifshitz A, et al. Three-Year Outcome Comparison Between Femtosecond Laser-Assisted and Manual Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea*, 2019; 38 (7): 812-816



ODRĘBNOŚCI W PROWADZENIU PŁYNOTERAPII W OPARZENIACH U DZIECI W PRAKTYCE ZESPOŁÓW RATOWNICTWA MEDYCZNEGO ORAZ SZPITALNEGO ODDZIAŁU RATUNKOWEGO

Distinctivenesses in fluid therapy for burns in children
in the prehospital settings and Hospital Emergency
Department



Jakub Zachaj¹, Łukasz Jabłoński²

1. Zakład Ratownictwa Medycznego, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska
2. Szpitalny Oddział Ratunkowy, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne Dziecięcy Szpital Kliniczny im. Józefa Polikarpa Brudzińskiego, Polska

Streszczenie: Uraz termiczny jest jednym z najcięższych i najczęściej występujących urazów powodujących znaczną śmiertelność w populacji pacjentów pediatrycznych. Jednym z elementów współczesnej terapii oparzeń jest prowadzenie odpowiedniej płynoterapii. Doskonale znana lekarzom, ratownikom medycznym i pielęgniarce reguła Parkland, służąca oszacowaniu podaży płynów u pacjenta poszkodowanego w wyniku oparzenia, została zaprojektowana dla osób dorosłych i jej zastosowanie w populacji pediatrycznej może prowadzić do poważnych następstw w postaci nadmiernego przeciążenia płynami poszkodowanego (tzw. fluid creep). Niedoszacowanie objętości przetaczanych płynów prowadzi do rozwoju wstrząsu oraz niewydolności nerek. Dobrze zastosowana płynoterapia powinna być prowadzona w oparciu o powierzchnię oparzenia, wagę dziecka oraz czynniki warunkujące zwiększenie lub zmniejszenie podaży płynów według odpowiedniej formuły (współistniejące urazy, uraz inhalacyjny, etc.).

Abstract: Thermal trauma is one of the most severe and most frequent injuries, causing significant mortality in the pediatric population. One of the elements of modern burn therapy is proper fluid therapy. The Parkland rule, well-known to doctors, paramedics and nurses, used to estimate the supply of fluids in a patient injured as a result of a burn, was designed for adults and its use in the pediatric population may lead to serious consequences in the form of excessive fluid overload (the so-called fluid creep). Underestimating the volume of infused fluids leads to the development of shock and renal failure. Properly conducted fluid therapy should be carried out on the basis of the burn area, child's weight and factors determining the increase or reduction of fluid supply according to used formula (coexisting injuries, inhalation trauma, etc.).

Słowa kluczowe: obrzęk, oparzenia, populacja pediatryczna, płynoterapia, krystaloidy.

Keywords: edema, burns, paediatric population, fluid therapy, crystalloids.

DOI 10.53301/lw/152664

Praca wpłynęła do Redakcji: 10.07.2022

Zaakceptowano do druku: 08.08.2022

Autor do korespondencji:

Jakub Zachaj
Zakład Ratownictwa Medycznego, Warszawski
Uniwersytet Medyczny
ul. Litewska 14/16, 00-575 Warszawa
e-mail: jzachaj@wum.edu.pl

Wstęp

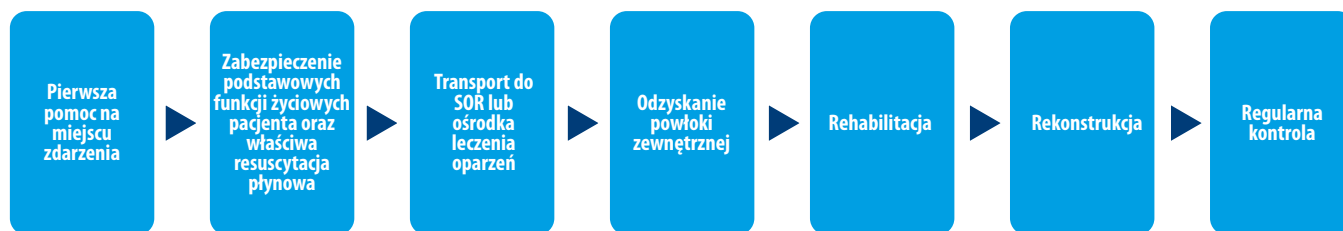
Właściwie poprowadzona płynoterapia jest kluczowa zarówno dla poprawy stanu, jak i dla przeżycia poszkodowanego, u którego wystąpiło oparzenie znacznej powierzchni ciała (powyżej 20%). Płynoterapia u poszkodowanych w wyniku oddziaływania wysokiej temperatury, substancji chemicznych, prądu elektrycznego, czy też promieniowania jest jednym z elementów nowoczesnych terapii poszkodowanych oparzonych i powinna zostać rozpoczęta jak najwcześniej od momentu wystąpienia urazu. Płynoterapia pacjenta pediatrycznego poszkodowanego w wyniku urazu oparzeniowego powinna być oparta o właściwe formuły płynoterapii, aby nie doprowadzić do przeładowania pacjenta płynami (tzw. zjawisko *fluid creep*). Niewłaściwa płynoterapia prowadzić może

do pogłębienia urazu, skutkując chociażby rozszerzeniem strefy niedokrwienia w obrębie urazu oparzeniowego. Płynoterapia prowadzona u oparzonego pacjenta jest procesem dynamicznym i wymagającym ciągłej oceny wdrożonego postępowania.

Ogólnoustrojowa odpowiedź organizmu na uraz oparzeniowy

Oparzenie definiowane jest jako uszkodzenie skóry i tkanek leżących pod jej powierzchnią, a spowodowanych oddziaływaniem wysokiej temperatury, środków chemicznych, prądu elektrycznego lub promieniowania. Stopień uszkodzenia skóry w wyniku urazu cieplnego zależy od czasu oddziaływania oraz temperatury czynnika, który powoduje tenże uraz. Odpowiedź fizjologiczna organi-

Rycina 1. Schemat opieki nad pacjentem po ciężkim oparzeniu.



Źródło: opracowanie własne.

zmu, który uległ urazowi oparzeniowemu, zależy od powierzchni oparzenia (*Total Burn Surface Area* – TBSA), jego głębokości, obecności oparzeń wewnętrznych, współistnienia oparzenia inhalacyjnego i/lub wdychania toksycznych oparów oraz czasu, w jakim zostanie wdrożona terapia, zwłaszcza w zakresie płynoterapii i zapobieganiu zakażeniom. Uraz termiczny powoduje zarówno uraz psychiczny, jak i fizyczny [1, 2].

Odpowiedź ogólnoustrojowa organizmu dziecka na uraz oparzeniowy obejmuje zmiany w układzie krążenia, układzie oddechowym, zmiany metaboliczne oraz immunologiczne. Zmiany w układzie krążenia wywołane są przez wzrost przepuszczalności naczyń włosowatych, w następstwie czego dochodzi do utraty białek wewnątrznaczyniowych i przemieszczenia płynu do obszaru pozanaczyniowego zarówno do tkanek objętych urazem, jak i zdrowych. Do przecieku naczyniowego dochodzi w tkankach miękkich, takich jak skóra, mięśnie oraz jelita. Patofizjologia tego zjawiska jest wynikiem masywnego wydzielania mediatorów zapalnych, tj. histaminy, bradykininy, serotoniny, tromboksanów, prostacyklin, prostaglandyn i leukotrienów. Wtórnie dochodzi do uwolnienia katecholamin, aldosteronu, wazopresyny oraz reniny w następstwie niedotlenienia nerek. Klinicznie manifestuje się ten stan wyczerpaniem objętości wewnątrznaczyniowej, obrzękiem tkanek miękkich oraz dalszą kaskadą katecholamin i cytokinin. Wraz ze zwiększeniem się przepuszczalności naczyń spada odpowiedź osmotyczna osocza, która zależna jest od ucieczki białek do przestrzeni śródmiąższowej (bezpośrednio i proporcjonalnie). Masywna ucieczka płynów do przestrzeni śródmiąższowej jest najsilniej wyrażona w drugiej godzinie od wystąpienia urazu. Wraz z ucieczką wewnątrznaczyniowego płynu osoczonego zmniejsza się także objętość łożyska naczyniowego, prowadząc do dekompensacji krążenia. Miejscowo obrzęki nasilają niedotlenienie w okolicznych tkankach, prowadząc do nasilenia i powiększenia obszaru martwicy [2, 3].

Wstępne postępowanie z dzieckiem poszkodowanym w wyniku urazu oparzeniowego

Postępowanie w oparzeniach opiera się na ocenie wydolności poszczególnych układów i wdrożenia interwencji krytycznych według schematu ABCDE:

- **Airway** – ocena i utrzymanie drożności dróg oddechowych,
- **Breathing and Ventilation** – ocena wydolności układu oddechowego,
- **Circulation and Cardiac Status** – ocena wydolności układu krążenia,

- **Disability, Neurological Deficit and Gross Deformity** – ocena stanu świadomości oraz skali urazów,
- **Exposure, Examine and Environmental Control** – badanie urazowe pacjenta oraz zapobieganie rozwojowi hipotermii.

Oceniając pacjenta pediatrycznego - według omawianego schematu - musimy pamiętać o pewnych odrębnościach anatomicznych takiego pacjenta, odrębnościach w przebiegu badania wstępnego i dalszego, a także o odrębnościach wynikających ze specyfiki urazu oparzeniowego [4, 5] (Ryc. 1.)

W przypadku oceny drożności dróg oddechowych i ich zabezpieczenia głównym problemem, z jakim może spotkać się personel medyczny, jest oparzenie wziewne i narastający obrzęk w drogach oddechowych, wymagający definitywnego zabezpieczenia. Drogi oddechowe dziecka cechują się mniejszą średnicą niż u osoby dorosłej, w związku z czym narastający nawet w niewielkim stopniu obrzęk w drogach oddechowych dziecka znacznie upośledza ich drożność (wraz z narastaniem obrzęku o 1 mm w drogach oddechowych dziecka opór u niemowlęcia wzrasta 16 razy) [6]. Wśród objawów wskazujących na narastanie obrzęku w drogach oddechowych dziecka należy wymienić: stridor, zwiększony wysięk oddechowy, tachypnoe, użycie dodatkowych mięśni oddechowych oraz zaciąganie mostka. Interwencją z wyboru w przypadku narastającego obrzęku dróg oddechowych u pacjenta pediatrycznego powinna być intubacja dotchawicza. Po potwierdzeniu prawidłowego wykonania procedury intubacji dotchawiczej zaleca się założenie sondy żołądkowej i odbarczenie żołądka u zaintubowanego dziecka. Dzieci w trakcie płaczu „połykają” znaczne ilości powietrza, co powoduje rozdęcie żołądka, upośledzając tym samym wentylację. Każde dziecko, u którego doszło do oparzenia wziewnego, powinno być transportowane do centrum leczenia oparzeń. Zabiegiem pozwalającym na zmniejszenie narastania obrzęku w drogach oddechowych dziecka jest uniesienie głowy pacjenta o 30 stopni, jeśli nie ma ku temu przeciwwskazań [7]. W trakcie oceny wydolności układu krążenia u pacjenta pediatrycznego należy jak najszybciej rozpocząć właściwą płynoterapię opartą o odpowiednią formułę płynoterapii dedykowaną pacjentowi pediatrycznemu oraz adekwatną ocenę powierzchni oparzonej (tj. drugi i trzeci stopień oparzenia powierzchni ciała dziecka obliczony według karty Lunda i Browdera lub w oparciu o regułę dłoni w przypadku oparzeń o mniejszej powierzchni) [8]. W przypadku, gdy określenie wagi dziecka oraz powierzchni TBSA jest niemożliwe, *American Burn Association* zaleca rozpoczęcie resuscytacji płynowej w oparciu o wiek poszkodowanego w następujących objętościach:

Rycina 2. Płynoterapia we wstępnej fazie postępowania w urazie oparzeniowym u pacjenta pediatrycznego.

Wstępna resuscytacja płynowa dziecka oparzonego wg. *American Burn Association*

poszkodowany w wieku 5 lat i młodszy: 125 ml RL/h,
 poszkodowany w wieku 6 – 13 lat: 250 ml RL/h,
 poszkodowany w wieku 14 lat i starsi: 500 ml RL/h.

Wstępna resuscytacja płynowa dziecka oparzonego wg. *Paediatric Trauma Life Support*

$0,25 \times \text{waga dziecka} \times \text{TBSA}$

Źródło: opracowanie własne na podstawie [7].

- poszkodowany w wieku 5 lat i młodszy: 125 ml Mleczanu Ringera (RL)/godzinę,
- poszkodowany w wieku 6-13 lat: 250 ml RL/godzinę,
- poszkodowany w wieku 14 lat i starsi: 500 ml RL/godzinę [8].

W przypadku urazu oparzeniowego *Paediatric Trauma Life Support* (PTLS) zaleca rozpoczęcie resuscytacji płynowej we wstępnej fazie postępowania obliczoną według następującego wzoru: $0.25 \times \text{waga dziecka (kg)} \times \text{TBSA}$ [9] (patrz Ryc. 2. Płynoterapia we wstępnej fazie postępowania w urazie oparzeniowym u pacjenta pediatrycznego).

W oszacowaniu wagi dziecka przydatne mogą się okazać wzory służące oszacowaniu wagi dziecka zaproponowane przez PALS, formuły Luscombe i Owensa, Resuscitation Council UK, czy też formuła Janus-Młodawskiej [10].

Niezależnie od wyboru metody wstępnej podaży płynów powinny być one podawane podgrzane przy zastosowaniu dostępnych ogrzewaczy płynów infuzyjnych lub też - w przypadku braku dedykowanych urządzeń do ogrzewania płynów infuzyjnych - możemy zastosować chociażby ogrzewacze do rąk. Płyn powinien być ogrzany do temperatury 40-42°C. Należy pamiętać o właściwej izolacji pojemnika, w którym płyn się znajduje oraz drenu

Tabela 1. Pediatryczne formuły służące oszacowaniu zapotrzebowania płynowego po urazie oparzeniowym.

Nazwa	Podaż krystaloidów	Podaż koloidów	Podaż glukozy	Sposób podaży
Reguła Cincinnati (dzieci mniejsze)	4 ml/kg/%TBSA + 1500 ml/m ² powierzchni ciała = objętość przetaczanego mleczanu Ringera	12,5g 25% albumin/l krystaloidów w ciągu ostatnich ośmiu godzin w pierwszych 24 godzinach płynoterapii	5% glukoza, jeśli zachodzi konieczność podaży	Połowa z wyliczonego zapotrzebowania płynowego powinna zostać przetoczona w ciągu pierwszych 8 godzin, druga połowa w ciągu kolejnych 16-stu godzin. Co 8 godzin należy zmieniać kompozycję przetaczanych płynów tj. w pierwszych 8 godzinach 50 mEq wodorowęglanu sodu, w ciągu kolejnych ośmiu godzin LR bez dodatków, następnie z dodatkiem albumin przez 8 godzin
Reguła Cincinnati (dzieci większe)	4 ml/kg/%TBSA + 1500 ml/m ² powierzchni ciała = objętość przetaczanego mleczanu Ringera	-	5% glukoza, jeśli zachodzi konieczność podaży	Połowa z wyliczonego zapotrzebowania płynowego powinna zostać przetoczona w ciągu pierwszych 8 godzin, druga połowa w ciągu kolejnych 16-stu godzin.
Reguła Eagle	30 ml/%TBSA + 10% wagi ciała (kg) + 4000 ml/m ² powierzchni ciała objętość przetaczanego 0.66 chlorku sodu	20g albumin/l	5% glukoza	Objętość płynów wyliczona za pomocą Reguły Eagla powinna być przetoczona w ciągu 48 godzin.
Reguła Galveston	5000 ml/m ² TBSA + 2000 ml/m ² powierzchni ciała = objętość przetaczanego mleczanu Ringera	12,5g 25% albumin/l krystaloidów	5% glukoza, jeśli zachodzi konieczność podaży	Połowa z wyliczonego zapotrzebowania płynowego powinna zostać przetoczona w ciągu pierwszych 8 godzin, druga połowa w ciągu kolejnych 16-stu godzin.

Źródło: opracowanie własne na podstawie [7].

[11]. W celu zabezpieczenia pacjenta przed utratą ciepła przedział karetki powinien zostać ogrzany do 28°C [12].

Prowadzenie resuscytacji płynowej powinno odbyć się przez dwa duże średnicy dostępy dożylny. Próbę kaniulacji żyłki należy podjąć jak najwcześniej, ze względu na możliwość wystąpienia obrzęku. W przypadku trudności w uzyskaniu dostępu żylnego dopuszczalne jest założenie dostępu w miejsce objęte urazem oparzeniowym. Pomocnym narzędziem w wykonaniu kaniulacji może okazać się ultrasonografia. Wykonanie dostępu doszpikowego jest zalecane dopiero wówczas, gdy uzyskanie dostępu żylnego jest niemożliwe. Niewłaściwie wykonany dostęp doszpikowy u pacjenta oparzonego może przyczynić się do rozwoju zespołu ciasni powięziowych (*compartment syndrome*). Próbie usunięcia dostępu doszpikowego należy podjąć niezwłocznie po uzyskaniu dostępu żylnego.

Pacjent pediatryczny, u którego uraz oparzeniowy nastąpił w wyniku porażenia prądem elektrycznym powinien mieć wykonane badanie EKG przez Zespół Ratownictwa Medycznego (ZRM). Monitorowanie czynności układu krążenia powinno być kontynuowane przez następne 24 godziny od wystąpienia urazu ze względu na możliwość wystąpienia zaburzeń rytmu serca.

Hipoglikemia i hipoksja mogą powodować zaburzenia stanu świadomości u oparzonego dziecka. Bardzo ważne jest, aby właściwie rozpoznać przyczynę zaburzeń świadomości i odpowiednio ją leczyć. W ocenie stanu świadomości poszkodowanego dziecka musimy także wziąć pod uwagę możliwość zatrucia alkoholem lub substancjami odurzającymi.

W trakcie badania pacjenta poszkodowanego w wyniku urazu oparzeniowego należy dążyć do przerywania procesu palenia/oparzenia, zdjęcie ubrania, skarpet, pieluchy oraz dokładnego oszacowania powierzchni oparzenia. Wszystkie oparzenia muszą zostać zaopatrzone odpowiednim opatrunkiem.

W trakcie badania powtórnego należy zwrócić uwagę na takie elementy jak:

- historia związana z wystąpieniem urazu (okoliczności zdarzenia, rodzaj i czas oddziaływania czynnika wywołującego uraz termiczny, pomoc udzielona na miejscu zdarzenia, etc.),
- pełna historia choroby poszkodowanego,
- określenie wagi pacjenta pediatrycznego,
- dokładne określenie TBSA,
- obliczenie zapotrzebowania płynowego pacjenta i kontynuacja prowadzonej płynoterapii,
- szczegółowe badanie urazowe pacjenta,
- zabezpieczenie urazu termicznego za pomocą odpowiednich opatrunków,

- właściwa analgezja lub analgosedacja pacjenta,
- wsparcie psychiczne.

Zasady prowadzenia płynoterapii u oparzonego pacjenta pediatrycznego

Płynoterapię u oparzonego pacjenta pediatrycznego należy rozpocząć niezwłocznie, gdy uraz stanowi co najmniej 10% TBSA. Resuscytacja płynowa oparzonego pacjenta pediatrycznego, ze względu na odrębności fizjologiczne, nie powinna być prowadzona w oparciu o reguły stosowane u pacjentów dorosłych (np. reguła Parkland) [8]. Pacjenci pediatryczni charakteryzują się większym stosunkiem powierzchni do masy ciała, innym zapotrzebowaniem płynowym oraz mniejszym zapasem glikogenu. Różnice te skutkują większą podażą płynów w leczeniu oparzeń. Podaż płynów według reguł opracowanych dla pacjentów dorosłych może okazać się nieadekwatna dla pacjenta pediatrycznego. Ponadto reguły stosowane u oparzonych dzieci powinny uwzględniać 5-proc. glukozę w zależności od spadków glikemii (reguły dwuskładnikowe z uwzględnieniem podaży glukozy w razie potrzeby, tj. reguły Cincinnati i Galveston – są one dedykowane oddziałom intensywnej terapii/oddziałom intensywnej opieki medycznej OIT/OIOM).

Reguły służące oszacowaniu ilości przetaczanego płynu u pacjentów pediatrycznych mają na celu ustalenie ilości płynów, jaką należy przetoczyć w celu resuscytacji płynowej oparzonego dziecka (*estimated fluid resuscitation* – EFR) oraz pokrycie zapotrzebowania płynowego pacjenta pediatrycznego (*maintanace fluids* – MFs). Obecnie w literaturze zwraca się uwagę na bardziej zindywidualizowane podejście do pacjenta oparzonego, opierając płynoterapię na jego rzeczywistym zapotrzebowaniu na płyn (*goal-directed fluid therapy*). W tego typu terapii płynowej zapotrzebowanie na płyn wylicza się nie tylko w oparciu o podstawowe parametry życiowe pacjenta, ilość oddanego moczu (*urine output* – UOP), ale także o takie parametry jak: ciśnienie skurczowe krwi (*systolic blood pressure* – SBP) oraz rzutu serca (*cardiac output* – CA). Zasady prowadzenia celowanej resuscytacji płynowej są rozwijane przez wiele ośrodków leczenia oparzeń i możemy się spodziewać, że w przyszłości zastąpią one dotychczas stosowane reguły podaży płynów u pacjentów poszkodowanych na skutek urazu oparzeniowego [13]. Warto nadmienić, iż obecnie nie dysponujemy formułą podaży płynów u pacjenta oparzonego, która idealnie odzwierciedla jego zapotrzebowanie płynowe. Formuły stosowane zarówno u pacjentów pediatrycznych, jak i dorosłych służą jako narzędzie pomocnicze w określeniu zapotrzebowania płynowego pacjenta z urazem oparzeniowym.

Optymalna płynoterapia pacjenta oparzonego powinna odbyć się w kilku etapach, z czego część z nich wdrożo-

Tabela 2. Porównanie składu Mleczanu Ringera i Płynu Ringera.

Nazwa	mmol/1000 ml				Bufor g/1000 ml	pH	Osmolarność mOsmol/l
	Na+	Cl-	K+	Ca2+			
Mleczan Ringera	131	112	5,36	1,84	6,34	5,0-7,0	278,5
Płyn Ringera	147,2	155,7	4,0	2,25	-	5,0-7,0	309,0

Źródło: opracowanie własne

na zostanie na miejscu zdarzenia, a część kontynuowana w ośrodku docelowym.

Etapy płynoterapii:

1. dokładne oszacowanie TBSA,
2. wybór drogi podaży płynów,
3. rozpoczęcie płynoterapii w oparciu o wybraną regułę,
4. monitorowanie podaży płynów i jej dostosowanie do zapotrzebowania pacjenta na płyny,
5. ustalenie zamierzonych efektów prowadzenia płynoterapii u pacjenta oparzonego,
6. wdrożenie odpowiedniego leczenia farmakologicznego wzmacniającego efekt prowadzonej płynoterapii [8].

Ważnym elementem prowadzenia płynoterapii jest dobór odpowiedniego roztworu do infuzji. Większość stosowanych reguł płynoterapii u pacjentów oparzonych opartych jest na podaży krystaloidów lub koloidów. Nie ma jednak dowodów naukowych, jakoby stosowanie koloidów w sposób znaczący wpływało na poprawę stanu pacjentów poszkodowanych w wyniku urazu oparzeniowego [14]. Większość z reguł szacujących zapotrzebowanie podaży płynowej, bazuje na infuzji mleczanu Ringera (płyn Ringera z mleczanami, LR). Warto zwrócić uwagę, że na przedszpitalnym etapie postępowania nie zawsze jest możliwość osiągnięcia prawidłowej płynoterapii z powodów prawnych. W Polsce ratownicy medyczni i pielęgniarki systemu mogą podać jedynie Roztwór Ringera, a nie Mleczan Ringera, które częściowo różnią się składem, co pokazano w Tabeli 2.

Inne podejście do płynoterapii oparzonego dziecka prezentują wytyczne *British Burn Association* (BBA) – zalecają rozpoczęcie płynoterapii w momencie, gdy poszkodowany ma więcej niż 20% TBSA. BBA w postępowaniu przedszpitalnym zaleca także zastosowanie dostępnego płynu do infuzji o możliwie największym stężeniu sodu – 0,9% NaCl [15].

Jak wspomniano wyżej, płynoterapię należy rozpocząć jak najwcześniej na miejscu zdarzenia, szacując ilość przetaczanych płynów na podstawie masy ciała pacjenta, a jeśli nie jest to możliwe – na podstawie wieku poszkodowanego.

W trakcie przeprowadzenia badania dalszego, gdy personelowi medycznemu uda się określić TBSA oraz wagę dziecka, należy oszacować zapotrzebowanie na płyny oparzonego pacjenta pediatrycznego, którego należy dokończyć na podstawie następującej formuły:

$$3 \text{ ml} \times \text{m.c. w kg} \times \% \text{TBSA}$$

Podobnie jak w przypadku innych formuł, służących uzupełnieniu zapotrzebowania na płyny u pacjenta, obliczoną ilość płynów dzielimy na pół, z czego pierwszą połowę należy przetoczyć w ciągu pierwszych 8 godzin, a pozostałą w pozostałe 16 [8].

Gdy mamy do czynienia z dzieckiem oparzone w wyniku oddziaływania prądu elektrycznego, należy skorzystać z następującej formuły:

$$4 \text{ ml} \times \text{m.c. w kg} \times \% \text{TBSA}$$

Również i w tym przypadku oszacowaną ilość płynów należy podzielić na dwie części i przetoczyć odpowiednio w 8 i 16 godzin. W kalkulacji ilości przetoczonych płynów należy zwrócić uwagę, że „zegar przetoczeniowy” rusza w momencie wystąpienia urazu, a nie w momencie dotarcia pomocy do poszkodowanego lub zgłoszenia się pacjenta do szpitalnego oddziału ratunkowego. Samo przetoczenie płynów według *American Burn Association* może zostać odroczone, jeśli czas dojazdu pacjenta do szpitala jest krótszy niż 60 minut, gdy u pacjenta występuje jedynie oparzenie bez współistniejących obrażeń. Wspomniane reguły przetaczania płynów służą oszacowaniu płynoterapii początkowej u pacjenta oparzonego. Podaż płynów powinna być dostosowana do odpowiedzi pacjenta na zastosowaną płynoterapię w oparciu o ilość wydalanego moczu [8].

Prowadzenie płynoterapii w sposób nieodpowiedni może mieć poważne następstwa już na etapie działań ratowniczych na miejscu zdarzenia. W przypadku prowadzenia płynoterapii u poszkodowanych, u których oprócz oparzeń skóry w różnych okolicach ciała wystąpiły również oparzenia wziewne, obrzęki w drogach oddechowych będą narastały szybciej, powodując potrzebę szybszego zabezpieczenia dróg oddechowych przy pomocy intubacji dotchawiczej. Intubacja dotchawicza wykonana bez wskazań może mieć poważne następstwa, w tym powodując narastanie obrzęku w drogach oddechowych poszkodowanego. Zabiegiem pomagającym spowolnić narastanie obrzęku wewnątrz dróg oddechowych jest uniesienie głowy o 30 stopni względem reszty ciała poszkodowanego. Poszkodowany z współistniejącym oparzeniem inhalacyjnym wymaga odpowiedniego i dokładnego monitorowania funkcji życiowych. Płynoterapia prowadzona zbyt małą, bądź zbyt dużą objętością przetaczanych płynów może prowadzić do pogorszenia stanu pacjenta, prowadząc chociażby do obrzęku płuc. Zwrócić uwagę należy, że kombinacje oparzeń skóry oraz oparzeń wziewnych mogą wymagać zwiększenia ilości przetaczanych płynów, których objętość oszacowano na podstawie formuł opartych o TBSA.

Odmiennego podejścia do płynoterapii w oparzeniach wymagają dzieci, u których oparzenie nastąpiło w wyniku oddziaływania prądu elektrycznego, a jego następstwem jest mioglobinuria (objawem charakterystycznym dla tego stanu będzie obecność ciemnego, podbarwionego na czerwono moczu). W przypadku oparzeń spowodowanych prądem elektrycznym należy prowadzić płynoterapię, miareczkując objętości godzinowe przetaczanego płynu, bazując na ilości oddawanego moczu (dzieci ważące do 30 kg: 1 ml/kg mc/godzinę oraz dzieci ważące powyżej 30 kg, do 17. roku życia: 0,5 ml/kg mc/godzinę, ilość moczu oddawana na godzinę powinna być wyliczana w oparciu o idealną masę ciała poszkodowanego) oraz ocenie stanu świadomości poszkodowanego. W przypadku osiągnięcia norm w zakresie oddawanego moczu oraz poprawy w zakresie stanu świadomości ilość przetaczanego płynu powinna zostać ograniczona. W przypadku odwrotnym – ilość oddawanego moczu nie może być zwiększona za pomocą zastosowania leków diuretycznych. Jedynym sposobem na zwiększenie ilości oddawanego moczu jest zwiększenie ilości przetaczanego płynu. Obecność moczu o ciemnym zabarwieniu, podbarwionego na czerwono, mimo prawidłowo prowadzonej płynoterapii

terapii może wskazywać na pojawienie się zespołu cieśni powięziowych. W przypadku obecności moczu o ciemnym zabarwieniu UOP powinno się mieścić w przedziale 1-2 ml/kg mc/godzinę, tak długo jak ciemna barwa moczu się utrzyma. W tym też przypadku konieczna może się okazać podaż mannitolu.

Wyróżnia się także grupę pacjentów, u których możemy nie uzyskać odpowiedniej odpowiedzi na prowadzoną resuscytację płynową:

- pacjenci z współistniejącymi urazami,
- pacjenci oparzeni, u których resuscytacja płynowa została znacznie opóźniona,
- pacjenci z ciężkimi oparzeniami,
- pacjenci poszkodowani w wyniku eksplozji,
- pacjenci, którzy przed wystąpieniem oparzenia byli znacznie odwodnieni,
- pacjenci pod wpływem alkoholu,
- pacjenci obciążeni wywiadem chorobowym.

W tej grupie pacjentów w warunkach przedszpitalnych oraz szpitalnego oddziału ratunkowego ze względu na czas, jaki pacjent spędzi pod opieką personelu medycznego, nie zmienia się sposobu postępowania. Jednak przy przedłużonej ekstrakcji, odroczonym transporcie do centrum leczenia oparzeń należy powyższe czynniki wziąć pod uwagę, zwiększając podaż płynów i kontrolując jednocześnie ilość wydalanej przez pacjenta moczu.

Podsumowanie

- właściwa płynoterapia pacjentów poszkodowanych w wyniku urazu oparzeniowego jest ważnym elementem nowoczesnej terapii, która powinna się rozpocząć już na miejscu zdarzenia,
- zanim za pomocą odpowiednich formuł oszacujemy zapotrzebowanie na płyny pacjenta oparzonego, możemy skorzystać z rozwiązań proponowanych przez ABA, PHTLS oraz PTLs,
- w trakcie dalszego badania należy dokładnie określić TBSA oraz wagę dziecka i na tej podstawie, korzystając z odpowiedniej formuły, obliczyć zapotrzebowanie płynowe pacjenta poszkodowanego w wyniku urazu oparzeniowego,
- konieczna jest kontrola prowadzonej płynoterapii, gdyż może ona mieć niekorzystne skutki dla stanu zdrowia poszkodowanego,
- musimy pamiętać, że istnieje grupa pacjentów, u której możemy nie uzyskać adekwatnej odpowiedzi organizmu na prowadzoną resuscytację płynową.

Piśmiennictwo

1. Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns. *BMJ*, 2004; 5-8, doi: 10.1136/bmj.328.7453.1427
2. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology* (10th ed.). Elsevier - Health Sciences Division, 2017; 378
3. Youn YK, LaLonde C, Demling R. The role of mediators in the response to thermal injury. *World J. Surg*, 1992; 16 (1): 30-36, doi: 10.1007/BF02067111
4. Seid T, Ramaiah R, Grabinsky A. Pre-hospital care of pediatric patients with trauma. *Int J Crit Illn Inj Sci*, 2012; 2 (3): 114-120, doi.org/10.4103/2229-5151.100887

5. Janus-Młodawska A, Stachurski J, Rzepka R. Postępowanie przedszpitalne w oparzeniach termicznych u dzieci. *Na Ratunek*, 2/2019; 8-16
6. Di Cicco M, Kantar A, Masini B, Nuzzi G, et al. Structural and functional development in airways throughout childhood: Children are not small adults. *Pediatric Pulmonology*, 2021; 56: 240-251, <https://doi.org/10.1002/ppul.25169>
7. Manowska M, Bartkowska-Śniatkowska A, Zielińska M, et al. The consensus statement of the Paediatric Section of the Polish Society of Anaesthesiology and Intensive Therapy on general anaesthesia in children under 3 years of age. *Anaesthesiol Intensive Ther*, 2013; 45: 119-133, doi.org/10.5603/AIT.2013.0027
8. *Advanced Burn Life Support Course. Provider Manual 2018 Update*. American Burn Association, 2018; 59-68
9. Dietrich AM, Campbell J. *Pediatric Trauma Life Support for Emergency Care Providers*. 3rd Edition, 2009; 171-187
10. Stachurski J, Rudzki M, Janus-Młodawska A. Credibility of the caregivers as a source of information on the weight of a pediatric patient in emergencies. Estimating body weight using age-dependent formulas. *Pol. Ann. Med.* 2022; 29(2): 125-130, doi:10.29089/2021.21.00196
11. Danzl DF. Accidental hypothermia. In: Auerbach PS, Cushing TA, Harris NS, eds. *Auerbach's Wilderness Medicine*. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2017; 135-62
12. Dow J, Giesbrecht GG, Danzl et al. *Wilderness Medical Society Clinical Practice Guidelines for the Out-of-Hospital Evaluation and Treatment of Accidental Hypothermia: 2019 Update*. *Wilderness & environmental medicine*, 30 (4S), 2019; 47, <https://doi.org/10.1016/j.wem.2019.10.002>
13. Sánchez-Sánchez M, García-de-Lorenzo A, Asensio MJ. First resuscitation of critical burn patients: progresses and problems. *Med Intensiva*, 2016; 40 (2): 118-124, doi.org/10.1016/j.medin.2015.12.001
14. Romanowski KS, Palmieri TL. Pediatric burn resuscitation: past, present, and future. *Burns Trauma*, 2017; 5-26, doi.org/10.1186/s41038-017-0091-y
15. RCSEd Faculty of Pre-Hospital Care and BBA: Expert Consensus on Management of Burns in Pre-Hospital Trauma Care - February 20, <https://fphc.rcsed.ac.uk/media/2621/burns-consensus-2019.pdf>, 12-14, dostęp 30.07.2022, kopia w zbiorach autora




OŚRODKOWY GENERATOR WZORCA I KONTROLA ODDYCHANIA

Central pattern generator and control of breathing



Jarosław Richard Romaniuk

Jack, Joseph and Morton Mandel School of Applied Social Sciences, Case Western Reserve University Cleveland, Ohio, United States

Jarosław Richard Romaniuk –  0000-0002-8568-6587

Streszczenie: Opublikowany 50 lat temu model nerwowej regulacji oddychania Clarka i Eulera był inspiracją dla nowego podejścia do badań ośrodkowego generatora głębokości i rytmu oddychania. Dzięki tym badaniom nasza wiedza dotycząca zarówno anatomicznej lokalizacji, jak i charakterystyki działania generatorów wzorca oddechowego uległa dużej zmianie. W prezentowanym artykule przedstawiono historię badań oddechowego generatora wzorca (CPG), a w szczególności wykazano, jak badania poszczególnych parametrów oddechowych stymulowały rozwój nowych hipotez i teoretycznych modeli ich kontroli ośrodkowej. Dzięki porównaniu badań generatorów ruchów cyklicznych oddychania i lokomocji można zobaczyć ich wzajemny wpływ na rozwój zastosowań klinicznych, szczególnie w przypadkach uszkodzeń rdzenia kręgowego. To właśnie w warunkach całkowitego lub częściowego porażenia wzrasta znaczenie technik wspomaganie pracy mięśni. Dlatego też w pracy wymieniono różne techniki wspomaganie ruchu i oddychania oraz omówiono ich wzajemne współdziałanie. Przedyskutowano możliwości uaktywnienia rdzeniowej sieci neuronalnej metodami farmakologicznymi lub przy pomocy elektrycznej stymulacji. Badania prowadzone przy zastosowaniu servo-respiratorów sterowanych biologicznie umożliwiły lepsze poznanie CPG oddychania oraz granice użyteczności wentylacji wspomaganie w warunkach klinicznych. W artykule omówiono możliwość zastosowania plastyczności zależnej od aktywności w rehabilitacji pracy mięśni ruchowych i oddechowych po uszkodzeniach rdzenia kręgowego.

Abstract: Fifty years ago, Clark and Euler published a model of the neural control of respiration that stimulated modern studies on the central generator of the rate and depth of breathing. These studies led to new discoveries concerning both anatomical localization and functional characteristics of respiratory central pattern generator (CPG), and as a result our knowledge has greatly changed. This article describes the history of respiratory CPG research and, more specifically, explains how studies concerning the regulation of breathing parameters affect the creation of new hypotheses and theoretical models of the neural control of respiration. Comparing studies on the generators of cyclic movements of respiration and locomotion helps us to show their significance for clinical research, especially in the field of spinal injury. After partial or total paralysis of muscles, techniques of muscle work assistance are especially important. Therefore, different techniques of assisted locomotion and breathing are presented here and an explanation of how locomotion and breathing can influence each other is offered. The ability to reactivate the spinal neuronal network using either pharmacological or electrical stimulation methods is discussed. Research performed with the application of biologically steered servo-respirators allow for a better understanding of respiratory CPG and show the limits of assisted ventilation in clinical practice. This article presents the role of activity-dependent plasticity in the rehabilitation of locomotor and respiratory muscles after spinal injury.

Słowa kluczowe: lokomocja, plastyczność, stymulacja elektryczna, rdzeń kręgowy, sieć neuronalna.

Keywords: locomotion, plasticity, electrical stimulation, spinal cord, neuronal network.

DOI 10.53301/lw/156877

Praca wpłynęła do Redakcji: 30.08.2022

Zaakceptowano do druku: 24.11.2022

Autor do korespondencji:

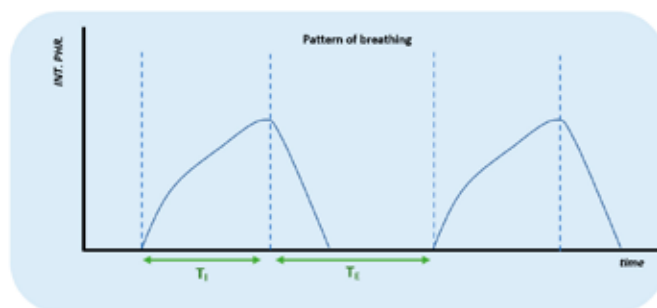
Jarosław Richard Romaniuk
Jack, Joseph and Morton Mandel School of Applied
Social Sciences, Case Western Reserve University
Cleveland, Ohio, 11235 Bellflower Rd,
44106, Cleveland OH
e-mail: jrr3@case.edu
tel.: 2162010197

Minęło pięćdziesiąt lat od opublikowania doświadczalnej pracy Clarka i Eulera na temat regulacji głębokości i częstotliwości oddychania [1]. Oba wymienione parametry opisują wartość wentylacji płuc, od której zależy wymia-

na gazowa zgodna z zapotrzebowaniem organizmu. Autorzy pracy wykazali, że parametry cyklu oddechowego są powiązane zależnością hiperboliczną. Tak powstała słynna „hiperbola Clarka i Eulera”, której poświęcono

wiele badań dotyczących generacji aktywności oddechowej w różnych warunkach napędu oddechowego. Do dnia dzisiejszego omawiana praca była cytowana w ponad 900 doniesieniach naukowych.

U podłoża wielu zachowań i czynności organizmów żywych leży rytmiczna aktywność sieci neuronalnych sterujących układem ruchowym. Ze względu na ich znaczenie najczęściej badane są zachowania związane z lokomocją i oddychaniem. Znając zasady działania jednego generatora, możemy porównywać jego działanie z innymi. Lokomocja związana jest z cyklicznym ruchem kończyn, który można przyspieszać lub zwalniać [2]. Oddychanie z kolei jest naprzemienną pracą mięśni wdechowych i wydechowych biorących udział w wentylacji płuc. Wartość wentylacji płuc, a więc pracę mięśni oddechowych, można opisać przy pomocy takich parametrów jak głębokość (V - Volume) i czas trwania wdechu (T_I) oraz wydechu (T_E) (Ryc. 1). Suma czasów trwania wdechu i wydechu stanowi cykl oddechowy, który jest odwrotnością częstotliwości



Rycina 1. Wzorzec oddechowy (*pattern of breathing*) przedstawiony jako zintegrowany zapis elektrycznej aktywności nerwu przeponowego (INT.PHR.), który jest proporcjonalny do objętości oddechowej (V).

Na osi czasu (time) zaznaczono czas wdechu (T_I) i wydechu (T_E).

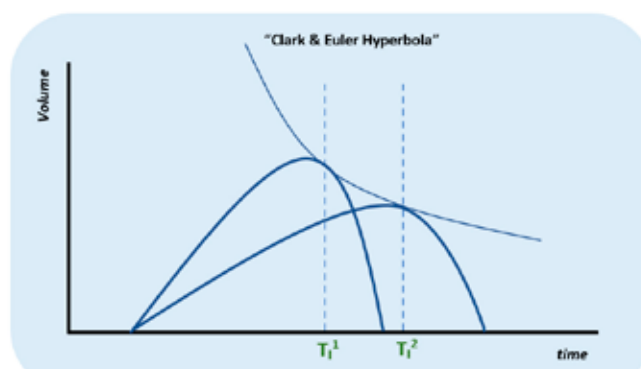
Generowanie ruchów cyklicznych przez układ nerwowy jest tematem badań prowadzonych zarówno na poziomie generacji aktywności sieci nerwowej, jak i jej współdziałania z innymi funkcjami organizmu. Na przykład przy zwiększaniu wysiłku związanego z ruchem - zwiększa się napęd oddechowy i rośnie wentylacja płuc [3]. Aby zrozumieć, jak zachodzi taka integracja, musimy poznać zasady budowy i działania ośrodkowych generatorów wzorca (CPG) ruchów cyklicznych. W tej pracy zostaną opisane badania parametrów cyklu oddechowego w warunkach spoczynku i podczas wzrostu napędu oddechowego. Ze względu na historycznych zostaną wspomniane badania CPG lokomocji, jako że to właśnie one dały początek rozwojowi badań CPG oddychania. Praca Clarka i Eulera jest dobrym przykładem zastosowania wiedzy o CPG lokomocji w badaniach regulacji oddychania. Znaczenie badań ośrodkowych generatorów wzorca zostanie omówione w przypadkach klinicznych urazów rdzenia kręgowego i niewydolności oddechowej.

Ośrodkowa generacja aktywności oddechowej

W tym rozdziale oddychanie będzie rozpatrywane jako cykliczna praca mięśni oddechowych w celu zapewnienia wentylacji płuc zgodnej z zapotrzebowaniem organi-

zmu. Wraz ze wzrostem napędu oddechowego wzrasta objętość oddechowa i amplituda przepływu powietrza przez drogi oddechowe. Wartość przepływu powietrza jest związana nie tylko z głębokością, ale również z częstotliwością oddychania, która zazwyczaj rośnie wraz ze wzrostem objętości wdechowej. Napęd oddechowy zależy od zapotrzebowania organizmu na tlen i produkcji dwutlenku węgla, którego ciśnienie cząstkowe można mierzyć w powietrzu wydychanym. W badaniach doświadczalnych regulacji oddychania często stosuje się mieszanki powietrza z dodanym dwutlenkiem węgla lub zmienioną zawartością tlenu. Czasami stosowane jest oddychanie zwrotne, w którym ciśnienie cząstkowe tlenu maleje, a dwutlenku węgla rośnie w trakcie trwania doświadczenia. Gdy oddychanie zwrotne prowadzone jest w warunkach hiperoksji, uzyskana odpowiedź jest tylko miarą zmian ciśnienia cząstkowego dwutlenku węgla w mieszance oddechowej. W ten sposób bada się stymulację chemiczną oddychania w warunkach hiperkapnii z hipoksją albo hiperoksją, co ma zróżnicowany wpływ na chemorecepcję obwodową i centralną.

Clark and Euler [1] wykonali swoje podstawowe doświadczenia na kotach w warunkach anestezji pentobarbitaliem. Napęd oddechowy zmieniano przy pomocy oddychania zwrotnego do worka wypełnionego tlenem; tak więc stymulowano oddychanie przy pomocy hiperkapnii w warunkach hiperoksji. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stymulacji chemicznej rośnie amplituda wdechu i maleje jego czas trwania. W badaniach określono, że próg hamowania wdechu, zgodny z odruchem Heringa-Breuera, maleje wraz z czasem trwania wdechu. Ta zależność oznacza, że krótszej wartości czasu wdechu (T_I) odpowiada większa głębokość wdechu (Ryc. 2). Podobny wynik uzyskano przy pomocy sztucznych inflacji płuc wykonanych na takim samym poziomie napędu oddechowego: głębszej inflacji odpowiadało większe skrócenie T_I .



Rycina 2. Przykładowe dwa zapisy objętości oddechowej na różnych poziomach CIA.

Punkty przetęczenia wdechu na wydech (określone przez czas T_I i głębokość V -Volume wdechu) układają się w zależność hiperboliczną.

Interesujące jest, że w pracy Clarka i Eulera [1] zastosowano respirator, który mógł być wyzwany aktywnością wdechową nerwu przeponowego. Dzięki temu badacze mogli podawać różną objętość powietrza do płuc (inflację) ze zmiennym opóźnieniem od rozpoczęcia wdechu. Stwierdzono, że im wcześniej we wdechu inflacja była podana, tym większą musiała mieć wartość, aby zahamować

aktywność wdechową. Ten wynik potwierdził wcześniej opisaną obserwację, że wartość progu odruchu Heringa-Breuera maleje wraz ze wzrostem czasu trwania wdechu. We wszystkich doświadczeniach, w których uzyskano zmiany czasu trwania wdechu, zaobserwowano, że czas trwania wydechu (TE) jest proporcjonalny do TI.

Przedstawiona przez Clarka i Eulera hiperbola $VxTI$ (Ryc. 2) i zależność liniowa między TI i TE stanowią pierwsze opisy zależności parametrów cyklu oddechowego uzyskane w zwierzęcym modelu doświadczalnym. Od tego czasu zarówno w pracowni Curta von Eulera, jak i wielu innych prowadzono badania nad stworzeniem modelu oddechowego CPG, który byłby zgodny z otrzymywanymi wynikami. Uznano, że CPG znajduje się w pniu mózgu i jest pod kontrolą ośrodkowo generowanej aktywności wdechowej, którą nazwano CIA (*Central Inspiratory Activity*). Amplituda CIA zależałaby od progu hamowania wdechu (*off-switch mechanism*), którego wartość maleje wraz z czasem wdechu i podlega kontroli struktur ośrodkowego mostu i aktywności dośrodkowej nerwu błędnego z mechanoreceptorów płucnych. Szybkość narastania CIA zależałaby wyłącznie od wartości napędu oddechowego. Badania wykonano przy zastosowaniu rozmaitych modeli doświadczalnych z wykorzystaniem różnych technik ingerencji w pracę CPG oddechowego. Zauważono wiele istotnych rozbieżności między uzyskanymi wynikami a założeniami modelu Clarka i Eulera.

Generalnie krytyka modelu Eulera po 1972 r. skupiła się na następujących elementach:

- uproszczonej koncepcji progu hamowania wdechu,
- niezależności szybkości narastania CIA od aktywności nerwu błędnego (aktywności wagalnej),
- uznaniu cyklu oddechowego za element skończony, zależny tylko od CIA i wagalnej aktywności z mechanoreceptorów płucnych w ramach tego samego oddechu. Liniowa zależność TE od TI poprzedzającego wdechu również wynikała z tego założenia. Właśnie te cechy CPG oddychania były zaczerpnięte z modelu lokomocji, w którym parametry jednego cyklu były dostatecznym opisem stanu CPG lokomocji.

Kolejne badania wykazały, że próg hamowania wdechu zmienia się nie tylko w funkcji czasu, ale zależy od stanu i źródła pobudzenia CIA w tym czasie. Stymulacja chemiczna, temperatura ciała, stan pobudzenia ośrodkowego układu nerwowego – wiele warunków wpływa na wartość progu hamowania wdechu. Na przykład podczas kaszlu lub oddechu końcowego (*gasp*) wagalne hamowanie wdechu może być zupełnie wyłączone. Istnieje również zjawisko krótkotrwałej plastyczności (*short-term plasticity lub habituation*), dzięki któremu wartość progu zmienia się w czasie kilku oddechów po zmianie bodźca. W takich warunkach parametry cyklu oddechowego zmieniają się od chwili wystąpienia bodźca w czasie dłuższym niż jeden cykl. Krótkotrwałą plastyczność zaobserwowano podczas badań z zastosowaniem wentylacji wspomaganą [4] i podczas elektrycznej stymulacji nerwu błędnego [5]. Poza zjawiskami o czasie trwania dłuższym niż jeden cykl oddechowy badano również szybkość narastania CIA w trakcie pojedynczego wdechu. Dzięki zastosowaniu wentylacji wspomaganą, co będzie omówione w kolejnych rozdziałach tej pracy, zaobserwowano, że aktywność wagalna może zmienić CIA w trakcie wdechu.

Badania z zastosowaniem krótkotrwałej inflacji wykazały z kolei, że szybkość narastania CIA może być chwilowo i odwracalnie hamowana (*graded inhibition*) w trakcie narastania CIA [6]. Tak więc założenie, że CIA zależy tylko od informacji ośrodkowej, nie utrzymało się w kolejnych modelach oddechowego CPG [7].

Euler [7] starał się również ustalić lokalizację neuronalnych odpowiedników elementów jego modelu. Wskazywał grupy neuronów pnia mózgu biorące udział w mechanizmie hamującym wdech i określał drogi, skąd dochodzi do nich informacja obwodowa i ośrodkowa. W jego modelu z 1983 r. występuje już bardziej rozbudowana kontrola wydechu, który został podzielony na dwie fazy z reprezentującymi je grupami neuronów. Podział cyklu oddechowego na trzy fazy długo utrzymał się w modelowaniu CPG oddychania [8]. Jednak dopiero badania zespołu Feldmana przyczyniły się do odkrycia różnych generatorów wdechu i wydechu, co łącznie z podziałem fazy wydechu na dwie składowe doprowadziło do powstania modelu trzech różnych generatorów tworzących CPG oddychania [9]. Dlatego też często mówimy nie o jednym, ale o wielu generatorach wzorca oddechowego.

Badania kliniczne

Zainteresowanie budową CPG jest związane z praktycznym wykorzystaniem wiedzy w pracy klinicznej. Na przykład w przypadku lokomocji wiemy, że generacja aktywności ruchowej zachodzi na poziomie rdzenia kręgowego i jest modulowana zarówno przez aktywność czuciową, jak i zstępującą aktywność z wyższych struktur ośrodkowego układu nerwowego [3]. Uszkodzenie rdzenia powyżej lokalizacji rdzeniowego CPG może uniemożliwić generację aktywności ruchowej. W badaniach doświadczalnych wykazano, że nawet gdy szlaki zstępujące są nieaktywne, pobudzenie rdzeniowego CPG lokomocji jest możliwe przy pomocy różnych technik stymulacji rdzeniowej sieci neuronalnej.

W badaniach przeprowadzonych u ludzi po urazach rdzenia kręgowego wykazano, że przy odpowiednim treningu i zastosowaniu aparatury wspomagającej można do pewnego stopnia przywrócić zdolność ruchów lokomocyjnych. W ten sposób wykazano, że rdzeniowy CPG może „nauczyć się” generować rytm pobudzenia mięśni ruchowych w zmienionej konfiguracji systemu nerwowego. Taka zmiana działalności rdzeniowego systemu neuronalnego wynika z jego własności plastycznych (*long term plasticity*) [10].

Umożliwienie fizjologicznego uaktywnienia mięśni ruchowych po uszkodzeniu rdzenia kręgowego ma znaczenie, ponieważ przeciwdziała skutkom zaniku zstępujących włókien nerwowych poniżej uszkodzenia, jak również atrofii mięśni. Dlatego też nie ustają badania, których celem jest poznanie mechanizmów pobudzenia rdzeniowych generatorów wzorca, które unerwiają mięśnie ruchowe. Dodatkowym celem tych badań jest poznanie mechanizmów, które umożliwiają współdziałanie różnych CPG i określenie ich wzajemnych powiązań. I w tym wypadku dobrym przykładem są badania współdziałania ośrodkowych generatorów wzorca aktywności lokomocyjnej i oddechowej [11].

Ośrodkowy generator wzorca oddechowego znajduje się w rdzeniu przedłużonym i moście. W wielu wypadkach uszkodzenie rdzenia kręgowego w odcinku szyjnym może całkowicie przerwać połączenia motoryczne CPG i w ten sposób uniemożliwić oddychanie. W takiej sytuacji najczęstszym sposobem utrzymania organizmu przy życiu jest zastosowanie sztucznej wentylacji. Długotrwałe utrzymanie wentylacji przy pomocy respiratora po uszkodzeniach rdzenia prowadzi do zaniku zstępujących włókien nerwowych i atrofii mięśni. Ponieważ oddechowe CPG znajdują się w rdzeniu przedłużonym, są one aktywne po uszkodzeniach rdzenia i teoretycznie mogłyby sterować pobudzeniem mięśni i w ten sposób utrzymać wentylację płuc. W dalszej części pracy zostaną omówione próby zastosowania wentylacji wspomaganej, która mogłaby zredukować atrofię mięśni oddechowych po uszkodzeniach rdzenia [12].

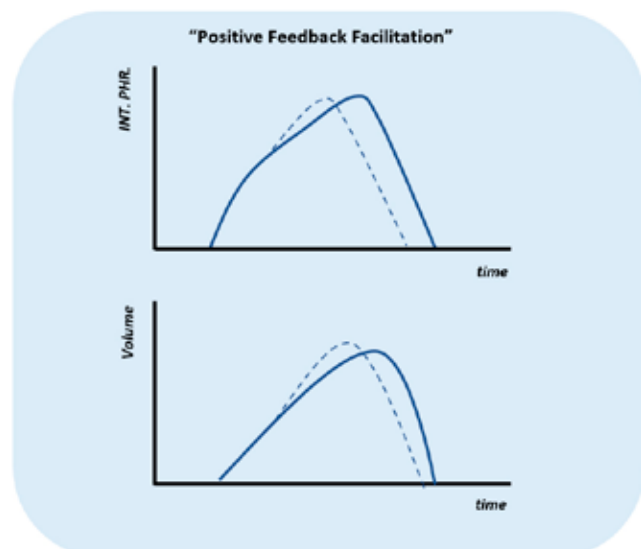
Sztuczny oddech

W sytuacji braku ruchów oddechowych lub w warunkach niedostatecznej wymiany gazowej niezbędna jest sztuczna wentylacja, podczas której powietrze, zazwyczaj wzbogacone w tlen, podawane jest do płuc w określonej objętości, czasie trwania inflacji i przerwie wydechowej. Parametry sztucznego oddechu ustawiane są przez osobę obsługującą pracę respiratora zgodnie ze wskazaniami zawartości dwutlenku węgla w powietrzu wydychanym i wybranymi parametrami metabolicznymi. Sztuczna wentylacja jest niezbędna do zachowania życia, ale jej stosowanie może być związane z wieloma problemami. Podczas spontanicznego oddychania w płucach powstaje podciśnienie, co wspomaga przepływ krwi, a podczas sztucznej wentylacji ciśnienie jest wyższe od atmosferycznego i zaburza krążenie płucne. W sytuacji, gdy są zachowane ruchy oddechowe, chociaż niewystarczające, mogą się one kłócić z narzuconym rytmem respiratora i tworzyć dyskomfort. Przy utrzymywaniu spontanicznym oddechu, pomimo niewydolności oddechowej, lepszą metodą wydaje się być wentylacja wspomagana, w której praca mięśni wdechowych wyzwala dopływ powietrza do płuc o stałej objętości lub stałym ciśnieniu. Osoba, która obsługuje respirator, ustawia odpowiednią wartość inflacji, podczas gdy częstotliwość inflacji może być regulowana przez pacjenta. Przy właściwej współpracy pacjenta i lekarza można osiągnąć wartość wentylacji płuc bliską zapotrzebowaniu organizmu [12, 13].

Christer Sinderby [12], pisząc o wentylacji zgodnej z potrzebami oddechowymi pacjenta, przypomniał, że w 1970 r. została opublikowana praca Andrzeja Huszczuka opisująca respirator sterowany zintegrowaną aktywnością nerwu przeponowego [14]. Oczywiście, taki respirator był przewidziany tylko do badań doświadczalnych na zwierzętach, ale dawał możliwość wentylacji płuc zgodnej z rzeczywistym zapotrzebowaniem organizmu. Przy ustawieniu właściwego wzmocnienia sygnału sterującego do płuc podawane było powietrze zgodnie z amplitudą i czasem trwania aktywności rejestrowanej z nerwu przeponowego. Podczas takiej wentylacji wspomaganej wraz ze wzrostem napędu oddechowego rośnie objętość i maleje czas trwania inflacji.

Zastosowanie respiratora sterowanego biologicznie (servo-respiratora) dodało nowego impulsu w badaniach modelu nerwowej kontroli oddychania opisanego przez Clarka i Eulera [4, 15]. Zmiany wzmocnienia sygnału zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego umożliwiły wprowadzenie stopniowych zmian objętości oddechowej poniżej i powyżej wartości kontrolnych na okres jednego lub kilku cykli oddechowych. W pracy Bartoli i wsp. [4] badania przeprowadzono na psach - uśpionych i wentylowanych przy pomocy respiratora sterowanego zintegrowaną aktywnością nerwu przeponowego. Cykl oddechowy u psów jest dłuższy niż u kotów, co umożliwiło bardziej dokładne badania odpowiedzi aktywności nerwu przeponowego na zmiany głębokości inflacji w czasie trwania jednego wdechu. Warto przypomnieć, że zintegrowana aktywność nerwu przeponowego (INT. PHR.) jest mierzalną reprezentacją ośrodkowo generowanej aktywności wdechowej - odpowiednikiem CIA z modelu Clarka i Eulera [1].

Już pierwsze badania, w których zmieniano wzmocnienie sygnału sterującego respiratorem, wykazały, że zmianom objętości oddechowej w ramach jednego wdechu towarzyszy zmiana szybkości narastania zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego: im większa była objętość inflacji, tym większy był wzrost aktywności wdechowej nerwu przeponowego (Ryc. 3).



Rycina 3. Pobudzenie aktywności wdechowej zgodne ze sprzężeniem dodatnim.

Linia ciągła przedstawia wdech kontrolny. Linia przerywana przedstawia wzrost szybkości narastania objętości wdechowej (Volume) i odpowiadający jej wzrost zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego (INT. PHR.). Pobudzeniu wdechu towarzyszy szybsze przełączenie wdechu na wydech.

Zjawisko opisane przez Bartoli i wsp. [4] ma charakter sprzężenia dodatniego, jako że wzrost aktywności wdechowej powodował odruchowe narastanie sygnału sterującego respiratora. Ta reakcja była niezgodna z dotychczasowym rozumieniem roli mechanoreceptorów płucnych jako czynnika hamującego wdech.

W czasach powstawania pracy Clarka i Eulera zjawisko sprzężenia dodatniego we wdechu nie było znane. Nie występowało we wcześniejszych przeprowadzonych badaniach na kotach i królikach w warunkach anestezji. Od czasu pracy Bartoli i wsp. [4] uważa się, że zjawisko to może być tłumione w różnych warunkach anestezji oraz że istnieją różnice gatunkowe, w jakich ten odruch jest obserwowany. W pracowni Witolda A. Karczewskiego w Warszawie przeprowadzono badania na królikach z zastosowaniem respiratora sterowanego biologicznie i stwierdzono, że wprawdzie odruch ten nie występuje w pomiarach aktywności nerwu przeponowego, jednak aktywność wdechowych mięśni międzyżebrowych może być pobudzona, a reakcja ta jest tym większa, im większe zastosowano wzmocnienie servo-respiratora. Różnica w reakcji aktywności przepony i mięśni międzyżebrowych może wynikać z faktu, że aktywność mięśni międzyżebrowych jest bardziej czuła na stymulację wagalną [16].

Poza obserwacją wagalnego sprzężenia dodatniego w ramach jednego wdechu w pracy Bartoli i wsp. [4] opisano również kilkusekundowe zmiany progu odruchu Heringa-Breuera po skokowej zmianie wzmocnienia sygnału sterującego. Opisane zjawisko jest przykładem krótkotrwałej plastyczności, dzięki której dochodzi do habituacji odruchu, pomimo utrzymania takiej samej stymulacji w czasie kilku oddechów. Amplituda obserwowanych zmian z oddechu na oddech była wprost proporcjonalna do ustawionego wzmocnienia sygnału sterującego servo-respiratora. Podobne zjawisko nie występowało po przecięciu obu nerwów błędnych [4, 17].

Bartoli i wsp. (1975) zmieniali czas trwania wdechu przy pomocy zmiany wzmocnienia servo-respiratora. Jednakże obserwowane zmiany TI nie wywoływały proporcjonalnych zmian czasu wydechu zgodnie z zależnością liniową opisaną przez Clarka i Eulera (1972). Tak więc kolejna charakterystyka CPG oddechu okazała się słuszna tylko w określonych warunkach doświadczalnych (koty w anestezji) i nie mogła być uznana za ogólną. Podsumowując wyniki pracy Bartoli et al. [4], wykazano, że:

- wartość ośrodkowego progu przełączającego wdech na wydech (off-switch) może zmieniać się w czasie kilku oddechów niezależnie od utrzymanej stałej wartości informacji wagalnej,
- szybkość narastania ośrodkowej aktywności wdechowej (CIA) zależy od aktywności wagalnej w ramach tego samego wdechu,
- zależność liniowa między TI i TE nie występuje w każdym warunkach doświadczalnych. Jest raczej przypadkiem szczególnym, a nie ogólnym.

Regulacja wydechu

Faza wydechu jest często ignorowana w badaniach nerwowej regulacji oddychania [10]. Ten brak zainteresowania związany jest z przekonaniem, że w warunkach spoczynku wydech jest czynnością bierną i zależy tylko od mechaniki oddychania. Również pierwsze modele CPG oddychania zakładały wzajemne hamowanie sieci neuronów wdechowych i wydechowych, co sugerowało pewną symetryczność generacji obu faz cyklu oddechowego.

Współczesne modele CPG oddychania wskazują na istnienie różnych generatorów faz wdechu i wydechu [9].

Czas wdechu jest silnie związany zależnością hiperboliczną z głębokością wdechu, ale czas wydechu zależy już od wielu warunków. Moment przełączenia faz (początek i koniec wdechu) jest często związany z aktywnością innych CPG, takich jak na przykład połykanie czy lokomocja, które wpływają na częstość oddychania [18]. Ta gotowość do współpracy z innymi CPG może być związana z brakiem przewidywalności reakcji TE na inflację podaną w różnych chwilach wydechu: ten sam bodziec może powodować skrócenie lub wydłużenie wydechu [19]. Badania nerwowej regulacji oddychania przy pomocy biologicznie sterowanego servo-respiratora dawno temu wykazały różną regulację TI i TE. Warto przypomnieć te badania teraz, gdy znaleziono anatomiczne substraty generatora wdechu i niezależną sieć neuronalną generacji wydechu [9].

W doświadczeniach wykonanych na królikach w narkozie halotanowej badano zmiany parametrów wzorca oddechowego na podanie tlenu z różną zawartością CO₂ w mieszance wdechowej. Badania wykonano w warunkach oddychania spontanicznego i podczas wentylacji wspomaganą przy pomocy respiratora sterowanego zintegrowaną aktywnością nerwu przeponowego. Wentylację wspomaganą wykonano przed i po porażeniu mięśni oraz powtórzono po przecięciu obu nerwów błędnych [20].

We wszystkich warunkach zaobserwowano, że objętość oddechowa rosła wraz ze wzrostem amplitudy zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego. W przypadku wentylacji wspomaganą dla silnego pobudzenia oddechowego przyrost objętości stawał się jednak coraz mniejszy przy takim samym przyroście amplitudy zintegrowanej aktywności nerwu przeponowego. Może to oznaczać, że wentylacja wspomaganą (szczególnie po porażeniu mięśni) wykluczyła możliwość dodatkowego wzrostu wentylacji płuc przy zastosowaniu innych mięśni oddechowych niż przepona. W świetle tej obserwacji warto wspomnieć doświadczenia osób, które stosują wentylację wspomaganą u pacjentów z niewydolnością oddechową. Otóż pacjenci często zgłaszają potrzebę zwiększenia objętości oddechowej, pomimo że parametry oddechowe wentylacji płuc są nastawione właściwie. Prawdopodobnie odczucie to wynika z odciążenia mechanorecepcji mięśni oddechowych w warunkach wentylacji wspomaganą.

W omawianych badaniach z zastosowaniem wentylacji wspomaganą w warunkach oddychania spontanicznego wzrostowi CIA towarzyszyły zmiany TE proporcjonalne do zmian TI. Jednak w kolejnych etapach doświadczenia, w których aktywność dośrodkowa z mięśni oddechowych i nerwów błędnych była stopniowo zaburzona lub zniesiona, TE podczas zwiększonej wentylacji płuc zmieniła kierunek reakcji: wydech stawał się coraz dłuższy wraz ze wzrostem objętości oddechowej. Ta reakcja była odwrotnie proporcjonalna do reakcji TI. Przyjmując pierwotny model CPG oddychania, tego typu reakcję byłoby trudno uzasadnić.

W kolejnych badaniach z zastosowaniem servo-respiratora narzucono tę samą objętość oddechową podawaną przez pompę oddechową i wyzwalało wdech (inflację) przez aktywność nerwu przeponowego [21]. W takich

warunkach zwierzęta doświadczalne mogły teoretycznie regulować częstotliwość oddychania bez możliwości regulacji głębokości oddychania. Wartość objętości oddechowej zmieniano co kilkanaście minut, aby uzyskać warunki ustabilizowanej wentylacji na różnych poziomach wartości wydychanego CO₂. Wraz ze zmniejszeniem ustawionej głębokości inflacji wzrastał czas trwania wydechu i rosło stężenie wydychanego CO₂. W ten sposób wykazano, że zwierzęta doświadczalne w przypadku spadku objętości oddychania nie mogą kompensacyjnie zwiększać częstotliwości oddychania [21].

Znaczenie poznania CPG oddychania dla badań klinicznych

Znaczenie badań budowy i funkcji CPG oddychania staje się oczywiste w rehabilitacji funkcji życiowych po urazach rdzenia kręgowego. Jak wcześniej wspomniano, znajomość działania CPG pomaga w planowaniu treningu mięśni, który może przysposobić CPG lokomocji do aktywności wspomagającej ruch. Takie przysposobienie można nazwać „plastycznością zależną od aktywności” [10]. W przypadku oddychania neurony biorące udział w CPG znajdują się w strukturach ponadrdzeniowych. Jednakże wiele badań wskazuje na istnienie sieci rdzeniowych interneuronów z połączeniami poprzecznymi do osi rdzenia, które są na tyle bogate, że nawet słaba aktywność zstępująca może je pobudzić do istotnej aktywności [22]. W ten sposób na przykład próbuje się odtworzyć generację aktywności mięśni wydechowych wystarczającą do wywołania kaszlu [23]. Należy pamiętać, że wśród dróg zstępujących są również oddziaływania hamujące i po ich uszkodzeniu sieć interneuronów rdzenia może być bardziej czuła na pobudzenie [24].

Nową metodą badań rdzeniowej sieci neuronalnej jest elektryczna stymulacja rdzenia z wysoką częstotliwością impulsów do 500 Hz [25]. Okazało się, że taka stymulacja pobudza sieć neuronalną rdzenia i jest w stanie wywołać aktywność mięśni zgodnie z fizjologicznym wzorcem wyładowań włókien motorycznych w zależności od ich progu pobudzenia. Najprawdopodobniej podczas takiej stymulacji pobudzana jest sieć interneuronów, których duża liczba i organizacja połączeń na poziomie rdzenia może działać jak „feedforward” i symulować zstępującą aktywność eferentną [26, 27]. W przypadku uszkodzeń rdzenia, w których zachowane są minimalne połączenia zstępujące, elektryczna stymulacja z dużą częstotliwością impulsów mogłaby tworzyć wstępne pobudzenie sieci rdzeniowej i dzięki procesowi plastyczności wypracować nowy system spełniający ośrodkowe wymagania motoryczne. Jak dotąd, stymulacja z dużą częstotliwością może być zastosowana do wywołania kaszlu [28] podobnie do koncepcji Jeffersona i wsp. [23].

Marder i Bucher [27] oraz Jefferson i wsp. [23] powołują się na wiele prac, które sugerują, że aktywacja sieci połączeń interneuronów rdzeniowych może prowadzić poprzez plastyczność zależną od aktywności do generacji czynności ruchowych w warunkach uszkodzenia rdzenia. Autorzy uważają, że znane połączenia generatorów oddychania i lokomocji na poziomie rdzenia [29] mogą pomóc w rekonstrukcji silnego pobudzenia rdzeniowych sieci interneuronów. Znając budowę i współdziałanie CPG lokomocji i oddychania, można zaprojektować spe-

cialistyczny trening mięśni wspomagający zarówno czynności ruchowe, jak i oddechowe. Istnieje wiele kierunków rozwoju takich metod: od wspomagania farmakologicznego [30] do wyżej wymienionej stymulacji elektrycznej rdzenia [25]. Należy też pamiętać o ograniczeniach, jakie wynikają z budowy CPG. Wiemy na przykład, że podstawowy CPG oddychania w przypadku zmniejszenia intensywności pracy mięśni wdechowych nie jest w stanie kompensacyjnie regulować częstotliwości oddychania [21]. Częstotliwość rdzeniowej aktywności oddychania można by zmieniać na przykład poprzez pobudzenie CPG lokomocji. I chociaż większość danych opublikowanych w pracy Clarka i Eulera została później zakwestionowana, to właśnie ich model stał się podstawą imponującego rozwoju badań CPG oddychania w ostatnich 50 latach.

Piśmiennictwo

1. Clark FJ, Euler von C. On the regulation of depth and rate of breathing. *J Physiol*, 1972; 222: 267-295, doi:10.1113/jphysiol.1972.sp009797
2. Grillner S, El Manira A. Current principles of motor control, with special reference to vertebrate locomotion. *Physiol Rev*, 2020; 100:1, 271-320, <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2019>
3. Eldridge FL. Comment on Point: Counterpoint Supraspinal locomotor centers do/do not contribute significantly to the hyperpnea of dynamic exercise in humans. *J Appl Physiol*, 2006; 100 (5): 1743-1747
4. Bartoli A, Cross BA, Guz A, et al. The effect of varying tidal volume on the associated phrenic motoneuron output: Studies of vagal and chemical feedback. *Resp Physiol*, 1975; 25 (2): 135-155
5. Karczewski WA, Romaniuk JR. Neural control of breathing and central nervous system plasticity. *Acta Physiol Pol*, 1980; 31: 1-10
6. Remmers JE, Younes MK, Baker JP. Termination of inspiration through graded inhibition of inspiratory activity. *Chest*, 1978; 73 (2 Suppl): 262-263, doi: 10.1378/chest.73.2_supplement.262-a
7. Euler von C. On the central pattern generator for the basic breathing rhythmicity. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, 1983; 55 (6): 1647-1659, doi: 10.1152/jappl.1983.55.6.1647
8. Oku Y, Romaniuk JR., Dick TE. Phase-dependent transient responses of respiratory motor activities following perturbation of the cycle. In: Honda, Y., Miyamoto, Y., Konno, K., Widdicombe, J.G. (eds) *Control of breathing and its modeling perspective*. Springer, Boston, MA, 19 https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9847-0_8
9. Anderson TM, Ramirez JM. Respiratory rhythm generation: triple oscillator hypothesis. *F1000Res*, 2017; 6: 139, doi: 10.12688/f1000research.10193.1
10. Harkema SJ, Schmidt-Read M, Lorenz DJ, et al. Balance and ambulation improvements in individuals with chronic incomplete spinal cord injury using locomotor training-based rehabilitation. *Arch Phys Med Rehabil*, 2012; 93 (9): P1508-1517, <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2011.01.024>
11. Kasicki S, Romaniuk J. Oddziaływanie między lokomocją a oddychaniem. *Kosmos*, 1988; 37 (4): 525-544
12. Sinderby C. Ventilatory assist driven by patient demand. *Am J Resp Crit Care Med*, 2003; 168: 720-730, <https://doi.org/10.1164/rccm.2307004>
13. Hao L, Li X, Shi Y, et al. Mechanical ventilation strategy for pulmonary rehabilitation based on patient-ventilator

- interaction. *Science China. Technological sciences*, 2021; 64 (4): 869-878, doi: 10.1007/s11431-020-1778-8
14. Huszczuk, A. A respiratory pump controlled by phrenic nerve activity. *J Physiol*, 1970; 210: 183-184P
 15. Romaniuk JR. The use of biologically steered respirators in the investigations on regulatory mechanisms of the respiratory pattern. In *Selected Papers of the Third National Conference on Biocybernetics and Biomedical Engineering*, PWN Polish Scientific Publishers, 1985; 2: 139
 16. Romaniuk JR, Celichowski J, Kowalski K. Load compensatory response of external intercostal muscles during assisted ventilation in rabbits. *Acta Neurobiol Exp*, 1993; 53 (4): 557-561
 17. Budzińska K, Głowicki K, Romaniuk JR. Response of respiratory motoneurons to release from vagal inhibition in the rabbit. *Acta Neurobiol Exp*, 1984; 44: 249-262
 18. Romaniuk JR, Kasicki S, Kazennikov OV, Selionov VA. Respiratory responses to stimulation of spinal or medullary locomotor structures in decerebrate cats. *Acta Neurobiol Exp*, 1994; 54: 11-17
 19. Romaniuk JR, Dick TE, Bruce EN, et al. Bifurcation of the respiratory response to lung inflation in anesthetized dogs. *Resp Physiol Neurobiol*, 2017; 244: 26-31, doi: 10.1016/j.resp.2017.06.010
 20. Romaniuk JR, Ryba M, Grotek A. The effects of CO₂ on the component of the breathing pattern. *Acta Physiol Pol*, 1976; 27 (3): 215-234
 21. Romaniuk JR. The control of the pattern of breathing during controlled ventilation without volume feedback. *Acta Physiol Pol*, 1978; 29: 1-8
 22. Kirkwood PA, Munson JB, Sears TA, Westgaard RH. Respiratory interneurons in the thoracic spinal cord of the cat. *J Physiol*, 1988; 395: 161-192
 23. Jefferson SC, Tester NJ, Rose M, et al. Cough following low thoracic hemisection in the cat. *Exp Neurol*, 2010; 222 (1): 165-70, doi: 10.1016/j.expneurol.2009.12.015
 24. Budzińska K, Romaniuk JR. Phrenic reflexes in the decerebrate and spinal rabbit. *Bull Eur Physiopath Resp*, 1986; 22 (1): 65-73
 25. Kowalski KE, Romaniuk JR, Kirkwood PA, DiMarco AF. Inspiratory muscle activation via ventral lower thoracic high-frequency spinal cord stimulation. *J Appl Physiol*, 2019; 126 (4): 977-983, doi: 10.1152/jappphysiol.01054.2018
 26. Ikeda K, Kawakami K, Onimaru H, et al. The respiratory control mechanisms in the brainstem and spinal cord: integrative views of the neuroanatomy and neurophysiology. *J Physiol Sci*, 2017; 67 (1): 45-62, doi: 10.1007/s12576-016-0475-y
 27. Marder E, Bucher D. Central pattern generators and the control of rhythmic movements. *Curr Biol*, 2001; 11 (23): R986-96, doi: 10.1016/s0960-9822(01)00581-4
 28. Kowalski KE, Romaniuk JR, Brose SW, et al. High frequency spinal cord stimulation—new method to restore cough. *Resp Physiol Neurobiol*, 2016; 232: 54-56, doi: 10.1016/j.resp.2016.07.001
 29. Morin D, Viala D. Coordinations of locomotor and respiratory rhythms in vitro are critically dependent on hindlimb sensory inputs. *J Neurosci*, 2002; 22 (11): 4756-4765, doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-11-04756.2002
 30. Jordan L, Sławińska U. Modulation of rhythmic movement: Control of coordination. *Prog Brain Res*, 2011; 188: 181-95, doi: 10.1016/B978-0-444-53825-3.00017-6



MULTI-FREQUENCY HEARING IMPROVEMENT ANALYSIS AS A METHOD EVALUATING RECOVERY IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC SUDDEN SENSORINEURAL HEARING LOSS



Paweł Wojciech Rozbicki¹, Jacek Usowski¹, Jacek Siewiera², Dariusz Jurkiewicz¹

1. *Military Institute of Medicine – National Research Institute, Department of Otolaryngology with Division of Cranio-Maxillo-Facial Surgery, Poland*
2. *Military Institute of Medicine – National Research Institute, Department of Hyperbaric Medicine, Poland*

Paweł Wojciech Rozbicki –  0000-0002-1376-9826

Abstract:

Introduction and objective

Hearing improvement assessment in patients with Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss (ISSNHL) is complex. Methods used to evaluate the effectiveness of ISSNHL therapy do not include variety of PTA (Pure Tone Audiometry) curves. The aim of this paper is to assess usefulness of Multi-Frequency Hearing Improvement Analysis (MHIA) as an alternative method employed to evaluate the effectiveness of the ISSNHL treatment.

Material and methods

Medical records of 218 patients with ISSNHL were statistically analysed in a retrospective study with regard to PTA results. Achieved results were compared using the following methods: Siegel's criteria, Wilson's criteria, and MHIA.

Results

The analysis based on Siegel's criteria, which concerned the effectiveness of therapy, was as follows: complete recovery: 94 (43,1%), partial recovery: 20 (9,2%), slight recovery: 17 (7,8%), no recovery: 87 (39,9%). The MHIA analysis revealed the following weighted arithmetic mean recovery rate: Air Conduction and Bone Conduction respectively – complete recovery (23,5%; 43,14%), partial recovery: (9,12%; 20,51%); slight recovery (6,65%; 7,4%), no recovery (68,36%; 54,98%).

Conclusions

MHIA corrects the overestimation of complete recovery rate based on Siegel's criteria. Using mean auditory threshold stimulus as a baseline to evaluate hearing improvement in studies could distort the interpretation of research findings. Clinical features and usability of MHIA in diverse groups of patients require further studies.

Keywords: sudden deafness, hyperbaric medicine, Siegel criteria, hearing assessment, steroid therapy.

DOI 10.53301/lw/156023

Received: 2022-09-30

Accepted: 2022-10-24

Corresponding author:

Paweł Wojciech Rozbicki
 Wojskowy Instytut Medyczny
 – Państwowy Instytut Badawczy,
 Klinika Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej
 z Kliniką Oddziałem Chirurgii
 Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej, Warszawa
 e-mail: prozbicki@wim.mil.pl

Introduction

Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss (ISSNHL) is defined as a sudden, subjective hearing loss in one or both ears. ISSNHL is diagnosed when vocal threshold stimulus is enlarged by not less than 30 dB in at least 3 frequencies [1] in Pure Tone Audiometry (PTA). PTA involves the use of the two following types of conduction: Bone

Conduction (BC), and Air Conduction (AC). The most common methods used to estimate hearing improvement are Wilson's [2] and Siegel's [3] criteria. Wilson's criteria constitute a relative recovery assessment method. Some studies modify this method and describe a complete recovery as a 90% hearing recovery. Furthermore, they use reference values as a baseline [4]. This method defines recovery without considering hearing threshold quo-

tient prior/post therapy. Both methods evaluating the successfulness of therapy are mainly based on the measurement of the lowering of threshold auditory stimulus. Considering multiple voice frequencies analysed in PTA, PTA curves vary as follows: ascending, descending, flat, deep [5]. Current state of research does not clearly define recommendations concerning the ISSNHL treatment. There are studies proving that steroid therapy (ST) is beneficial [1-3, 6-8] and its therapeutic role is anti-inflammatory effect. The European Committee for Hyperbaric Medicine and the Polish Society of Audiology and Phoniatrics recommend the use of hyperbaric oxygen therapy (HBOT), whereas the Undersea and Hyperbaric Medical Society does not endorse this method [7-12]. Diverse pathophysiology of ISSNHL [13, 14] and various types of PTA curves require an individual approach to the treatment. Available research indicate that benefits may be found in certain types of PTA curves [15]. Moreover, they demonstrate that multi-frequency interpretation is an important step involved in supporting individual ISSNHL therapy. Individual therapy for various types of hearing impairments requires creating a more personal type of hearing improvement assessment method.

Aim of the study

The aim of this paper is to assess usefulness of Multi-Frequency Hearing Improvement Analysis (MHIA) as an alternative method used to evaluate the effectiveness of the ISSNHL treatment.

Material and methods

Medical records of 218 patients (117 males, 101 females, mean age $48,8 \pm 14,5$ years old) admitted to Department of Hyperbaric Medicine of the Military Institute of Medicine – National Research Institute in Warsaw were subjected to retrospective analysis. Admissions of patients took place between 01.2018-12.2019. The authors state that this study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki: Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. Journal of the American Medical Association, 277, 925-926. All the patients were treated with the use of BAROXHBO hyperbaric oxygen chamber, according to the following hyperbaric medicine procedure:

- compression to 2,5 ATA,
- total compression/decompression time: 10 minutes (1,5 meters/minute),
- oxygenation 3 x 20 minutes with 100% oxygen as breathing factor,
- oxygen breaks 2 x 5 minutes, performed routinely to prevent toxic influence to lungs and brain, were implemented,
- average duration of HBOT: 15,9 days ($\pm 4,1$),
- average HBOT delay: 8,2 days ($\pm 6,6$).

Steroid therapy (ST) parameters: initial average dosage of prednisone: 48,5 mg ($\pm 15,7$), average duration of ST: 15,9 days ($\pm 7,8$), average ST delay: 5,3 days ($\pm 5,7$).

Exclusion criteria:

- age <18 years old,
- the start of HBOT 30 days after the onset of ISSNHL symptoms,

- coexisting cerebrospinal inflammation,
- neuropsychiatric disorder,
- vascular disorder,
- Meniere's disease,
- hereditary hearing disorder,
- inner ear malformations,
- facial nerve neuroma,
- bilateral ISSNHL,
- subsequent episode of ISSNHL.

Research participants were examined with the help of PTA before and after therapy. The therapy involved the use of Interacoustics AC40 audiometer in the following frequencies [Hz] (AC – 125, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000; BC – 125, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000). The gathered data were analysed using the following methods: Siegel's criteria, Wilson's criteria, and MHIA.

Wilson's criteria [2]

A complete recovery is defined as recovery of hearing to within 10 dB of the pre-hearing loss speech reception score or of the PTA score (if the loss was primarily in the high-frequency range). A partial recovery is defined as recovery of hearing to within 50% or more of the pre-hearing loss speech reception score or of PTA score (if the loss was in the high-frequency range). No recovery is defined as less than 50% hearing recovery[2].

Siegel's criteria [3]

Siegel's criteria as an absolute method used to evaluate hearing improvement are described as shown in the following table (Table 1).

Table 1. Siegel's criteria.

Recovery status	Auditory threshold stimulus after therapy (dB)	Lowering of the auditory threshold stimulus during therapy (dB)
Complete	<25	
Partial	25-44	>15
Slight	45-69	>15
No recovery	>70	<15

According to the current state of scientific data, Siegel's criteria were used to examine differences between mean values of auditory threshold stimulus before and after the therapy.

MHIA

MHIA is based on an absolute comparison method – Siegel's criteria. MHIA is a method used to analyse treatment results in the aforementioned group of patients. Examined frequencies are differentiated between AC and BC and they are taken into consideration individually regardless from a single patient score. Consecutive lower and higher frequencies are often in reference values in ascending and descending types of PTA curves. Thus,

in order to avoid overestimation of a complete recovery, PTA results are excluded when the auditory threshold stimulus is lower than 30 dB.

Statistical analysis

Statistical analysis has been performed with use of "Statistica 7.0" software. T-Student test has been performed in study group. Normal distribution has been confirmed by Kolmogorov-Smirnov test.

Results

Average pre-treatment and post-treatment threshold auditory stimuli displayed by 218 patients included in the study were respectively: 54,6 dB ($\pm 31,3$), 39,6 dB ($\pm 32,2$). Types of PTA curves were: ascending (24, 11%), descending (86, 39,9%), flat (63, 28,9%), deep (44, 20,2%). The average delay (in days) of implementing ST and HBOT was: 5,3 ($\pm 5,7$), 12,1 ($\pm 6,7$).

Wilson's criteria

Wilson's criteria were impossible to apply due to the following reason: pre-hearing loss PTA was not available for any patient and it would be strongly inaccurate to presume that all the patients had impeccable hearing before the onset of ISSNHL. Another key factor needed in order to apply Wilson's criteria was only useful in patients with primarily high-frequency hearing loss which constituted 87 patients (39,9%). This is not a representative group, hence it is not possible to extrapolate the results to the whole group of patients with ISSNHL.

Siegel's criteria

Regarding Siegel's criteria, the recovery rate was as follows (vide Table 2). Applying Siegel's criteria in this group revealed that there is a significant group (42 patients, 44,7% of complete recovery) that meets complete recovery criteria prior therapy.

Table 2. Siegel's criteria in comparison to the other studies.

	Our study	Xie et al. [17]	Sung et al. [23]	Günel et al. [24]2
Complete recovery	43,1%	19,7%	50,9%	11,1%
Partial recovery	9,2%	17,4%	9,8%	22,2%
Slight recovery	7,8%	13,5%	5,9%	40,7%
No recovery	39,9%	49,4%	25,5%	25,9%

MHIA results

(Table 3, 4) Regarding mean PTA results as well as AC and BC, in spectrum of all frequencies, lowering of the auditory threshold stimulus was detected. Especially visible differences were observed at frequencies 500-2000 Hz. Slight recovery of hearing was visible at higher frequencies (4000-8000 Hz).

Table 3. Mean values of AC before and after therapy.

Frequency (Hz)	AC					
	before (dB)	after (dB)	variation (dB)	variation (%)	T	p
125	49,6	35,9	13,8	27,8%	4,012	0,000
250	51,4	36,1	15,3	29,8%	4,85	0,000
500	55,9	37,6	18,3	32,7%	5,626	0,000
1000	55,4	38,7	16,7	30,2%	5,010	0,000
1500	68,2	40,0	28,2	41,4%	5,790	0,000
2000	55,7	41,4	14,4	25,8%	4,934	0,000
3000	60,7	46,9	13,8	22,7%	3,949	0,000
4000	61,4	49,3	12,1	19,7%	3,673	0,000
6000	67,1	55,3	11,8	17,6%	3,428	0,001
8000	64,9	57,9	7,0	10,8%	2,063	0,040

Table 4. Mean values of BC before and after therapy.

Frequency (Hz)	BC					
	before (dB)	after (dB)	variation (dB)	variation (%)	t	p
250	42,1	26,5	15,6	37,1%	4,142	0,000
500	49,1	29,2	19,9	40,5%	5,592	0,000
1000	50,1	31,1	19,0	38,0%	5,133	0,000
1500	71,1	33,3	37,8	53,1%	6,647	0,000
2000	53,3	35,5	17,7	33,3%	4,768	0,000
3000	57,8	38,6	19,2	33,2%	4,577	0,000
4000	54,7	39,1	15,5	28,4%	4,173	0,000

Having disqualified initially correct scores (<30 dB), MHIA was used to analyse the remaining data concerning certain frequencies (Table 5, 6). The therapy had a different impact on various frequencies. The highest rate of complete recovery was detected at 4000 Hz in BC. The smallest influence of therapy was detected at 8000 Hz, AC. Recovery in BC was more visible than in AC.

Table 5. Recovery proportions in AC.

Frequency(Hz)	Recovery proportions								
	Incorrect results count (n)	Complete recovery		Partial recovery		Slight recovery		No recovery	
		(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
125	94	16	17,0%	15	16,0%	6	6,4%	57	60,6%
250	135	39	28,9%	14	10,4%	8	5,9%	74	54,8%
500	152	50	32,9%	17	11,2%	14	9,2%	71	46,7%
1000	147	44	29,9%	4	2,7%	5	3,4%	94	63,9%
1500	64	15	23,4%	5	7,8%	3	4,7%	41	64,1%
2000	148	31	20,9%	3	2,0%	12	8,1%	102	68,9%
3000	126	23	18,3%	8	6,3%	10	7,9%	85	67,5%
4000	166	25	15,1%	13	7,8%	7	4,2%	121	72,9%
6000	146	19	13,0%	8	5,5%	9	6,2%	110	75,3%
8000	178	20	11,2%	6	3,4%	3	1,7%	149	83,7%
weighted arithmetic mean			23,5%		9,12%		6,65%		68,36%

Table 6. Recovery proportions in BC.

Frequency(Hz)	Recovery proportions								
	Incorrect results count (n)	Complete recovery		Partial recovery		Slight recovery		No recovery	
		(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
250	108	41	38,0%	7	17,1%	0	0,0%	60	55,6%
500	128	47	36,7%	9	19,1%	12	9,4%	60	46,9%
1000	126	38	30,2%	10	26,3%	6	4,8%	72	57,1%
1500	57	13	22,8%	3	23,1%	4	7,0%	37	64,9%
2000	135	39	28,9%	7	17,9%	12	8,9%	77	57,0%
3000	114	26	22,8%	8	30,8%	5	4,4%	75	65,8%
4000	144	97	67,4%	7	7,2%	9	6,3%	31	21,5%
weighted arithmetic mean			43,14%		20,51%		7,4%		54,98%

Discussion

Diverse morphology of PTA curves naturally involves problems with assessing hearing improvement especially in numerous groups of patients. Amelioration and unification of assessment methods examining the effectiveness of treatment is crucial to compare therapy results between various studies.

It was impossible to apply Wilson's criteria [2], due to primarily erroneous assumptions. Pre-hearing loss speech reception score also could not be considered, because some patients demonstrate their previous PTA results but they were not up-to-date. Therefore, they should not be treated as a baseline to assess ISSNHL recovery. Another key factor needed to apply Wilson's criteria is hearing impairment present at high frequencies. Such an impairment was present only in patients with descending PTA curves (39,9%). Some studies modify Wilson's criteria and they treat reference values as a baseline to estimate hearing recovery rate [4]. This method can be used only in patients without previous hearing impairments. Nevertheless, it is difficult to prove that a patient had not suffered from any hearing impairment. There are some potential solutions to estimate pre-hearing speech reception score loss, such as comparing PTA curve with an unaffected ear [16].

In this study, Siegel's criteria [3, 17, 18] revealed an overestimation of a complete recovery. This overestimation and an irregular impact on final hearing improvement require multi-frequency approach to assess the effectiveness of the ISSNHL therapy. Average auditory threshold stimulus can reveal a complete recovery and, simultaneously, meet the criteria of ISSNHL in PTA. This limitation has resulted from ascending and descending PTA curves. Recovery rate with comparison to other studies applying Siegel's criteria is presented in table 2. As shown in the table, differences between the results of the studies are significant. Varying outcomes of the implemented therapy might be caused by differences existing in study groups, PTA curves, therapy protocols. Multi-frequency analysis is a possible solution to improve prognosis of recovery by not treating differences of PTA curves as an interfering factor. Several studies modify Siegel's criteria in order to assess hearing improvement. Published studies tried to assess recovery with regard to before-therapy hearing impairment level [19]. This solution allows to assess successfulness of therapy while considering the ISSNHL level. It can also be used as a method to predict treatment effectiveness before implementing therapy.

The current state of scientific data presents absolute methods which have limitations comparable to those presented in Siegel's criteria. A method presented by a Korean study [20] simplifies Siegel's criteria estimating the final hearing level as better than 25 dB. Moreover, it reduces hearing gain by at least 15 dB compared to pre-treatment level. This study algorithm included examination only of four frequencies (0,5 kHz, 1 kHz, 2 kHz, 4 kHz). A small number of analysed frequencies can potentially improve Siegel's overestimation. Employed reductions allow to compare the results between studies applying Siegel's criteria with taking into account only 4 examined frequencies. Unfortunately, there is still a

number of analysed frequencies which does not include any deafness on boundary frequencies (125, 250, 6000, 8000). These frequencies have usually enlarged auditory threshold stimuli in ascending and descending PTA curves which constituted 111 (50,9%) types included in our study. It makes it a relatively large group. Excluding patients with boundary types of ISSNHL has a potential impact on final treatment results [18, 21, 22]. Our study revealed that the implemented therapy had a complex effect on the results of therapy. The numbers of complete recovery differ from one another at various frequencies (AC: 8000 Hz: 11,2% vs 500 Hz: 32,9%; BC: 1500 Hz: 22,8% vs: 4000Hz: 67,4%). In order to assess how the therapy may influence final treatment results, a further study is required. Moreover, it is essential to stress the fact that the impact of therapy is nonlinear. Multi-frequency approach to assess the effectiveness of implemented therapy analysis can potentially be a step into individualizing ISSNHL therapy. According to the current state of scientific data, there is evidence proving that the implemented therapy may have a different influence on auditory threshold stimulus, which is important for certain frequencies. An American study [15] proved a selective therapeutical activity of nortriptyline and topiramate detectable at hearing impairment at lower frequencies. In comparison to our study and with regard to the fact that ascending types of PTA curves constituted 11% of study group, the influence of mentioned therapy on the rest of the group can make this relation potentially insignificant. Supporting the multivariate ISSNHL treatment analysis used in the study [17] together with MHIA makes it possible to create guidelines for a particular therapy with regard to PTA types, what consequently can improve total outcomes of the ISSNHL therapy. Depending on the examined frequency, recovery rates presented in table 6. differs from each other by up to 44,6% (complete recovery 4000 Hz vs 3000 Hz). It shows that the influence which the therapy has on final hearing improvement in patients with ISSNHL is complex.

Conclusions

MHIA corrects overestimation of complete recovery rate based on Siegel's criteria. Due to the diversity of the PTA curves and rated multiplicity of frequencies, the effectiveness of the ISSNHL therapy assessment is complex. Using mean auditory threshold stimulus as a baseline to evaluate hearing improvement in studies could distort the interpretation of research findings. Clinical features and usability of MHIA in diverse groups of patients require further studies.

References

1. National Institutes of Health. Sudden Deafness . NIH Publication No. 00-47 Bethesda, MD: National Institutes of Health; 2000
2. Wilson WR, Byl FM, Laird N. The efficacy of steroids in the treatment of idiopathic sudden hearing loss: a double-blind clinical study. *Arch Otolaryngol*, 1980; 106: 772-6
3. Siegel LG. The treatment of idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Otolaryngol Clin North Am*, 1975; 8: 467-473
4. Ganesan P, Kothandaraman PP, Swapna S, Manchaiah V. A Retrospective Study of the clinical characteristics and post-treatment hearing outcome in idiopathic sudden

- sensorineural hearing loss. *Audiol Res*, 2017; 7 (1): 168
5. Qian Y, Zhong S, Hu G, Kang H, Wang L, Lei Y. Sudden Sensorineural Hearing Loss in Children: A Report of 75 Cases. *Otol Neurotol*, 2018; 39 (8): 1018-1024
 6. Jadczyk M, Rapiejko P, Kantor I, Szczygielski K, Usowski J, Piechocki J et al. Evaluation of hyperbaric oxygen and pharmacological therapy in sudden hearing loss. *Otolaryngol Pol*, 2007; 61 (5): 887-91
 7. Topuz E, Yigit O, Cinar U, Seven H. Should hyperbaric oxygen be added to treatment in idiopathic sudden sensorineural hearing loss? *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*, 2004; 261: 393-396
 8. Tsounis M, Psillas G, Tsalighopoulos M, Vital V, Maroudias N, Markou K. Systemic, intratympanic and combined administration of steroids for sudden hearing loss. A prospective randomized multicenter trial. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*, 2018; 275: 103-110
 9. Śliwińska-Kowalska M, Narożny W, Sekuła A, Pawlak-Osińska K, Morawski K, Kot J et al. Sudden sensorineural hearing loss – position paper of the Polish Society of Audiology and Phoniatics on the diagnostic and therapeutic recommendations. *Otorinolaryngologia*, 2015; 14: 65-73
 10. Heuschkel A, Geißler K, Boeger D, Buentzel J, Esser D, Hoffmann K et al. Inpatient treatment of patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss: A population-based healthcare research study. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol*, 2018; 275: 699-707
 11. Satar B, Hidir Y, Yetiser S. Effectiveness of hyperbaric oxygen therapy in idiopathic sudden hearing loss. *J. Laryngol. Otol*, 2006; 120: 665-669
 12. Zjawiony W, Paprocka-Zjawiona M, Kowalski A, Zduńczyk-Nowak A, Zielińska-Bliźniewska H, Olszewski J et al. The use of combined pharmacotherapy and hyperbaric oxygen in the treatment of sudden sensorineural hearing loss. *Postepy Hig Med Dosw*, 2020; 74: 182-190
 13. Byl FM. Seventy-six cases of presumed sudden hearing loss occurring in 1973: prognosis and incidence. *Laryngoscope*, 1977; 87 (5 Pt 1): 817-25
 14. Byl FM. Sudden Hearing Loss Research Clinic. *Otolaryngol Clin North Am*, 1987; 11: 71-79
 15. Abouzari A, Goshtasbi K, Chua JT. Adjuvant Migraine Medications in the Treatment of Sudden Sensorineural Hearing Loss. *Laryngoscope*, 2020; Apr 3, doi:10.1002/lary.28618
 16. Kitoh R, Nishio S-Y, Ogawa K, Kanzaki S, Hato N, Sone M, et al. Nationwide epidemiological survey of idiopathic sudden sensorineural hearing loss in Japan. *Acta Otolaryngol*, 2017; 137 (sup565): S8-S16
 17. Xie S, Qiang Q, Mei L, He C, Feng Y, Sun H, et al. Multivariate analysis of prognostic factors for idiopathic sudden sensorineural hearing loss treated with adjuvant hyperbaric oxygen therapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2018; 275 (1): 47-51
 18. Jung AR, Kim MG, Kim SS, Kim SH, Yeo SG. Clinical characteristics and prognosis of low frequency sensorineural hearing loss without vertigo. *Acta Otolaryngol*, 2016; 136 (2): 159-63
 19. Cheng Y-F, Chu Y-C, Tu T-Y, Shiao A-S, Wu S-L, Liao W-H. Modified Siegel's criteria for sudden sensorineural hearing loss: Reporting recovery outcomes with matched pretreatment hearing grades. *J Chin Med Assoc*, 2018; 81 (11): 1008-1012
 20. Choi JE, Shim HJ, An Y-H, Yoo S, Mun S-K, Chang MY, et al. Influence of Cochlear Dead Regions on Hearing Outcome in Sudden Sensorineural Hearing Loss. *Otol Neurotol*, 2020; 41 (7): 889-894
 21. Yamasoba T, Kikuchi S, Sugawara M, Yagi M, Harada T. Acute low-tone sensorineural hearing loss without vertigo. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1994; 120:532-5
 22. Fuse T, Aoyagi M, Funakubo T, Sakakibara A, Yoshida S. Short-term outcome and prognosis of acute low-tone sensorineural hearing loss by administration of steroid. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2002; 64: 6-10
 23. Sung HK, Kang JC, Shin KH, An YS. Comparison of the Effects of Intratympanic Steroid Injection at Different Intervals in Sudden Sensorineural Hearing Loss. *J Audiol Otol*, 2020; 24 (1): 24-28
 24. Günel C, Baçal Y, Toka A, Eryılmaz A, Kurt Ömürlü I. Efficacy of low-dose intratympanic dexamethasone for sudden hearing loss. *Auris Nasus Larynx*, 2015; 42 (4): 284-287, doi:10.1016/j.anl.2015.02.002



DIRECTED EVOLUTION OF AAV CAPSIDS FOR IMPROVED EFFICACY AND SPECIFICITY OF DELIVERY TO PRECLINICAL MODELS OF HUMAN LIVER



Magdalena Kwiatek¹, Aleksander Michalski¹, Karolina Abramowicz¹, Paweł Rutyna^{2,1}, Magdalena Wasiak³, Michał Reichert³, Leszek Lisowski^{1,4,5}

1. The Biological Threats Identification and Countermeasure Centre, Military Institute of Hygiene and Epidemiology, Polska
2. Department of Medical Microbiology, Medical University of Lublin, Polska
3. Department of Pathological Anatomy, National Veterinary Research Institute, Polska
4. Translational Vectorology Research Unit, Children's Medical Research Institute, Australia
5. Military Institute of Medicine - National Research Institute Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies, Polska

Magdalena Kwiatek – 0000-0002-6319-9411
 Aleksander Michalski – 0000-0002-2517-8492
 Paweł Rutyna – 0000-0002-3735-5011
 Magdalena Wasiak – 0000-0002-2279-5460
 Michał Reichert – 0000-0002-7998-8204
 Leszek Lisowski – 0000-0002-4772-8651

Abstract:

Introduction and objective

Recombinant vectors derived from adeno-associated viruses (rAAVs) are the leading platform in human gene therapy applications, with high-profile examples targeting diseases of the central nervous system, eye and liver. The liver, quite likely a natural host organ for wild type AAV2, is a particularly attractive target for the development of AAV-mediated gene therapies. Despite large number of AAV variants current at various stages of development as carriers of liver therapeutics, thus far no liver-directed AAV-based therapy has obtained market authorization. Strong preclinical data is the cornerstone of any translational program, and while AAV bioengineering is commonly applied to try to develop novel human-tropic vectors for clinical applications, due to species-to-species differences, dedicated vectors to support preclinical work may need to be developed. Here we applied AAV directed evolution and *in vitro* selection to identify AAV capsids that target human liver cells *in vitro*.

Material and methods

Using DNA shuffling technology, we have generated a capsid gene library based on natural parental serotypes (AAV1 through AAV12). Shuffled capsid library was selected in a preclinical model of human liver.

Results

The AAV variants enriched based on their improved efficiency of transduction of a human hepatocyte cell line were vectorized and subsequently functionally characterized on human cell lines. This directed evolution method enabled us to select novel AAV variant, AAV-CH4.2. While the selected variant did not exceed the parental serotype in terms of transduction efficiency, it was substantially more efficient at packaging than its closest homolog, serotypes AAV6.

Conclusions

Based on its strong transduction profile and manufacturability, we believe that AAV-CH4.2 is a strong candidate for further evaluation and as a potential novel gene therapy vector for preclinical studies in human liver applications.

Keywords: gene therapy, AAV, adenovirus-associated viral vector, bioengineering.

DOI 10.53301/lw/156374

Received: 2022-10-03

Accepted: 2022-11-08

Corresponding author:

Leszek Lisowski
 Translational Vectorology Research Unit, Children's
 Medical Research Institute,
 214 Hawkesbury Rd, 2145, Westmead, Australia
 e-mail: llisowski@cmri.org.au

Introduction

Gene therapy brings a great hope for people affected by a broad spectrum of currently incurable inherited and acquired diseases. The basic concept behind gene therapy is the delivery of a functional gene into cells or tissues to remediate the consequences of pathology-causing mutations. Although number of technologies have been developed to facilitate delivery of genetic payload to target cells, *in vivo* delivery is limited to a handful of technologies, with methods based on the use of viral vectors gaining in popularity due to promising results in clinical trials. Particularly, adeno-associated virus (AAV) vectors are very promising, due to a lack of pathogenicity and low immunogenicity, wide range of cell tropism and long-term gene expression in non-dividing cells.

AAV is a nonpathogenic human parvovirus, first employed as a gene target vector as early as in 1984 [1]. AAV is a small, single-stranded DNA virus, which requires co-infection with a helper virus for efficient replication and viral gene expression. The AAV genome is protected on both ends by 145 base T-shape inverted terminal repeat (ITR) sequences. These structures are implicated in replication, second-strand synthesis, encapsidation, and insertion of the viral genome into an AAVS1 locus on human chromosome 19 [2]. The AAV genome encodes for four non-structural Rep proteins responsible for viral replication and three capsid proteins (VP1–3), in addition to an Assembly Activating Protein (AAP) encoded on an alternative reading frame within the *cap* gene [3]. Recently, new protein was discovered, called “Membrane Associated Accessory Protein” (MAAP), encoded on an alternative ORF in the VP1 region [4].

AAV-derived recombinant vectors (rAAV) represent one of the most powerful gene therapy tools and are currently under investigation in numerous clinical trials (for example phase III studies for hemophilia [5], phase I/II studies for Pompe disease [6] and Parkinson’s disease [7]). Three gene therapy products based on natural AAV serotypes have reached the market. Those include Glybera (AAV1) for treatment of inherited metabolic disorder lipoprotein lipase deficiency (LPLD), unfortunately withdrawn from the market in 2017 [8], Luxturna (AAV2) for treatment of an inherited retinal diseases (IRDs) [9] and, most recently, Zolgensma (AAV9) for treatment of spinal muscular atrophy type 1 (SMA1) [10]. However, the high cost of large-scale production of clinical grade rAAV, as well as low efficiency of transduction of primary human cells, remain the main obstacles for clinical applications of AAV vector.

Since the AAV capsid is the primary determinant of vector tropism, as well as influences vector packaging efficiency (= yield), AAV capsid bioengineering has the potential to overcome the main limitations of the current AAV vectors. Specifically, AAV bioengineering has been shown to help overcome the limited tissue tropism, including cell binding, entry, endosomal escape, and trafficking, as well as vector targeting by the immune system [11, 12]. Many different approaches have been developed to engineer AAVs for the transduction of clinically relevant cells and organs [13–16]. Those have been extensively reviewed in Colella et al. [3], [17] and Wang et al. [18]. Capsid diversifi-

cation techniques can be focus on the entire capsid or can be limited to specific regions, such as the hypervariable regions [19] located within the surface exposed loops. The most frequently utilized capsid modification strategies simulate the processes of natural evolution to create large and highly variable libraries of modified capsid variants with new properties. The capsid libraries can be generated through a number of molecular biology techniques, such as the introduction of point mutations in the capsid gene by error-prone PCR [20], the incorporation of random peptide libraries on the vector surface (AAV display peptide libraries) [21] as well as DNA shuffling. The latter technology is based on the recombination of parental genes, which are first fragmented and subsequently randomly reassembled, resulting in libraries of chimeric genes [12].

Following the generation of a sufficiently diverse pool of AAVs, the directed evolution is applied to facilitate screen for novel variants with desirable properties. Through submitting the heterologous library of AAVs to an experimentally controlled selective pressure, either *in vitro*, *in vivo* or *ex vivo*, this technique has been successfully applied to engineer novel AAV variants, such as for example variants capable of more efficient transduction of human pluripotent stem cells (hPSCs), human liver cells, murine and primate retina reviewed in Zinn [22].

The liver in particular is a key target for the development of more efficient AAV vectors, given its involvement in over 500 functions, such as metabolic activities. There are over 100 different liver diseases, both genetic and acquired, which reduce quality of life and significantly contribute to mortality, resulting in more than 2 million deaths per annum [23]. They also account for an unimaginable healthcare cost worldwide. Several natural serotypes of AAV have been developed as gene therapy vectors, with activities serotypes AAV2, AAV5, AAV8 and AAV9 among the most common choices for liver targeting [24]. Prototypical AAV2 has been the first AAV to be used in liver-targeted clinical study [25], although the clinical benefit was short lasting and weaker than would have been anticipated based on preclinical studies. UniQure carried out a clinical trial delivering the factor IX in adults with hemophilia B using AAV5 capsid (AMT-060) [26]. BioMarin Pharmaceutical used AAV5 to deliver the codon-optimized B domain-deleted F8 cDNA (BDD-FVIII) (BMN270) into patients with severe hemophilia A in phase 1/2 clinical trial, and subsequently expanded the testing of BMN270 into two phase 3 trials (NCT03370913, NCT03392974) [27]. Spark Therapeutics used a modified AAV8 capsid (SPK-9001) to deliver hyperactive FIX variant (R338L) Padua in a clinical trial (NCT03587116) for hemophilia B [28]. AAV8 has been evaluated in multiple liver-targeted clinical studies, with the most prominent being work performed by Nathwani et al towards the development of AAV-based gene therapy for hemophilia [29]. AAV9 was employed as a vehicle for administration of the SMN gene, the causative gene in SMA, in a clinical trial conducted by AveXis in SMA patients. The trial demonstrated remarkable improvements in motor milestones and rates of survival in the patients [30].

In addition to the natural variants, first wave of bioengineered variants has now reached the clinic. Spark Thera-

peutics used an engineered capsid AAV-LK03 to deliver BDD-FVIII (SPK-8011) in phase 1/2 clinical trial [31]. LK03 is the first clinically-tested AAV capsid produced by capsid shuffling and library selection, and it was shown to transduce human hepatocytes 100-fold better than AAV8 *in vitro*, along with being more resistant to NAb than AAV2 [32]. Spark100 is another engineered capsid currently being prepared for phase 3 clinical trials, after demonstrating sustained therapeutic expression of FIX coagulant activity following gene transfer to Haemophilia B patients [33].

However, clinical development would not be possible without strong support of preclinical data often obtained from a number of various preclinical model systems. While later stages of preclinical development often utilize *in vivo* models, such as non-human primates, early stage and exploratory studies, such as those developing new therapeutic strategies for hundreds of genetic disorders affecting the liver, often rely on efficient delivery to more robust *in vitro* models, such as those based on immortalized hepatocytes.

Here we present outcomes of an AAV bioengineering approach used to develop novel AAV variants to support preclinical studies in the area of human liver gene therapy. The study involved creation of a diverse AAV capsid library, based on twelve natural parental serotypes, and a subsequent selection in a preclinical model of human liver. The strategy was designed to facilitate the accumulation of modifications within the AAV capsid that improve efficiency of transduction of immortalized human liver cells. In addition to giving rise to powerful vector candidates, these studies serve as a proof-of-concept for AAV development using more advanced preclinical models of human liver and other tissues.

Materials and Methods

Generation of shuffled capsid library

Shuffled AAV libraries were generated as previously described [12], with some modifications. The capsid genes from wt AAV serotypes 1 through 12 were cloned into plasmid based on the pGEM-T Easy System (Promega, cat. no. A1360) and served as templates for PCR. Genes coding for capsids were amplified in standard PCR reaction, mixes at 1:1 molar ratio, and digested with 0.1 U DNaseI (NEB, cat. no. M030L) for 2-5 min. The pool of fragments was separated on a 1% agarose gel and fragments from 200 to 1000 bp were excised from the gel using ZymoClean Gel DNA Recovery Kit (Zymogen, cat. no. D4001T).

For primer-less PCR reassembly reaction, 500 ng of gel-extracted fragments was used. Fully reassembled capsids were amplified in a second PCR with primers F: GTACCAGTTCAGTCCAGTTGCA and R: CATGTG-GATCCTGGTACGTGT carrying overlapping ends to pLL012_pGEM library rescue vector. A Gibson Assembly reaction was performed by mixing an equal volume of 2 × GA Master Mix (NEB, cat. no. E2611L) with 1 pmol PCR-amplified and DpnI (NEB, cat. no. R0176L) – treated pLL012_pGEM (Forward: 5'-ACTTGTTCACTTT-GATGGCGAGG, Reverse: 5'-CTGCACACGACATGACAT-

CACG) and 1 pmol of the recovered shuffled capsids. DNA was ethanol precipitated and electroporated into SS320 electro-competent *E. coli* (Lucigen, cat. no. 60512-2). The total number of transformants was calculated by plating 10-fold serial dilutions of the electroporated bacteria. The pool of transformants was grown overnight in 500 ml of Luria-Bertani media supplemented with trimethoprim (10 mg/mL) (Sigma, cat. no. T7883-5G). Ten individual clones were picked, sequenced and analyzed using Sequence Origin Depiction (SOD) plugin (<https://github.com/CMRI-TVG/AAVcodons>) created for Geneious (<https://www.geneious.com/>) [34] and Xover tool (<http://qpmf.rx.umaryland.edu/xover.html>).

Libraries were subsequently digested overnight with Swal (NEB, cat. no. R0604L) and NsiI (cat. no. R0127L), and 1 mg of insert was ligated using T4 DNA ligase (NEB, cat. no. M0202) at 1:1 molar ratio into a replication-competent AAV2-based plasmid (pWK5), containing ITR2 and rep2, and unique Swal and NsiI sites downstream of rep2. Ligation reactions were concentrated using ethanol precipitation, electroporated into SS320 electrocompetent bacteria cells, and grown as described above. Total pWK5 library plasmids were purified with an EndoFree-Maxi prep Kit (QIAGEN, cat. no. 12362).

AAV production and purification

All AAV vectors stocks were prepared by polyethylenimine (PEI) (Polysciences, cat. no. 239662) triple transfection (2:1 PEI:DNA ratio) of adherent HEK293T cells (ATCC, cat. no. CRL-3126). The pAd5 helper plasmid, AAV transfer vector expressing GFP, and an AAV-helper plasmid encoding rep2 and the capsid of interest were transfected at 2:1:1 molar ratio. For AAV capsid libraries (replication competent) only two plasmids were used: the pAd5 helper plasmid and the pWK5 libraries containing ITR-rep2-CapLibrary-ITR at a 1:1 molar ratio.

Cells were seeded 18 hr prior to transfection into five 15-cm tissue culture dishes to obtain 90% confluency at the time of transfection. Cells were harvested 72 hr post transfection and centrifuged for 15 min at 5,000 g. Media was mixed with ¼ volume of 40% PEG (Sigma-Aldrich, cat. no. 89510-1KG-F) in 2.5 M NaCl (Sigma-Aldrich, cat. no. 746398-500G) and incubated on ice overnight. After centrifugation at 5,000 g for 30 min at 4°C, PEG pellet was resuspended in 1 ml PBS buffer (pH 8.0). The cell pellet was resuspended in 2 mL of PBS buffer (pH 8.5) and subjected to three freeze-thaw cycles. Resuspended PEG pellet solution and the cell lysate were combined. Genomic and free plasmid DNA were removed by incubating with 200 U/mL of Benzonase (EMD Millipore, cat. no. 1016970001) at 37°C for 1 hr. Subsequently 10% sodium deoxycholate (Sigma-Aldrich, cat. no. D6750-25G) and 5M NaCl were added to a final concentration of 0.5% and 1M, respectively. Following incubation for 30 min at 37°C, cellular debris was removed by centrifugation for 30 min at 5,000 g.

Vectors were subsequently purified using iodixanol density gradients as previously described [35]. Amicon Ultra-4 Centrifuge Filter Units with Ultracel-100 kDa membrane (EMD Millipore, cat. no. UFC810024) were used to perform a buffer exchange and concentration step. Purified

AAV particles were stored in PBS buffer supplemented with 50 mM NaCl, 0.001% Pluronic F68 [v/v] (LifeTech, cat. no. 24040-032) at -80°C.

AAV titration

Vector preparations were titrated by real-time qPCR as described previously [36] using the following primers: GFP-F: 5'-TCAAGATCCGCCACAACATC and GFP-R: 5'-TTCTCGTTGGGTCTTTGCT for vectors encoding the GFP, and rep2-F: 5'-AAGGATCACGTGGTTGAGGT and rep2-R: 5'-CCCACGTGACGAGAACATTT for replication-competent library preparations.

Library selection and vectorization of evolved AAV capsids

Human hepatoma HuH-7 cells (kindly provided by Dr Jerome Laurence, The University of Sydney) were seeded in complete media (DMEM with 10% [v/v] FBS) at 2×10^5 cells per well in 24-well dishes 18hrs prior to infection with AAV library. Six 10-fold dilutions of the AAV library were added to the media in duplicates. Cells were washed with PBS buffer 6 hrs after infection and wild type human adenovirus 5 (hAd5) (ATCC, cat. no. VR-1516) was added to facilitate AAV library replication. The plate without hAd5 served as a qPCR control. Cells were harvested 72 hrs after hAd5 infection and lysed by three freeze-thaw cycles. After each round of selection, AAV amplification was verified in each well by qPCR. To minimize cross-packaging of multiple vectors in single cell, the highest library dilution that resulted in no less than a 2-log increase in AAV signal, when compared to control well without wtAd5, was selected to the next round. Between selection rounds, heat inactivation (65°C for 30min) was used to inactivate wtAd5 in the samples. After the last, fourth round of selection, AAV capsid sequences were recovered from the wells by PCR using primers flanking the capsid region (Cap-F: 5'-CGATCTGGTCAATGTGGATTGGATGACTGC, Cap-R: 5' GTAGTTAATGATTAACCCGC-CATGCTACTTATCTACATGCAT). PCR-amplified cap

genes were cloned into unique *Swa*I and *Nsi*I sites of recipient helper packaging plasmid (pR2C) (downstream of the *rep2* gene), by digestion of the libraries overnight with *Swa*I and *Nsi*I, and ligation of insert and plasmid with T4 DNA ligase at 3:1 molar ratios (1.3 mg of insert and 1 mg of plasmid). Ligation reactions were concentrated using ethanol precipitation, electroporated into SS320 electrocompetent bacteria, and grown as described above. Twenty individual clones were sequenced (Genomed S.A., Warsaw, Poland) to confirm progress of the selection process and to learn the sequence identity of selected capsids.

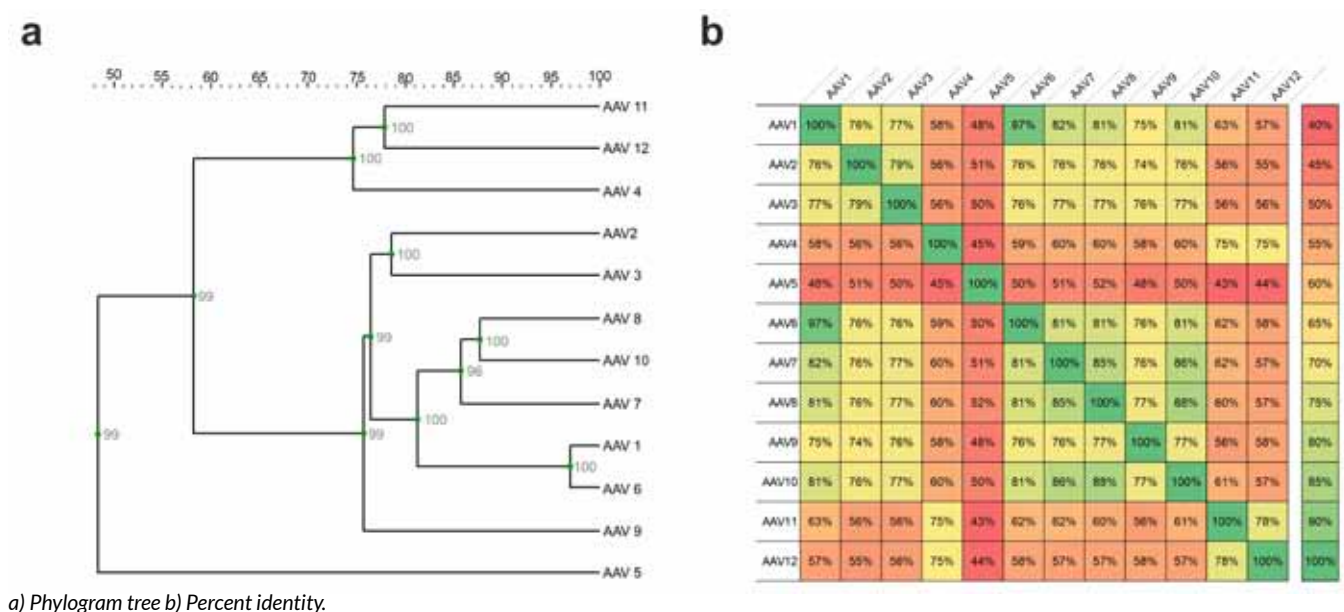
In vitro transduction analysis

For transduction, HuH-7, HEK293 and A549 (ECACC, cat. no. 86012804) cells were plated at 2×10^5 cells per well into 24-well plates in complete media. Four hours later, the vector stock was diluted into 0.5 ml of complete media and added to the cells to achieve multiplicities of transduction (MOTs) of 10^5 , 10^4 , 10^3 . The cells were harvested 72 hrs after transduction using TrypLE Express (Thermo Fisher, cat. no. 12604021), washed three times with PBS buffer and resuspended in 200 μ l of cytometer buffer. EGFP expression was quantified in 20,000 cells using a BD FACS Calibur flow cytometer (Becton Dickinson, San José, CA, USA) equipped with a 488-nm argon-ion laser. Analysis of data was performed using Cell Quest Software (Becton Dickinson, San José, CA, USA). Results was shown as a percentage of cells with GFP fluorescence and mean fluorescence intensity (MFI) calculated for each sample (Department of Pathological Anatomy, The National Veterinary Research Institute, Pulawy, Poland).

Phylogenetic analysis of AAV sequences

Phylogenetic analysis of AAV sequences was performed using BioNumerics 7.6.3 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium). Dendrogram was computed using multiple alignment with correction Jukes & Cantor and

Figure 1. Parental capsid phylogenetic relationship among 12 AAV variants used in the study.



clustering UPGMA method. Created phylogenetic tree was verified by cophenetic correlation coefficient (green dots).

Results

An AAV capsid library based on DNA shuffling of 12 different AAV parental serotypes was generated to enable selection of novel capsid variants on liver cells *in vitro*. The percent identity between the twelve capsid genes varied from 43 to 97 %, with cap 5 being the most distant serotype included in the mix (Fig. 1).

Specifically, DNA shuffling of capsid genes was performed by enzymatic fragmentation of parental AAV serotypes, followed by assembly of a full-length genes to create a diverse library of chimeras (Fig. 2).

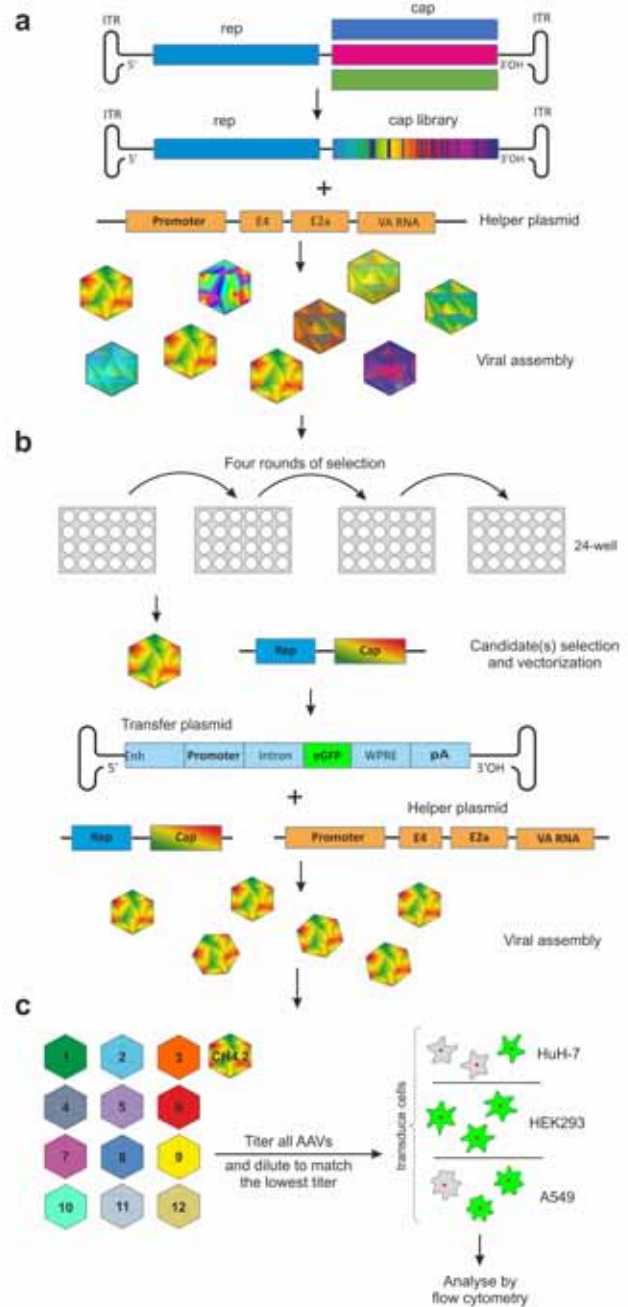
Library was cloned into a rescue vector and the capsid region of ten individual clones from the final plasmid library was Sanger sequenced. Analysis of the capsid gene sequences revealed that all clones were unique and highly diverse, containing fragments from multiple parental donor serotypes. Subsequently, the shuffled library was cloned into a replication-competent recipient construct (Fig. 2a) and additional ten clones were fully sequenced to confirm high quality of the final library prior to vector packaging step (Fig. 3a).

Detailed sequence analysis of the individual clones revealed that an average length of individual fragments from parental donors was 111.1 bp, average number of parental segments per clone was 19.3 ± 3.4 and average number of parental variants contributing to each chimera sequence was 8.5 ± 1.2 . Shuffling index (percentage of individual clones containing at least one fragment >15bp from a given parental donor) was calculated and the results showed that the contribution of parental sequences from AAV6 and AAV1 was 32 % and 29 %, respectively. The remaining serotypes with considerable contribution were AAV7, AAV8 and AAV10 (shuffling index of 9.8 %, 9.8 % and 6.3 %, respectively). AAV5, AAV11, AAV12 and AAV4 contribution per single chimera was 1%, 1.1%, 0.3%, and 0.2%, respectively (Fig. 3b).

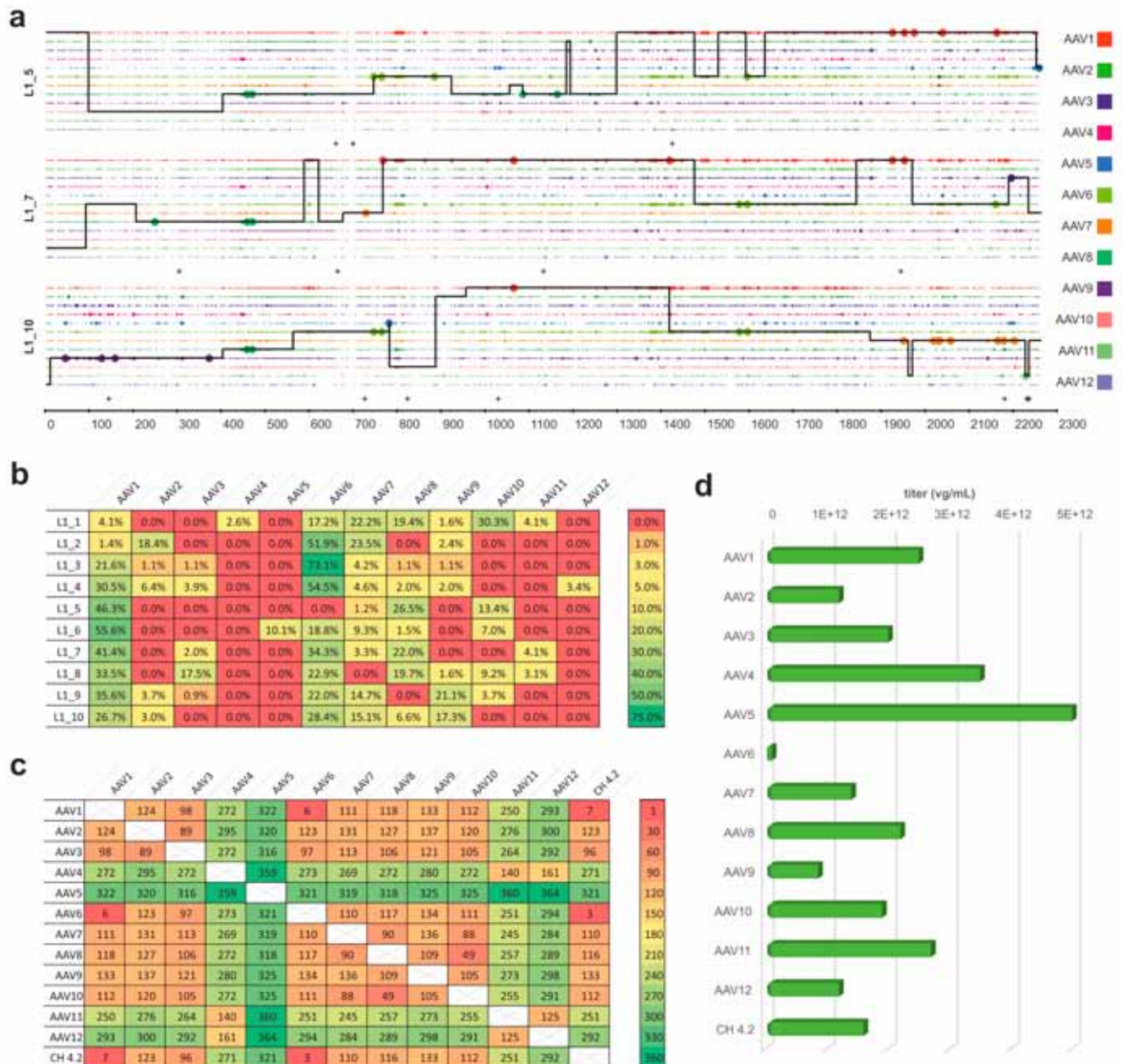
The results confirmed extensive genetic diversity and the presence of all twelve parental viruses in the final library pool with a bias toward AAV6 and AAV1 serotypes.

To screen for capsids with enhanced efficiency in liver, the library was packed resulting a particle titer $\sim 2.9 \times 10^{13}$ genomes/ml in the total volume of 500 μ l. Produced AAV library was used to perform four rounds of selection on hepatoma cells (HuH-7) in the presence of wild type human adenovirus type 5 (Ad5) to support AAV replication. Total 4 round of iterative selection were performed and after the last round of selection, 17 clones were selected and sequenced to verify completion of the selection process. Sequencing revealed successful enrichment of a single chimera (AAV-CH4.2), which represented over 90 % of randomly selected clones. Sequence of AAV-CH4.2 revealed predominant homology to serotypes AAV6 and AAV1. On the nucleotide level, the capsid gene coding for AAV-CH4.2 was 98.55 % similar to AAV6 and 97.42 % AAV1. On the amino acid level, the sequence identity was

Figure 2. Schematic representation of the directed evolution of AAV capsids by DNA shuffling and functional validation of selected novel variants.



a) AAV capsid (*cap*) genes from parental AAV1 to AAV12 were digested with DNase followed by primer-less PCR to reassemble full-length shuffled genes. The shuffled capsid genes were inserted into a plasmid carrying AAV2 ITRs and AAV2 *rep* gene. Resulting plasmid library was transiently transfected together with an adenoviral helper plasmid (pAd5, encoding E4, E2a and VA adenoviral genes required for AAV replication), into HEK293 to produce viral AAV library.
 b) AAV library selection was performed by coinfecting the cultured liver cells with the library and wild-type adenovirus type 5 (wtAd5), which enabled replication of AAV variants that were able to effectively infect the target cells. Capsid gene from the selected AAV variant was subsequently PCR amplified and cloned into an AAV plasmid carrying the AAV2 *rep* gene to generate AAV packaging construct. The AAV packaging plasmid was then transfected together with pAd5 and the transfer plasmid (plasmid encoding a standard expression cassette consist of the green fluorescent protein (GFP) transgene, polyadenylation signal (pA), and woodchuck post-transcriptional regulatory element (WPRE)) into HEK293 cells to produce final AAV-GFP for functional studies.
 c) The new vector was used to transduce target cells and GFP expression was quantified. Parental AAVs were included as references.

Figure 3. Analysis of the capsid gene sequences and vector yield comparison.

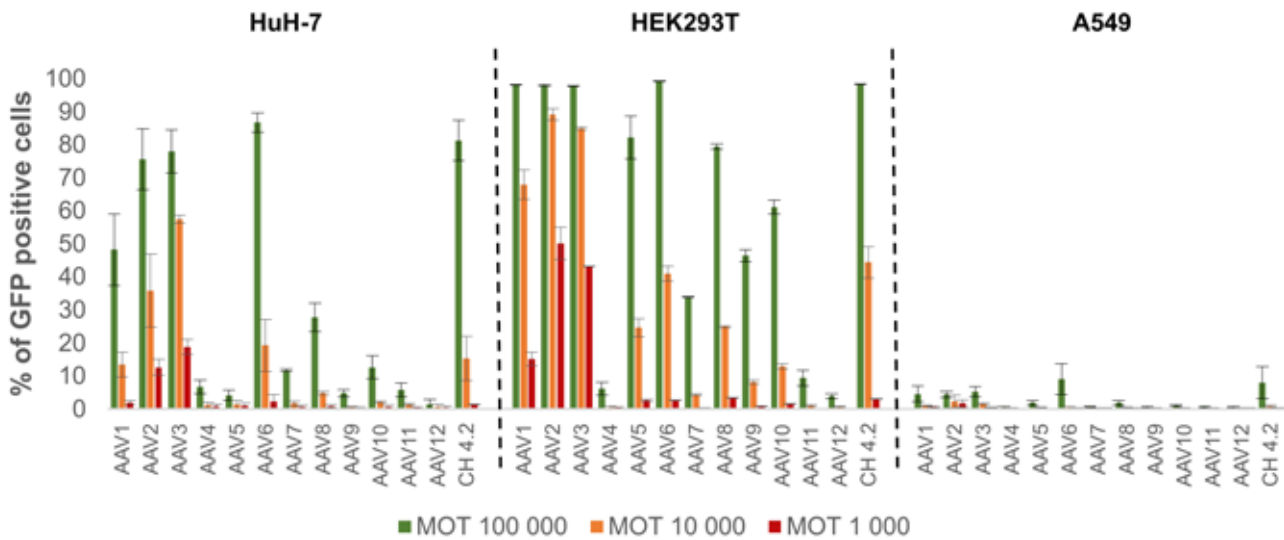
a) Amino acid composition analysis of shuffled capsid clones in the final plasmid library. Parental AAVs are shown in different colours. Size of the dot represents probability level that given sequence originated from that particular parental serotype. The solid black line for each chimera (L1_5, L1_7, L1_10) outlines the parental composition of given variant. A plus sign "+" indicates a de novo mutation that cannot be tracked back to any of the parental donors. b) Shuffling index, percentage of individual clones containing at least one fragment <15bp from a given parental donor, between the capsid library, based on sequence composition of the 10 random clones (L1_1-L1_10), and the parental serotypes, with green color indicating higher and red indicating lower shuffling index. c) Amino acid identity score (number of differences at the amino acid level) between individual parental serotypes (AAV1-12) and generated chimera CH4.2, with red color indicating higher and green indicating lower identity. d) Vector yield comparison of the novel selected chimera and parental variants.

99.59 % and 99.05 % to AAV6 and AAV1, respectively, or in other words, the difference between them was 3 and 7 amino acids, respectively (Fig. 3c).

Next, the transduction efficiency of the selected variant was assessed on human cell lines of various hepatocytes origin, namely hepato-carcinoma 7 cells (HuH-7), as well as non-liver cell lines, namely embryonic kidney cells (HEK293) and lung carcinoma cells (A549). To do so, the cap AAV-CH4.2 gene coding sequence was recovered by PCR and cloned into a standard helper plasmid downst-

ream of the AAV *rep2* gene. This AAV-CH4.2 packaging plasmid was subsequently used to package AAV vectors encoding GFP reporter protein under the control of a ubiquitous CAG promoter. The same reporter cassette was also packaged into the twelve parental variants (AAV1-12), which were to be used as reference controls in the transduction study. However, this also allowed for direct vector yield comparison. All vectors were titrated by qPCR, and the titre from iodixanol production ranged from 5.3×10^{12} (AAV5) to 1×10^{11} vg/ml (AAV6) (Fig. 3d). Although at the sequence level our novel variant AAV-

Figure 4. Results of flow cytometry analysis for each cell type, individually transduced with parental AAVs and new vector variant (AAV-CH4.2).



-CH4.2 was very similar to AAV6, AAV-CH4.2 packaged substantially more efficiently than AAV6 with the final titer 10× higher than AAV6. All vectors were diluted to the same concentration and were used to transduce the above-mentioned cell lines at 3 different multiplicities of transduction (MOTs, number of vector particles per target cell): 100×10^3 , 10×10^3 and 1×10^3 . The cells were harvested 72 hours later, and the efficiency of transduction was analyzed by flow cytometry based on the level of GFP protein expression (Fig. 4).

As shown in Figure 4, the levels of transduction differed substantially between cell lines for all AAV tested. Not surprisingly, higher MOT led to an overall higher level of transduction in all groups. On the HuH-7 cells, AAV2, AAV3, AAV6 and AAV-CH4.2 outperformed all the other vectors, and at MOT 100×10^3 functionally transduced 75.7 %, 78.1 %, 86.7 % and 81.4 % of HuH-7 cells, respectively. Remaining vectors transduced HuH-7 cells less efficient and could be grouped into average transducers (AAV1 48.3 %, AAV8 27.8%) and poor transducers (AAV10 12.6 %, AAV7 11.7 %, AAV4 6.7 %, AAV11 5.8 %, AAV9 4.9 %, AAV5 4.1 % and AAV12 1.5 %). The level of transduction of AAV-CH4.2 was comparable with the best vector (AAV6) and more than ten times better than AAV4, AAV11, AAV9, AAV5 or AAV12.

On the HEK293 embryonic kidney cells, AAV1, AAV2, AAV3, AAV6 and AAV-CH4.2 vectors reached a saturation levels of transduction (98.3 %, 98 %, 97.8 %, 99.4 %, and 98.5 % GFP positive cells, respectively) at MOT 100×10^3 . At MOT 10×10^3 , AAV1, AAV2, AAV3, AAV6 and AAV-CH4.2 transduced 71.1%, 90.4%, 85.3%, 42.7% and 47.8% cells, respectively. AAV5, AAV8 and AAV10 constituted an average transducer group (26.5%, 25.2%, 12.3%, respectively), while AAV9, AAV7, AAV11, AAV12, and AAV4 were the poorest transducers (7.7%, 4.6%, 1.3%, 0.9%, and 0.8%, respectively). Even though the transduction level of AAV-CH4.2 was lower than AAV1, AAV2 and AAV3, it was still more than forty times better than AAV11, AAV12 and AAV4.

The lung carcinoma line, A549, was the most resistant to AAV transduction, with AAV6 and AAV-CH4.2 leading to the highest level of transduction of 9.1 % and 8.1 %, respectively. AAV1, AAV2 and AAV3 transduced 4.6 %, 4.5 % and 5.3 % of the cells, respectively, while the remaining vectors transduced only 1% or less of the A549 cells.

Discussion

Currently, most AAV-based vectors used in gene therapy are derived from naturally occurring serotypes (e.g. AAV2, AAV5, AAV8). Their ability to transduce target tissues in clinical trials often turns out to be much lower than anticipated based on data from preclinical studies, which is why more functional variants for clinical applications are still in high demand. Strategies that enable shuffling AAV capsids from closely related (e.g. AAV1, 2, 3, 6) as well as evolutionarily distant (e.g. AAV5) serotypes enable generation of large pools of random variants (AAV libraries), each with a unique sequence and function. Such large libraries form a starting point in directed evolution strategies that enable selection for new variants with desired properties using preclinical models of human organs. The selection pressure applied can direct the selection process (hence Directed Evolution) towards identification of variants with new critical properties, such as increased transduction efficiency or specificity towards target cells.

However, as the novel bioengineered variants become more efficient at transduction of primary human cells *in vivo*, they often become less efficient at transgene delivery in preclinical models, such as immortalized cells. In fact, recent data suggests that some capsid properties that help with efficient transduction *in vitro* may differ from those required for *in vivo* function. For example, strong binding to heparan sulfate proteoglycans (HSPG), which help with transduction of cells in tissue culture settings make the vectors inefficient at tissue entry and transduction *in vivo* [37]. This suggests that as the field moved towards more efficient AAV variants for clinical

applications, parallel efforts may be required to develop tools in support of early preclinical work.

To this end, in the present study, the *cap* gene shuffling of 12 AAV serotypes was performed, followed by selection on human liver cell line, resulting in the identification of a novel variant (AAV-CH4.2). Functional analysis using three-cell lines revealed that AAV-CH4.2 was one of the most efficiently transducing variants when compared to parental AAVs. The *cap* AAV-CH4.2 sequence at the amino acid level is very similar to the *cap* sequence of AAV6 and AAV1, which could be related to the fact that those two serotypes were the most represented ones in the shuffled library used in this study. The overrepresentation of AAV1 and AAV6 may be due to the fact, that high identity of the *cap* DNA sequences directly influences the efficiency of shuffling of the input parental sequences, leading to significant advantage of sequences contributed by the closely related AAV serotypes [34]. AAV1 and AAV6 have the highest pairwise identity among the parental AAVs (97.1%), and together with AAV7, AAV8 and AAV9 belong to the same clade. More distant parental serotypes, such as AAV5, AAV4, AAV11, and AAV12, did not shuffle efficiently with other variants and were somewhat under-represented in our initial library. Results obtained in our study coincide with the phenomenon described in the literature, that typically evolved capsids differ from a single parent by only up to seven residues (this depends on the library type but usually corresponding to less than 1% of the capsid protein) [12].

It is known that AAVs attach to specific receptors on the cell surface in a serotype dependent manner. The attachment of most of the AAV serotype vectors is first mediated by binding to various cell surface or extracellular matrix proteoglycans, which serve as primary receptors. To enter the cells, interactions with additional co-receptors that mediates endocytosis are required [38]. More recently, type-1 transmembrane protein was shown to be required for transduction by most of AAV serotypes and was named the AAV receptor (AAVR) [39]. To compare the transduction efficiency of the selected variant with parental serotypes, cell lines from different human tissues were transduced with AAV-CH4.2 encoding GFP reporter, using parental AAV1-12 as controls. Studies showed that the newly selected vector AAV-CH4.2, together with closely related AAV6, were among the best transducing vectors on each of the tested cell lines, which is a very promising result. The second most effective vectors (AAV2 and AAV3) belong to one clade, and the weakest transducers (AAV4, AAV11 and AAV12) also belong to one clade, a fact that can potentially explain similarity in transduction pattern. Different transduction levels on studied cell lines, especially very weak transduction on A549 cells, can point towards the existence of a potential barrier preventing AAVs from cell attachment on cell entry. As described in the literature, AAV receptor (AAVR) has specific and restricted expression pattern, for example it is weakly expressed on airway epithelial cells. For most AAVs, which rely on this receptor for cellular entry, this could impose a strong barrier that holds back the vectors from entry [40].

Currently gene therapies are among the most expensive therapeutics available, which limits the access for many

patients and thus lowers the overall impact on the patient population. The high cost of gene therapeutics is in part driven by the high cost of vector manufacturing, which also creates a substantial roadblock for many promising translational programs. An efficient vector production is essential for successful commercial implementation of gene therapy. While preclinical studies require substantially lower amounts of vectors, efficient manufacturing is still an important factor when considering a choice of vector. Despite being highly similar to AAV6 at the amino acid sequence and function levels (Fig 4) the selected AAV-CH4.2 can be packaged at substantially higher yield (Fig 3d), increasing its overall value and utility.

The presented data illustrate the utility of AAV bioengineering for the development of AAV vectors for preclinical studies, while the vector packaging and functional data position AAV-CH4.2 as a strong candidate for further evaluation and as a starting point for further bioengineering applications.

Funding

This study was supported by grants from the National Science Centre (OPUS13, registration number 2017/25/B/NZ1/02790) and The Ministry of National Defence („Kościuszko”, registration number K/10/8047/DNiSW/T-WIHE/3).

Declarations. Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Hermonat PL, Muzyczka N. Use of adeno-associated virus as a mammalian DNA cloning vector: transduction of neomycin resistance into mammalian tissue culture cells. *Proc Natl Acad Sci*, 1984; 81: 6466-64 <https://doi.org/10.1073/pnas.81.20.6466>
2. Savy A, Dickx Y, Nauwynck L, et al. Impact of Inverted Terminal Repeat Integrity on rAAV8 production using the Baculovirus/Sf9 cells system. *Hum Gene Ther Methods*, 2017; 28: 277-2 <https://doi.org/10.1089/hgtb.2016.133>
3. Colella P, Ronzitti G, Mingozi F. Emerging issues in AAV-mediated *in vivo* gene therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2017; 8: 87-1 <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2017.11.007>
4. Ogden PJ, Kelsic ED, Sinai S, Church GM. Comprehensive AAV capsid fitness landscape reveals a viral gene and enables machine-guided design. *Science*, 2019; 366: 1139-11 <https://doi.org/10.1126/science.aaw2900>
5. Batty P, Lillicrap D. Advances and challenges for hemophilia gene therapy. *Hum Mol Genet*, 2019; 28: R95-R1 <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz157>
6. Byrne BJ, Fuller DD, Smith BK, et al. Pompe disease gene therapy: neural manifestations require consideration of CNS directed therapy. *Ann Transl Med*, 2019; 7: 2 <https://doi.org/10.21037/atm.2019.05.56>
7. Hitti FL, Yang AI, Gonzalez-Alegre P, Baltuch GH. Human gene therapy approaches for the treatment of Parkinson's disease: An overview of current and completed clinical trials. *Parkinsonism Relat Disord*, 2019; 66: 16-<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.07.018>
8. Gaudet D, Méthot J, Kastelein J. Gene therapy for lipoprotein lipase deficiency. *Curr Opin Lipidol*, 2012; 23: 310-3

- <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283555a7e>
9. Trapani I. Adeno-Associated viral vectors as a tool for large gene delivery to the retina. *Genes*, 2019; 10: 2 <https://doi.org/10.3390/genes10040287>
 10. Al-Zaidy SA, Mendell JR. From Clinical Trials to Clinical Practice: Practical considerations for gene replacement therapy in SMA Type 1. *Pediatr Neurol*, 2019; 100: 3- <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2019.06.007>
 11. Smith JK, Agbandje-McKenna M. Creating an arsenal of Adeno-associated virus (AAV) gene delivery stealth vehicles. *PLoS Pathog*, 2018; 14: e10069 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006929>
 12. Grimm D, Lee JS, Wang L, et al. *In vitro* and *in vivo* gene therapy vector evolution via multispecies interbreeding and retargeting of adeno-associated viruses. *J Virol*, 2008; 82: 5887-59 <https://doi.org/10.1128/JVI.00254-08>
 13. Hanlon KS, Meltzer JC, Buzhdygan T, et al. Selection of an efficient AAV vector for robust CNS transgene expression. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019; 15: 320-3 <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2019.10.007>
 14. Paulk NK, Pekrun K, Zhu E, et al. Bioengineered AAV capsids with combined high human liver transduction *in vivo* and unique humoral seroreactivity. *Mol Ther*, 2018; 26: 289-3 <https://doi.org/10.1016/j.ymt.2017.09.021>
 15. Pekrun K, De Alencastro G, Luo QJ, et al. Using a barcoded AAV capsid library to select for clinically relevant gene therapy vectors. *JCI insight*, 2019; 4: e1316 <https://doi.org/10.1172/jci.insight.131610>
 16. Tordo J, O'Leary C, Antunes A, et al. A novel adeno-associated virus capsid with enhanced neurotropism corrects a lysosomal transmembrane enzyme deficiency. *Brain*, 2018; 141: 2014-20 <https://doi.org/10.1093/brain/awy126>
 17. Grimm D, Zolotukhin S. E Pluribus Unum: 50 years of research, millions of viruses, and one goal-tailored acceleration of AAV evolution. *Mol Ther*, 2015; 23: 1819-18 <https://doi.org/10.1038/mt.2015.173>
 18. Wang D, Tai P, Gao G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nat Rev Drug Discov*, 2019; 18: 358-3 <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0012-9>
 19. Govindasamy L, Padron E, McKenna R, et al. Structurally mapping the diverse phenotype of adeno-associated virus serotype 4. *J Virol*, 2006; 80: 11556-115 <https://doi.org/10.1128/JVI.01536-06>
 20. Maheshri N, Koerber JT, Kaspar BK, Schaffer DV. Directed evolution of adeno-associated virus yields enhanced gene delivery vectors. *Nat Biotechnol*, 2006; 24: 198-2 <https://doi.org/10.1038/nbt1182>
 21. Müller OJ, Kaul F, Weitzman MD, et al. Random peptide libraries displayed on adeno-associated virus to select for targeted gene therapy vectors. *Nat Biotechnol*, 2003; 21: 1040-10 <https://doi.org/10.1038/nbt856>
 22. Zinn E, Vandenberghe LH. Adeno-associated virus: fit to serve. *Curr Opin Virol*, 2014; 8: 90- <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2014.07.008>
 23. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol*, 2019; 70: 151-1 <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.09.014>
 24. Cellular, Tissue, and Gene Therapies Advisory Committee September 2-3, 2021 Meeting Briefing Document- FDA, <https://www.fda.gov/media/151599/download>
 25. Kay MA, Manno CS, Ragni MV, et al. Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet*, 2000; 24: 257- <https://doi.org/10.1038/73464>
 26. Miesbach W, Meijer K, Coppens M, et al. Gene therapy with adeno-associated virus vector 5-human factor IX in adults with hemophilia B. *Blood*, 2018; 131: 1022-1031
 27. Rangarajan S, Walsh L, Lester W, et al. AAV5-Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med*, 2017; 377: 2519-2530
 28. George LA, Sullivan SK, Giermasz A, et al. Hemophilia B Gene Therapy with a High-Specific-Activity Factor IX Variant. *N Engl J Med*, 2017; 377: 2215-2227
 29. Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, et al. Adenovirus-associated virus vector-mediated gene transfer in hemophilia B. *N Engl J Med*, 2011; 365: 2357- <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1108046>
 30. Pattali R, Mou Y, Li XJ. AAV9 Vector: a Novel modality in gene therapy for spinal muscular atrophy. *Gene Ther*, 2019; 26: 287-2 <https://doi.org/10.1038/s41434-019-0085-4>
 31. High KA, George LA, Eyster ME, et al. A phase 1/2 trial of investigational Spk-8011 in hemophilia a demonstrates durable expression and prevention of bleeds. *Blood*, 2018; 132: 4 <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-115495>
 32. Lisowski L, Dane AP, Chu K, et al. Selection and evaluation of clinically relevant AAV variants in a xenograft liver model. *Nature*, 2014; 506: 382-6. <https://doi.org/10.1038/nature12875>
 33. Perrin GQ, Herzog RW, Markusic DM. Update on clinical gene therapy for hemophilia. *Blood*, 2019; 133: 407-4 <https://doi.org/10.1182/blood-2018-07-820720>
 34. Cabanes-Creus M, Ginn SL, Amaya AK, et al. Codon-optimization of wild-type adeno-associated virus capsid sequences enhances DNA family shuffling while conserving functionality. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019; 12: 71- <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2018.10.016>
 35. Strobel B, Miller FD, Rist W, Lamla T. Comparative analysis of cesium chloride-and iodixanol-based purification of recombinant adeno-associated viral vectors for preclinical applications. *Hum Gene Ther Methods*, 2015; 26: 147-1 <https://doi.org/10.1089/hgtb.2015.051>
 36. Wang Q, Dong B, Firman J, et al. Efficient production of dual recombinant adeno-associated viral vectors for factor VIII delivery. *Hum Gene Ther Methods*, 2014; 25: 261-2 <https://doi.org/10.1089/hgtb.2014.093>
 37. Cabanes-Creus M, Hallwirth CV, Westhaus A, et al. Restoring the natural tropism of AAV2 vectors for human liver. *Sci Transl Med*, 2020; 12: eaba33 <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aba3312>
 38. Srivastava A. *In vivo* tissue-tropism of adeno-associated viral vectors. *Curr Opin Virol*, 2016; 21: 75- <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.08.003>
 39. Hamilton BA, Li X, Pezzulo AA, et al. Polarized AAVR expression determines infectivity by AAV gene therapy vectors. *Gene Ther*, 2019; 26: 240-2 <https://doi.org/10.1038/s41434-019-0078-3>
 40. Dudek AM, Pillay S, Puschnik AS, et al. An alternate route for adeno-associated virus (AAV) entry independent of AAV receptor. *J Virol*, 2018) 92: e02213- <https://doi.org/10.1128/JVI.02213-17>



PREDYKTORY SKUTECZNEJ INDUKCJI PORODU. ROLA SKALI DOJRZAŁOŚCI SZYJKI MACICY

Predictors for successful labour induction. The role of cervical scores



Anna Małgorzata Maliszewska¹, Aleksandra Warska², Janusz Sierdziński³, Barbara Joanna Bałań⁴

1. Oddział Ginekologiczno-Położniczy, Szpital Solec Sp. z o.o., Polska
2. Kliniki Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej, Mazowiecki Szpital Bródnowski, Polska
3. Zakład Informatyki Medycznej i Telemedycyny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska
4. Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych, Alergologii i Immunologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

Anna Małgorzata Maliszewska –  0000-0003-0254-9542

Streszczenie:

Wprowadzenie i cel: Indukcja porodu jest powszechnie stosowaną procedurą w położnictwie. Celem badania było zbadanie czynników predykcyjnych skutecznej indukcji porodu i analiza związku pomiędzy parametrami ocenianymi w skali Bishopa a wynikiem indukcji porodu.

Materiał i metody: Badaniem objęto retrospektywnie 214 indukcji porodu przeprowadzonych w Oddziale Ginekologiczno-Położniczym Szpitala Solec w Warszawie w okresie od stycznia do grudnia 2019 r. Jako wynik indukcji oceniano ukończenie porodu: drogami natury lub cesarskim cięciem.

Wyniki: Nieskuteczna indukcja porodu wystąpiła u 28,97% pacjentek. Najczęstszym wskazaniem do porodu operacyjnego była zagrażająca zamartwica płodu i brak postępu porodu. Wielorództwo ($p=0,0015$), BMI pacjentki <30 (95% CI: 28,577- 29,756), dojrzała szyjka macicy (95% CI: 7,657-8,237), indukcja oksytocyną ($p=0,0025$) i wskazania do przeprowadzenia indukcji obejmujące cukrzycę w ciąży, przedwczesne odpywanie płynu owodniowego, słabsze odczuwanie ruchów płodu lub szacowaną dużą masę płodu ($p=0,0067$) są predyktorami skutecznej indukcji porodu. Spośród parametrów ocenianych w skali Bishopa najlepiej koreluje z udaną indukcją porodu stopień skrócenia szyjki macicy (Phi Coefficient 0,187).

Wnioski: Najsilniejszymi predyktorami skutecznej indukcji porodu są rodność i stopień skrócenia szyjki macicy.

Abstract:

Introduction and objective

In obstetrics induction of labour (IOL) is common medical intervention. The aim of the study was to evaluate factors predicting a successful labour induction and to analyse the connection between components of Bishop score and the result of the induced labour.

Material and methods

This was a retrospective cohort study of 214 labour inductions conducted at Gynecology and Obstetrics Ward of Solec Hospital in Warsaw from January to December 2019. Type of delivery, whether vaginal or caesarean, was the outcome.

Results

The prevalence of failed induction of labour was 28.97%. The main indications for caesarean delivery (CD) were impending fetal asphyxia and failure to progress in labor. Multiparity ($p=0.0015$), BMI <30 of the patient (95% CI: 28.577, 29.756), mature cervix (95% CI: 7.657, 8.237), IOL with oxytocin infusion ($p=0.0025$) and such indications as gestational diabetes mellitus, premature rupture of membranes, LGA and less fetal movement sensation ($p=0.0067$) are predictors of successful IOL. Among all parameters examined in the Bishop score the cervical shortening correlates best with the prediction of successful IOL (Phi Coefficient 0.187).

Conclusions

The strongest predictors for succesful IOL are parity and degree of shortening of the cervix.

Słowa kluczowe: cięcie cesarskie, indukcja porodu, rodność, skala dojrzałości szyjki macicy, skrócenie szyjki macicy.

Keywords: caesarean section, parity, labour induction, cervical score, cervical shortening.

DOI 10.53301/lw/156608

Praca wpłynęła do Redakcji: 07.11.2022

Zaakceptowano do druku: 16.11.2022

Autor do korespondencji:

Anna Małgorzata Maliszewska
Oddział Ginekologiczno-Położniczy, Szpital Solec
Sp. z o.o.
ul. Solec 93, 00-382 Warszawa
e-mail: anna.maliszewska1980@gmail.com

Wstęp

Rozwój opieki perinatalnej, metody monitorowania dobrostanu płodu i macierzyństwo w coraz późniejszym wieku wpływają na wzrastający odsetek porodów indukowanych.

Wskazania do przeprowadzenia indukcji porodu dzielimy na matczyne i/lub płodowe. Do najczęstszych zaliczamy: ciążę po terminie, przedwczesne pęknięcie błon płodowych po 37. tygodniu ciąży, podejrzenie dużej masy lub hipotrofii płodu, nieprawidłowe wyniki badania stanu płodu, ciążę powikłaną cukrzycą, nadciśnieniem tętniczym czy cholestazą.

W 1964 r. Edward Bishop opracował system punktowej oceny szyjki macicy w celu oszacowania szansy na skuteczną indukcję porodu. Punktacja 8 lub więcej świadczy o dobrym przygotowaniu szyjki macicy do indukcji, szanse na poród drogami natury są zbliżone do porodu spontanicznego. Punktacja 6 lub mniej oznacza niedostateczną dojrzałość szyjki do porodu. Skala podlegała modyfikacjom, z których najistotniejsze to modyfikacja Burnetta z 1966 r. i uproszczona skala według Laughon i wsp. z 2011 r.

Cel pracy

Celem badania było określenie od czego zależy powodzenie indukcji porodu: jaki wpływ mają wskazania, rodność, wiek, BMI, płeć płodu oraz czy zastosowana metoda preindukcji lub indukcji wpływa na przebieg indukcji porodu. Analizowano, czy któryś z parametrów ocenianych w skali Bishopa ma większą wartość predykcyjną dla skutecznej indukcji porodu, a także czy inne skale dojrzałości szyjki macicy do porodu są użyteczne w codziennej praktyce klinicznej.

Materiał i metody

Retrospektywnie został przeanalizowany przebieg indukcji porodu u 214 pacjentek poddanych tej procedurze w Oddziale Ginekologii i Położnictwa Szpitala Solec w Warszawie w 2019 r. Badanie objęło wszystkie pacjentki w wieku ciążowym ≥ 24 tyg. ciąży zakwalifikowane do indukcji porodu. W badanej grupie najczęstszymi wskazaniami do przeprowadzenia indukcji była ciąża po terminie, przedwczesne odpływanie płynu owodniowego i cukrzyca ciążowa. Średni wiek pacjentki wynosił 30,6 roku. Dominowały pierworódki – 61,2% grupy badanej. 152 porody (71,03%) odbyły się drogami natury, a 62 (28,97%) zakończyły się drogą cięcia cesarskiego. Najczęstszym wskazaniem do porodu operacyjnego była zagrażająca

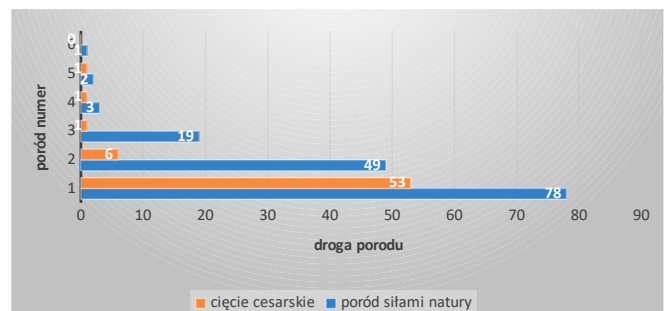
zamartwica płodu i brak postępu porodu. Zebrane dane poddano analizie statystycznej przy użyciu systemu SAS.

Wyniki

Do czynników predykcyjnych skutecznej indukcji porodu należą: kolejny poród, BMI < 30, dojrzałość szyjki macicy, indukcja oksytocyną oraz wskazania do przeprowadzenia indukcji obejmujące cukrzycę w ciąży, przedwczesne odpływanie płynu owodniowego, słabsze odczuwanie ruchów płodu lub szacowaną dużą masę płodu. Na drogę porodu nie wpływa płeć płodu ani wiek rodzącej, jeśli nie jest to jej pierwszy poród.

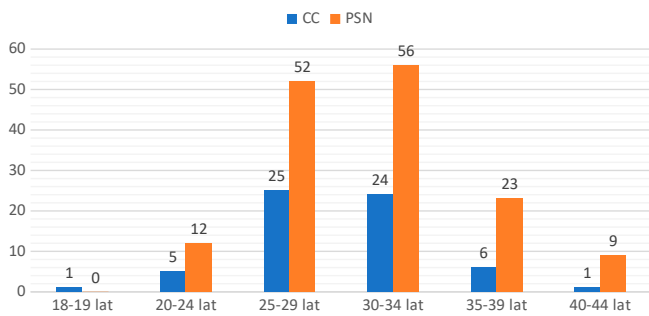
Największy odsetek porodów operacyjnych był wśród pierworódek i zmniejszał się wraz z liczbą przebytych przez pacjentkę porodów (Ryc. 1). W badanej grupie odsetek porodów drogami natury wynosił dla pierworódek 59,54%. Wśród wieloródek skuteczne indukcje porodu zaobserwowano u 89,15% ($p < 0,0001$).

Rycina 1. Droga porodu w zależności od rodności.



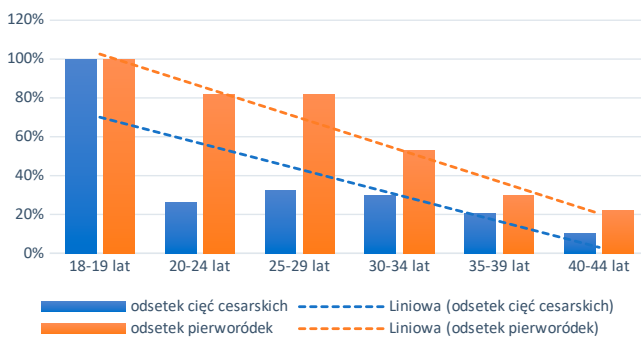
Nie obserwowano zależności pomiędzy wiekiem pacjentki a drogą porodu. Średni wiek pacjentki przy skutecznej indukcji wyniósł 31,046 (CI 95%: 30,270, 31,822), przy nieskutecznej 29,516 (CI 95%: 28,472, 30,560). Odsetek cięć cesarskich jest zbliżony we wszystkich grupach wiekowych, proporcjonalny do odsetka pierworódek, co ilustruje Rycina 2.

Rycina 2. Wiek a droga porodu.



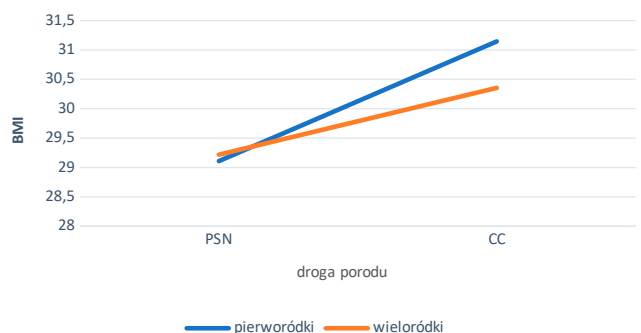
Natomiast widać istotną zależność pomiędzy wiekiem matki a drogą porodu u rodzących po raz pierwszy ($p < 0,05$), co obrazuje Rycina 3. U pierworódek w wieku ≥ 30 lat odbyło się 39% cięć cesarskich, u pacjentek w wieku 20-24 lata – 8%, w grupie 25-29 odpowiednio 37%, a u wieloródek cesarskim cięciem zakończyło się zaledwie 15% porodów.

Rycina 3. Wiek i rodność a droga porodu.



Wraz ze wzrostem BMI rośnie ryzyko nieudanej indukcji porodu ($p < 0,05$), co przedstawia Rycina 4. Wśród pierworódek, u których indukcja porodu zakończyła się cięciem cesarskim BMI wynosiło średnio 31,145 (CI 95%: 30,055, 32,235); u wieloródek 30,355 (CI 95%: 29,265, 31,445). Pacjentki rodzące siłami natury miały BMI 29,110 – pierworódki (CI 95%: 28,521, 29,700) i 29,219 – wieloródki (CI 95%: 28,630, 29,809).

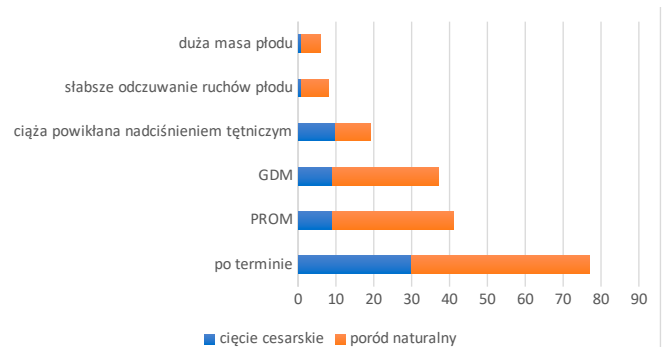
Rycina 4. BMI a droga porodu.



Spośród analizowanych wskazań do indukcji z największym odsetkiem porodu operacyjnego wiązało się nadciśnienie tętnicze u rodzącej, co ilustruje Rycina 5. Dla tej grupy pacjentek indukcja zakończyła się porodem naturalnym w zaledwie 47,37% ($p = 0,0067$). W badanej grupie jedynie wśród indukcji z powodu ciąży po terminie

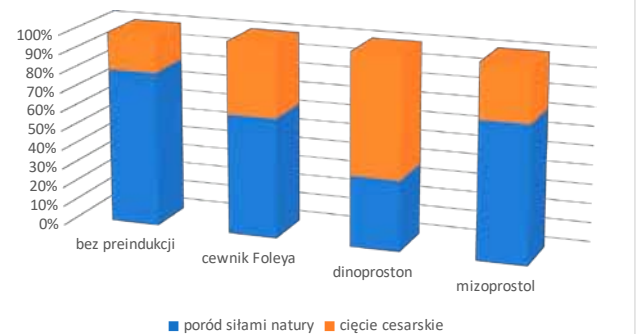
odsetek cięć cesarskich także był powyżej 30% i wyniósł 38,96%.

Rycina 5. Wskazania do indukcji porodu a droga porodu.



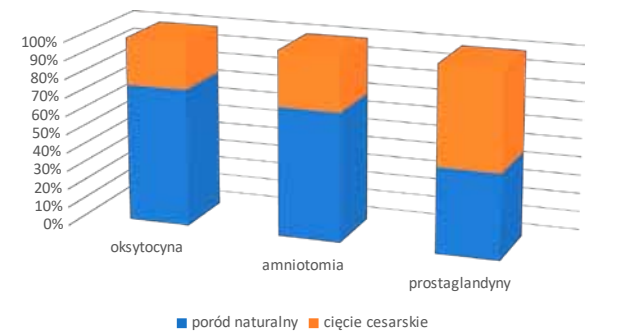
Preindukcja przy zastosowaniu dinoprostonu najrzadziej kończyła się porodem naturalnym ($p = 0,0005$). W przypadku zastosowania mizoprostolu odsetek porodów operacyjnych był istotnie niższy i wyniósł 28,57%. Pacjentki z dojrzałą szyjką macicy, nie wymagające preindukcji, miały najwyższy odsetek skutecznej indukcji porodu – poród drogami natury u 80,65% pacjentek, co przedstawia Rycina 6.

Rycina 6. Droga porodu w zależności od metody preindukcji.



Analizie poddano trzy metody indukcji porodu – indukcję oksytcyną, amniotomię i indukcję prostaglandynami. Widać istotne różnice w odsetku udanych indukcji (Ryc. 7): 74,61% po zastosowaniu oksytcyny, 69,61% po wykonaniu amniotomii i 46,16% po zastosowaniu prostaglandyn (odpowiednio dla oksytcyny $p = 0,0025$, dla amniotomii $p = 0,1127$; dla prostaglandyn $p = 0,0044$).

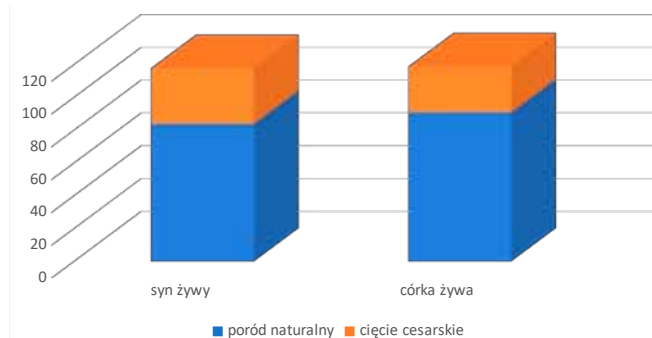
Rycina 7. Metoda indukcji a droga porodu.



Nie zaobserwowano zależności pomiędzy drogą porodu a płcią płodu. Dla obu płci odsetek żywo urodzonych no-

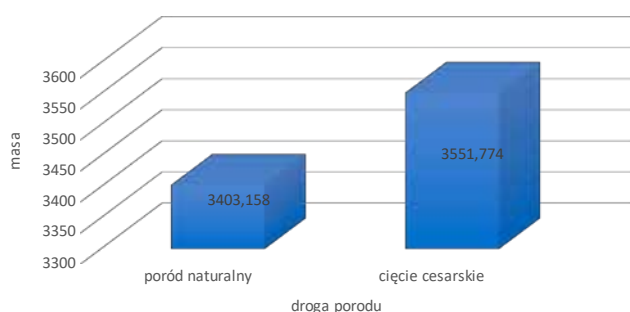
worodków drogą naturalną był zbliżony. Wynosił dla synów 71%, a dla córek 69% (Ryc. 8).

Rycina 8. Droga porodu a płeć płodu.



Został stwierdzony związek pomiędzy masą płodu a skuteczną indukcją porodu, co przedstawia Rycina 9. Zaobserwowano wyższą masę ciała noworodków, jeśli indukcja porodu nie zakończyła się drogami natury: 3551 g (CI 95%: 3448,42 – 3655,12) vs. 3403 g (CI 95%: 3300,90 – 3505,40).

Rycina 9. Droga porodu a masa płodu.



Stwierdzono zależność pomiędzy wszystkimi parametrami ocenianymi w skali Bishopa przed rozpoczęciem preindukcji a wynikiem indukcji porodu. Najsilniejsza korelacja była dla zgładzenia szyjki macicy i jej konsystencji. Parametrem, od którego wynik indukcji porodu zależał najmniej, było rozwarcie szyjki macicy (Tab. 1).

Tabela 1. Korelacja z udaną indukcją porodu parametrów ocenianych przed preindukcją porodu.

Parametr	Współczynnik korelacji przed preindukcją porodu Phi Coefficient
rozwarcie szyjki macicy	0,08
zgładzenie szyjki macicy	0,187
zaawansowanie głowy płodu w kanale rodny	0,149
konsystencja szyjki macicy	0,181
zwrot szyjki macicy	0,128

Najsilniejszą korelację pomiędzy wynikiem indukcji porodu a parametrami ocenianymi w skali Bishopa przed rozpoczęciem indukcji stwierdzono dla stopnia zgładzenia

szyjki macicy. Najśłabsza zależność istniała dla zaawansowania głowy w kanale rodny (Tab. 2).

Tabela 2. Korelacja z udaną indukcją porodu parametrów ocenianych przed indukcją porodu.

Parametr	Współczynnik korelacji przed indukcją porodu Phi Coefficient
rozwarcie szyjki macicy	0,108
zgładzenie szyjki macicy	0,139
zaawansowanie głowy płodu w kanale rodny	0,005
konsystencja szyjki macicy	0,107
zwrot szyjki macicy	0,112

Z udanym przebiegiem indukcji porodu silniej korelują parametry skali Bishopa oceniane przed preindukcją. Jeśli szyjka macicy jest dojrzała i nie wymaga preindukcji, indukcja porodu jest skuteczna w najwyższym odsetku. Osobnicza dojrzałość szyjki, nie wymagająca preindukcji, jest silnym predyktorem skutecznej indukcji porodu.

Związek z udaną indukcją porodu parametrów, takich jak rozwarcie szyjki macicy czy zaawansowanie głowy płodu w kanale rodny, znacznie się różni przed preindukcją i przed indukcją porodu. Nie jest niezbędna ocena wszystkich parametrów dojrzałości szyjki, aby ocenić szanse na skuteczną indukcję. Na podstawie przeprowadzonego badania przed preindukcją porodu nie ma potrzeby oceniać rozwarcia szyjki macicy. Z kolei przed indukcją porodu nie jest istotne zaawansowanie głowy płodu w kanale rodny. Ale skale dojrzałości szyjki macicy nie różnicują, kiedy jest przeprowadzana ocena szyjki. Dlatego skala Bishopa, zmodyfikowana skala Bishopa i uproszczona skala według Laughon są przydatne klinicznie.

Dyskusja

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono, że istnieje silny związek pomiędzy nieudaną indukcją porodu a pierwotnym, nadciśnieniem wiktającym ciężą, otyłością pacjentki i preindukcją przy użyciu dinoprostonu. Podobne wyniki uzyskała Bjorklund i wsp. w kohortowym badaniu populacji Szwecji, określając rodność jako najważniejszy czynnik ryzyka cięcia cesarskiego w trakcie indukcji porodu [1]. Tadesse i wsp. jako czynniki nieudanej indukcji wskazuje, poza pierwszym porodem, niską punktację w skali Bishopa, przedwczesne odpływanie płynu owodniowego i nadciśnienie indukowane ciężą [2]. W badaniu Górniewicz i wsp. wśród pacjentek poddanych preindukcji czynnikiem ryzyka porodu operacyjnego, niezależnie od zastosowanej metody, było pierwotne i nadciśnienie tętnicze [3].

W przeprowadzonym badaniu uzyskano istotną korelację wieku i drogi porodu u pierworodek – po 30. roku życia wzrasta ryzyko porodu operacyjnego. Teal i wsp. w swoim badaniu nie wykazała wpływu wieku na drogę porodu u pierworodek [4]. Większość publikacji podkreśla jednak związek zaawansowanego wieku pacjentki poddanej indukcji, na drogę porodu – Muto i wsp. stwierdziła wzrost odsetka nagłych cięć cesarskich w czasie indukcji

porodu u kobiet ≥ 40 r.ż. do 28,3% vs. 18,3% u pacjentek w wieku 35-39 lat [5]. Cao i wsp. porównał drogę porodu u pierworódek i wieloródek w wieku 35 lat i więcej: pierworódki niemal 1,5 raza częściej (OR 1,48 CI 1,33-1,65) rodzą poprzez cięcia cesarskie [6].

Obeidat i wsp. w swojej pracy odnotowała niekorzystny wpływ wysokiego BMI na przebieg indukcji u wieloródek [7]. W omawianym badaniu widać wzrost odsetka cięć cesarskich wraz ze wzrostem BMI niezależnie od rodności. Taoudi i wsp. w swojej pracy wykazała, że u otyłych kobiet cięcia cesarskie wykonywane jest czterokrotnie częściej niż u pacjentek z prawidłową wagą [8]. Z kolei Tarimo i wsp. nie powiązał wzrostu ryzyka cięcia cesarskiego z otyłością pacjentki [9].

Najwyższy odsetek nieudanych indukcji porodu w prezentowanym badaniu odnotowano u kobiet poddanych tej procedurze z powodu nadciśnienia tętniczego wiktającego ciążę i ciąży po terminie (≥ 41 . tygodnia ciąży), odpowiednio 52,63% i 38,96%. Zbliżone wyniki w swoim badaniu uzyskał Awuah i wsp. – odsetek cięć cesarskich u pacjentek indukowanych z powodu nadciśnienia tętniczego wyniósł 56% [10]. Nakano i wsp., analizując przebieg indukcji porodu u pacjentek w wieku 35 lat lub starszych, stwierdził, że nadciśnienie tętnicze u pacjentki i niedojrzała szyjka macicy są niezależnymi czynnikami ryzyka nagłego cięcia cesarskiego [11]. Wzrost ryzyka cięć cesarskich w ciąży po terminie obserwowano w swojej pracy Lindquist i wsp. – po ukończeniu 42. tygodnia ciąży wręcz o 96% [12]. Tarimo i wsp. jako niezależne czynniki zakończenia indukcji porodu operacyjnie wymienił pierwszy poród (RR = 1,46; 95% CI: 1,18-1,81) i ciążę po terminie (RR = 1,45; 95% CI: 1,09-1,93) – uwagę zwraca fakt, że ryzyka względne są niemal identyczne 1,46 vs. 1,45 [9].

W badanej grupie indukcja porodu najczęściej była podejmowana z powodu ciąży po terminie i przedwczesnego odpływania płynu owodniowego, następnie cukrzycy ciążowej i nadciśnienia tętniczego w ciąży. Podobny rozkład wskazań do indukcji wykazał w swojej metaanalizie Coates i wsp. [13]. W badaniu przeprowadzonym przez Kumar i wsp. [14] najczęstszym wskazaniem do indukcji było wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrostu płodu (18%), następnie przedwczesne odpływanie płynu owodniowego (17%), słabsze odczuwanie ruchów płodu (16%), ciąża po terminie (15%), a także cukrzyca w ciąży (13%). Z kolei Kamlungkuea i wsp. w swojej analizie opisał indukcje porodu najczęściej z powodu ciąży po terminie, cukrzycy ciążowej, nadciśnienia tętniczego i zaburzeń wzrastania płodu [15].

Przebieg indukcji porodu w zależności od zastosowanej metody preindukcji rozpatrywała Familiari i wsp. [16]. Na podstawie jej analizy ukończenie ciąży drogą cięcia cesarskiego z powodu zagrażającej wewnątrzmacicznej zamartwicy płodu było konieczne w 18,1% porodów po zastosowaniu dinoprostonu, w 9,4% porodów po aplikacji mizoprostolu i 8,1% porodów po zastosowaniu cewników doszyjkowych. W omawianej pracy także uzyskano najwyższy odsetek porodów operacyjnych po zastosowaniu jako metody preindukcji dinoprostonu 63,16% ($p=0,0005$). Większy odsetek porodów naturalnych po użyciu mizoprostolu, w porównaniu do dinoprostonu,

wykazuje również w swojej pracy Garg i wsp. [17]. Z kolei Rossi i wsp. uzyskał zbliżony odsetek cięć cesarskich niezależnie od metody preindukcji: 25,6%, 26,3%, i 22,0% odpowiednio dla mizoprostolu, dinoprostonu i cewnika Foley'a [18].

W przeprowadzonej analizie najwyższy odsetek porodów drogami natury wystąpił po zastosowaniu wlewu oksytocyny – 75% i niewiele niższy po zastosowaniu amniotomii – 70%. W piśmiennictwie wyniki są zróżnicowane. Hostinská i wsp. uzyskała najwyższy wskaźnik porodów drogami natury po użyciu mizoprostolu, ale najkrótszy czas do porodu po wykonaniu amniotomii [19]. Debele i wsp. z kolei w swoim badaniu wykazał, że indukcja przy zastosowaniu jedynie oksytocyny zwiększa ryzyko cięcia cesarskiego (AOR 4,2; 95% CI 2,2-8,1) [20]. Unthanani i wsp. porównał mizoprostol i oksytocynę, wykazując niższy odsetek cięć cesarskich po zastosowaniu mizoprostolu 13,3% vs. 28,8% [21]. Z kolei Branger i wsp. wskazał na zwiększone ryzyko cięcia cesarskiego po zastosowaniu prostaglandyn w indukcji porodu [22].

W przeprowadzonym badaniu płeć płodu nie wpływa na wynik indukcji. Podobne wyniki uzyskał Hadar i wsp., nie opisał on w swojej analizie wpływu płci płodu na zwiększenie ryzyka cięcia cesarskiego podczas indukcji porodu – dla płodów płci męskiej odsetek porodów operacyjnych wynosił 14,4% vs. 14,2% dla płodów płci żeńskiej [23]. Bademkiran i wsp. natomiast wykazuje związek płci męskiej z zaburzeniami czynności serca płodu i ryzykiem nagłego cięcia cesarskiego w przebiegu indukcji porodu [24].

W omawianej pracy zaobserwowano wyższą masę ciała noworodków, jeśli indukcja porodu nie zakończyła się drogami natury – 3551g vs. 3403 g. Kamlungkuea i wsp. w swojej analizie uzyskał wyniki, że masa płodu < 3500 g wiąże się z dwukrotnym zwiększeniem szansy na udaną indukcję porodu (aOR 2,193; 95% CI 1,246-3,860) [15]. Natomiast Dall'Asta i wsp. przeanalizowała porody u pacjentek z szacowaną dużą masą płodu i spośród nich 82,9% kobiet urodziło drogami natury, a 34,5% badanych spełniło kryteria masy płodu > 95 . percentyla [25].

W przeprowadzonym badaniu stwierdzono silną korelację pomiędzy wynikiem indukcji porodu a stopniem zgładzenia szyjki macicy. Huret i wsp. po badaniu grupy 502 pacjentek wykazała związek pomiędzy udaną indukcją porodu z powodu przedwczesnego odpływania płynu owodniowego przy rozwarciu szyjki ≥ 2 cm ($p<0,001$) [26]. Z kolei Kamel i wsp. jako predyktor skutecznej indukcji u pierworódek w terminie porodu wymieniła długość szyjki macicy (OR 1,08; $p=0,04$) [27]. Badanie Diaz również wykazało, że długość szyjki macicy jest czynnikiem predykcyjnym cięcia cesarskiego w przebiegu indukcji porodu [28]. Kawakita i wsp. stwierdziła związek rozwarcia, zgładzenia i zaawansowania główki płodu, czyli parametrów uwzględnianych w uproszczonej skali Bishopa, z udaną indukcją porodu u pacjentek z niedojrzałą szyjką macicy (< 6 punktów) [29]. Jung i wsp. porównali wartość predykcyjną punktacji według zmodyfikowanej skali Bishopa przed rozpoczęciem preindukcji i przed początkiem indukcji w odniesieniu do czasu trwania porodu. Ocenili także, czy któryś z komponentów wspomnianej skali ma najwyższą wartość predykcyjną. Uzyskane przez nich

wyniki wykazały przewagę punktacji przed rozpoczęciem indukcji, natomiast uznali, że najstabszy związek z przebiegiem porodu ma zwrot szyjki [30].

Wnioski

Predyktorami skutecznego przebiegu indukcji porodu są: wielorództwo, dojrzała szyjka macicy, indukcja oksytcyną oraz wskazania do indukcji obejmujące: cukrzycę w ciąży, przedwczesne odpływanie płynu owodniowego, podejrzenie dużej masy płodu i słabsze odczuwanie ruchów płodu. Płeć płodu nie wpływa na wynik indukcji porodu. Najistotniejsze znaczenie kliniczne, spośród parametrów ocenianych w skali Bishopa, ma stopień zgładzenia szyjki macicy. Dlatego skale dojrzałości szyjki macicy uwzględniające mniej komponentów, w tym uproszczona skala Bishopa według Laughon, są przydatne w praktyce klinicznej obok skali Bishopa z 1964 r.

Piśmiennictwo

1. Bjorklund J, Wiberg-Itzel E, Wallstrom T. Is there an increased risk of cesarean section in obese women after induction of labor? A retrospective cohort study. *PLoS One*, 2022; 17: e0263685
2. Tadesse T, Assefa N, Roba HS, Baye Y. Failed induction of labor and associated factors among women undergoing induction at University of Gondar Specialized Hospital, Northwest Ethiopia. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2022; 22: 175
3. Górniewicz T, Kusmierska-Urban K, Huras H, Galas A. Factors associated with caesarean section in women referred for preinduction - a nested case-control study in dinoprostone and misoprostol groups. *Ginekol Pol*, 2021; 92: 892-901
4. Teal EN, Gaw SL, Has P, Lewkowitz AK. Relationship between maternal age and labor induction duration and outcomes in nulliparous women. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021; 1-8
5. Muto H, Ishii K, Nakano T, et al. Rate of intrapartum cesarean section and related factors in older nulliparous women at term. *J Obstet Gynaecol Res*, 2018; 44: 217-22
6. Cao J, Xu W, Liu YT, et al. Trends in maternal age and the relationship between advanced age and adverse pregnancy outcomes: a population-based register study in Wuhan, China, 2010-20. *Public Health*, 2022; 206: 8-14
7. Obeidat RA, Almaaitah M, Ben-Sadon A, et al. Clinical predictive factors for vaginal delivery following induction of labour among pregnant women in Jordan. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2021; 21: 685
8. Taoudi F, Laamiri FZ, Barich F, et al. Study of the Prevalence of Obesity and Its Association with Maternal and Neonatal Characteristics and Morbidity Profile in a Population of Moroccan Pregnant Women. *J Nutr Metab*, 2021; 2021: 6188847
9. Tarimo CS, Mahande MJ, Obure J. Prevalence and risk factors for caesarean delivery following labor induction at a tertiary hospital in North Tanzania: a retrospective cohort study (2000-2015). *BMC Pregnancy Childbirth*, 2020; 20: 173
10. Awuah SP, Okai I, Ntim EA, Bedu-Addo K. Prevalence, placenta development, and perinatal outcomes of women with hypertensive disorders of pregnancy at Komfo Anokye Teaching Hospital. *PLoS One*, 2020; 15: e0233817
11. Nakano T, Muto H, Ishii K, et al. Factors associated with emergency cesarean delivery during induction of labor in nulliparous women aged 35 years or older at term. *J Obstet Gynaecol Res*, 2018; 44: 1747-51
12. Lindquist AC, Hastie RM, Hiscock RJ, et al. Risk of major labour-related complications for pregnancies progressing to 42 weeks or beyond. *BMC Med*, 2021; 19:126
13. Coates D, Makris A, Catling C, et al. A systematic scoping review of clinical indications for induction of labour. *PLoS One*. 2020; 15: e0228196
14. Kumar B, Kumari S, Hughes S, Savill S. Prospective cohort study of induction of labor: Indications, outcome and postpartum hemorrhage. *Eur J Midwifery*, 2021; 5:53
15. Kamlungkuea T, Manonai J, Suriyawongpaisal P, Hansahiranwadee W. Factors Predicting Successful Vaginal Delivery Following Induction of Labor in Term Pregnancy. *Int J Womens Health*, 2022; 14: 245-55
16. Familiari A, Khalil A, Rizzo G, et al. Adverse intrapartum outcome in pregnancies complicated by small for gestational age and late fetal growth restriction undergoing induction of labor with Dinoprostone, Misoprostol or mechanical methods: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2020; 252: 455-67
17. Garg R, Bagga R, Kumari A, et al. Comparison of intracervical Foley catheter combined with a single dose of vaginal misoprostol tablet or intracervical dinoprostone gel for cervical ripening: a randomised study. *J Obstet Gynaecol*, 2022; 42: 232-8
18. Rossi RM, Warshak CR, Masters HR, et al. Comparison of prostaglandin and mechanical cervical ripening in the setting of small for gestational age neonates. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019; 32: 3841-6
19. Hostinská E, Šinská A, Lubušký M, Pilka R. Comparison of dinoprostone, misoprostol and amniotomy in labor induction. *Ceska Gynkol*. 2021; 86: 368-73
20. Debele TZ, Cherkos EA, Badi MB, et al. Factors and outcomes associated with the induction of labor in referral hospitals of Amhara regional state, Ethiopia: a multicenter study. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2021; 21: 225
21. Unthanan S, Petcharat K, Prommas S, et al. Sublingual Misoprostol versus Oxytocin to Induce Labor in Term Premature Rupture of Membranes in Pregnant Women: A Randomized Single-Blind Controlled Trial. *Biomed Res Int*, 2022; 2022: 9449036
22. Branger B, Dochez V, Gervier S, Winer N. [Cesarean after labor induction: Risk factors and prediction score]. *Gynecol Obstet Fertil Senol*, 2018; 46: 458-65
23. Hadar E, Hiersch L, Ashwal E, et al. Risk of caesarean delivery after induction of labour stratified by foetal sex. *J Obstet Gynaecol*, 2017; 37: 731-5
24. Bademkiran MH, Bademkiran C, Ege S, et al. Explanatory variables and nomogram of a clinical prediction model to estimate the risk of caesarean section after term induction. *J Obstet Gynaecol (Lahore)*, 2021; 41: 367- Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01443615.2020.1798902>
25. Dall'Asta A, Rizzo G, Kiener A, et al. Identification of large-for-gestational age fetuses using antenatal customized fetal growth charts: Can we improve the prediction of abnormal labor course? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2020; 248: 81-8
26. Huret C, Pereira B, Collange V, et al. [Premature rupture of membranes ≥ 37 weeks of gestation: Predictive factors for labour onset within 24 hours]. *Gynecol Obstet Fertil Senol*, 2017; 45: 348-52

27. Kamel RA, Negm SM, Youssef A, et al. Predicting cesarean delivery for failure to progress as an outcome of labor induction in term singleton pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 2021; 224: 609.e1-609.e11
28. Diaz A, Aedo S, Burky D, et al. Sonographic cervical length predicts vaginal delivery after previous cesarean section in women with low Bishop score induced with a double-balloon catheter. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021; 1-7
29. Kawakita T, Reddy UM, Huang JC, et al. Externally Validated Prediction Model of Vaginal Delivery After Preterm Induction With Unfavorable Cervix. *Obstetrics and gynecology*, 2020; 136: 716-24
30. Jung A, Beckmann M. Predicting the duration of induction of labour in nulliparous women. *J Obstet Gynaecol*, 2020; 40: 167-70



IgA NEPHROPATHY – ONE OF THE POSSIBLE CAUSES OF MALIGNANT HYPERTENSION



Magdalena Markowska, Anna Zająć, Katarzyna Romejko, Stanisław Niemczyk

Military Institute of Medicine – National Research Institute, Department of Internal Diseases, Nephrology and Dialysotherapy, Poland

Abstract:

Malignant hypertension (MH) is a state which can rapidly progress to multi-organ failure. It can develop in the course of both primary and secondary type of hypertension. In our study, we present a case of a 36-year-old man diagnosed with renal failure and MH complicated with retinopathy. As the secondary nature of the condition was suspected extensive diagnostics has been conducted. In spite of excluding plenty of pathologies, the underlying cause remained unknown. Eventually, the renal biopsy has been performed, leading to a diagnosis of IgA nephropathy. However, symptoms and course of the disease has not been typical. Nevertheless, IgA nephropathy should be considered as a possible cause of secondary hypertension as well as malignant hypertension. The diagnosis is not easy and a crucial role is played by renal biopsy.

Keywords: IgA nephropathy, malignant hypertension, renal failure, renal biopsy.

DOI 10.53301/lw/151581

Received: 2022-06-17

Accepted: 2022-06-24

Corresponding author:

Magdalena Markowska
Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut
Badawczy, Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii
i Dializoterapii, Warszawa
e-mail: madam.kowalczyk@wp.pl

Introduction

Malignant hypertension is the most severe form of hypertension. It is characterized not only by diastolic blood pressure values reaching above 130 mmHg, but also by numerous multi-organ complications including kidney, brain and heart damage [1]. Also retinal and vascular impairment can be often observed [2]. MH occurs with an incidence of approximately 2/100,000 cases per year [3]. The most frequently it develops as a result of other problems with health. In young people it almost always indicates that they suffer from some other disease. [4]. What is more, hypertension can be both a cause and a consequence of for example kidney disease. The presence of malignant hypertension in young people is more likely to be an indication for secondary form of hypertension. It may be also a result of: renal artery stenosis, endocrine disease, obstructive sleep apnea as well as glomerulopathy. This case presents an atypical course of IgA nephropathy and diagnostic difficulties that may arise during the search for the cause of malignant hypertension.

Case

A 36-year-old man had been admitted to the Department of Internal Medicine, Nephrology and Dialysotherapy due to very high blood pressure values and newly diagnosed renal failure. The patient hadn't been suffering from chronic diseases nor taking any medications. He has noticed a malaise, nocturnal awakenings due to nycturia

and daily headaches since three weeks. A week before admission to the hospital, during an ophthalmologist's appointment, the patient had been diagnosed with retinosis. He had received treatment consisting of 25 mg eplerenone, which he took as advised. The day prior to hospitalisation the patient reported to the regional hospital's Emergency Department due to persistent malaise and an episode of vomiting. The physical examination revealed significantly elevated blood pressure reaching values of up to 205/140 mmHg. Abnormal nitrogen retention indices were noted in biochemical tests. Head CT scan did not show any abnormalities. The patient was administered hypotensive drugs – Captopril, Nitredipine, Nitromint and Furosemide, which caused decrease in systolic blood pressure by 10 mmHg only. The patient was transferred to a higher level reference center. Further tests in the Emergency Department were performed and revealed abnormal nitrogen retention: creatinine 7.1 mg/dl, GFR 9 ml/min/1.73m², urea 139 g/dl. In arterial blood test metabolic acidosis was observed – pH 7.234, pCO₂ 43.2 mmHg, HCO₃ 18.3 mmol/l, BE -9.2 mmol/l. In addition, urinalysis showed proteinuria of 300 mg/l, glucose 50 mg/dl and hematuria. Abdominal ultrasound visualised only renal cysts.

The patient was admitted to the Department of Internal Medicine, Nephrology and Dialysotherapy in order that conduct a search to find a cause of renal insufficiency and treatment of arterial hypertension. Upon physical examination no signs of pulmonary congestion, edema, neuro-

logical defects, heart failure or arrhythmia were found. Based on the clinical picture and the results of preformed tests, a preliminary diagnosis of malignant hypertension with renal complications was made.

Additional laboratory tests performed in the clinic revealed secondary hyperparathyroidism. However, no autoantibodies: anti-neutrophil cytoplasmic antibodies associated with systemic vasculitis – pANCA and cANCA and anti-glomerular basement membrane – anti-GBM were found. The complement system markers were also within normal range. During hospitalization, a 24-hour urine collection was performed, which allowed to determine the exact amount of proteinuria, which was 4687 mg/24h. The chest X-ray did not visualise any abnormalities. Echocardiography was performed to exclude aortic coarctation – this examination also did not show any abnormalities.

While searching for possible causes of secondary hypertension, hypotensive therapy was implemented and forced diuresis was maintained. The decision on renal replacement therapy was temporarily postponed. Creatinine, urea, ionogram, arterial blood gases and morphology were regularly monitored. The creatinine concentration, which was 7.2 mg/dl on admission, decreased to 5.9 mg/dl. The patient had three ophthalmological consultations during hospitalization. Hypertensive retinopathy of the left eye was diagnosed and anti-VEGF injections were recommended. After appropriate preparation of the patient abdominal ultrasound was performed. As in the previous examination, bilateral simple renal cysts up to 12 mm in size were described. No renal artery stenosis was found in Doppler ultrasound. Due to proteinuria and hematuria of unclear origin renal biopsy was then performed. The biopsy revealed a picture that was consistent with IgA nephropathy – the mesangium showed IgA deposits. In the glomeruli fibrotic crescents and segmental sclerosis were observed.

Due to the lack of significant improvement in renal function dialysis therapy options were introduced to the patient. According to his preferences and anatomical conditions, the decision about peritoneal dialysis trial has been made. The patient was discharged with the recommendation to report urgently to the surgical department for Tenckhoff catheter insertion and subsequent treatment.

Discussion

In this case, a diagnostic challenge has been manifested in determining the cause of malignant hypertension and renal failure. In patients under the age of 40 the presence of malignant hypertension, accompanied by renal failure and retinopathy, requires additional diagnostics for secondary causes of hypertension [5, 6]. However, it is very important to remember that hypertension may be both a cause of kidney damage – in the case of poorly controlled primary hypertension – and a symptom of kidney disease – in renal hypertension. Clinical symptoms usually do not suffice for a clear differentiation. The duration of hypertension may be helpful for this assessment, as a long-standing course of the disease, especially if poorly controlled, leads to glomerular sclero-

sis and the development of hypertensive nephropathy. In hypertension secondary to renal disease, the history of hypertension is often much shorter, and may be more rapid and take the form of malignant or resistant hypertension [6].

In presented case renal artery stenosis, endocrine disorders, aortic coarctation, and systemic diseases that may cause glomerulonephritis, have sequentially been excluded. Renal causes of secondary hypertension include both acute and long-term renal damage. Relatively short history of complaints suggested an acute form of renal failure which, however, is usually associated with oliguria or anuria. In addition, acute or subacute renal damage is also defined by a time criterion, which refers to the progression of changes in renal function. In the described case it couldn't be used due to the lack of previous screening examinations. Chronic kidney disease, according to KDIGO 2012, is defined as abnormalities of kidney structure or function, with health implications, lasting for more than 3 months [7]. However, imaging studies performed in this case did not show renal structural features which could suggest chronic disease. The clinical manifestations of chronic kidney disease depend on its severity. They are initially non-specific – weakness and hypertension, which occurs in up to 90% of patients with chronic kidney disease [8]. Typical abnormalities in laboratory tests are: increased creatinine, urea, uric acid, acid-base imbalance in the form of metabolic acidosis, calcium-phosphate imbalance – hyperphosphatemia, hypo or hypercalcemia, hyponatremia, increased PTH levels, lipid metabolism disorders and anemia.

Described patient, apart from hypertension, did not have typical clinical symptoms of chronic kidney disease. Additional examinations revealed elevated creatinine and urea, lipid metabolism disorders, hyperphosphatemia, as well as elevated PTH levels. Increased PTH indicates secondary hyperparathyroidism, which is a typical feature of chronic kidney disease. The most common causes of chronic kidney disease are diabetes, hypertension and glomerulopathies [9]. The patient had not previously been diagnosed with neither diabetes, nor primary hypertension.

With reference to the described case, worth citing is one of the scientific papers. Chen et al. compared clinical and histopathological features of primary malignant hypertension and malignant hypertension in the course of IgA nephropathy. They showed that patients with malignant hypertension associated with IgA nephropathy more often have proteinuria and hematuria than patients with primary malignant hypertension [4]. Nevertheless, renal parenchymal biopsy is the test that can clearly determine the cause of kidney damage – provide an answer to the question whether glomerulopathy is the cause. The aforementioned study revealed that glomerular changes were more severe in patients with hypertension associated with IgA nephropathy – a higher percentage of glomeruli was affected by sclerotic lesions and formed crescents, due to more intense mesangial proliferation [4]. In the presented case, histopathological examination of the kidney showed features typical of malignant hyperplasia associated with IgA nephropathy, also showing IgA deposits in the mesangium.

IgA nephropathy could be one of the causes of secondary hypertension as well as malignant hypertension [4]. It is the most frequent form of primary glomerulonephritis worldwide [10] and one of the causes of chronic kidney disease. The incidence is approximately 2.5/100,000 people per year [11]. It is characterized by deposition of immune complexes in the glomerular mesangium [12]. The clinical picture of IgA nephropathy varies widely, from asymptomatic microscopic hematuria or gross hematuria to nephritic syndrome. However, the most common manifestation in adults is asymptomatic hematuria with diverse proteinuria [13]. Rarely does IgA nephropathy occur as macroscopic haematuria associated with upper respiratory tract infection. Described patient denied similar episodes in the past. He hasn't noticed any changes in the appearance of urine. In rare cases, IgA nephropathy may take the form of rapidly progressive glomerulonephritis. Renal biopsy and finding IgA deposits are required to confirm the diagnosis. During the course of the disease, gradual deterioration of kidney function and a decrease in glomerular filtration rate occurs. In most cases, progression of the disease is slow. The risk of end-stage renal disease within 20 years of diagnosis is estimated to be between 13 and 39% [14] and depends mainly on the clinical picture and the severity of histopathological changes. The most important clinical risk factors are persistent proteinuria and hypertension [14, 15]. The histopathological changes considered in the assessment of prognosis are described by the Oxford Classification (MEST score), which evaluates 4 parameters: M – mesangial hypercellularity, E – endocapillary cellularity, S – segmental sclerosis, T – interstitial fibrosis/tubular atrophy [16].

Summary

Malignant hypertension in young patients without previous medical history is an indication to search for secondary causes of hypertension. If renal failure symptoms coexist, special consideration should be given to renal biopsy. This may be crucial in establishing the proper diagnosis. Although IgA nephropathy usually has a slow, long-term course, its progressive nature may lead to end-stage renal failure, which in most cases manifests itself in hypertension, among other symptoms. Chronic kidney disease is associated with increased risk of death, mainly in consequence of cardiovascular events. In relation to its progressive nature and number of complications it can cause, early detection and implementation of treatment are crucial for prognosis.

References

1. Cremer A, Amraoui F, Lip GYH, et al. From malignant hypertension to hypertension-MOD: a modern definition for an old but still dangerous emergency. *J Hum Hypertens*, 2016; 30: 463-466
2. Van den Born BJH, Beutler JJ, Gailard CAJM, et al. Dutch guideline for the management of hypertensive crisis - 2010 revision. *The Netherlands journal of medicine*, 2011; 69: 248-255
3. Domek M, Gumprecht J, Lip GYH, Shantsila A. Malignant hypertension: does this still exist? *J Hum Hypertens*, 2020; 34: 1-4
4. Chwn Y, Tang Z, Yang G, et al. Malignant hypertension in

- patients with idiopathic IgA nephropathy. *Kidney Blood Press Res*, 2005; 28: 251-258
5. Williams B, Mancia G, Spiering W, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*, 2018; 39: 3021-3104
6. Hirsch JS, Hong S. The Demystification of Secondary Hypertension: Diagnostic Strategies and Treatment Algorithms. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 2019; 21: 90
7. No authors listed. Chapter 1: Definition and classification of CKD. *Kidney Int Suppl* (2011), 2013; 3: 19-62
8. Whaley-Connell AT, Sowers JR, Stevens LA, et al. CKD in the United States: Kidney Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-20Am *J Kidney Dis*, 2008; 51: S13-20
9. Ammirati AL. Chronic Kidney Disease. *Rev Assoc Med Bras* (1992), 2020; 66Suppl 1: s03-s09
10. D'Amico G. The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy. *Q J Med*, 1987; 64: 709-727
11. McGrogan A, Franssen CFM, de Vries CS. The incidence of primary glomerulonephritis worldwide: a systematic review of the literature. *Nephrol Dial Transplant*, 2011; 26: 414-430.
12. Roberts IS. Pathology of IgA nephropathy. *Nat Rev Nephrol*, 2014; 10: 445-454
13. Pattrapornpisut P, Avila-Casado C, Reich HN. IgA Nephropathy: Core Curriculum 20Am *J Kidney Dis*, 2021; 78: 429-441
14. Berthoux FC, Mohey H, Afiani A. Natural history of primary IgA nephropathy. *Semin Nephrol*, 2008; 28: 4-9
15. Berthoux F, Mohey H, Laurent B, et al. Predicting the risk for dialysis or death in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2011; 22: 752-761
16. Cattran DC, Coppo R, Cook HT, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, and classification. *Kidney Int*, 2009; 76: 534-545



NABYTA HEMOFILIA A I ZESPÓŁ ANTYFOSFOLIPIDOWY W PRZEBIEGU TOCZNIA RUMIENIOWATEGO UKŁADOWEGO Z ZAJĘCIEM NEREK

Acquired hemophilia A and antiphospholipid syndrome
in the course of systemic lupus erythematosus with
renal manifestation



Hanna Minkiewicz, Joanna Olędzka, Magdalena Sułek-Jakóbczyk, Stanisław Niemczyk

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Dializoterapii, Polska

Streszczenie: Toczeń rumieniowaty układowy (SLE) to choroba autoimmunologiczna, której objawy wynikają z odkładania się kompleksów immunologicznych w różnych narządach i prowadzą do przewlekłego procesu zapalnego. Nie jest znana etiologia choroby. Predisponuje ona także do wystąpienia innych chorób z autoagresji. Jedną z nich jest zespół antyfosfolipidowy (APS) związany z obecnością przeciwciał antyfosfolipidowych oraz występowaniem zakrzepicy żyłnej i niepowodzeń położniczych. Innym przykładem jest nabyta hemofilia A (AHA) wynikająca z obecności przeciwciał przeciwko VIII czynnikowi krzepnięcia. Głównym jej objawem jest skaza krwotoczna. Różnorodność i mnogość schorzeń objawiających się w konsekwencji tocznia sprawia wiele problemów w diagnostyce i leczeniu. W artykule został przedstawiony rzadki przypadek pacjentki chorującej na SLE z manifestacją głównie nerkową, a także z zajęciem innych narządów, która rozwinęła zarówno zespół antyfosfolipidowy, jak i nabytą hemofilię A o ciężkim przebiegu.

Abstract: Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease whose symptoms result from the deposition of immune complexes in various organs and lead to a chronic inflammatory process. The etiology of the disease is unknown. It also predisposes to other autoimmune diseases. One of them is antiphospholipid syndrome (APS) associated with the presence of antiphospholipid antibodies and the occurrence of venous thrombosis and obstetric failures. Another example is acquired hemophilia A (AHA), resulting from the presence of antibodies to coagulation factor VIII. Its main symptom is a hemorrhagic diathesis. Due to variety and multitude of diseases manifested as a consequence of SLE, the diagnosis and treatment that follows, are difficult to navigate. In this article we present a rare case of a patient with SLE, with predominantly renal manifestation and involvement of other organs, who developed both antiphospholipid syndrome and severe, acquired hemophilia A.

Słowa kluczowe: toczeń rumieniowaty układowy, zespół antyfosfolipidowy, nefropatia toczniowa, nabyta hemofilia A.

Keywords: systemic lupus erythematosus, antiphospholipid syndrome, lupus nephritis, acquired hemophilia A.

DOI 10.53301/lw/153517

Praca wpłynęła do Redakcji: 05.08.2022

Zaakceptowano do druku: 05.09.2022

Autor do korespondencji:

Magdalena Sułek-Jakóbczyk

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut
Badawczy, Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii
i Dializoterapii, Warszawa

e-mail: msulek1@wim.mil.pl

Wstęp

Toczeń rumieniowaty układowy (SLE) jest chorobą o podłożu autoimmunologicznym. Na jej patogenezę wpływają czynniki: genetyczne, hormonalne, środowiskowe oraz złożone zaburzenia immunologiczne. Dochodzi do wzmożonej produkcji autoprzeciwciał skierowanych przeciwko własnym komórkom organizmu, które tworzą kompleksy immunologiczne i odkładają się w różnych tkankach i narządach. Prowadzi to do uogólnionego stanu zapalnego oraz dysfunkcji narządowej [1]. Szczególnie charakterystyczne dla SLE są zmiany skórne, objawy hematologiczne oraz zaburzenia w układzie ruchu, nerkach i układzie nerwowym [1]. Z reguły przez dłuższy czas dominują objawy ze strony jednego narządu i zależnie od postaci, przebieg może znacznie różnić się między chorymi. Do zajęcia nerek dochodzi u ok. 60% pacjentów, co stanowi

główną przyczynę śmierci związaną z zajęciem narządów w przebiegu tocznia [2]. Celem leczenia jest wydłużenie życia oraz zapobieganie uszkodzeniom narządów poprzez stosowanie leków działających objawowo, w tym glikokortykosteroidów, leków przeciwmalarycznych i immunosupresyjnych. Chorzy, którzy nie odpowiadają na podstawowe leczenie, wymagają leczenia wysokospecjalistycznego obejmującego między innymi dożylnie wlewy immunoglobulin, zabiegi plazmaferezy lub podawanie leków biologicznych [3].

Hemofilia A jest schorzeniem z grupy osoczowych skaz krwotocznych. Nabyta hemofilia A (AHA) jest chorobą autoimmunologiczną, spowodowaną obecnością przeciwciał przeciwko czynnikowi VIII krzepnięcia. Jest bardzo rzadka i występuje u obu płci. U około połowy przypadków występuje postać idiopatyczna, a wtórna najczęś-

ciej pojawia w przebiegu innych chorób autoimmunologicznych, nowotworów złośliwych, chorób alergicznych oraz u ciężarnych i w ciągu 12 miesięcy po porodzie [4]. Około 1% przypadków zachorowania na wtórną hemofilię A występuje w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego [4]. Objawy nabytej hemofilii A pojawiają się nagle, w postaci rozległych wylewów podskórnych, krwawień śluzówkowych lub śródmięśniowych. U pacjentów z AHA unika się procedur inwazyjnych, ponieważ krwotoki z ran po zabiegach operacyjnych są wyjątkowo trudne do opanowania. Leczeniem z wyboru u chorych na AHA są koncentrat rekombinowanego aktywnego cz. VIII oraz leczenie immunosupresyjne [4].

Opis przypadku

34-letnia kobieta z rumieniem wielopostaciowym została przyjęta do kliniki z powodu podejrzenia toczenia układowego z zajęciem nerek i wtórnych zaburzeń układu krzepnięcia. W wykonanych ambulatoryjnie badaniach zwracała uwagę niedokrwistość, podwyższone parametry nerkowe: kreatynina 2,5 mg/dl, mocznik 51 mg/dl oraz nieoznaczalny czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT). Wcześniej pacjentka zgłosiła się do lekarza POZ z powodu łatwego siniaczenia się od ok. 2 tygodni. W wywiadzie chora stosowała naproksen z powodu bólu w okolicy pachwinowej prawej, dodatkowo zgłaszała bóle stawowe, nocne poty, od roku brak miesiączki. Ponadto pacjentka przeżyła zakrzepicę żył głębokich podudzia lewego przed dwoma laty (od roku bez leczenia przeciwkrzepliwego) oraz poronienie w przeszłości.

W badaniu przedmiotowym z odchyłen w obrębie skóry stwierdzono: kilkanaście podbiegnięć krwawych, liczne białe przebarwienia na skórze tułowia, rozsiane zmiany o typie rumienia obrączkowatego na skórze ud oraz obrzęk ciastowaty podudzi. Ponadto wystąpiła niewielka limfadenopatia pachowa i pachwinowa. Pacjentka była wydolna krążeniowo i oddechowemu z podwyższonym ciśnieniem tętniczym 170/100 mmHg. W badaniu elektrokardiograficznym nie wykazano odchyłen. Wykluczono aktywne krwawienie z przewodu pokarmowego, przetestowano 3j Koncentratu Krwinek Czerwonych.

Na podstawie oceny klinicznej i dodatkowych badań wysunięto podejrzenie toczenia układowego z zajęciem nerek i wtórnym uszkodzeniem układu krzepnięcia.

W ramach pogłębionej diagnostyki wykonano USG jamy brzusznej, gdzie opisano nieznacznie podwyższoną echogeniczność warstwy korowej miąższu nerek oraz płyn w zatoce Douglasa. Płyn został również wykryty w jamach opłucnowych. Natomiast w RTG klatki piersiowej wykazano pasmowate zagęszczenia w polu środkowym lewego płuca. Przeprowadzono także badania USG innych okolic ciała. Węzły chłonne pachowe były powiększone do 29 mm długości po prawej, a do 27 mm długości po lewej stronie. Wykluczono zakrzepicę żył kończyn dolnych oraz żył nerkowych. Tarczycza była niepowiększona o prawidłowej echogeniczności, jednak ze wzmożonym unaczynieniem miąższowym.

W echokardiografii stwierdzono powiększenie jam lewego serca z łagodną dysfunkcją rozkurczową lewej komory i frakcją wyrzutową 60%, a oprócz tego zwłóknienia płat-

ków zastawki mitralnej z małą falą zwrotną. Tomografia wysokiej rozdzielczości bez kontrastu wykazała nieznaczną splenomegalię, obecność w 1. segmencie płuca prawego obwodowo zlokalizowanego guzka o gładkim konturze i dł. 6,5 mm, dodatkowo zmiany włókniste o niewielkim nasileniu u podstawy płatów dolnych obu płuc.

Laboratoryjnie stwierdzono ciężki zespół nerczycowy z wydalaniem białka 10 g/d, hipoalbuminemią (1,9 g/dl), hipoproteinemią (6,0 g/dl) i hipercholesterolemią (cholesterol całkowity 237 mg/dl). Poza tym stwierdzono nieprawidłowe wykładniki funkcji nerek (kreatynina 2,1 mg/dl, eGFR 29 ml/min). W badaniu w mikroskopie kontrastowo-fazowym stwierdzono krwinkomocz kłębuszkowy (90% erytrocytów dysmorficznych). Wykładniki stanu zapalnego pozostawały w normie (CRP 0,4 mg/dl). Dodatkowe badania wykazały podwyższony poziom przeciwciał anty-dsDNA (wysoki poziom 293 IU/ml) oraz przeciwciała p/beta2-glikoproteinie I (19 U/ml), a także znaczący niedobór składowych C3 i C4 układu dopełniacza (C3: 49 mg/dl, C4: 4 mg/dl). Nieobecne były przeciwciała ANA, ANCA, antykardiolipinowe oraz antykoagulant toczniowy.

Po analizie wyników parametrów krzepnięcia krwi, które wskazywały na ciężkie zaburzenia: APTT > 180s, aktywność czynników krzepnięcia VIII i XII < 1%, a czynnika von Willebranda 236%, postawiono diagnozę hemofilii wtórnej do choroby tkanki łącznej. Oceniono aktywność toczenia na 16 pkt. zarówno wg wskaźnika aktywności choroby SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index), jak i kryteriów klasyfikacyjnych toczenia rumieniowatego układowego EULAR (*European League Against Rheumatism*). Z powodu zaburzeń krzepnięcia nie zdecydowano się na wykonanie biopsji nerki.

Rozpoczęto leczenie w postaci dożylnych wlewów metyloprednizolonu 500 mg/dobę przez 5 dni, a 10 dni później podano 250 mg/dobę przez 3 dni, po czym włączono doustnie prednizon 40 mg/d. Po wykluczeniu przeciwwskazań okulistycznych dołączono hydroksychlorochinę 2 x 200 mg.

Włączono leczenie hipotensyjne oraz diuretyczne uzyskując optymalizację ciśnienia tętniczego i redukcję obrzęków obwodowych. Z powodu cech zakażenia układu moczowego i dodatniego posiewu moczu (*E. faecalis*) włączono antybiotykoterapię amoksyycyliną zgodnie z antybiogramem.

Z powodu złego stanu uzębienia chorej (brak wizyt u stomatologa od 20 lat), przed włączeniem leczenia immunosupresyjnego, konsultowano się z chirurgiem twarzowo-szczękowym, który zalecił ekstrakcję dziewięciu zębów z korzeniami zgorzelinowymi. Jednak z powodu rozpoznanej hemofilii nabytej, zabieg nie mógł zostać przeprowadzony.

Trzy tygodnie później pacjentka zgłosiła się do kliniki na planową hospitalizację celem oceny aktywności choroby. W badaniach laboratoryjnych stwierdzono umiarkowaną niedokrwistość (Hb 9,2 g/dl), białkomocz (w dobowej zbiórce moczu białko 6,7 g), hipoalbuminemię (2,6 g/dl), hipercholesterolemię (cholesterol całkowity 286 mg/dl) i kreatyninę 1,6 mg/dl. Z uwagi na podwyższone stężenie

kwasy moczowego (7,6 mg/dl), zwiększono dawkę allo-purinolu. Poprawie natomiast uległ APTT (58,6 s) oraz składowa dopełniacza C3 (82 mg/dl), a także nastąpiła redukcja ilości przeciwciał anty-dsDNA (46 IU/ml).

Stwierdzono objawy zakażenia układu moczowego o etiologii *E. coli*, wdrożono antybiotykoterapię.

Następnie podano 3 wlewy metyloprednizolonu po 500 mg, zredukowano dawkę prednizonu do 30 mg/dobę.

Kolejną planową hospitalizację (lipiec 2020 r.) poprzedził pobyt pacjentki w Klinice Zaburzeń Hemostazy i Chorób Wewnętrznych w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii z uwagi na wyprysk alergiczny o znacznym nasileniu, najprawdopodobniej w wyniku reakcji polekowej. Z tego powodu czasowo wstrzymano terapię hydroksychlorochiną. Z powodzeniem został tamże przeprowadzony zabieg usunięcia zgorzeli zębów.

W kontrolnych badaniach aktywność cz. VIII pozostawała w dolnej granicy normy (55%), we krwi nie stwierdzono antykoagulantu toczniowego. Ponadto wydłużone APTT do 36 s, wydalanie białka 1,5 g/dobę, albuminy 2,8 g/dl przy 4,7 g/dl białka całkowitego. Wynik przeciwciał anty-dsDNA był negatywny (0,61 U/ml), jednak ilość składowej dopełniacza C3 uległa obniżeniu (69 mg/dl). Z powodu ciągłego wahaną wykładników funkcji nerek, zdecydowano o intensyfikacji farmakoterapii, włączono mykofenolan mofetilu (MMF) 2 x 1 g oraz zmniejszono dawkę prednizonu do 20 mg, utrzymano hydroksychlorochinę. Z uwagi na kolejny epizod zakażenia układu moczowego włączono sulfametoksazol z trimetoprimem, po uzyskaniu dodatniego wyniku posiewu moczu (*E. coli* ESBL+) antybiotykoterapię skonwertowano do meropenemu.

Dwa miesiące później (wrzesień 2020 r.) chora została przyjęta do kliniki z powodu zaostrzenia zespołu nerczycowego. Intensyfikowano leczenie immunosupresyjne, podnosząc dawkę MMF do 3x1g/d, nie zmieniając dawki prednizonu.

Kolejny pobyt w klinice odbył się 7 miesięcy później (kwiecień 2021 r.) i był on spowodowany kolejnym rzutem choroby oraz opornym zakażeniem układu moczowego o etiologii *E. coli* ESBL+. Po wyleczeniu zakażenia zaplanowano terapię cyklofosfamidem (CYC).

Podano łącznie 3 dawki cyklofosfamidu (3 x 500 mg) w ostrości mesny. Początkowo tolerancja leczenia była dobra. Po otrzymaniu 3. dawki pacjentka rozwinęła ostre polekowe uszkodzenie wątroby, co potwierdziły badania laboratoryjne (AspAT 1520 U/l, AlAT 2289 U/l, bilirubina 2,1 mg/dl) i obrazowe (w USG jamy brzusznej opisano obraz uszkodzenia wątroby). Wykluczono zakrzepicę żył wątrobowych i żyły wrotnej oraz zakażenie wirusami potencjalnie hepatotoksycznymi. Po wdrożeniu leczenia hepatoprotekcyjnego parametry wątrobowe uległy poprawie.

Podjęto decyzję o zaprzestaniu podawania cyklofosfamidu, ponownie włączono MMF 2 x 1 g oraz utrzymano prednizon 20 mg/dobę, a następnie zredukowano dawkę

do 10 mg/dobę, utrzymano hydroksychlorochinę. Dołączono leczenie przeciwkrzepliwe.

W wyniku zastosowanego leczenia udało się uzyskać jedynie częściową remisję zespołu nerczycowego.

Celem analizy postępu choroby i zmian parametrów z nią związanych, wybrane wyniki badań laboratoryjnych pacjentki znajdują się w Tabeli.

Dyskusja

Toczeń rumieniowaty układowy jest chorobą autoimmunologiczną, której obraz kliniczny zależy od zajętych narządów. Najczęstsze objawy to zmiany rumieniowe na skórze, ból głowy i stawów, objawy ze strony układu moczowego (białkomocz, krwinkomocz) oraz zajęcie ośrodkowego układu nerwowego [5]. Co więcej, SLE może predysponować do rozwinięcia się innych chorób, szczególnie tych o podłożu autoimmunologicznym. U przedstawionej pacjentki, oprócz typowych objawów, wystąpiła rzadka manifestacja tocznia w postaci nabytej hemofilii A. Przyczyną choroby jest występowanie przeciwciał przeciwko czynnikowi krzepnięcia VIII, co skutkuje upośledzeniem jego funkcji i zwiększoną skłonnością do krwawień. W odróżnieniu od częstszej postaci tej choroby – hemofilii wrodzonej – poziom czynnika VIII nie zawsze koreluje ze stopniem ciężkości skazy krwotocznej oraz bardzo rzadko obserwuje się samoistne krwawienia do stawów. Najczęstszym objawem AHA są rozległe wylewy krwi pod skórą oraz krwawienia śluzówkowe i z ran po operacjach chirurgicznych czy po ekstrakcji zębów [4]. Rozpoznanie stawiane jest na podstawie przedłużonego czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji aPTT przy prawidłowych pozostałych parametrach hemostazy. U połowy przypadków AHA nie udaje się ustalić przyczyny choroby. Około 10% AHA jest powikłaniem nowotworów złośliwych, a u 8% pacjentek występuje w trakcie ciąży lub w okresie 12 miesięcy po porodzie. Choroby autoimmunologiczne również predysponują do wystąpienia AHA, ocenia się, że dotyczy to 10% chorych, a SLE stanowi 1% przypadków [4]. Omawiana pacjentka spełniała kryteria konieczne do rozpoznania nabytej hemofilii A. Dodatkowo w morfologii chorej stwierdzono znaczną niedokrwistość, która z uwagi na brak objawów klinicznych prawdopodobnie rozwijała się od dłuższego czasu, a pacjentka była do niej dobrze zaadaptowana. W związku z ryzykiem krwawienia z ran, opóźniono ekstrakcję próchnicznych zębów do czasu ustabilizowania się parametrów hemostazy, a to z kolei opóźniło możliwość wdrożenia leczenia immunosupresyjnego. Kolejną trudnością, wynikającą z zaburzeń krzepnięcia, był brak możliwości wykonania biopsji nerki – badania, które jest złotym standardem w ocenie stadium choroby, rokowania oraz w wyborze leczenia [6].

Zespół antyfosfolipidowy (APS) również jest chorobą o podłożu autoimmunologicznym, charakteryzującą się obecnością przeciwciał antyfosfolipidowych. Objawia się zakrzepicą naczyń oraz niepowodzeniami położniczymi. Aby rozpoznać APS, należy spełnić minimum jedno kryterium kliniczne oraz minimum jedno kryterium laboratoryjne. Do kryteriów klinicznych zalicza się co najmniej 1 epizod zakrzepicy naczyń lub niepowodzenia położnicze. Natomiast kryteria laboratoryjne obejmują wykrycie

Tabela. Wyniki badań w trakcie leczenia.

rok	miesiąc	biał- kow moczu [0-10 mg/dl]	białko całko- wite [6,4-8,3 g/dl]	dopel- niacz C3 [90-180 mg/dl]	dopel- niacz C4 [10-40 mg/dl]	p/ciała anty- dsDNA IgG [IU/ ml]	p/ciała przeciwią- drowe ANA	kreatynina [0,5-0,9 mg/dl]	eGFR [ml/ min/1,73m ²]	mocznik [15-43 mg/dl]	Hb [11-18 g/dl]	Hct [35-55 %]	RBC [3,5-5,5 x10 ¹² /l]	APTT [23-35 sek.]	czynnik VIII (ak- tywność) [50-150 %]
2020	marzec	100	6.3	53	3			2.3	26	50	8.0	23	2.89		
		705.7	6.0	49	4	293 poz.		2.3	29	139	8.7	25	3.14	>180	<1
	kwiecień	100	5.6					2.0	30	195	8.9	25	3.23	104.1	
								3.8	14	172	9.2	27	3.3	92.2	
								1.9	32	168					
	maj	300	4.7	82	15	46 poz.		1.1	39	89	9.2	27	3.14	58.6	
								1.9	32	114	10.3	29	3.56		
	czerwiec	100	5.08					1.39	43.4	92	11.2	32	3.79	32.22	45.81
								1.53	38.85	98	11.6	34.1	3.92	30.8	62.3
								1.27	47.89	90	12.7	37.1	4.41		66.84
2021	lipiec	27.46	4.38					1.4	45	60	10.7	30	3.56	36	55.6
		1000	4.7	69	13			1.4	45	60	10.7	30	3.56	36	55.6
		67				0.6 neg.	0.1 neg.	2.3	26	79					
	wrzesień	1000	5	103	21			1.3	50	78	11.1	31	3.83	30.7	172
		98.7					36 poz.	0.1 neg.							
		300	5	150	30			1.7	36	56	12.2	36	4.67	30.1	
	kwiecień	143.5				19 poz.	3.4 poz.				12.7	39	4.97	34.5	
		300	5.4	110	21			1.6	39	60	12.2	37	4.66	30.4	
	maj	100	6.1					1.4	45	71	11.7	35	4.25	31	
	czerwiec										11.7	35	4.32	30.4	
lipiec	68	6.1					1.7	36	74	12.6	37	4.58			

w osoczu co najmniej dwukrotnie w odstępach nie krótszych niż 12 tygodni antykoagulantu toczeniowego lub przeciwciał antykardiolipinowych lub przeciwciał przeciwko beta2-glikoproteinie I. APS często współwystępuje w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego [7]. Wówczas zwiększone jest ryzyko rozwoju przewlekłej choroby nerek, a także rośnie ryzyko chorób sercowo-naczyniowych. Co więcej APS może wystąpić w wyniku infekcji, szczepienia, choroby nowotworowej, czy jako objaw uboczny przyjmowanych leków. Natomiast u około 1-3% zdrowych osób mogą być obecne przeciwciała antyfosfolipidowe, pomimo braku objawów klinicznych [8]. Nasza pacjentka przebyła w 2018 r. zakrzepicę żył głębokich kończyny dolnej lewej, a w przeszłości występowały u niej poronienia. Dodatkowo choruje na nadciśnienie tętnicze. Obecność antykoagulantu toczeniowego oraz przeciwciał przeciwko beta2-glikoproteinie I w surowicy wraz z obrazem klinicznym pozwoliło rozpoznać zespół antyfosfolipidowy. Zapobieganie objawom APS polega na przewlekłym stosowaniu antagonistów witaminy K [7]. W tym wypadku, ze względu na hemofilię, terapię przeciwkrzepliwą rozpoczęto z opóźnieniem, po ustabilizowaniu się APTT i czynników krzepnięcia.

W ok. 60% przypadków toczenia rumieniowatego układowego dochodzi do zajęcia nerek przez kompleksy immunologiczne i naciek zapalny prowadzące do uszkodzenia narządu [9]. Może ono przybierać różne postaci, od zmian wyłącznie w mezangium, przez segmentalne i rozlane zapalenie proliferacyjne, na zaawansowanym stwardnieniu kłębuszków nerkowych kończąc [10]. O białkomoczu nerczycowym możemy mówić, gdy białko w dobowej zbiorce moczu wynosi ponad 3500 mg/24 h. Jeżeli dodatkowo występuje obniżenie stężenia albuminy poniżej dolnej granicy normy oraz obrzęki - rozpoznajemy zespół nerczycowy. Najbardziej charakterystyczne dla pacjentów z powikłaniami nerkowymi w przebiegu SLE są przeciwciała przeciwko natywnemu DNA (anty-dsDNA) [2]. Często występuje tzw. aktywny osad moczu (erytrocyty wyługowane i dysmorficzne, wałeczki erytrocytowe) świadczący o proliferacyjnej nefropatii toczeniowej. Białkomocz występuje u wszystkich pacjentów z SLE, u których dochodzi do zajęcia nerek, a u 40-60% występuje białkomocz nerczycowy [11], który prezentowała nasza pacjentka. Wśród chorych niereagujących na leczenie około 50% będzie wymagać dializoterapii. Szacuje się, że przy braku remisji nefropatii 5-letnie i 10-letnie przeżycie wynosi odpowiednio 70% i 60% [11].

Na podstawie wyników chorej (Tabela 1) można zaobserwować korelację wysokiego miana przeciwciał anty-dsDNA oraz niskich wartości składowych dopełniacza w surowicy z występowaniem białkomoczu. Takie parametry świadczą o wysokiej aktywności immunologicznej choroby i wskazują na niekorzystny przebieg. W trakcie licznych hospitalizacji następowała poprawa, jednak nie udało się uzyskać trwałej remisji zespołu nerczycowego. Wahania wartości GFR znajdowały się między 14 a 51 ml/min/1,73 m². Ponadto pacjentka cierpiała na nawracające zakażenia układu moczowego, leczone zgodnie z antybiogramem.

Podstawowym lekiem w SLE są sterydy. Pomocniczo stosuje się hydroksychlorochinę, jednak z uwagi na ryzyko retinopatii, może być włączona do leczenia dopiero po

wykluczeniu przeciwwskazań okulistycznych [12]. Ponadto stosuje się metotreksat, azatioprynę, mykofenolan mofetylu. Wyboru leku dokonuje się na podstawie lokalizacji zmian, ich ciężkości, planów prokreacyjnych i działań niepożądanych [11]. Pomocne w diagnostyce i decyzji o postępowaniu są skale, np. SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index), klasyfikacja wg ACR/EULAR (American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism). W ciężkich, opornych na leczenie przypadkach stosuje się cyklofosamid – cytostatyk wykorzystywany głównie w onkologii i reumatologii. Podaje się go parenteralnie, w comiesięcznych pulsach, według schematu EUROLUPUS 2019. Nie należy przekraczać dawki kumulacyjnej, która wynosi 0,3 g/kg masy ciała.

U przedstawionej pacjentki jednoczesne stosowanie hydroksychlorochiny i prednizonu spowodowało ustąpienie objawów skórnych, bólu stawów oraz wysięku w jamie opłucnej, jednak nie uzyskano pełnej remisji zespołu nerczycowego. Intensyfikacja leczenia u chorej nastąpiła dopiero po usunięciu zębów, będących aktywnymi ogniskami infekcji. Wówczas rozszerzono leczenie o MMF, jednak nie zaobserwowano wystarczającej poprawy. Po wdrożeniu terapii cyklofosamidem, wg schematu EUROLUPUS 2019, nastąpiło stopniowe zmniejszanie się białkomoczu, aczkolwiek nadal utrzymywało się dodatnie miano przeciwciał anty-dsDNA. Z powodu polekowego uszkodzenia wątroby konieczna była konwersja do leczenia mniej toksycznym mykofenolanem mofetylu. U większości pacjentów obserwuje się powrót prawidłowej funkcji wątroby po odstawieniu cyklofosamid, pomocniczo można zastosować tymonacyk.

Opisywana chora jest przykładem trudności wynikających z jednoczesnego występowania wielu schorzeń, terapii wielolekowej i jej skutków ubocznych. Poszczególne choroby uniemożliwiały diagnostykę i terapię pozostałych, natomiast wybór efektywnego leczenia wiązał się z szeregiem groźnych konsekwencji.

Piśmiennictwo

1. Apostolopoulos D, Hoi AY. Systemic lupus erythematosus - When to consider and management options. *Aust Fam Physician*, 2013; 42 (10): 696-700
2. Yung S, Chan TM. Mechanisms of Kidney Injury in Lupus Nephritis - the Role of Anti-dsDNA Antibodies. *Front Immunol*, 2015; 6: 475, doi:10.3389/fimmu.2015.00475
3. Samotij D. Treatment of systemic lupus erythematosus - future challenges and prospects. *Forum Derm*, 2018; 4 (2): 70-77
4. Windyga J, Baran B, Odnoczek E. Wytyczne postępowania w nabytej hemofilii A. *Ginekologia i perinatologia Prakt*, 2018; 3 (4): 175-188
5. Bertsias G, Ioannidis JP, Boletis J, et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Report of a Task Force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics. *Ann Rheum Dis*, 2008; 67 (2): 195-205, doi:10.1136/ard.2007.070367
6. Jakuszko K, Krajewska M, Klinger M. Diagnostyka toczeniowego zapalenia nerek - aktualny stan wiedzy. *Forum Nefrologiczne*, 2014; 7 (2): 65-74
7. Antkowiak-Piątyszek K. Zespół antyfosfolipidowy - opis

- przypadku i przegląd literatury. Forum Rheumatol, 2019; 5 (3): 137-143
8. Ostenek L. Diagnostyka i leczenie zespołu antyfosfolipidowego. Przegląd Reumatologiczny, 2010; 5: 1-3
 9. Beck LH Jr, Salant DJ. Treatment of membranous lupus nephritis: where are we now? J Am Soc Nephrol, 2009; 20 (4): 690-691, doi:10.1681/ASN.2009020216
 10. Manson JJ, Rahman A. Systemic lupus erythematosus. Orphanet. J Rare Dis, 2006; 1: 1-6, doi:10.1186/1750-1172-1-6
 11. Bułło-Piontecka B, Liberek T, Rutkowski B. Mykofenolan mofetilu w leczeniu nefropatii toczniowej. Forum Nefrologiczne, 2012; 5 (4): 351-360
 12. Woźniacka A. Antimalarials - old drugs are new again. Postepy Dermatol Alergol, 2022; 39 (2): 239-244, doi:10.5114/ada.2021.108423



MOJE 70 LAT Z NEUROLOGIĄ

My 70 years with neurology



Teofan Maria Domżał

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Neurologiczna, Polska

Streszczenie: Artykuł jest opisem kariery zawodowej polskiego lekarza neurologa, naukowca, nauczyciela, od około 60 lat związanego z Wojskowym Instytutem Medycznym – profesora Teofana Domżała. Pisząc w pierwszej osobie, przedstawiam swój kilkudziesięcioletni wkład w rozwój neurologii polskiej i światowej. Tłem dla opisywanych wydarzeń jest także charakterystyka zmian w organizacji wojskowej służby zdrowia i Wojskowego Instytutu Medycznego na przestrzeni dziesięcioleci. Praca ta obrazuje również wielki postęp, jaki dokonał się w dziedzinie neurologii w ciągu mojego zawodowego życia.

Abstract: The article is a description of the professional career of a Polish neurologist, scientist, teacher, for about 60 years associated with the Military Institute of Medicine – Professor Teofan Domżał. Writing in the first person, I present my decades-long contribution to the development of Polish and world neurology. The background for the described events is also the characteristics of changes in the organization of the military health service and the Military Institute of Medicine over the decades. The work illustrates also the great progress that has been made in the field of neurology during my professional life.

Słowa kluczowe: neurologia, historia, rozwój neurologii.

Keywords: neurology, history, development of neurology.

DOI 10.53301/lw/157526

Praca wpłynęła do Redakcji: 07.12.2022

Zaakceptowano do druku: 16.12.2022

Autor do korespondencji:

Teofan Maria Domżał

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Neurologiczna, Warszawa

e-mail: teofandomzal@poczta.onet.pl

W 1952 r. rozpocząłem pracę w Klinice Neurologicznej Akademii Medycznej w Łodzi u prof. Eufemiusza Hermana i w 2022 r. minęło mi już 70 lat z neurologią. Decyzja o tym, aby to właśnie neurologia była moją przyszłą specjalizacją medyczną budowała się stopniowo. Po drugim roku studiów zacząłem pracować jako demonstrator w Zakładzie Anatomii Opisowej (Ryc. 1). Moje zainteresowanie wzbudziła tam budowa i funkcja mózgu, a mózg – ten najważniejszy narząd człowieka – jest przecież pod opieką neurologii. Na czwartym roku zafascynowały mnie wykłady z neurologii, mistrzowsko prowadzone przez prof. Eufemiusza Józefa Hermana, który zawsze łączył je z demonstracją pacjenta z omawianą podczas wykładu chorobą. Wtedy uznałem, że neurologia to najciekawsza i najważniejsza specjalność medyczna. To „królowa medycyny”, jak powiedział o neurologii na jednym z kongresów Dawid Wechsler – psycholog, twórca znanych testów na inteligencję. Zapamiętałem także „Księgę z San Michele”, której autorem jest Axel Munthe, z uwagi na niezwykle opis pracy w paryskiej szkole neurologii, którą utworzył w 1862 r. i nią kierował słynny Jean Martin Charcot, uważany za ojca tej specjalności.

Prof. Herman, autor wielu podręczników i prac naukowych, współtwórca Światowej Federacji Neurologii, był moim pierwszym nauczycielem (Ryc. 2). Był także



Rycina 1. Asystent w Zakładzie Anatomii w prosektorium przy pracy.

najzdolniejszym uczniem światowej sławy neurologa, psychiatry oraz neuropatologa Edwarda Flatua, który w 1904 r. stworzył polską szkołę neurologii, jako ordynator Oddziału Neurologicznego w Szpitalu Starozakonnych w Warszawie na Czystem (ul. Dworska 17, obecnie Kasprzaka). Na jego słynne obchody przychodzili wszyscy lekarze zainteresowani nową specjalnością. Po wojnie Herman został profesorem i kierownikiem Katedry



Rycina 2. Prof. Eufemiusz Józef Herman (1892-1985).

i Kliniki Neurologicznej na utworzonym wówczas Uniwersytecie Łódzkim. W jego klinice nauczyłem się podstaw neurologii, semiologii, badania chorego oraz „rozumowania neurologicznego”, które dziś zostało zastąpione komputerami. Semiologia to nauka o objawach neurologicznych – abecadło, z którego układu się zespół np. ogniskowy, rozsiany, rozlany i układowy, a „rozumowanie” wskazuje miejsce uszkodzenia i jego przypuszczalną przyczynę.

Osobowość w mundurze

Absolutorium uzyskałem w 1951 r. Zwlekąłem ze zdaniem ostatniego egzaminu, obawiając się powołania do wojska, które było postrachem w tamtych czasach. Nie wytrzymałem długo – egzamin zdałem w 1952 r. i otrzymałem czerwony dyplom na pierwszą lokatą. W lipcu tegoż roku dostałem powołanie na Kurs Przeszkolenia Oficerskiego (KPO) do Śremu, po którym w stopniu porucznika dostawało się zwykle przydział do jednostki wojskowej gdzieś na prowincji.

Okres rekrucki był dla mnie katastrofą. Poniżano nas, pozbawiając godności i wolności osobistej. Od pobudki do capstrzyku słychać było tylko stek niewybrednych słów z ust podoficerów i oficerów podkreślających rykiem swoją wyższość. Czuliśmy się jak w karnym obozie. Tuż przed promocją udało mi się wydostać z tego piekła i wróciłem do domu oraz pracy w klinice. W następnym roku powołano mnie ponownie. Myślałem, że to pomyłka, ale nie pomogły tłumaczenia, że takie przeszkolenie odbyłem już przed rokiem. Po miesiącu udręki zwolniono nas i pełen nadziei, że sprawa z wojskiem została zakończona wróciłem do domu i pracy. Myliłem się, bo we wrześniu 1954 r. powołano mnie po raz trzeci i znów musiałem przejść to samo szkolenie rekruckie. Koszmar. Byłem pewny, że ktoś celowo chciał mnie złamać psychicznie i fizycznie. Nie pomyliłem się. Po latach poznałem tego człowieka. Kiedy go zapytałem, dlaczego to robił, odparł cynicznie, że chciał mi pomóc w zrobieniu kariery wojskowej i naukowej. W taki też sposób zostałem porucznikiem Ludowego Wojska Polskiego z przydziałem na neurologię wojskową w Szpitalu Wojskowego

Centrum Wyszkożenia Medycznego (WCWMed) przy ul. Żeromskiego 113 w Łodzi.

Ordynatorem neurologii był tam pułkownik Władysław Stein (Ryc. 3) młodszy od Hermana o 14 lat. Przed wojną był asystentem u Sterlinga, też ucznia i następcy Flataua w Szpitalu Starozakonnych w Warszawie. Pochodził więc z tej samej szkoły neurologicznej, co Herman. Powołany do wojska w 1939 r., został ranny w bitwie pod Kutnem i dostał się do niewoli niemieckiej. Osadzony w obozie jenieckim przetrwał wojnę, ratując życie przed zagładą. Komendantem obozu był jakiś dobry Niemiec, który chronił jeńców, a wśród nich Żydów. Pozwalał na szkolenie się i naukę języków obcych.



Rycina 3. Płk doc. Władysław Stein (1906-1960).

Rozpoczynając wojskowy rozdział mojego życia stanąłem w pozycji zasadniczej przed pułkownikiem Steinem, meldując zgodnie z regulaminem swoje przybycie słowami: „Obywatelu pułkowniku, porucznik Domżał...”, i tu Stein przerwał mój meldunek, klepnął mnie przyjacielsko w ramię powiedział: „Dajcie spokój z tym meldowaniem, bierzcie fartuch i idziemy na obchód”. Byłem zaskoczony i bardzo ujęty tą bezpretensjonalnością i otwartością Steina, tym przyjacielskim, niewojskowym i nieregularnym powitaniem. Od razu polubiłem tego człowieka. W wojsku, które poznałem z najgorszej strony, takie traktowanie podwładnych i taka osobowość w mundurze to wyjątek. Stein miał duszę cywila i nie pasował do drylu wojskowego, co widać było od pierwszego spotkania. Jego pasją była neurologia, którą uprawiać musiał w wojsku. Był erudytą, znał języki niemiecki, francuski, rosyjski i angielski, czytał codziennie nowości medyczne w obcojęzycznych czasopiśmie.

Na 60-łóżkowym oddziale oprócz Steina pracowało jeszcze dwóch lekarzy: Mieczysław Strzałko – wówczas kapitan, zastępca Steina oraz kapitan Jerzy Bruzda. Do pracy przychodziło się w mundurze i przed rozpoczęciem zajęć odbywała się odprawa ogólna prowadzona przez komendanta szpitala – pułkownika Rudolfa Dudę, lekarza neurologa z przedwojennej lwowskiej szkoły Henryka Halbana. Większość lekarzy oficerów, podobnie jak ja, znalazła się w wojsku wbrew swojej woli,

a z poboru i była bezpartyjna. Liczne szkolenia polityczne i wojskowe odbywające się w czasie pracy, kończyły się często pytaniem, kiedy nas zwolnią z wojska. Po roku 1957, kiedy można już było opuścić wojskowe szeregi, nikt z pytających jednak nie odszedł. Organizowano bowiem Wojskową Akademię Medyczną (WAM) i zachęcano nas do pozostania, kusząc perspektywą wyższego uposażenia i akademickiego stanowiska oraz możliwością dydaktycznej pracy naukowej i praktyki prywatnej. Mnie obiecano stanowisko adiunkta, ponieważ w 1956 r. miałem już II stopień specjalizacji w neurologii i WAM dawała możliwość uzyskania stopni naukowych doktora i docenta.

Z teczką na sali chorych

W 1958 r. powstała Wojskowa Akademia Medyczna i zmieniły się nasze obowiązki. Oprócz pracy z pacjentami należało prowadzić zajęcia ze studentami – ćwiczenia kliniczne oraz wykłady. Stein cierpiał na chorobę wieńcową, przeżył kilka zawałów serca, więc oszczędzaliśmy go i często zastępowaliśmy w wykładach. Uczestniczyliśmy też w egzaminach. Do pracy w klinice powołani zostali nowi koledzy: Zdzisław Cywiński, Klemens Słowicki, Czesław Rymczonek oraz Tadeusz Wranicz. Pododdział neurochirurgiczny zamieniono w oddzielną klinikę, którą objął wcześniej powołany do wojska uczeń prof. Kunickiego z Krakowa – prof. Jan Bromowicz.

Klinika otrzymała więcej obowiązków, ale nie zyskała większej przestrzeni. Dla personelu lekarskiego przeznaczone były dwa małe gabinety połączone ze sobą drzwiami. W jednym pracował Stein, a w drugim maleńkim, gdzie nie było miejsca ani na szafę, ani na biurko – asystenci z adiunktami. Rozbieraliśmy się w gabinecie szefa, wieszając mundury w niewielkiej szafie, a pracowaliśmy na salach chorych, rozkładając na stołach teuczki z historiami chorych i wpisywaliśmy codzienne obserwacje stanu zdrowia oraz wyniki przeprowadzonych badań. Rano przed obchodem siadaliśmy w gabinecie szefa i słuchaliśmy nowości, których dowiedział się z przeczytanych poprzedniego dnia czasopism. Tak odbywało się nasze fachowe szkolenie.

Gorzej było z pracą naukową. Szef co sobota dawał każdemu jakiś temat do opracowania. Nie egzekwował wykonania zadania i często zmieniał tematy, więc my, jeśli mieliśmy ochotę, sami decydowaliśmy o podjęciu konkretnych badań, co pozytywnie wpłynęło na naszą kreatywność. Szef nie lubił czytać naszych prac, dlatego chodziłem i przedstawiałem je prof. Hermanowi – był przecież moim nauczycielem i Mistrzem. Kiedy pokazałem Hermanowi swoją pierwszą, przygotowaną do publikacji pracę, opisującą rodzinę z zanikiem mózdzku, profesor poprawił ją, nie pozostawiając prawie żadnego mojego zdania, co mnie załamało i przyrzekłem sobie nigdy więcej nie brać pióra do ręki. Później byłem mu wdzięczny za tę naukę. Zaprzyjaźniłem się z państwem Hermanami dzięki szachom, ponieważ pani Róża, żona profesora, była namiętną szachistką, a przed wojną – szachową mistrzynią Polski. Poznałem ją podczas gry w szachowych mistrzostwach Łodzi i często byłem zapraszany do domu na partyjkę, a później na imieniny profesora lub pani Róży.

Przyjechał kiedyś do Hermana jego przyjaciel z Londynu – prof. MacDonald Critchley, prezes Światowej Federacji Neurologicznej. Jego wystąpienie w klinice było aktorskim pokazem badania neurologicznego i zrobiło duże wrażenie. Critchley był melomanem i wielbicielem Chopina, więc na prośbę prof. Hermana zawiozłem ich na koncert do Żelazowej Woli. Angielski gość był uszczęśliwiony, a dla mnie był to zaszczyt.

Stein przychodził do pracy wcześniej i chodził po salach chorych, wysłuchiwał raportu pielęgniarek i jeszcze przed naszym przybyciem wiedział, co się dzieje w klinice. Nie mógł tego znieść solidny Strzałko, który postanowił przychodzić przed nim. To z kolei spowodowało niezadowolone szefa, który zaczął przychodzić jeszcze wcześniej. Ta cicha rywalizacja skończyła się wybuchem niezadowolone i zdenerwowany Stein krzyknął: „Czy wy Strzałkides chcecie mnie wykończyć? Żona nie pozwala mi już wcześniej wstawać!” Szef często zwracał się do nas po nazwisku, które żartobliwie przekreślał Strzałkides, Domażkiewicz, itp.

Owoce nowoczesności

W 1957 r. zakupiono nam elektroencefalograf firmy Kayser. Pan Kayser z małżonką przywieźli aparat w częściach swoim samochodem z Kopenhagi i przez tydzień montowali go na miejscu w klinice, ucząc nas przy tym obsługi i techniki badań. Zostałem wyznaczony przez Steina do zapoznania się z aparatem i prowadzenia badań z opisywaniem wyników. Sam naklejałem elektrody na głowie, sam prowadziłem badanie i sam opisywałem wynik (Ryc. 4). Dopiero po roku dostałem do pomocy laborantkę.



Rycina 4. Autor zakłada elektrody przed badaniem EEG.

Pierwszym owocem badań EEG była moja publikacja dotycząca zmian czynności bioelektrycznej mózgu w migrenie. Później badałem wpływ różnych czynników zewnętrznych na zapis czynności w EEG. Kolejnym tematem były badania snu oraz zaburzeń przysennych. Na podstawie zapisu czynności mózgu wykazałem niedojrzałość kory mózgowej jako podłoża tych parasomni u dzieci i młodzieży. To było także tematem mojej rozprawy doktorskiej. Badałem też wpływ leków na czynność bioelektryczną mózgu. W bólu patologicznym i doświadczalnym stwierdziłem podwyższenie progu uspokojenia

po barbituranach (tzw. próg Shagassa), co było obiektywnym potwierdzeniem doznania bólowego. Sen i ból stały się głównym przedmiotem moich badań, kiedy już pracowałem w Warszawie. W 1972 r. pojechałem z profesorem Juliuszem Narębskim z Torunia do Bazylei na I Kongres Badania Snu i zostaliśmy członkami-założycielami Europejskiego Towarzystwa Badania Snu.

W tamtych czasach w wojsku bardzo rozpowszechnionym zaburzeniem i dużym problemem orzecznictwem było moczenie nocne. Pułkownik Stein dostał polecenie naukowego rozwiązania tego trudnego problemu. Do kliniki ciągnęły szeregi moczających się żołnierzy z całej Polski z nadzieją na zwolnienie z wojska – głównie rekruci, wśród których było wielu symulantów. Stein problemu nie rozwiązał, ale za swoje badania uzyskał stopień naukowy docenta (nie było jeszcze doktora habilitowanego). Problem rozwiązał się sam w miarę rozwoju cywilizacji i zmiany ustroju, ale wtedy mieliśmy z tym wiele kłopotów i żadne metody walki z tą wojskową plagą nie skutkowały. Pułkownik docent Władysław Stein zmarł w 1966 r. wkrótce po przejściu na emeryturę. Klinikę objął po nim Mieczysław Strzałko, który się habilitował i został profesorem, a ja zostałem jego zastępcą.

Pionierzy i Galeniki

Dużym osiągnięciem była arteriografia, którą wprowadził do diagnostyki mózgu portugalski neurolog Egaz Moniz. Arteriografia została udostępniona do rutynowych badań klinicznych dopiero po II wojnie św. Wraz z radiologiem Jerzym Zajnerem, późniejszym profesorem i kierownikiem Zakładu Radiologii WAM, postanowiliśmy jako pierwsi wprowadzić tę metodę badania w naszej klinice. Podjąłem się wstrzyknięcia kontrastu do tętnicy szyjnej wspólnej, a Zajner w odpowiednich odstępach czasu wyciągał kasety z uzyskanymi zdjęciami. Na trzech kolejnych kasetach był najpierw obraz tętnic mózgowych, następnie naczyń włosowatych i w trzeciej – obraz żył. Zabieg odbywał się w zasięgu promieni X, a nas osłaniały ciężkie ołowiane fartuchy i rękawice. Od tej pory w naszym szpitalu arteriografia stała się badaniem rutynowym, choć początkowo tylko na neurologii, gdzie ustalano rozpoznanie na konsultacji z neurochirurgami i radiologami. Przed arteriografią jedynym badaniem kontrastowym była pneumoencefalografia polegająca na wprowadzeniu powietrza do komór mózgowych drogą nakłucia łędźwiowego. Zabieg był bardzo bolesny. Jeśli podejrzewano guza mózgu, robiono wentrykulografię, wprowadzając powietrze wprost do komór przez otwór w czaszce. Robiło się to z obawy przed wklonowaniem mózdzku do kanału kręgowego spowodowanym nagłym spadkiem ciśnienia śródczaszkowego po nakłuciu łędźwiowym. Obie te metody kontrastowego badania mózgu wprowadził w 1919 r. amerykański neurochirurg Walter Dandy. Zabiegi te przestały być wykonywane dopiero po wdrożeniu badań komputerowych w latach 70 - 80. ubiegłego wieku.

Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego pobieranego nakłuciem łędźwiowym lub podpotylicznym w neurologii było rutynowym zabiegiem diagnostycznym. Z nakłucia podpotylicznego wstrzykiwano kontrast do kanału kręgowego – był to cięższy od płynu mózgowo-rdzeniowego lipidol, który opadając, ujawniał drożność kanału kręgo-

wego w przypadkach podejrzenia ucisku rdzenia kręgowego. Po nakłuciu łędźwiowym często występowały uporczywe podciśnieniowe bóle głowy.

Leczenie chorób neurologicznych było ograniczone do kilkunastu dostępnych preparatów, takich jak przed wojną. Podstawą neurofarmakologii były alkaloidy: morfina, strychnina, atropina, skopolamina, kofeina itp. Najpopularniejszym lekiem na wszystkie nerwice była mieszanka soli bromu z luminalem i walerianą – popularne BLW. W padaczkę stosowano luminal, później dopiero wprowadzono fenytoinę, a w 1960 r. karbamazepinę, której skuteczność wzrosła do 60%. Szeroko stosowano różne witaminy, zwłaszcza B1 we wszystkich neuropatiach. Dożylnie podawano 40 proc. roztwór glukozy z witaminą C w obrzęku mózgu oraz eufilinę w udarach mózgowych. Apteka preparowała większość leków w postaci różnych mieszanek w opłatku, pigułce, roztworze, wyciągu, naparze według recepty lekarskiej, jak za czasów Galena. Leki te nazywano „Galenika” i przetrwały one do połowy ubiegłego stulecia, a każdy lekarz miał swoją ulubioną i wypróbowaną recepturę oraz szerokie możliwości kompozycji.

Życiowy przewrót

Dzięki prowadzonym badaniom EEG opublikowałem kilkanaście prac i rozprawę doktorską, w których przedstawiłem własną teorię niedojrzałości korowej na wspólnym podłożu parasomnii. Obrona pracy w 1960 r. dała mi stopień naukowy doktora medycyny. Od tego wydarzenia wzrosły moje ambicje i stały się napędem do dalszej pracy naukowej.

W październiku 1964 r. odbyła się habilitacja i nadano mi stopień naukowy docenta. Tematem rozprawy habilitacyjnej było opracowanie nowej metody ilościowego badania ubytku czucia ucisku i bólu. Ból był także tematem wykładu habilitacyjnego i później wiodącym tematem kliniki w Warszawie.

Po habilitacji rektor WAM, generał prof. Marian Garlicki, oznajmił, że przewidziany jestem na kierownika kliniki w nowo otwartym w Warszawie II Centralnym Szpitalu Klinicznym WAM. Wiadomość ta ścięła mnie z nóg, ponieważ nigdy nie myślałem o wyprawdzie z Łodzi, gdzie mieszkała moja cała rodzina. Byłem dobrze urządzony, miałem stanowisko docenta i zastępcy kierownika kliniki, własnościowe mieszkanie z garażem oraz dość popularną praktykę prywatną. Żona była starszym asystentem w Klinice Okulistycznej Akademii Medycznej, a córka chodziła do pobliskiej szkoły. Przeprowadzka do Warszawy wywracała całe nasze dotychczasowe życie. W wojsku nie było jednak możliwości odmowy, zwłaszcza, że był to jednak duży awans.

Rozkaz Ministra Obrony Narodowej z nominacją zakończył wszelkie dyskusje i z dniem 22 lutego 1965 r. zostałem kierownikiem Kliniki Neurologicznej II Centralnego Szpitala WAM w Warszawie. Tak rozpoczął się - trwający do dziś - stołeczny etap mojego życia.

Klinikę w Warszawie musiałem organizować od podstaw. Personel składał się z pracowników dwóch zlikwidowanych oddziałów warszawskich szpitali wojskowych:



Rycina 5. Płk dr Stefan Bogusławski, ordynator neurologii w Szpitalu MON.

Szpitala MON przy ul. Koszykowej i Okręgowego Szpitala przy ul. Nowowiejskiej. Komendant Szpitala MON i ordynator neurologii płk dr med. Stefan Bogusławski (Ryc. 5) oraz ordynator w Szpitalu Okręgowym płk Felicjan Roguski (Ryc. 6) byli moimi adiunktami, a wszyscy asystenci byli starsi ode mnie. To była niezwykle trudna i krępująca mnie sytuacja, gdyż u płk. Bogusławskiego zdawałem kilka lat wcześniej egzamin z neurologii na II stopień. Obaj panowie ordynatorzy, niezwykle taktowni, nie chcąc mnie krępować, postanowili pracować w neurologicznych przychodniach przyklinicznych i kilka lat później przeszli na emeryturę.

Klinika mieściła się początkowo na dwóch piętrach. Jedno przeznaczone było dla neurochirurgii. Klinikę neurochirurgii miał objąć prof. Jan Bromowicz, ale opuścił WAM, wrócił do Krakowa, w którym mieszkał i objął tam klinikę po prof. Adamie Kunickim, który wrócił do Warszawy. Po roku odgórną decyzją przyszedli do kliniki dwaj



Rycina 6. Płk dr Felicjan Roguski, ordynator neurologii w Warszawskim Szpitalu Okręgowym.

neurochirurdzy z warszawskiej kliniki neurochirurgii – dr Stanisław Rudnicki na etat adiunkta i Apolinary Kępski na starszego asystenta. Wkrótce otwarty został też pododdział neurochirurgii, a kilka lat później, po habilitacji dr. Rudnickiego, pododdział stał się Kliniką Neurochirurgii.

W naszej klinice utworzona została pracownia elektroencefalografii i elektromiografii oraz pracownia biochemii i badania płynu mózgowo-rdzeniowego. Powstała też poradnia psychiatryczna z psychiatrą i psychologiem oraz poradnia badania i leczenia bólu, gdyż ból był wiodącym tematem badań naukowych. Przez kilka lat walczyłem o powstanie kliniki psychiatrycznej w tak dużym centralnym szpitalu klinicznym, ale naczelny psychiatra z WAM oprotestował moje starania, argumentując, że wojsku wystarczy jedna klinika WAM w Łodzi. Później jednak zrealizowano moje starania i psychiatra Stanisław Ilnicki (najpierw mój asystent, później profesor) został kierownikiem Kliniki Psychiatrycznej w naszym szpitalu.

Wprowadziłem nowy tryb pracy i nowe zwyczaje. Lekarze mieli obowiązek uczestniczenia w sekcjach zmarłych w klinice. Sekcję mózgu wykonywałem osobiście w ramach szkoleń dla asystentów. Badanie neuropatologiczne było weryfikacją naszych klinicznych rozpoznań i także lekcją anatomii mózgowia.

Na codziennej odprawie wysłuchiwało się raportu lekarza dyżurnego oraz pielęgniarskiego z wydarzeń w klinice. Omawiano także przyjęcia nowych chorych na dyżurze i dyskutowano na temat planu postępowania diagnostycznego i leczniczego. W wyznaczonych dniach tygodnia odbywało się czytanie streszczeń ciekawszych artykułów z literatury naukowej, a raz w tygodniu, w środy, mieliśmy tzw. „kominki radiologiczne”. Codziennie odbywał się także szczegółowy obchód po salach chorych w ustalonej kolejności a raz w tygodniu obchód ogólny z udziałem wszystkich lekarzy i pielęgniarek.

Na stanowisku z kołem sterowniczym

Na jednym z pierwszych obchodów przedstawiono mi niespotykany dotąd przypadek. Był to żołnierz przeniesiony z neurochirurgii po wykonaniu wentrykulografii z wynikiem wykluczającym obecność guza mózgu. Wzruszyła mnie jego historia, która zaczęła się stłuczeniem okularów podczas ćwiczeń rekruckich. Po receptę na nowe trafił do okulisty, który stwierdził podejrzenie niewielkiego obrzęku tarcz nerwów wzrokowych, co mogło wskazywać na podwyższenie ciśnienia, skierował więc badanego do neurologa. Ten zapytał pacjenta, czy ma bóle głowy – oczywiście, każdy wówczas na takie pytanie odpowiadałby twierdząco z nadzieją, iż uda mu się zwolnić z wojska. Neurolog skierował więc żołnierza na neurochirurgię z podejrzeniem guza mózgu. Nie było wówczas innej metody wykluczenia guza niż wentrykulografia i tak też się stało. Kazałem go zwolnić ze służby wojskowej za cierpienia doznane przez swoje uzasadnione kłamstwo i za zrobione - zgodnie z procedurami diagnostycznymi - dziurki w głowie. Zatarcie tarczy nerwu wzrokowego na dnie oka to nie obrzęk i zdarza się bardzo często u zdrowych ludzi, wprowadzając w błąd niedoświadczonych lekarzy.

Jednym z ważnych zadań kliniki było szkolenie podyplomowe lekarzy odbywających 3-miesięczne kursy przedegzaminacyjne. Takie kursy odbywały się w każdej klinice dwa razy w roku – wiosną i jesienią – i kończyły komisyjnym egzaminem na I i II stopień specjalizacji. W czasie mojego kierownictwa ponad 500 lekarzy ukończyło kurs i zdało egzamin specjalizacyjny. Oblanie egzaminu zdarzało się rzadko, ponieważ w czasie kursu poznawałem poziom opanowanej przez lekarzy wiedzy i tych, którzy nie wykazywali postępów – odsyłałem do domu.

„Szpital na Szaserów” – jak potocznie nazywano naszą placówkę – świadczył usługi lekarskie nie tylko wojskowym, ale w miarę wolnych miejsc także osobom cywilnym. Szefostwo Służby Zdrowia podlegało głównie kwatermistrzowi, który – zależnie swojego uznania – kilka razy zmieniał nazwę i rangę szpitala. Był więc II Centralnym Szpitalem Klinicznym WAM – Instytutem Kształcenia Podyplomowego, a ostatecznie po zmianie ustroju i rozwiązaniu Wojskowej Akademii Medycznej został Wojskowym Instytutem Medycznym. Kwatermistrz wykorzystywał swoje zwierzchnictwo i wydawał różne polecenia Szefowi Służby Zdrowia, a ten komendantowi szpitala zgodnie z drogą służbową. Często po drodze myłono nazwisko protegowanego lub neurologię z urologią, co powodowało dość liczne konflikty, skutkujące często różnymi represjami personalnymi, łącznie z usunięciem ze stanowiska. Świadczone więc usługi lekarskie osobom nieuprawnionym, dygnitarzom partyjnym i rządowym. Wydawano polecenia zbadania kogoś znajomego lub przyjęcia chorego bez wskazań, albo wydawano rozkaz przyjęcia z innych szpitali przewlekle chorych w stanie ekstremalnym „na przechowanie”, itp. Odwoływano nawet z urlopu profesorów na konsultacje lub wykonanie banalnego zabiegu, jeśli trzeba było zadowolić wyższe władze. Trzykrotnie próbowano zwolnić mnie ze stanowiska. Raz za odmowę konsultacji dygnitarza w dzień wyjazdu na urlop, drugi raz, gdy moi bracia zostali za granicą. Trzecia próba związana była ze Zjazdem Neurologów w Gdańsku w 1987 r., w przeddzień wizyty naszego papieża. Byłem wtedy prezesem ZG PYN i na walnym zgromadzeniu, według jakiegoś agenta, miały miejsce antyrządowe wystąpienia, a mnie podarowano koło sterownicze wykonane osobiście przez Lecha Wałęsę. Donos trafił do wszystkich członków Biura Politycznego PZPR i byłem przesłuchiwany przez służby specjalne. Prokurator generalny WP nie dopatrywał się przestępstwa, a koło sterownicze dostałem od organizatorów z okazji wyboru na drugą kadencję prezesa.

O bólu z powagą i nauką

Dobre stosunki z kwatermistrzostwem i szefostwem Służby Zdrowia zapewniały zgodę na wyjazdy zagraniczne i udział w kongresach, różnych konferencjach i szkoleniach. Każdy pobyt za granicą lub spotkanie w kraju z obywatelem innego państwa zobowiązywał do napisania szczegółowego sprawozdania z wymienieniem nazwisk i podaniem treści rozmów. Przywykliśmy szybko do takiego stylu pracy w wojsku i nie przejmowaliśmy się zbyt tymi wymaganiami, nie wykazując przy tym nadmiernej gorliwości. Większość kierowników klinik w szpitalu nie należała do partii, ja również byłem bezpartyjny,

ale nie odczuwało się większych nacisków na wstąpienie do partii, ani dyskryminacji z tego powodu.

Kierowanie kliniką stawiało duże wyzwania, bowiem obok pracy usługowej mieliśmy dodatkowo obowiązki dydaktyczne i naukowe. W badaniach naukowych preferowano tematy związane ze służbą wojskową, można było jednak prowadzić badania w dowolnym kierunku. Zajęcia dydaktyczne wymagały z kolei odpowiedniej wiedzy, doświadczenia i oczytania w bieżącej literaturze naukowej. Miałem już w tym pewne doświadczenie zdobyte w Łodzi. Szkolenie fachowe personelu odbywało się każdego dnia na odprawie porannej i podczas obchodów. Były też raz w tygodniu wykłady moje i asystentów na wyznaczony temat. Większość asystentów nie miała stopni naukowych odpowiednich do zajmowanych stanowisk w klinice. Nie mieli też ani żadnego doświadczenia w prowadzeniu takich badań, ani motywacji.

Wiodącym tematem badań naukowych (poza związanymi ze służbą wojskową) był ból, metody badania bólu, w miarę obiektywna ocena oraz leczenie. Temat ten interesował mnie już wcześniej i poświęciłem mu wykład habilitacyjny. Opracowaliśmy różne metody i skale obiektywnej oceny bólu. Prowadzone były badania elektromiograficzne reakcji mięśniowej na ból jako miernik odczuwania bólu, wyróżniając obronę mięśniową – niezależną od woli – w postaci wzmożenia napięcia mięśni oraz reakcję w mięśniach mimicznych twarzy niewidoczną gołym okiem jako wyraz cierpienia. Zajmowaliśmy się także reakcją psychiczną odpowiadającą za skalę natężenia cierpienia. Były to badania odruchu bólowego jako obiektywnego objawu bólu możliwego do liczbowej oceny. Opracowaliśmy również 5-stopniową skalę natężenia bólu dla nieswoistych bólów krzyża.

Badaliśmy również mechanizmy wpływu klasycznej akupunktury na ból i doszliśmy do wniosku, że meridiany i ustalone punkty nakłuwania oraz specjalne igły nie mają praktycznego znaczenia. Taki sam efekt daje wstrzykiwanie w punkty bólowe bezpiecznymi igłami jednorazowego użytku substancji drażniącej. Naszą metodę stymulacji nazwano „igłoterapią”.

W Polskim Towarzystwie Neurologicznym (PTN) utworzyłem Sekcję Badania Bólu oraz Sekcję Patofizjologii Bólu w Komitecie Nauk Neurologicznych Polskiej Akademii Nauk. Bólami głowy zajmował się mój przyjaciel i następca profesora Hermana w łódzkiej Klinice Neurologicznej – prof. Antoni Prusiński, z którym ściśle współpracowałem w obu sekcjach. W skład tych sekcji oprócz neurologów wchodził także psychiatry, psychologowie, anestezjologowie i neurochirurdzy, zainteresowani zabiegowym leczeniem bólu. Był to załączek późniejszego Towarzystwa Badania Bólu. Mieliśmy wspólne konferencje naukowe, najczęściej organizowane w Radziejowicach, na których przedstawiano i omawiano wyniki naszych badań i nowości w światowej literaturze. Napisałem też trzy książki poświęcone bólom.

Kolejnym tematem badań kliniki były metody leczenia chorób układu nerwowego. Byliśmy pierwsi w Polsce w leczeniu choroby Parkinsona lewodopą. Praca opublikowana w Neurologii i Neurochirurgii Polskiej (NNP)



Rycina 7. Zarząd Główny PTN, Wrocław 1970 r. autor dziewiąty od lewej.

w 1972 r. W latach 90. ubiegłego wieku wprowadziliśmy leczenie toksyną botulinową kręczy karku, kurczu powiek i krtani oraz połowiczego kurczu twarzy. Do dziś nasza klinika prowadzi ambulatoryjne leczenie różnych dystonii wstrzykiwaniem tej toksyny. Prowadziłem specjalne kursy leczenia toksyną botulinową organizowane przez producentów w Austrii. Wykłady z tych kursów opublikowano w specjalnym suplemencie NNP. Napisałem podręcznik leczenia toksyną botulinową (dwa wydania). Leczeniu chorób układu nerwowego poświęcona była jedna książka oraz wiele artykułów i rozdziałów w podręcznikach neurologii.

Podejmowaliśmy także próby leczenia własnymi metodami choroby Huntingtona, bólów krzyża i głowy oraz zaburzeń rytmu dobowego czuwanie/sen po udarach mózgowych. Utworzyłem Sekcję Terapii w PTN i na organizowanych każdego roku w Pałacu Staszica sympozjach asystenci kliniki i zaproszeni goście przedstawiali postępy w leczeniu chorób układu nerwowego. Sekcja Terapii była swego czasu najliczniejsza – miała ponad 500 członków i przetrwała 30 lat. Została rozwiązana na mój wniosek, ponieważ leki i leczenie są teraz tematem każdej konferencji neurologicznej.

Było też wiele publikacji kazuistycznych i pogładowych na różne tematy. Napisałem ponad 300 prac opublikowanych w różnych krajowych i zagranicznych czasopismach naukowych. Współpracownicy dodali do tego około 100 publikacji oraz kilkadziesiąt posterów i wykładów na konferencjach neurologicznych w kraju i za granicą. Byłem promotorem 35 doktoratów oraz 6 habilitacji. Napi-

sałem 9 książek i kilkadziesiąt rozdziałów w rozmaitych podręcznikach.

Neurologiczny spadkobierca

W 1973 r. zmarł nagle mój kolega i przyjaciel, następca Steina – płk profesor Mieczysław Strzałko. Mianowano mnie na jego miejsce naczelnym neurologiem WP. Przybyły nowe obowiązki i odpowiedzialność za pracę usługową, dydaktyczną i naukową na neurologii wojskowej w szpitalach centralnych i prowincjonalnych. Miałem obowiązek wizytowania tych oddziałów, sprawdzania wyszkolenia zawodowego i jakości usług świadczonych przez personel lekarski.

Z upływem lat przybywało mi też awansów wojskowych i tytułów: w roku 1970 – pułkownik, 1971 – profesor nadzwyczajny i w 1982 – zwyczajny. Obok stanowiska kierownika kliniki i naczelnego neurologa pełniłem wiele funkcji w Polskim Towarzystwie Neurologicznym. W 1970 r. zostałem wybrany do Zarządu Głównego PTN (Ryc. 7), a 2 lata później zostałem jego wiceprezesem. W 1984 r. na zjeździe w Szczecinie wybrano mnie prezesem Zarządu Głównego PTN i pełniłem tę funkcję przez dwie kadencje – do 1990 r. Obecnie nadal jestem członkiem ZG PTN i prezesem honorowym tego towarzystwa. Biorę czynny udział w posiedzeniach jego zarządu już od ponad pół wieku. W Komitecie Nauk Neurologicznych Polskiej Akademii Nauk przez jedną kadencję pełniłem funkcję przewodniczącego Komitetu oraz kierowałem pracami Sekcji Patofizjologii Bólu. Jestem członkiem honorowym wielu towarzystw naukowych polskich i za-



Rycina 8. Doctor honoris causa, Łódź 2007 r.

granicznych. W 2007 r. Senat Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nadał mi zaszczytny tytuł: *doctor honoris causa* (Ryc. 8).

W 1997 r. przeszedłem na emeryturę, ale nadal działam w klinice jako konsultant. Kierownikiem kliniki został mój uczeń – docent Jerzy Kotowicz. Jestem zapraszany na

różne konferencje naukowe z wykładami na różne tematy. Od 2000 r. wygłosiłem 116 wykładów – przeważnie inauguracyjnych.

Zajmuję się obecnie historią neurologii i czuję się neurologicznym spadkobiercą szkoły Flataua – można powiedzieć, że jego neurologicznym wnukiem. Tradycje tej szkoły kultywowałem przez cały okres swojej pracy klinicznej w Łodzi i w Warszawie. Mój nauczyciel prof. Eufemiusz Józef Herman zaproszony został, by zobaczyć swojego ucznia w warszawskiej klinice w 1979 r. i wygłosił wówczas referat o neurologach wojskowych w przeszłości (Ryc. 9). Zmarł w 1985 r. Żegnałem go na Starym Cmentarzu w Łodzi w imieniu zarządu Głównego PTN, którego byłem wówczas prezesem. Obecnie kierownikiem kliniki jest prof. Adam Stępień, mój uczeń.

W ciągu moich 70 lat pracy z neurologią dokonał się wielki postęp zmieniający całkowicie medycynę i naszą specjalność. To już jest inna neurologia, daleka od tej, której się początkowo uczyłem. Diagnostyka neurologiczna zaczęła się od młotki i szpilki, teraz wyposażona została we wspólną aparaturę diagnostyczną i olbrzymi arsenał leków. Wciąż jednak postęp technologiczny w diagnostyce wyprzedza postęp w terapii. Leczenie objawowe nadal znacznie przeważa nad przyczynowym. Pojawiają się jednak wątpliwości, czy kierunki badań i postępu są adekwatne do potencjału naszych mózgów i czy zadowalają potrzeby chorych, wymagających naszej pomocy. Gdyby



Rycina 9. Odwiedziny prof. Hermana w klinice, od lewej siedzą: Teofan Domżał, Eufemiusz Herman, Mirosława Hołyst, Barbara Radzikowska; od lewej stoją: Jolanta Gierczak, Włodzimierz Szepielow, Henryk Szymański, Bożena Zaleska, Eugeniusz Jaszczuk, Stanisław Zalejski, dwójce kursantów, Elżbieta Orłowska, Waldemar Pakszys, dwaj kursanci, Danuta Zajkowska, Halina Milczarek, kursant, Janusz Kwaucki.



Rycina 10. Autor – kierownik Kliniki Neurologicznej WAM w Warszawie 1985 r.

ludzkość wydawała tyle pieniędzy na postęp w ratowaniu ludzi, ile wydaje na ich zabijanie, to postęp ten byłby daleko większy. Klątwa rzucona na ludzkość od czasów Kaina i Abła wciąż działa i jest silniejsza od rozumu. Natura wciąż rodzi psychopatów potrafiących kierować masami ludzkim za pomocą obłądnych ideologii i maszyny propagandy. „Ludzkość głupiej hurtowo, a mądrzej detalicznie” – przypomniała kiedyś w wywiadzie polska noblistka Wisława Szymborska.

Galileusz powiedział, że nie po to Bóg dał człowiekowi rozum, by się nim nie posługiwać. Uczni twierdzą, że tylko 10% naszego mózgu jest wykorzystywana w życiu codziennym. Mam nadzieję, że znajdą się tacy, którzy wykorzystają cały potencjał mózgu, by ocalić naszą planetę od zagłady.



SPRAWOZDANIE Z 20. EDYCJI INTERNATIONAL VASCULITIS AND ANCA WORKSHOP 2022

Report of the 20-th International Vasculitis and Anca Workshop 2022



Aleksandra Rymarz

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Dializoterapii, Polska

Aleksandra Rymarz –  0000-0002-1844-9872

Streszczenie: 20. edycja International Vasculitis and ANCA Workshop odbyła się w dniach 3-6 kwietnia 2022 r. w Dublinie. To największy międzynarodowy kongres dotyczący układowych zapaleń naczyń, na którym prezentowane były wyniki najnowszych badań klinicznych dotyczących tej grupy chorób, a wykłady wygłosili prelegenci z kluczowych ośrodków zajmujących się ich leczeniem. W ramach tego wydarzenia odbyły się również sesje z wykładami dla pacjentów, których reprezentowały stowarzyszenia pacjentów Vasculitis International oraz Vasculitis Foundation. Główne tematy wystąpień koncentrowały się na nowych, biologicznych terapiach zapaleń naczyń różnego kalibru. Prezentowane były wyniki badań dotyczących preparatów, których mechanizm działania związany jest z blokadą cząsteczki C5a dopełniacza. Podsumowano również wyniki wszystkich części badania MAINRITSAN dotyczącego stosowania rituximabu w terapii podtrzymującej zapaleń naczyń związanych z przeciwciałami ANCA. Pozostałe zagadnienia dotyczyły między innymi: monitorowania terapii biologicznych, odmienności leczenia osób starszych, przebiegu klinicznego ANCA negatywnych zapaleń naczyń.

Abstract: 20-th International Vasculitis and ANCA Workshop took place in Dublin on 3-6 April 2022. It was the largest international congress focused on systemic vasculitis. During this event the results of the newest clinical trials were presented by the representatives of major, specialized international centers. The main event was preceded by the series of lectures dedicated for the patients who were represented by the patient's associations such as Vasculitis International and Vasculitis Foundation. The main lectures were focused on new, biologic therapies of vasculitis of various caliber. The results of the clinical trials regarding agents which mode of action is associated with C5a blockade were presented. The summary of all parts of MAINRITSAN study was also discussed during the congress. This study was concerned on maintenance therapy with rituximab in ANCA associated vasculitis (AAV). The remaining lectures were concentrated on biologic therapies monitoring, complications of therapy AAV in elderly patients, clinical course of ANCA negative vasculitides.

Słowa kluczowe: International Vasculitis and ANCA Workshop, zapalenia naczyń.

Keywords: 20-th International Vasculitis and ANCA Workshop, vasculitis.

DOI 10.53301/lw/161071

Praca wpłynęła do Redakcji: 08.02.2023

Zaakceptowano do druku: 09.02.2023

Autor do korespondencji:

Aleksandra Rymarz
Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Dializoterapii, Warszawa
e-mail: arymarz@wim.mil.pl

W dniach 3-6 kwietnia 2022 r. w Dublinie odbyła się 20. edycja konferencji International Vasculitis and ANCA Workshop. Przewodniczącymi konferencji byli prof. Mark Little (Trinity Health Kidney Centre, Nephrology, St. James Hospital, Dublin) oraz dr Michael Clarkson (Cork University Hospital). To największy międzynarodowy kongres dotyczący układowych zapaleń naczyń, na którym prezentowane były wyniki najnowszych badań klinicznych dotyczących tej grupy chorób, a wykłady wygłosili prelegenci z kluczowych ośrodków zajmujących się ich leczeniem z całego świata. Specyfika zapaleń naczyń oraz różnorodność objawów klinicznych powoduje, że leczeniem tej grupy chorych zajmują się lekarze róż-

nych specjalności. W związku z tym gośćmi kongresu byli lekarze nefrologi, reumatolodzy, immunolodzy.

Prof. Benjamin Terrier (Hôpital Cochin, Paryż) podsumował wyniki wszystkich trzech części kluczowego badania MAINRITSAN dotyczącego terapii podtrzymującej z zastosowaniem rituximabu u chorych z zapaleniami naczyń związanymi z obecnością przeciwciał ANCA (ANCA associated vasculitis, AAV). Rituximab, przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko cząsteczce CD20 obecnej na limfocytach B, jest jedną z opcji w terapii podtrzymującej AAV. Najważniejsza konkluzja wynikająca z wszystkich części wspomnianego badania zawiera się



Rycina 1. Konferencja 20-th International Vasculitis and ANCA Workshop 2022.

w stwierdzeniu, iż rituximab powinien być złotym standardem w terapii podtrzymującej zapaleń naczyń związanych z przeciwciałami ANCA.

Kolejna seria wykładów dotyczyła leków działających na układ dopełniacza. Prof. Peter Merkel (University of Pennsylvania) przedstawił wyniki badania z użyciem cząsteczki vilobelimab w leczeniu AAV. Vilobelimab, przeciwciało monoklonalne, łącząc się z cząsteczką C5a dopełniacza, blokuje jej biologiczne działanie. Wyniki badania wydają się obiecujące w zakresie możliwości za-



Rycina 2. Trinity College, Dublin.



Rycina 3. Trinity College, Dublin.

stąpienia przewlekłej terapii glikokortykosteroidami tym nowym lekiem. Kolejnym wykładem z zakresu terapii blokującej układ dopełniacza były wykłady prof. Annette Bruchfeld (Karolinska Institute, Sztokholm). Dotyczyły one leku avacopan, którego mechanizm działania polega na blokadzie receptora dla cząsteczki C5a dopełniacza. Preparat ma postać doustną, co jest jego dodatkową zaletą. Przedstawione wyniki badania ADVOCATE dotyczyły korzystnego wpływu leku na poprawę czynności nerek oraz redukcję białkomoczu u chorych z zajęciem nerek w przebiegu AAV. Również prof. David Jane (University



Rycina 4. Trinity College, Long Room.



Rycina 5. Trinity College, Long Room.

of Cambridge) przedstawił podobne, obiecujące dane dotyczące wpływu avacopanu na czynność nerek.

Dr Reza Zonozi (Massachusetts General Hospital) przedstawił wyniki badania omawiające przedłużoną terapię podtrzymującą (powyżej 2 lat) z użyciem rituximabu u chorych z AAV. Podanie leku uzależnione było od wzrostu przeciwciał ANCA lub od wzrostu liczby limfocytów B. Dr Mark McClure (University Of Cambridge) przedstawił wyniki analizy efektów leczenia osób starszych (powyżej 75. roku życia) cierpiących na AAV.

Przed oficjalnym rozpoczęciem kongresu odbyły się również wykłady dla pacjentów w formie stacjonarnej oraz on-line. Na kongresie obecne były również międzynarodowe stowarzyszenia pacjentów z układowymi zapaleniami naczyń, takie jak Vasculitis International oraz Vasculitis Foundation.

Ponieważ kongres odbywał się w Dublinie dodatkową korzyścią było obejrzenie słynnej XVI-wiecznej uczelni Trinity College oraz jej imponującej biblioteki posiadającej w swoich zbiorach 700 000 woluminów z Book of Kells na czele – jednym z najcenniejszych iluminowanych manuskryptów średniowiecznych.



JESTEŚMY GOTOWI NA WYZWANIA WSPÓŁCZESNOŚCI

We are ready for the challenges of modern times



Grzegorz Gielerak¹, Zuzanna Chodzeńska²

1. Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Dyrektor Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego, Polska
2. Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Redakcja „Lekarza Wojskowego”, Biuro Zastępcy Dyrektora ds. Naukowych, Polska

Streszczenie: 27 listopada 2022 roku Wojskowy Instytut Medyczny obchodził 20. rocznicę powstania. Dyrektor Instytutu gen. prof. Grzegorz Gielerak przybliżył w wywiadzie dotychczasowe dokonania oraz wyzwania stojące w najbliższych latach przed Wojskowym Instytutem Medycznym – Państwowym Instytutem Badawczym.

Abstract: On November 27, 2022, the Military Institute of Medicine celebrated its 20th anniversary. In an interview, the Director of the Institute, General Professor Grzegorz Gielerak, presents the achievements to date and the challenges facing the Military Institute of Medicine – National Research Institute in the coming years.

Słowa kluczowe: Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, wojska medyczne.

Keywords: Military Institute of Medicine – National Research Institute, medical troops.

DOI: 10.53301/lw/162739

Praca wpłynęła do Redakcji: 28.03.2023

Zaakceptowano do druku: 28.03.2023

Autor do korespondencji:

Zuzanna Chodzeńska

Wojskowy Instytut Medyczny – Państwowy Instytut Badawczy, Redakcja „Lekarza Wojskowego”, Biuro Zastępcy Dyrektora ds. Naukowych, Warszawa
e-mail: zchodzenska@wim.mil.pl

Rozmowa z gen. broni prof. dr. hab. n. med. Grzegorzem Gielerakiem, dyrektorem Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowego Instytutu Badawczego.

Jesienią zeszłego roku WIM-PIB skończył 20 lat. Jak zmienił się Instytut w tym czasie?

27 listopada 2002 roku rozporządzeniem Ministra Obrony Narodowej utworzono jednostkę badawczo-rozwojową Wojskowy Instytut Medyczny. WIM stał się publicznym zakładem opieki zdrowotnej. Od tego momentu oprócz leczenia, głównym przedmiotem jego działalności jest prowadzenie badań naukowych i prac rozwojowych w zakresie nauk medycznych, z uwzględnieniem potrzeb Sił Zbrojnych Rzeczypospolitej Polskiej. Wojskowy Instytut Medyczny stał się jednym z największych, wieloprofilowych, o najwyższym stopniu referencyjności, akredytowanych placówek ochrony zdrowia w Polsce. Jest centralnym ośrodkiem klinicznym, dydaktycznym, konsultacyjnym i naukowo-badawczym wojskowej służby zdrowia. Ma akredytację ministra zdrowia oraz systemy zarządzania jakością w zakresie normy ISO i AQAP.

Naukowcy z WIM dążą do znalezienia rozwiązań problemów uznawanych za priorytetowe dla rozwoju nauki i gospodarki. Do strategicznych kierunków badań WIM w obszarze zagrożeń zdrowotnych należą chorobotwórczość, noweliki oraz medycyna regeneracyjna. Ważnym obszarem działalności badawczej są prace rozwojowe, związane z ochroną i przetrwaniem na polu walki, w ramach kierunku bezpieczeństwo i obronność państwa.



Rycina. Gen. broni prof. dr. hab. n. med. Grzegorz Gielerak.

Na jakiej płaszczyźnie widzi Pan największą zmianę, która dokonała się w WIM?

Okres minionego 20-lecia odznaczał się intensywnym rozwojem technologicznym jednostki, i to w bardzo wielu dziedzinach – od obszarów medycyny zajmujących się przeciwdziałaniem skutkom chorób cywilizacyjnych, poprzez medycynę pola walki, regeneracyjną, telemedycynę oraz chirurgię robotyczną. W WIM funkcjonuje od dwóch lat Centrum Chirurgii Robotycznej, wyposażone w dwa najnowszej generacji roboty operacyjne da Vinci Xi, umożliwiające przeprowadzanie niezwykle

skomplikowanych procedur operacyjnych przy użyciu minimalnie inwazyjnych technik. Dziś jesteśmy pierwszym szpitalem w Polsce posiadającym dwa zestawy operacyjne, na których specjaliści WIM wykonali już ponad 500 zabiegów w aż siedmiu dziedzinach medycyny.

WIM dysponuje również własnym zapleczem laboratoryjnym w obszarach nauk podstawowych. Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych realizuje badania nad mechanizmami chorób cywilizacyjnych, takich jak nowotwory, choroby serca, czy cukrzyca, a także prace mające na celu opracowanie innowacyjnych metod ich leczenia.

Jesteśmy jednym z liderów wykorzystania telemedycyny m.in. w kardiologii. Przykładem takich działań jest platforma Amulet do pozyskiwania, gromadzenia i analizy danych medycznych, wykorzystująca modele wspierające diagnozę i leczenie chorych z niewydolnością serca, rozwój narzędzi teliagnostyki i telenadzoru kardiologicznego.

Ogromny postęp nastąpił też w cyfryzacji. Na początku Instytut korzystał z jednego, a potem z kilku serwerów. WIM dzisiaj, to ponad 300 pracujących serwerów i zasoby liczone w petabajtach danych, utrzymywane w ciągłej pracy 24 godziny na dobę.

Ostatni rok był wyjątkowo intensywny w historii WIM. Jakie dokonania uznaje Pan za priorytetowe?

W minionym roku, dzięki wsparciu Ministerstwa Obrony Narodowej, kontynuowaliśmy wieloletni program rozbudowy i modernizacji instytutu-szpitala, w ramach którego kolejne kliniki i zakłady pozyskały nowoczesny sprzęt służący diagnostyce i terapii chorych. Dalszej poprawie uległy warunki udzielania świadczeń opieki zdrowotnej, a także jakość, komfort i bezpieczeństwo pracy. Dzięki realizowanym konsekwentnie oraz z wielkim rozmachem inwestycjom kapitał własny instytutu przekroczył w ostatnim roku kwotę miliarda złotych, klasyfikując jednostkę kolejny rok z rzędu jako najlepiej wyposażony, zasobny podmiot leczniczy w kraju.

Rok 2022 zainaugurowaliśmy otwarciem szpitala w Legionowie, który jest filią Wojskowego Instytutu Medycznego. Nowy podmiot leczniczy na mapie Mazowsza jest w stanie hospitalizować równocześnie 90 chorych w kluczowych z punktu widzenia potrzeb zdrowotnych mieszkańców specjalnościach: kardiologii, chirurgii, ginekologii, okulistyce i intensywnej terapii. Dysponuje rozwiniętą bazą łóżek intensywnego nadzoru, które stanowią 30% ogólnej liczby przewidzianych do hospitalizacji miejsc.

To również okres, w którym uzyskaliśmy formalne potwierdzenie – kolejny raz z rzędu – bardzo dobrej pozycji naukowej instytutu, wyrażonej przyznaniem kategorii A w ocenie parametrycznej jednostek naukowych.

Zgromadzone przez lata kapitał i zdolności, szczególnie ważne dla planowania i realizacji polityki państwa, których wykonywanie jest niezbędne dla zapewnienia obronności i bezpieczeństwa publicznego znalazły potwierdzenie w otrzymaniu przez WIM statusu Państwowego Instytutu Badawczego. Znacząco zwiększa to możliwości realizacji zadań szczególnie ważnych dla planowania i polityki bezpieczeństwa państwa. Jednocześnie otwiera nowy okres w działalności Wojskowego Instytutu Medycznego.

Podczas uroczystości 20-lecia utworzenia Wojskowego Instytutu Medycznego prezydent Andrzej Duda poinformował, że MON przy wsparciu BBN i z udziałem WIM pracuje nad stworzeniem nowego rodzaju wojsk – Komponentu Wojsk Medycznych. Czy może nam Pan przybliżyć ten projekt?

Głównym zadaniem przewidzianym dla Komponentu Wojsk Medycznych jest zabezpieczenie gotowości operacyjnej Sił Zbrojnych poprzez wsparcie medyczne pozostałych rodzajów wojsk, kształcenie i szkolenie medyczne, tworzenie oraz transfer wiedzy poprawiającej przygotowanie oraz przetrwanie żołnierza na polu walki. Aby zrealizować w sposób sprawny i uporządkowany te zadania, struktura wojskowej służby zdrowia, powinna zostać zorganizowana na nowo – osadzona na fundamencie procesowych i produktowych innowacji, przetwarzających stosowane do tej pory standardy organizacyjne – nierzadko abstrakcyjne konstrukty ignorujące rzeczywistość. Za najbardziej celowe uznać należy utworzenie na terenie kraju sieci szpitali, których rozmieszczenie, liczba oraz posiadane kompetencje i zdolności będzie odpowiadać prognozowanej wielkości strat sanitarnych w wyniku potencjalnego konfliktu zbrojnego na terytorium kraju. Profil jednostek tworzących krajową sieć szpitali systemu bezpieczeństwa państwa powinien obejmować podmioty gotowe do prowadzenia kompletnej – wielospecjalistycznej pomocy medycznej, ze szczególnym naciskiem na kontekst związany z leczeniem obrażeń pola walki.

Kolejna sprawa to stworzenie warunków, które pozwolą intensywnie i nowocześnie kształcić profesjonalne kadry Sił Zbrojnych i jednocześnie zatrzymać najbardziej kompetentne, kreatywne i oddane służbie jednostki. Logiczna i spójna droga kariery medyka wojskowego, wpisana w pragmatykę wojskową, powinna być wypadkową osobistych aspiracji oraz potrzeb Sił Zbrojnych rozwijanych od samego początku służby w toku intensywnego szkolenia fachowego, prowadzonego na bazie wiódzących krajowych i zagranicznych instytucji wojskowych.

Czy ostatnie 20 lat rozwoju Wojskowego Instytutu Medycznego przygotowało jednostkę do współpracy przy takim zadaniu?

Zdecydowanie tak. Mogę z pełną odpowiedzialnością powiedzieć, że jesteśmy gotowi na tak wymagające wyzwania współczesności.



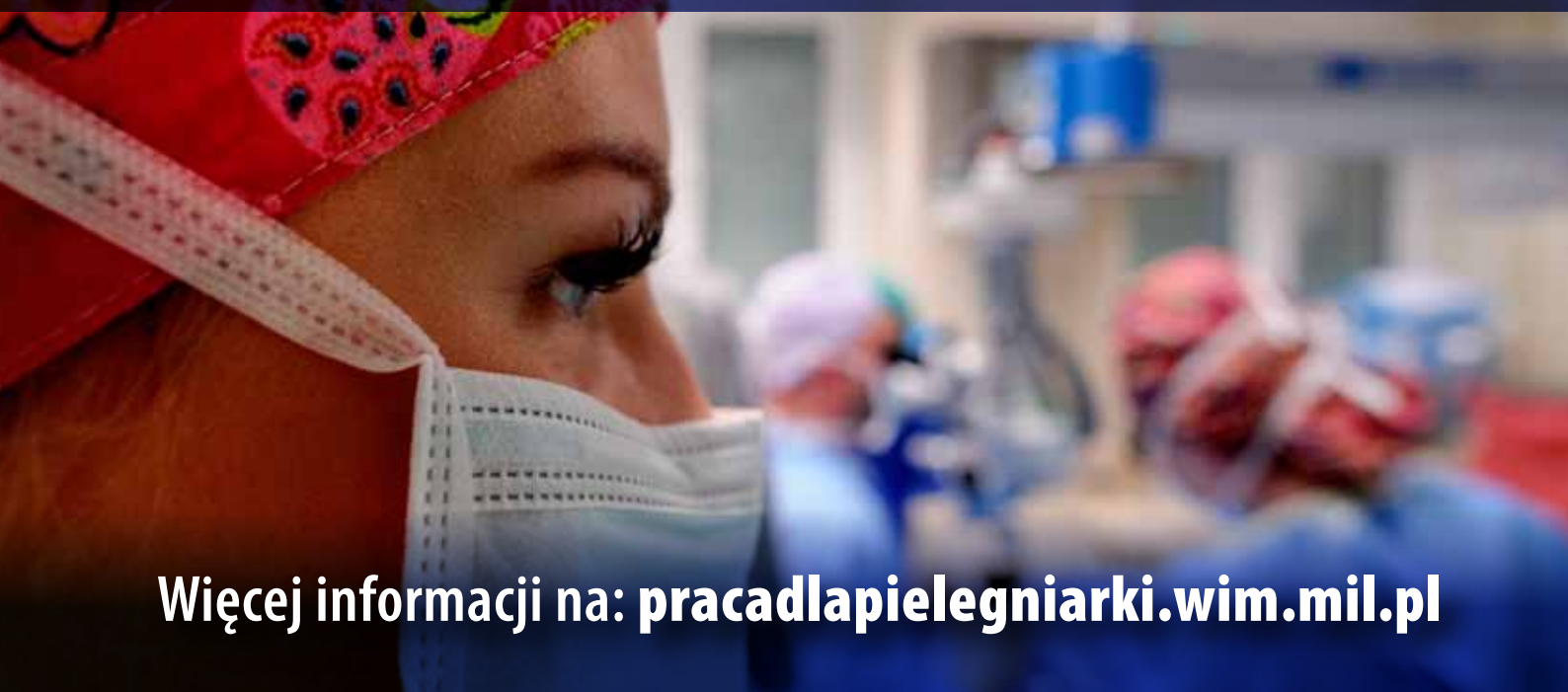
Wojskowy Instytut Medyczny Państwowy Instytut Badawczy



zaprasza absolwentki pielęgniarstwa po studiach magisterskich i licencjackich. Oferujemy innowacyjną ścieżkę rozwoju zawodowego i szybką drogę awansu.

- Chcesz bezpłatnie podnosić kwalifikacje zawodowe,
 - szybko uzyskać specjalizację,
- doksztalać się w miejscu pracy, bez wędrowek po szpitalach?

Zapytaj o pracę w WIM-PIB.



Więcej informacji na: pracadlapielegniarki.wim.mil.pl