

ANNALES
ACADEMIAE MEDICAE STETINENSIS

ANNALS
OF THE POMERANIAN MEDICAL UNIVERSITY

R O C Z N I K I

POMORSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ

W SZCZECINIE

TOM LII



Annales Academiae Medicae Stetinensis – Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie ukazują się od 1951 roku. Są wydawnictwem naukowym, ciągłym, recenzowanym i cytowanym m.in. w Index Medicus (Medline), Biological Abstract, Chemical Abstract. Dostępne w ponad 150 bibliotekach krajowych i zagranicznych.

Do druku przyjmowane są prace oryginalne i pogładowe oraz prezentujące ważną kazuistykę z zakresu nauk podstawowych, klinicznych oraz humanistyki medycznej autorów z Pomorskiej Akademii Medycznej oraz z innych ośrodków w kraju i za granicą.

Zamieszczony materiał publikowany jest i będzie według przyjętego schematu wydawniczego, w języku polskim lub angielskim, z krótkimi streszczeniami odpowiednio dla języka polskiego – po angielsku, a dla języka angielskiego – po polsku. Każdy tom obejmuje 3 części stałe: oryginalne prace naukowe o objętości 1–1,5 arkusza wydawniczego, w tym skondensowane rozprawy doktorskie, doniesienia naukowe itp.; kronikę PAM za poprzedni rok wraz z przemówieniem rektora na inauguracji roku akademickiego i spis jednostek naukowo-dydaktycznych oraz bibliografię dorobku piśmienniczego uczelni.

Od tomu 50 *Roczników PAM* zostały wprowadzone zmiany w edycji, które omówiono w regulaminie publikowania prac.

REGULAMIN PUBLIKOWANIA PRAC*

w *Annales Academiae Medicae Stetinensis – Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej*

Redakcja *Annales Academiae Medicae Stetinensis – Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej* przyjmuje oryginalne prace naukowe, w trybie ciągłym. Można publikować materiały ze wszystkich dziedzin nauk medycznych, również te, które są zbyt obszerne na zamieszczenie w czasopiśmie specjalistycznych.

Materiał powinien mieć nie więcej niż 20–25 stron maszynopisu formatu A-4, łącznie z rycinami, tabelami, podpisami i piśmiennictwem tylko cytowanym w tym dziele (ograniczonymi do minimum) oraz streszczeniami.

Manuskrypt napisany w języku polskim i angielskim, na białym papierze, bez wyróżnień. Zadrukowana może być tylko pierwsza strona kartki, druga pozostaje niezadrukowana (czysta). Używać należy 12-punktowej czcionki, z zachowaniem podwójnego odstępu między wierszami. Strony numerować kolejno, zaczynając od tytułowej. Numery stron umieszczać w dolnym, prawym rogu każdej strony. Zachować kolejność układu: strona tytułowa, tekst podstawowy, materiał ilustracyjny, piśmiennictwo.

Strona tytułowa

Imię i nazwisko autora (autorów); tytuł pracy w dwóch językach; miejsce uzyskania stopnia naukowego (dotyczy doktoratów) lub pracy autora (nazwa i adres placówki naukowej, tytuł i stopień naukowy jej kierownika); słowa kluczowe w dwóch językach wymienianych w katalogu MeSH; miejsce i nazwa instytucji, gdzie wykonano pracę; szczegółowe dane dotyczące dysertacji (dotyczy prac doktorskich – promotor, liczba: stron, rycin, tabel i piśmiennictwa).

Tekst podstawowy

S u m m a r y: streszczenie pracy w języku angielskim i/lub innym. Powinno się w nim znaleźć: cel badania lub próby, podstawowe procedury (wybór badanych w doświadczeniu, metody obserwacji lub analizy), główne wyniki (istotne dane i ich statystyczne znaczenie) oraz wnioski. Należy podkreślić nowe i istotne aspekty pracy. **W s t ę p:** podać cel artykułu i podsumować uzasadnienie wykonanego badania lub obserwacji z możliwością przywołania piśmiennictwa. **M e t o d y:** opisać w sposób łatwo zrozumiały dobór materiału badawczego oraz zastosowanych metod i statystyki. **W y n i k i:** przedstawić w tekście w logicznej kolejności. Nie powtarzać danych z tabel i rycin, podkreślić i podsumować tylko ważne obserwacje. **D y s k u s j a:** podkreślić należy nowe oraz ważne aspekty badania i wynikające z nich wnioski, nie powtarzać szczegółowo danych przedstawionych w rozdziałach Wstęp i Wyniki. Porównać własne obserwacje z innymi autorami, którzy wykonali zbliżone badania. **W n i o s k i:** powiązać z celami badania i przedstawić w sposób zwięzły. **S t r e s z c z e n i e s t r u k t u r a l n e** (wstęp, materiał i metody, wyniki, konkluzje): w języku podstawowym pracy, zawierające kwintesencję tego, co jest w tekście, od 200 do 250 słów. **S k r ó t y** użyte w tekście po raz pierwszy należy podać w pełnym brzmieniu. Nie należy rozpoczynać zdania od skrótu. **L i c z b o w e w a r t o ś c i i s y m b o l e** wszystkich wielkości winny być podane wg międzynarodowego układu jednostek SI. **S ł o w a k l u c z o w e:** 3–6 terminów, nie powinny powtarzać słów zawartych w tytule pracy, wymienianych w katalogu MeSH.

Materiał ilustracyjny

Obejmuje ryciny (kreski – wykresy, diagramy oraz siatki – zdjęcia), tabele, tablice, opatrzone tytułami (pod rycinami, nad tabelami). Powinny być dostarczone na oddzielnych kartkach, z oznaczeniem góra–dół i kolejności numeracji wg cytowania w tekście. Osobną numerację posiadają ryciny i osobną tabele. Fotografie mikroskopowe powinny posiadać wewnętrzną skalę, a stosowane symbole, strzałki lub litery – wyraźnie uwidocznione na tle. Kolorów używać tylko wtedy, jeśli barwa czarno-biała nie odda istoty przekazu. Tytuły oraz inne informacje wewnętrzne na rycinach i w tabelach należy podać w języku polskim i angielskim. Na marginesie maszynopisu zaznaczyć numery tabel i rycin w miejscu, gdzie mają być wstawione.

Piśmiennictwo

Numerując, należy podawać w kolejności cytowania. Każdy numer piśmiennictwa należy zapisywać od nowej linii. Pozycji nie należy dublować. Cytowane w tekście piśmiennictwo podać w nawiasach kwadratowych, ze spacją między numerami. Podajemy nazwisko autora/-ów z pierwszymi literami imion. Przytaczamy wszystkich autorów, jeśli jest ich sześciu. Powyżej tej liczby – sześciu z dopiskiem *et al.* Tytuły periodyków powinny być skracane zgodnie ze sposobem przyjętym w Index Medicus (Medline).

Redakcja wymaga przedłożenia pracy w dwóch egzemplarzach wraz z wersją elektroniczną (dyskietka lub CD-ROM) z zaznaczeniem programu zapisu. Tekst powinien być zapisany w programie Word.

* Opracowany na podstawie wytycznych Międzynarodowego Komitetu Wydawców Czasopism Medycznych, opublikowanych w *Problemach Medycyny Nuklearnej* 1997, 11 (21), 67–87.

ANNALES
ACADEMIAE MEDICAE STETINENSIS

ANNALS
OF THE POMERANIAN MEDICAL UNIVERSITY

R O C Z N I K I

POMORSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ
W SZCZECINIE

TOM LII



Redaktor naczelny
Editor-in-Chief
prof. dr hab. n. med. IRENEUSZ KOJDER

Międzynarodowa Rada Naukowa
International Scientific Council
Prof. Dr. *Raymond Ardaillou* (Paryż, F), prof. dr hab. n. med. *Andrzej Cretti*,
Prof. Dr. *Antonio J.G. Ferreira* (Lizbona, P), prof. dr hab. n. med. *Janusz Fydryk*,
Prof. Dr. *Alan Gewirtz* (Filadelfia, USA), Prof. Dr. *Yücel Kanpolat* (Ankara, TR),
prof. dr hab. n. med. *Irena Karłowska*, Prof. Dr. *Koichi Kono* (Osaka, J),
prof. dr hab. n. med. *Ireneusz Kojder*, prof. dr hab. n. med. *Tadeusz Marcinkowski*,
Prof. Dr. *Falk Oppel* (Bielefeld, D), Prof. Dr. *Mary Osborn* (Getynga, D),
prof. dr hab. n. med. *Andrzej Paradowski*, Prof. Dr. *Wolfgang Straube* (Rostok, D),
prof. dr hab. n. med. *Eugeniusz Szmatoch*

Komitet redakcyjny
Editorial committee
prof. dr hab. n. med. *Dariusz Chlubek*, prof. dr hab. n. med. *Maria Jastrzębska*,
prof. dr hab. n. med. *Krystyna Pilarska*, prof. dr hab. n. med. *Maria Syryńska*,
prof. dr hab. n. med. *Andrzej Żyluk*, dr hab. n. med. *Aleksandra Kładna*,
dr hab. n. med. *Anna Machoy-Mokrzyńska*, dr hab. n. med. *Alicja Walczak*,
mgr *Dagmara Budek*, mgr *Bożena Gottschling*

Tłumacz redakcji
Editorial translator
dr n. med. *Tomasz Dutkiewicz*

Redakcja techniczna i korekta
Technical editor and proofreader
Hubert Czekala
Bożena Gottschling
Elżbieta Przerwa
Ryszard Sędkiewicz

© Copyright by Pomorska Akademia Medyczna, 2006

Adres redakcji
Editorial office address
Pomorska Akademia Medyczna
70-204 Szczecin, ul. Rybacka 1
www.ams.edu.pl
wydawnictwo@pam.szczecin.pl

Wydanie publikacji dofinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego
This publication was partly financed by the Ministry of Science and Higher Education

SPIS TREŚCI

1.	<i>Sami Titi</i> Amplifikacja <i>HER-2</i> i ekspresja p185 w komórkach inwazyjnych raków sutka u kobiet	5
2.	<i>Agnieszka Kolasa</i> Najądrze w doświadczalnym modelu deficytu DHT: immunolokalizacja ER α i ER β w komórkach nabłonkowych najądrza szczura. Badania in vivo i in vitro.	13
3.	<i>Marek Masiuk</i> Ocena ekspresji nukleoiny i jej wewnątrzjądrowej dystrybucji w estrogeno-ujemnych i estrogeno-dodatnich rakach sutka u kobiet za pomocą laserowego cytometru	23
4.	<i>Iwona Steiner, Magdalena Sobieska, Beata Pucher, Michał Grzegorowski, Włodzimierz Samborski</i> Badanie stężeń białek ostrej fazy u dzieci z alergicznym nieżytem nosa	33
5.	<i>Magdalena Sobieska, Iwona Steiner, Beata Pucher, Michał Grzegorowski, Włodzimierz Samborski</i> Glikozylacja białek ostrej fazy u dzieci z zapaleniem migdałków podniebiennych i objawami alergii	39
6.	<i>Elżbieta Gawrych, Irena Mazurkiewicz, Artur Kwas, Jerzy Węgrzynowski</i> Torbiele jajnika u noworodków w aspekcie diagnostyki płodowej i późniejszej.	45
7.	<i>Aneta Iwona Gziut</i> Porównawcza ocena dystrybucji blaszki miażdżycowej w pniu głównym lewej tętnicy wieńcowej oraz proksymalnych odcinkach lewej tętnicy zstępującej i okalającej u chorych kierowanych na angioplastykę wieńcową	51
8.	<i>Agnieszka Kordek, Lidia Kołodziejczyk, Beata Pawlus, Beata Łoniewska, Wanda Kuźna-Grygiel, Jacek Rudnicki</i> Pneumocystoza noworodków – aktualne wyzwanie w intensywnej terapii	65
9.	<i>Maria Pietrzak-Nowacka, Krzysztof Safranow, Halina Rulkowska, Marek Brzosko, Leszek Domański, Grażyna Dutkiewicz, Małgorzata Ławniczak, Edyta Płońska, Eugeniusz Szmatloch</i> Retrospektywna analiza czynników ryzyka pacjentów z chorobą niedokrwienną serca hospitalizowanych w latach 1983–1992	71
10.	<i>Danuta Karczewicz, Wojciech Lubiński, Karolina Podborczyńska-Jodko, Ewa Spoz</i> Odwartwienie siatkówki w oczach po operacji zaćmy metodą fakoemulsyfikacji	79
11.	<i>Monika Modrzejewska</i> Zastosowanie technik ultrasonograficznych w diagnostyce retinopatii wcześniaczej.	83
12.	<i>Barbara Stawska</i> Stomatologia geriatryczna – potrzeby, problemy i oczekiwania stomatologiczne pensjonariuszy domów pomocy społecznej	89
13.	<i>Eliza Górniak</i> Resorpcja cementu korzeniowego w pomiarach wskaźników resorpcji	99
14.	<i>Aleksandra Gawlikowska-Sroka</i> Analiza symetrii i kierunku zmian w budowie czaszek wybranych populacji dziejowych na podstawie badań radiologicznych i antropometrycznych	107
15.	<i>Dariusz Kuczyński, Danuta Kosik-Bogaćka, Wanda Kuźna-Grygiel</i> Świadomość ekologiczna mieszkańców Szczecina	119
16.	<i>Łukasz Henszel, Wanda Kuźna-Grygiel</i> Roztocze kurzu domowego w etiologii reakcji alergicznych	123

CONTENTS

1.	<i>Sami Titi</i> HER-2 amplification and p185 expression in invasive breast cancer cells in women	5
2.	<i>Agnieszka Kolasa</i> Epididymis in an experimental model of DHT deficiency: immunolocalization of ER α and ER β in rat epididymal epithelial cells. In vivo and in vitro studies	13
3.	<i>Marek Masiuk</i> Expression and intranuclear distribution of nucleolin in estrogen receptor-negative and estrogen receptor-positive breast cancer in women measured by laser scanning cytometry	23
4.	<i>Iwona Steiner, Magdalena Sobieska, Beata Pucher, Michał Grzegorowski, Włodzimierz Samborski</i> Examination of acute phase proteins concentrations in children with allergic rhinitis	33
5.	<i>Magdalena Sobieska, Iwona Steiner, Beata Pucher, Michał Grzegorowski, Włodzimierz Samborski</i> Glycosylation profile of selected acute phase proteins in children with chronic tonsillitis and allergic symptoms	39
6.	<i>Elżbieta Gawrych, Irena Mazurkiewicz, Artur Kwas, Jerzy Węgrzynowski</i> Antenatal diagnosis and postnatal management of ovarian cysts	45
7.	<i>Aneta Iwona Gziut</i> Comparative analysis of atherosclerotic plaque distribution in the left main coronary artery and proximal segments of left anterior descending and left circumflex arteries in patients qualified for percutaneous coronary angioplasty	51
8.	<i>Agnieszka Kordek, Lidia Kołodziejczyk, Beata Pawlus, Beata Łoniewska, Wanda Kuźna-Grygiel, Jacek Rudnicki</i> Pneumocystis pneumonia in newborns: a challenge in contemporary intensive care	65
9.	<i>Maria Pietrzak-Nowacka, Krzysztof Safranow, Halina Rulkowska, Marek Brzosko, Leszek Domański, Grażyna Dutkiewicz, Małgorzata Ławniczak, Edyta Płońska, Eugeniusz Szmatloch</i> Retrospective analysis of the risk factors in patients with ischaemic heart disease hospitalized in the years 1983–1992	71
10.	<i>Danuta Karczewicz, Wojciech Lubiński, Karolina Podborczyńska-Jodko, Ewa Spoz</i> Pseudophakic retinal detachment after cataract surgery by phacoemulsification	79
11.	<i>Monika Modrzejewska</i> The use of ultrasonographic techniques for the diagnosis of retinopathy of prematurity	83
12.	<i>Barbara Stawska</i> Geriatric dentistry: dental needs, problems, and expectations of residents of care homes	89
13.	<i>Eliza Górniak</i> Resorption of root cement studied with resorption indices	99
14.	<i>Aleksandra Gawlikowska-Sroka</i> Radiological and anthropometric analysis of the symmetry and direction of evolution of skulls from some historic populations	107
15.	<i>Dariusz Kuczyński, Danuta Kosik-Bogacka, Wanda Kuźna-Grygiel</i> Environmental awareness of the residents of Szczecin	119
16.	<i>Łukasz Henszel, Wanda Kuźna-Grygiel</i> House dust mites in the etiology of allergic diseases	123

SAMI TITI

AMPLIFIKACJA *HER-2* I EKSPRESJA p185 W KOMÓRKACH INWAZYJNYCH RAKÓW SUTKA U KOBIET*

HER-2 AMPLIFICATION AND p185 EXPRESSION IN INVASIVE BREAST CANCER CELLS IN WOMEN*

Zakład Patomorfologii Pomorskiej Akademii Medycznej
ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Wenancjusz Domagała*

Summary

Introduction: The objective of the investigation was to describe p185 protein expression using immunohistochemistry (IHC) and *HER-2* gene amplification by fluorescence *in situ* hybridization (FISH), assessment being semi-quantitative and with the more precise computer image analysis, and to determine whether p185 overexpression is associated with some clinical and morphological parameters such as histological type, histological grade, axillary lymph node status, tumor size, estrogen receptor expression, proliferative index, and age in females with invasive breast carcinoma.

Material and methods: Histological preparations from 390 breast carcinomas were studied with the IHC reaction (HercepTest) based on a polyclonal anti-p185 antibody. HercepTest results classified semi-quantitatively as 2+ and 3+ were evaluated using a computer image analyzer and the p185 index was calculated. *HER-2* amplification was carried out with FISH using a unique probe (*HER-2*) with a satellite probe (CEP17). The FISH reaction was assessed routinely by counting red fluorescence signals emitted by the *HER-2* gene and additionally with AnalySIS® software (AS). The latter method showed that the mean *HER-2* amplification index in carcinomas determined as 2+ was significantly lower as compared to carcinomas defined as 3+ ($p < 0.0001$). On the other hand, the mean amplification indices of carcinomas classified as 3+ and of 2+ cancers which manifested *HER-2* amplification did not differ signifi-

cantly. High *HER-2* amplification values ($HER-2/CEP17 > 5$) were noted in a similar percentage of carcinomas classified by IHC as 2+ (45.5%) or 3+ (55.5%). No correlation was observed between the intensity of the immunohistochemical reaction to p185 as assessed by computer image analysis and the *HER-2* amplification index either in breast carcinomas classified semi-quantitatively as 2+ or 3+. The p185 index in 2+ carcinomas without *HER-2* amplification might be higher than in some cancers with *HER-2* amplification or even higher than in some carcinomas with *HER-2* amplification belonging to the 3+ class. Significant differences were noted in p185 expression between ductal and lobular carcinomas ($p = 0.0001$) and between lobular and medullar carcinomas ($p = 0.003$). Invasive ductal carcinomas revealed significant differences in p185 expression depending on histological grade (I° vs III° $p = 0.02$; II° vs III° $p = 0.02$), estrogen receptor expression ($p = 0.01$), and proliferative index ($p = 0.02$).

Key words: *HER-2* – p185 – amplification – breast cancer.

Streszczenie

Wstęp: Celem pracy było zbadanie ekspresji białka p185 za pomocą immunohistochemii (IHC) oraz amplifikacji genu *HER-2* metodą hybrydyzacji fluorescencyjnej *in situ* (FISH),

* Zwięzła wersja rozprawy doktorskiej przyjętej przez Radę Wydziału Lekarskiego Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Promotor: prof. dr hab. n. med. *Maria Chosia*. Oryginalny maszynopis obejmuje: 19 stron, 4 ryciny, 40 pozycji piśmiennictwa.

* Concise version of doctoral thesis approved by the Council of the Faculty of Medicine Pomeranian Medical University in Szczecin. Promotor: Prof. *Maria Chosia* M.D., D.M.Sc. Habil. Original typescript comprises: 19 pages, 4 figures, 40 references.

dokonanie oceny półilościowej oraz dokładniejszej analizy komputerowej obrazu, a także ustalenie czy nadekspresja p185 koreluje z niektórymi parametrami klinicznymi i morfologicznymi, jak typ histologiczny, stopień histologiczny, stan węzłów chłonnych pachowych, wielkość guza, ekspresja receptora estrogenowego, wskaźnik proliferacyjny i wiek u kobiet z inwazyjnym rakiem piersi.

Material i metody: Preparaty histologiczne uzyskane z 390 raków piersi badano przy użyciu reakcji IHC (HercepTest) opartej o poliklonalne przeciwciała anty-p185. Wynik testu HercepTest oceniony półilościowo na 2+ i 3+ oceniano przy użyciu komputerowej analizy obrazu i obliczano wskaźnik p185. Amplifikacja *HER-2* prowadzona była metodą FISH z sondą specyficzną (*HER-2*) oraz satelitarną (CEP17). Reakcję FISH oceniano przez zliczanie czerwonych impulsów fluorescencyjnych emitowanych przez gen *HER-2* i dodatkowo za pomocą programu AnalYSIS® (AS). Tą ostatnią metodą wykazano, że średni wskaźnik amplifikacji *HER-2* w rakach ocenionych jako 2+ był istotnie mniejszy niż w rakach 3+ ($p < 0,0001$). Z drugiej strony, średnie wskaźniki amplifikacji raków ocenionych jako 3+ oraz raków 2+ wykazujących amplifikację *HER-2* nie różniły się istotnie. Wysokie wskaźniki amplifikacji *HER-2* ($HER-2/CEP17 > 5$) stwierdzono w podobnym odsetku raków ocenionych metodą IHC na 2+ (45,5%) i 3+ (55,5%). Nie stwierdzono korelacji między intensywnością reakcji immunohistochemicznej na p185 ocenionej przy zastosowaniu komputerowej analizy obrazu i wskaźnikiem amplifikacji *HER-2* w rakach piersi o stopniu 2+ lub 3+ metodą półilościową. Wskaźnik p185 w rakach 2+ bez amplifikacji *HER-2* może być wyższy niż w niektórych rakach z amplifikacją lub jeszcze wyższy w rakach z amplifikacją należących do klasy 3+. Ujawniono istotne różnice w ekspresji p185 między rakiem przewodowym i zrazikowym ($p = 0,0001$) oraz między zrazikowym i rdzeniastym ($p = 0,003$). Inwazyjne raki przewodowe wykazywały istotne różnice w ekspresji p185 w zależności od stopnia histologicznego (I° vs III° $p = 0,02$; II° vs III° $p = 0,02$), ekspresji receptora estrogenowego ($p = 0,01$) i wskaźnika proliferacyjnego ($p = 0,02$).

H a s ł a: *HER-2* – p185 – amplifikacja – rak sutka.

Wstęp

Human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) jest protoonkogenem, który znajduje się na długim ramieniu chromosomu 17 (17q21) i koduje receptor dla ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu [1, 2, 3]. Gen ten koduje glikoproteinę przezbłonową o masie cząsteczkowej 185 kDa. Aktywacja protoonkogeny *HER-2* poprzez amplifikację jest najczęstszym mechanizmem prowadzącym do nadmiernej produkcji białka *HER-2* (p185), co wiąże się z nasiloną proliferacją komórek [1, 2, 3].

Rokownicze znaczenie nadekspresji *HER-2* w raku sutka po raz pierwszy opisano w roku 1987 [4]. Amplifikacja

HER-2 w komórkach raka sutka wiąże się z gorszym przebiegiem choroby (krótszy RFS i OS), zwłaszcza u chorych z przerzutami do węzłów chłonnych [5, 6, 7]. Ocena ekspresji *HER-2* w raku sutka nabrała znaczenia ze względu na możliwość wyodrębnienia grupy chorych do leczenia trastuzumabem oraz ze względu na jej znaczenie predykcyjne [8, 9, 10, 11]. Związek między amplifikacją *HER-2* a złym rokowaniem stwierdzono również w wielu innych nowotworach [12, 13, 14, 15]. Ocena ekspresji białka p185 i *HER-2* za pomocą obecnie rutynowo stosowanych metody immunohistochemicznej (IHC) i hybrydyzacji *in situ* (FISH) jest w pewnym stopniu subiektywna, stąd uzyskiwane wyniki bywają rozbieżne [16, 17, 18]. Pomimo pewnego subiektywizmu w ocenie *HER-2* metodą IHC stwierdzono związek nadekspresji białka z długością przeżycia po zabiegu operacyjnym z powodu raka sutka [16, 17, 18]. Ze względu na rokownicze i predykcyjne znaczenie oceny tego czynnika w raku sutka możliwie obiektywna ocena nadekspresji p185 i amplifikacji *HER-2* stała się ważnym problemem w onkologii. W związku z powyższym podjęto próbę oceny *HER-2* i p185 różnymi metodami, aby ustalić, które z nich pozwalają uzyskać wiarygodne i powtarzalne wyniki.

Celem pracy była ocena ekspresji białka p185 za pomocą metody IHC oraz amplifikacji genu *HER-2* za pomocą FISH w rakach inwazyjnych przewodowych sutka z zastosowaniem półilościowej i bardziej obiektywnej metody analizy, jaką jest analiza komputerowa oraz ocena związku nadekspresji p185 z typem histologicznym, ze stopniem histologicznej złośliwości raków przewodowych, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych pachowych, średnicą guza, obecnością receptora estrogenów, indeksem proliferacyjnym komórek raków przewodowych sutka i wiekiem pacjentek.

Material i metody

Material do badań stanowiły wycinki tkankowe utrwalone w 10% formalinie i zatopione w parafinie pobrane z pierwotnych inwazyjnych raków sutka od 390 pacjentek w wieku od 28 do 89 lat, operowanych na oddziale chirurgicznym Regionalnego Szpitala Onkologicznego w Szczecinie w latach 1998–2003. Raka przewodowego rozpoznano w 277 przypadkach, raka zrazikowego w 53, raka rdzeniastego w 26, inne raki w 34 przypadkach. Średnica badanych guzów sutka wahała się od 5 do 88 mm (mediana 17 mm). U 210 (54%) pacjentek nie stwierdzono przerzutów do węzłów chłonnych jamy pachowej, u pozostałych 180 (46%) stwierdzono różną liczbę przerzutów do węzłów chłonnych (od 1 do 40).

Wykrywanie białka receptorowego p185 metodą IHC

Badania ekspresji *HER-2* metodą immunohistochemiczną zostały przeprowadzone za pomocą zestawu HercepTest TM (DAKO, Dania). Skrawki tkankowe z guza sutka grubości 4 μ m odparafinowano i podgrzewano w kuchence

mikrofalowej. Następnie preparaty inkubowano z surowicą blokującą (*Peroxidase-Blocking Reagent*), po czym z króliczym przeciwciałem poliklonalnym pierwotnym (*Rabbit Anti-Human HER-2 Protein – K 5204*, DAKO, Dania) przeciwko ludzkiemu białku *HER-2*. W kolejnym etapie preparaty inkubowano z przeciwciałem łączącym (*Visualization Reagent*). Następnie nakładano substrat DAP (*diaminobenzidine tetrahydrochloride*) i podbarwiono jądra komórkowe hematoksyliną Meyera. W każdej serii badań wykonano odpowiednie kontrole dodatnie i ujemne.

Sposoby oceny reakcji immunohistochemicznej

Ocenę ekspresji p185 przeprowadzono dwiema metodami: metodą półilościową i za pomocą komputerowego analizatora obrazu (KAO). Oceny półilościowej dokonano w skali czterostopniowej, według następujących zasad: **0** (wynik ujemny), **1+** (wynik ujemny), **2+** (słabo dodatni), **3+** (silnie dodatni). Ocenę wyniku reakcji IHC za pomocą KAO wykonano przy użyciu programu Q600 qwin, przy powiększeniu $\times 400$ w komputerowym analizatorze obrazu Quantimet 600 S (Leica, Wielka Brytania) połączonym z mikroskopem (Zeiss Axiophot, Niemcy) za pomocą kamery 3CCD Color GP US 502 E (Panasonic, Japonia). Wykonano pomiary intensywności odczynu IHC komórek rakowych w preparacie kontrolnym, a następnie badany preparat poddano analizie intensywności odczynu w pikselach, co najmniej w 600 komórkach nowotworowych wykazujących barwną reakcję błonową. Wynik analizy wyliczony automatycznie był ilorazem intensywności odczynu błonowego w komórkach badanego preparatu do intensywności odczynu komórek próby kontrolnej (współczynnik p185).

Wykrywanie amplifikacji genu *HER-2* metodą FISH

Ocenę amplifikacji genu *HER-2* metodą FISH przeprowadzono za pomocą zestawu odczynników firmy Appligene Oncor (Francja). Skrawki tkankowe grubości $4\ \mu\text{m}$ odparafinowano i podgrzewano, a następnie poddawano procesowi trawienia w roztworze Proteinazy K. Hybrydyzację wykonywano poprzez nakładanie na skrawki gotowej mieszaniny sondy satelitarnej (CEP17) z sondą unikatową (*HER-2*) z odpowiednio oznakowanymi fluorochromami (*Fluorescein-Labeled Avidin/Rhodamine-Labeled Anti-Digoxigenin Antibody*, Appligene Oncor – Francja). Następnie przeprowadzano proces denaturacji oraz inkubacji. Kolejnym etapem po odwadnianiu skrawków było nakładanie roztworu DAPI/Antifade. Kontrolę stanowiła reakcja z sondą satelitarną. Amplifikację *HER-2* oceniono w mikroskopie fluorescencyjnym (Olympus BX41) z kamerą cyfrową (F-View Soft Imaging System, obiektyw $\times 100$) i oprogramowaniem AnalySIS®.

Sposoby oceny reakcji FISH

Ocenę reakcji FISH przeprowadzono dwiema metodami: metodą rutynową polegającą na zliczaniu sygnałów fluorescencji czerwonej emitowanej przez gen *HER-2*, jak i za pomocą komputerowego programu AnalySIS® (KPA),

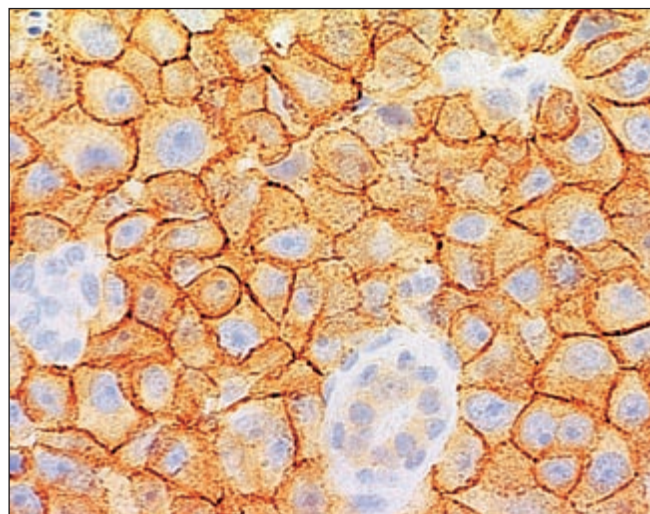
w których analizie poddawano sumę powierzchni sygnałów fluorescencji w najbardziej reprezentatywnych interfazalnych jądrach komórkowych raka (20–50 jąder) przy użyciu obiektywu $\times 100$. Wynik analizy wyliczony był automatycznie jako liczba względna stanowiąca iloraz powierzchni fluorescencji czerwonych sygnałów *HER-2* do zielonych sygnałów centromerowych (CEP17) badanego preparatu. Amplifikację uznawano przy stosunku *HER-2* do CEP17 równym 2 lub więcej [4, 16, 19, 20, 21, 22]. Zgodnie z kryteriami podanymi przez *Lehr i wsp.* [16] oraz *Tanner i wsp.* [23] podzielono przypadki wykazujące amplifikację na dwie grupy: niską amplifikację (od 4 do 12 sygnałów lub przy $HER-2/CEP17 = 2-5$) i wysoką (> 12 sygnałów lub przy $HER-2/CEP17 > 5$).

Dane dotyczące ekspresji receptora estrogenów (ER) oraz indeksu proliferacyjnego (IP) uzyskano z komputerowej bazy danych Zakładu Patomorfologii PAM.

Wyniki poddawano analizie statystycznej za pomocą oprogramowania Statistica 5.0. Stosowano testy nieparametryczne: test U Manna–Whitneya dla porównania dwóch grup danych niepowiązanych oraz test chi-kwadrat z poprawką Yatesa dla dwóch grup rozdzielonych według danego parametru. Do oceny korelacji zastosowano test rang Spearmana. Ustalono poziom istotności testu: $p < 0,05$ [24, 25].

Wyniki

W 169 (61%) rakach stwierdzono ujemny odczyn, oceniony IHC jako 0 i jako 1+, w 51 (18%) rakach słabo dodatni odczyn 2+ i w 57 (21%) rakach silnie dodatni 3+ (ryc. 1). Wśród 277 raków przewodowych słabo dodatnia 2+ ekspresja p185 wystąpiła w 51 przypadkach (18,4%), a silnie dodatnia 3+ w 57 (20,5%) rakach. Raki te zostały poddane dalszej analizie, gdyż liczba przypadków pozostałych typów histologicznych raka była zbyt mała dla przeprowadzenia analiz statystycznych.

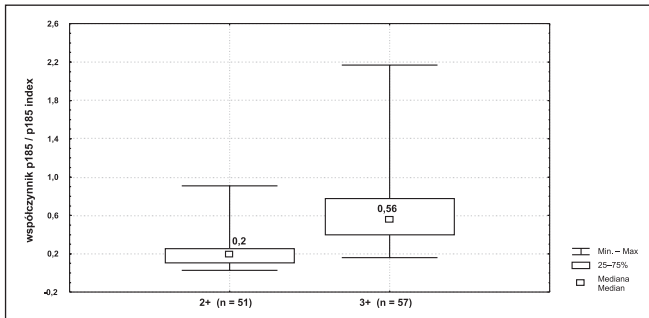


Ryc. 1. Reakcja IHC na obecność białka p185 (3+), powiększenie $\times 400$

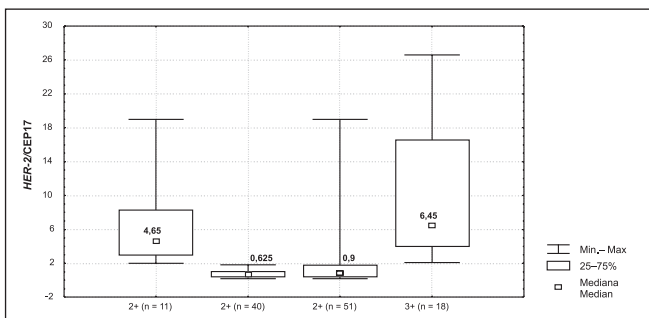
Fig. 1. IHC reaction to p185 protein (3+) (magn. 400 \times)

Średnie wartości współczynnika p185, ocenionego za pomocą KAO w rakach przewodowych oznaczonych metodą półilościową jako 2+ (średnia $0,24 \pm 0,18$, mediana 0,2), były istotnie niższe niż w rakach oznaczonych jako 3+ (średnia $0,64 \pm 0,37$, mediana 0,56) ($p < 0,0001$) (ryc. 2).

Wszystkie badane raki, w których intensywność odczynu IHC na obecność p185 oceniono jako 3+, wykazywały amplifikację *HER-2*, podczas gdy tylko 21,5% raków ocenionych jako 2+ wykazywało amplifikację. Ocena stopnia am-

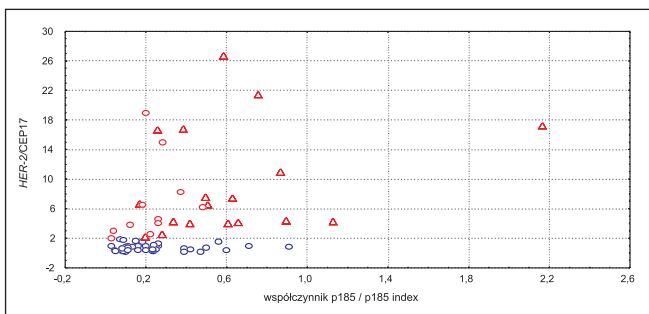


Ryc. 2. Ekspresja białka p185 w rakach przewodowych sutka oceniona za pomocą KAO w przypadkach określonych metodą półilościową jako 2+ vs 3+
Fig. 2. Expression of p185 protein in ductal breast carcinoma studied with computer image analysis when the case was classified as 2+ or 3+ with the semi-quantitative method



Ryc. 3. Ocena amplifikacji genu *HER-2* za pomocą KPA w rakach przewodowych sutka, w których intensywność odczynu IHC na obecność p185 oceniono jako 2+ i 3+

Fig. 3. Amplification of the *HER-2* gene studied with AnalySIS software in ductal breast carcinoma when the ICH reaction to p185 was classified as 2+ or 3+



○ 2+ bez amplifikacji *HER-2* / 2+ without *HER-2* amplification; ○ 2+ z amplifikacją *HER-2* / 2+ with *HER-2* amplification; △ 3+ z amplifikacją *HER-2* / 3+ with *HER-2* amplification

Ryc. 4. Ekspresja p185 oceniona za pomocą KAO i ekspresja genu *HER-2* oceniona za pomocą KPA w przypadkach z intensywnością odczynu na obecność p185 ocenioną jako 3+ (n = 18) i 2+ (n = 51)

Fig. 4. Expression of p185 studied with computer image analysis and expression of *HER-2* gene studied with AnalySIS software when the reaction to p185 was classified as 3+ (n = 18) or 2+ (n = 51)

plifikacji za pomocą KPA wykazała, że średni współczynnik amplifikacji *HER-2* raków ocenionych jako 2+ (średnia $2,1 \pm 3,52$, mediana 0,9) jest istotnie niższy niż raków ocenionych jako 3+ (średnia $9,2 \pm 7,27$, mediana 6,45) ($p < 0,0001$) – rycina 3. Natomiast średnie współczynniki amplifikacji raków ocenionych jako 3+ i tylko tych spośród 2+ (n = 11), w których stwierdzono amplifikację *HER-2* (średnia $6,82 \pm 5,43$, mediana 4,65), nie różnią się istotnie (ryc. 3). Wysoką amplifikację *HER-2* ($HER-2/CEP17 > 5$) stwierdzono w podobnym odsetku raków ocenionych metodą IHC jako 2+ (45,5%) i 3+ (55,5%). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy intensywnością odczynu IHC na obecność p185 ocenionego za pomocą KAO a współczynnikiem amplifikacji *HER-2* ani w rakach sutka ocenionych metodą półilościową jako 2+, ani w grupie raków 3+ (ryc. 4). Współczynnik p185 w rakach ocenionych jako 2+ bez amplifikacji *HER-2* był niekiedy większy niż w niektórych rakach z amplifikacją *HER-2* w tej grupie, a nawet większy niż w niektórych rakach z amplifikacją *HER-2* w grupie raków ocenionych jako 3+. Na przykład w przypadku, w którym stwierdzono iloraz $HER-2/CEP17$ równy 26,58 (wysoka amplifikacja), współczynnik p185 wynosił 0,59. Współczynnik ten w przypadku z ponad dwunastokrotnie niższą amplifikacją (iloraz $HER-2/CEP17$ równy 2,1) wynosił 0,2, czyli był tylko trzykrotnie niższy (ryc. 4).

Silnie dodatni odczyn 3+, częściej niż odczyn ujemny (0,1+), występował w rakach przewodowych niż zrazikowych ($p = 0,0001$) i częściej w rakach rdzeniastych niż w rakach zrazikowych ($p = 0,003$). W żadnym z przypadków raków zrazikowych nie stwierdzono silnie pozytywnego odczynu IHC na obecność p185. Żaden rak przewodowy I° histologicznej złośliwości według Blooma i Richardsona nie wykazywał silnie dodatniego odczynu, natomiast 17% raków II° i 34,4% raków III° wykazywało taki odczyn 3+ (I° vs III° $p = 0,02$; II° vs III° $p = 0,02$). Podobnie porównanie częstości występowania odczynu 2+ i 3+ wykazało statystycznie znamienne związki ze stopniem histologicznej złośliwości raka. Również średnie wartości współczynnika p185 różniły się istotnie pomiędzy rakami sutka I° vs II° ($p < 0,0001$) oraz I° vs III° ($p < 0,0001$). Natomiast różnicy istotnej nie stwierdzono porównując współczynnik p185 w rakach II° vs III° ($p = 0,4$).

Raki przewodowe bez przerzutów (N0) i z obecnością przerzutów (N+) do węzłów chłonnych pachowych nie różniły się istotnie pod względem ekspresji p185 w komórkach rakowych guza pierwotnego (N0 vs N+ $p = 0,5$; N0 vs N+ < 3 $p = 0,2$; N0 vs N+ ≥ 3 $p = 0,8$; N+ < 3 vs N+ ≥ 3 $p = 0,2$). Również średnie wartości współczynnika p185 nie różniły się istotnie pomiędzy rakami z N+ i N0 ($p = 0,9$). Średnia współczynnika p185 dla raków N+ wynosiła $0,42 \pm 0,27$ (mediana 0,42), dla raków N0 $0,47 \pm 0,4$ (mediana 0,35).

Nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności między średnicą raka przewodowego a ocenioną metodą półilościową ekspresją białka p185 ani współczynnikiem p185 ($p = 0,8$). Spośród guzów T1 – 23,4% wykazywało odczyn silnie dodatni (3+), a wśród guzów T2 – 34,2%.

Średnia współczynnika p185 dla guzów T1 wynosiła $0,44 \pm 0,33$ (mediana 0,4), dla guzów T2 $\pm 0,39$ (mediana 0,3), dla guzów T3 $\pm 0,21$ (mediana 0,4). Różnice te nie były statystycznie znamienne.

Raki przewodowe estrogenododatnie (ER+) i estrogenujemne (ER-) różniły się istotnie pod względem ekspresji białka p185 ($p = 0,012$ dla 0 i 1+ vs 3+ i $p = 0,001$ dla 2+ vs 3+). W rakach przewodowych z ER+ wynik 3+ występował tylko w 19,3% przypadków, podczas gdy w rakach przewodowych ER- aż w 34,1% przypadków. Raki przewodowe z ER- charakteryzują się wyższym współczynnikiem p185 niż raki sutka z ER+ ($p = 0,006$). Średni współczynnik p185 raków ER+ wynosił $0,37 \pm 0,27$ (mediana 0,26), a dla raków ER- wynosił $0,58 \pm 0,43$ (mediana 0,5). Stwierdzono statystycznie znamiennej negatywną zależność między współczynnikiem p185 a ekspresją ER ($r = -0,32$, $p = 0,0006$).

Średni indeks proliferacyjny (IP) w komórkach raka sutka wynosił 14,4% (SD $\pm 12,6$, mediana 11,3, zakres od < 1 do 75%). Raki sutka podzielono na dwie grupy, za kryterium uznając wartość mediany (11,3%). Za raki o niskim indeksie proliferacji (nIP) uznano te, w których IP był niższy lub równy wartości mediany. Raki z IP wyższym od wartości mediany określono jako raki o wysokim stopniu proliferacji (wIP). Raki przewodowe sutka z nIP i z wIP różniły się istotnie pod względem odsetka przypadków z ujemnym i silnie dodatnim wynikiem HercepTestu ($p = 0,03$). Tylko około 16% raków sutka z nIP i aż 25% raków z wIP wykazywało 3+. Natomiast raki przewodowe sutka z nIP i z wIP nie różniły się istotnie pod względem odsetka przypadków 2+ i 3+ ($p = 0,37$). Również nie stwierdzono zależności między średnią współczynnika p185 w rakach przewodowych sutka ocenionych IHC jako 2+ i jako 3+ a IP ($r = 0,07$, $p = 0,4$). Średni współczynnik p185 dla raków z nIP wynosił $0,41 \pm 0,28$ (mediana 0,38), a dla raków z wIP wynosił $0,47 \pm 0,4$ (mediana 0,42).

Nie stwierdzono istotnej różnicy statystycznej pomiędzy wiekiem pacjentek a ekspresją białka p185 ocenioną metodą półilościową w komórkach raka przewodowego ($p = 0,8$) ani współczynnikiem p185 ($p = 0,47$). Średni współczynnik p185 dla raków przewodowych u kobiet $\leq 54,5$ lat wynosił $0,45 \pm 0,29$ (mediana 0,39), a dla raków u kobiet powyżej 54,5 lat $0,44 \pm 0,4$ (mediana 0,35).

Dyskusja

W praktyce klinicznej stan receptora *HER-2* jest głównie oceniany za pomocą IHC. W materiale własnym nadekspresja białka *HER-2* (2+ i 3+) w komórkach raka sutka oznaczona metodą IHC (HercepTest) występowała w 32,6% przypadków i mieściła się w zakresie wyników uzyskiwanych przez innych autorów, który wahał się od 14% do 54,5% [17, 21, 26, 27, 28, 29, 30, 31]. Szeroki zakres dotychczasowych wyników może zależeć od wielu czynników, głównie od rodzaju zastosowanego przeciwciała, sposobu interpretacji uzyskanych wyników, a także sposobu utrwalania tkanki,

obróbki wycinków poprzedzającej IHC i grubości skrawków [17, 27, 28, 30, 31, 32]. Do oceny amplifikacji *HER-2* raków sutka zastosowano metodę FISH. W piśmiennictwie stosowane są różne kryteria w ocenie, zarówno punktu odcięcia (*cutoff point*) amplifikacji genu *HER-2*, jak i stopnia jej nasilenia. W badaniach własnych uznawano obecność amplifikacji przy *HER-2/CEP17* ≥ 2 zgodnie z kryteriami zalecanymi przez producentów oraz wielu autorów. Badania metodą FISH przeprowadzono tylko w grupie raków przewodowych sutka, ocenionych IHC jako 2+ i 3+, gdyż z piśmiennictwa wynika, że w przypadkach ocenianych IHC jako 0 lub 1+ amplifikacja *HER-2* prawie nigdy nie występuje [33]. Wiadomo również, że prawie wszystkie raki, ocenione metodą IHC jako 3+, wykazują amplifikację genu *HER-2* [23, 33]. Aby uniknąć wyników fałszywie pozytywnych wykluczono z oceny jądra komórkowe z polisomią chromosomu 17 (> 3 sygnałów centromeru chromosomu 17). Tylko w nielicznych pracach zastosowano dotychczas technikę KAO do oceny intensywności odczynu IHC na obecność p185 w komórkach nowotworowych. *Lehr i wsp.* [16] oraz *Wang i wsp.* [34] stwierdzili zależność pomiędzy oceną ekspresji białka p185 mierzona KAO a półilościową oceną genu *HER-2* mierzona metodą FISH. *Wang i wsp.* [34] stwierdzili, że zautomatyzowana analiza obrazu jest metodą obiektywną i powtarzalną, dlatego może zastąpić rutynową „półilościową” ocenę wyników reakcji IHC. Wyniki uzyskane za pomocą komputerowej analizy obrazu cechowała wysoka zgodność z wynikami uzyskanymi metodą FISH (91%). Zgodność ta była niższa przy zastosowaniu półilościowej oceny wyników reakcji IHC (85,7%) [34].

Dotychczas w żadnej z prac nie przeprowadzono ilościowej oceny amplifikacji genu *HER-2* metodą FISH za pomocą KPA i oceny intensywności odczynu IHC na obecność p185 za pomocą KAO. Stosując KAO, stwierdzono, że intensywność reakcji IHC na obecność białka p185 w błonie komórkowej komórek raka przewodowego sutka jest słabsza w rakach ocenionych jako 2+ w porównaniu z rakami ocenionymi jako 3+ ($p < 0,0001$). Natomiast w grupie raków przewodowych sutka 3+ i w grupie 2+ (z amplifikacją genu *HER-2* lub bez amplifikacji) nie stwierdzono statystycznie istotnego związku między stopniem intensywności odczynu na obecność białka p185 ocenionym za pomocą KAO a ekspresją genu *HER-2* ocenioną za pomocą KPA.

W dotychczasowej praktyce u chorych z rakami sutka, które w półilościowej ocenie IHC wykazują słabo dodatni odczyn 2+, kryterium do leczenia trastuzumabem stanowi amplifikacja *HER-2*. Ponieważ w kategorii 2+, ocenionej za pomocą KAO, intensywność odczynu IHC raków, w których nie ma amplifikacji, może być wyższa niż w przypadkach z amplifikacją, należy rozważyć czy w tej kategorii kryterium kwalifikacji do leczenia trastuzumabem nie powinna stanowić obiektywna ocena odczynu IHC.

Wobec wykazanego w pracy, za pomocą metod obiektywnych, braku korelacji pomiędzy stopniem amplifikacji genu *HER-2* i współczynnikiem intensywności odczynu IHC na obecność p185 w rakach należących do tej samej

kategorii w półilościowej ocenie odczynu IHC (np. 2+ lub 3+), kwestią otwartą pozostaje zagadnienie czy podstawą do podejmowania decyzji terapeutycznych nie powinna być raczej bardziej obiektywna ocena stopnia intensywności odczynu p185, a w konsekwencji ilości p185 na jednostkę powierzchni obwodu komórki.

HER-2 a typ histologiczny

W materiale własnym stwierdzono istotny związek pomiędzy typem histologicznym a ekspresją białka p185 (raki zrazikowe vs raki przewodowe, $p = 0,0001$; raki zrazikowe vs raki rdzeniaste $p = 0,003$). W żadnym z 53 badanych raków zrazikowych nie stwierdzono silnie dodatniego odczynu IHC na obecność p185. Odczyn 3+ wystąpił tylko w 1/10 raków śluzowych i w 5/26 raków rdzeniastych. *Farabegoli i wsp.* [26] badając 79 różnych inwazyjnych raków sutka (w tym 4 zrazikowe), stwierdzili, że z wyjątkiem jednego wszystkie raki z nadekspresją *HER-2* były rakami przewodowymi inwazyjnymi. *Somerville i wsp.* [35] za pomocą przeciwciała pAb1 i ICR12 stwierdzili ekspresję *HER-2* w 10/50 rakach przewodowych inwazyjnych, w 1/7 raków rdzeniastych, w żadnym z raków cewkowych (0/10) i w żadnym z badanych raków śluzowych (0/15), i jedynie w 1/24 raku zrazikowym. *Soomoro i wsp.* [36] stosując dwa różne przeciwciała (poliklonalne i monoklonalne), wykazali pozytywny odczyn IHC na obecność p185 w 22% (14/63) inwazyjnych raków przewodowych, w 1/23 raki śluzowe. Wszystkie zbadane inwazyjne raki zrazikowe (33), rdzeniaste (13), cewkowe (6) i brodawkowate (4) nie wykazały nadekspresji p185. Wykazano również istotny związek amplifikacji *HER-2* z typem histologicznym raka sutka. *Rosenthal i wsp.* [37] stwierdzili amplifikację genu *HER-2* metodą FISH w 51/106 raków przewodowych i 9/71 rakach zrazikowych ($p < 0,0001$) oraz związek amplifikacji *HER-2* z gorszym rokowaniem. Cytowane powyżej wyniki pracy i badań innych autorów wskazują, że w raku zrazikowym, raku cewkowym, raku śluzowym, raku brodawkowatym i w raku rdzeniastym sutka nadekspresja białka p185 występuje tylko sporadycznie. W związku z powyższym, zalecenie *Wanga i wsp.* [18], aby oznaczać ekspresję *HER-2* metodą IHC w każdym inwazyjnym raku, nie wydaje się uzasadnione. Przy podejmowaniu tej decyzji należałoby wziąć pod uwagę typ histologiczny raka, gdyż raki inne niż przewodowe rzadko wykazują wysoką nadekspresję białka p185. Podzielana jest również opinia *Hoffa i wsp.* [38], którzy uważają, że w przypadku obecności nadekspresji p185/amplifikacji *HER-2* w rakach zrazikowych inwazyjnych, należałoby ponownie ocenić typ histologiczny nowotworu.

HER-2 a stopień złośliwości histologicznej

Dane dotyczące związku między stopniem histologicznej złośliwości i nadekspresją p185/amplifikacją *HER-2* są rozbieżne [17, 22, 26, 35, 38]. W badaniach własnych stwierdzono, że raki przewodowe z I° i II° rzadziej niż raki z III° wykazywały nadekspresję białka p185 ocenioną metodą

półilościową. Ponadto średnie wartości współczynnika p185, ocenione za pomocą KAO, różniły się istotnie pomiędzy rakami I° vs II° ($p < 0,0001$) oraz I° vs III° ($p < 0,0001$). *Somerville i wsp.* [35] badając 50 raków przewodowych inwazyjnych sutka metodą IHC, za pomocą pAb1 i ICR12, stwierdzili, że 90% (9/10) guzów z pozytywną ekspresją białka *HER-2* (silny odczyn błonowy ogniskowy lub rozlany) wykazywało w II° histologicznej złośliwości ($p < 0,05$). *Farabegoli i wsp.* [26] nie stwierdzili związku między nadekspresją p185/amplifikacją *HER-2* a stopniem złośliwości histologicznej w żadnym z 72 raków przewodowych sutka. Natomiast *Pauletti i wsp.* [17] badając 923 raki sutka, stwierdzili, że stopień histologicznej złośliwości raków ma silny związek z nadekspresją p185/amplifikacją *HER-2*. Częstsze występowanie amplifikacji genu *HER-2* w rakach sutkach o wyższym stopniu złośliwości histologicznej zostało potwierdzone w badaniach *Hoffa i wsp.* [38], którzy stwierdzili amplifikację *HER-2* w 73/300 (24%) raków przewodowych sutka I°, w 106 (35%) II° i 121 (41%) III°. *Van de Vijver* [31] badając 256 raków inwazyjnych metodą IHC, stwierdził nadekspresję białka receptorowego *HER-2* w 21 rakach III°, 6 rakach II° oraz w żadnym z raków I°.

HER-2 a stan węzłów chłonnych

Analizując raki przewodowe inwazyjne sutka bez przerzutów i z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych pachowych, podobnie jak inni autorzy [26, 30, 35], nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy ekspresją *HER-2* a stanem węzłów chłonnych, niezależnie od zastosowanej metody oceny. *Xu R. i wsp.* [22], badając amplifikację genu *HER-2* w różnych typach histologicznych raków sutka, nie stwierdzili różnicy pomiędzy pierwotnymi rakami sutka a przerzutami do węzłów chłonnych. Natomiast niektórzy autorzy [37, 39] badając amplifikację genu *HER-2* w rakach przewodowych sutka za pomocą PCR i FISH, stwierdzili, że raki sutka N+ częściej niż raki N0 wykazują amplifikację genu *HER-2* ($p < 0,05$ i $p = 0,0001$). *Pauletti i wsp.* [17] badali związek amplifikacji *HER-2* z występowaniem przerzutów do węzłów chłonnych w zależności od przyjętego kryterium granicznego (*cutoff point*) amplifikacji. Korelacji amplifikacji *HER-2* ze stanem węzłów chłonnych nie stwierdzono w przypadkach *HER-2* ≤ 4 vs > 4 sygnałów, natomiast wyniki były istotne statystycznie przy podziale *HER-2* ≤ 2 vs > 2 ($p = 0,01$).

HER-2 a średnica guza

Nie stwierdzono zależności statystycznej istotnej między średnicą raka przewodowego a ekspresją białka p185 w komórkach guza ocenioną metodą półilościową oraz za pomocą KAO. *Farabegoli i wsp.* [26] oraz *Somerville i wsp.* [35] w swoich badaniach również nie stwierdzili związku między nadekspresją p185/amplifikacją *HER-2* a rozmiarami raka sutka. *Rosenthal i wsp.* [37] natomiast uzyskali istotną statystycznie różnicę między wielkością guza a ekspresją białka p185 ($p = 0,0001$). *Pauletti i wsp.* [17] również stwierdzili korelację między amplifikacją *HER-2* a wielkością

guza, ale jedynie w przypadkach z amplifikacją (*HER-2* ≥ 4) ($p = 0,02$), natomiast istotnego związku rozmiarów guza z nadekspresją p185 nie stwierdzono. *Zadrozny i wsp.* [39], jako jedyni stwierdzili, że amplifikacja genu *HER-2* występuje częściej w małych guzach sutka ($p \leq 0,05$).

HER-2 a stan receptora estrogenów

Z badań własnych wynika, że ER- raki przewodowe częściej niż raki ER+ wykazują nadekspresję białka p185 ($p = 0,01$ dla 0 i 1+ vs 3+ i $p = 0,001$ dla 2+ vs 3+). Stwierdzono, że raki sutka z ER- charakteryzują się wyższym współczynnikiem p185 niż raki z ER+ (negatywna korelacja). Inni autorzy również stwierdzili podobny związek [17, 26, 28, 31]. Inni autorzy [40] sugerują, że obecność amplifikacji *HER-2* w rakach ER+ i ER- ma większy związek ze stanem zaawansowania klinicznego niż z obecnością lub nie receptora estrogenów.

HER-2 a indeks proliferacyjny

W pracy stwierdzono, że raki przewodowe z niskim i z wysokim IP (oznaczonym za pomocą przeciwciała monoklonalnego MIB1) różniły się istotnie pod względem odsetka przypadków z ujemnym i silnie dodatnim wynikiem HercepTestu ($p = 0,03$). *Pauletti i wsp.* [17] stwierdzili istotny związek między nadekspresją p185/amplifikacją *HER-2* i IP w komórkach raków sutka. Inni autorzy oceniając IP za pomocą przeciwciał przeciwko PCNA (*proliferating cell nuclear antygen*), stwierdzili różnicę statystycznie istotną pomiędzy stopniem proliferacji komórek rakowych a nadekspresją *HER-2* [26, 28], a stosując przeciwciała przeciw Ki-67 otrzymali rozbieżne wyniki [17, 26].

HER-2 a wiek chorych

Większość badaczy nie stwierdziła związku wieku pacjentek z nadekspresją p185/amplifikacją *HER-2* [26, 35]. W pracy także nie stwierdzono różnicy statystycznie istotnej pomiędzy ekspresją *HER-2* (ocenioną zarówno metodą półilościową, jak i za pomocą KAO) i wiekiem pacjentek. Natomiast *Zadrozny i wsp.* [39] badając amplifikację genu *HER-2* za pomocą metody PCR w 33 rakach przewodowych sutka, stwierdzili, że u młodszych pacjentek częściej występuje amplifikacja genu *HER-2* niż u kobiet w wieku pomenopauzalnym.

Wnioski

1. W dotychczasowej praktyce u chorych z rakami sutka, które w półilościowej ocenie IHC wykazują odczyn 2+, kryterium do leczenia trastuzumabem stanowi amplifikacja *HER-2*. Ponieważ w kategorii 2+ ocenionej za pomocą KAO intensywność odczynu IHC raków, w których nie ma amplifikacji, może być wyższa niż w przypadkach z amplifikacją, należy rozważyć, czy w tej kategorii kryterium kwalifikacji do leczenia trastuzumabem nie powinna stanowić obiektywna ocena odczynu IHC.

2. Raki przewodowe sutka różnią się od raków zrazikowych pod względem nadekspresji białka p185.

3. Rozpoznanie raka zrazikowego lub raka przewodowego I stopnia histologicznej złośliwości jest niemal jednoznaczne z brakiem silnie dodatniego odczynu IHC na obecność białka *HER-2*.

4. Ocena amplifikacji genu *HER-2* za pomocą metody FISH polegającej na zliczaniu sygnałów fluorescencji w mikroskopie fluorescencyjnym, jak i za pomocą komputerowego programu AnalySIS® w rakach przewodowych sutka prowadzi do podobnych wyników, jednak program AnalySIS® pozwala na bardziej obiektywną ocenę stopnia amplifikacji.

Piśmiennictwo

1. *Akiyama T., Sudo C., Ogawara H. et al.*: The product of the c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosinase kinase activity. *Science*, 1986, 232, 1644–1646.
2. *Bargmann C.L., Hung M.C., Weinberg R.A.*: The new oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein. *Nature*, 1986, 319, 226–230.
3. *Coussens L., Yang-Feng T.L., Liao Y.C., Chen E., Gray A. et al.*: Kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science*, 1985, 230, 1132–1139.
4. *Slamon D.J., Clark G.M., Steven G. et al.*: Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of HER-2/neu oncogene. *Science*, 1987, 235, 177–182.
5. *Andrulis I., Bull S., Blackstien M. et al.*: Neu/erbB-2 amplification identifies a poor prognosis group of women with node-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 1998, 16, 13 040–13 049.
6. *Sjogren S., Inganas M., Lindgren et al.*: Prognostic and predictive value of c-erbB-2 overexpression in primary breast cancer alone and in combination with other prognostic markers. *J. Clin. Oncol.* 1998, 16, 462–469.
7. *Yamauchi H., Stearns V., Hayes D.F.*: When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB2 as a predictive factor in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2001, 19, 2334–2356.
8. *Kim R., Tanabe K., Uchida Y., Osaki A., Toge T.*: The role of HER-2 oncoprotein in drug-sensitivity in breast cancer. *Oncol. Rep.* 2002, 9, 3–9.
9. *Kim Y.S., Konoplev S.N., Montemurro F., Hoy E. et al.*: HER-2/neu overexpression as a poor prognostic factor for patients with metastatic breast cancer undergoing high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation. *Clin. Cancer Res.* 2001, 7, 4008–4012.
10. *Pegram M.D.*: Docetaxel and herceptin: foundation of future strategies. *Oncologist*, 2001, 13, 22–25.
11. *Tsongalis G.J., Reid A.*: HER-2: the new prognostic marker for breast cancer. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2001, 38, 167–182.
12. *Aasland R., Lillehaug J.R., Male R., Josendal O. et al.*: Expression of oncogenes in thyroid tumors: co-expression of c-erbB2/neu and c-erbB. *Br. J. Cancer.* 1988, 57, 358.
13. *D'Emilia J., Bulovas K., D'Ercole K., Wolf K. et al.*: Expression of the c-erbB-2 gene product (p185) at different stages of neoplastic progression in the colon. *Oncogene*, 1989, 4, 1233.
14. *Jaehne J., Urmacher C., Thaler H.T., Friendlander-Klar H. et al.*: Expression of HER-2/neu oncogene product p185 in correlation to clinicopathological and prognostic factors of gastric carcinoma. *J. Cancer Res. Clin. Onol.* 1992, 118, 474.
15. *Weiner D.B., Nordberg J., Robinson R., Nowell P.C. et al.*: Expression of neu gene-encoded protein (p185 neu) in human non-small cell carcinoma of the lung. *Cancer Res.* 1990, 50, 421.

16. *Lehr H.A., Jacobs T.W., Yaziji H., Gown A.M.*: Quantitative evaluation of HER-2/neu status in breast cancer by fluorescence in situ hybridization and by immunohistochemistry with image analysis. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001, 115, 814–822.
17. *Pauletti G., Dandekar S., Rong H., Ramos L. et al.*: Assessment of methods for tissue-based detection of the HER-2/neu, alteration in human breast cancer, a direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry. *Am. J. Clin. Oncol.* 2000, 18, 3651–3664.
18. *Wang S., Saboorian M.H., Frenckel E.P., Hynan L. et al.*: Laboratory assessment of the status of HER-2/neu protein and oncogene in breast cancer specimens: comparison of immunohistochemistry assay with fluorescence in situ hybridization assays. *J. Clin. Pathol.* 2000, 53, 374–381.
19. *Espinosa B.A., Taberero M.D., Garcia-Macias M.C., Primo D. et al.*: HER-2/neu gene amplification in familial vs sporadic breast cancer. Impact on the behavior of the disease. *Am. J. Clin. Pathol.* 2003, 120, 917–927.
20. *Masood S., Bui M.M., Yung J.F., Mark H.F., Wong E.Y., Birkmeir J.M. et al.*: Reproducibility of LSI HER-2/neu spectrum Orange and CEP17 spectrum Green dual color deoxyribonucleic acid probe kit. For enumeration of gene amplification in paraffine-embedded specimens: a multicentric clinical validation study. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1998, 28, 215–223.
21. *Priti L., Paulo A.S., Clifford A.H. et al.*: HER-2 testing in breast cancer using immunohistochemical analysis and fluorescence in situ hybridization. *Am. J. Clin. Pathol.* 2004, 121, 631–636.
22. *Xu R., Perle M.A., Inghirami G., Chan W., Delgado Y., Feiner H.*: Amplification of HER-2/neu gene in HER-2/neu-overexpressing breast carcinomas and their synchronous benign premalignant and metastatic lesions detected by FISH in archival material. *Mod. Pathol.* 2002, 15, 116–123.
23. *Tanner M., Gancberg D., Leo Ad., Larismon D. et al.*: Chromogenic in situ hybridization: A practical alternative for fluorescence in situ hybridization to detect HER-2/neu oncogene amplification in archival breast cancer samples. *Am. J. Pathol.* 2000, 15, 1467–1472.
24. *Moczko J.A., Bręborowicz G.H., Tadeusiewicz R.*: Statystyka w badaniach medycznych. Springer PWN, Warszawa 1998.
25. *Stanisz A.*: Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICA PL na przykładach z medycyny. StatSoft Polska, Kraków 1998.
26. *Farabegoli F., Ceccarelli C., Santini D., Baldini N. et al.*: C-erbB-2 overexpression in amplified and non-amplified breast carcinoma samples. *Int. J. Cancer*, 1999, 84, 273–277.
27. *Lebeau A., Deimling D., Kaltz C., Sendelhofert A. et al.*: HER-2/neu analysis in archival tissue samples of human breast cancer: comparison of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *J. Clin. Oncol.* 2001, 19, 354–363.
28. *Olborski B., Niewiadomska H., Szadowska A., Błoński J.Z.*: Expression of oncogene products p53, c-erbB2, EGFR and proliferating antigen PCNA in invasive ductal breast carcinoma. XIII Congress of Polish Society of Pathologists, 2001, 126.
29. *Olszewski W.T., Olszewski W.P., Krzakowski M., Mrozkowiak A.*: Rekomendacje Polskiej Grupy Badawczej ds. HER-2. In: Współczesna diagnostyka patomorfologiczna zmian nowotworowych w piersi. Sympozjum Szkoleniowe PTP, Wrocław 2004, 21–35.
30. *Tuziak T., Olszewski P.W., Olszewski W., Pieńkowski T.*: Expression of HER2/neu in primary and metastatic breast cancer. *Pol. J. Pathol.* 2001, 52, 21–26.
31. *Van de Vijver M.J.*: Assessment of the need and appropriate method for testing human epidermal growth factor receptor-2 (HER2). *Eur. J. Cancer*, 2001, 37, 11–17.
32. *Press M.F., Hung G., Godolphin W., Slamon D.J.*: Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples: Potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression. *Cancer Res.* 1994, 54, 2771–2777.
33. *Madrid M.A., Lo R.W.*: Chromogenic in situ hybridization (CISH): a novel alteration in screening archival breast cancer tissue samples for HER-2/neu status. *Breast Cancer Res.* 2004, 6, 593–600.
34. *Wang S., Saboorian M.H., Frenckel E.P., Haley B.B. et al.*: Assessment of HER-2/neu status in breast cancer. Automated Cellular Imaging System (ACIS)-assisted quantitation of immunohistochemical assay achieves high accuracy in comparison with fluorescence in situ hybridization assay as the standard. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001, 116, 495–503.
35. *Somerville J.E., Clarke L.A., Biggart J.D.*: C-erbB-2 overexpression and histological type of in situ and invasive breast carcinoma. *J. Clin. Pathol.* 1992, 54, 16–20.
36. *Soomoro S., Shousha S., Feldman M.*: C-erbB-2 expression in different histological types of invasive breast carcinoma. *J. Clin. Pathol.* 1991, 44, 211–214.
37. *Rosenthal S.I., Depkowski P.L., Sheehan C.E., Ross J.S.*: Comparison of HER-2/neu oncogene amplification detected by fluorescence in situ hybridization in lobular and ductal breast cancer. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2002, 10, 40–46.
38. *Hoff E.R., Tubbs R.R., Myles J.L., Procop G.W.*: HER2/neu amplification in breast cancer: stratification by tumor type and grade. *Am. J. Pathol.* 2002, 117, 916–921.
39. *Zadrozny M., Smolarz B., Romanowicz-Makowska H., Kozłowska E., Kulig A.*: Genetic analysis of HER-2/neu gene amplification in paraffin embedded tumour tissue in women with breast cancer. *Pol. J. Pathol.* 2002, 53, 189–193.
40. *Corell B., Horst-Sikorska W., Fischer G., Zoll B.*: Overexpression of the HER-2 oncogene in human breast cancer. *Biological Sciences, Bulletin of the Polish Academy of Sciences* 1991, 39, 163–168.

AGNIESZKA KOLASA

**NAJĄDRZE W DOŚWIADCZALNYM MODELU DEFICYTU DHT:
IMMUNOLOKALIZACJA ER α I ER β W KOMÓRKACH NABŁONKOWYCH
NAJĄDRZA SZCZURA. BADANIA IN VIVO I IN VITRO***

**EPIDIDYMIS IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF DHT DEFICIENCY:
IMMUNOLOCALIZATION OF ER α AND ER β IN RAT EPIDIDYMAL
EPITHELIAL CELLS. IN VIVO AND IN VITRO STUDIES***

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: dr hab. n. med. Barbara Wiszniewska

Summary

Introduction: The aim of this study was to determine the effect of reduced availability of dihydrotestosterone (DHT) on the expression of estrogen receptors α and β (ER α and ER β) in the epididymis *in vivo* and *in vitro*. Expression of estrogen receptors (ERs) is interesting because of the fact that the male reproductive system is controlled not only by androgens but also, in a far-reaching and complex manner, by estrogens. Control by estrogens is exercised through activation of ERs widely distributed in the epididymal epithelium. Epididymal epithelial cells contain a 5 α -reductase (5 α -red) which catalyzes the irreversible conversion of testosterone (T) into the most potent and chief androgen of the epididymis, dihydrotestosterone, known to maintain and regulate the structure and functions of the epididymis. Two isoforms of the 5 α -red were identified: type 1 (5 α -red1) and type 2 (5 α -red2). 5 α -reductase type 2 is more widely expressed in the epididymis than 5 α -red1. DHT deficit was produced by inhibition of 5 α -red2 using finasteride (Proscar[®], MSD Sweden), a steroid inhibitor of this enzyme.

Material and methods: The study was performed in the adult, male Wistar rats randomly divided into control (K) and study (Fin56) groups (5 animals in each). Animals in the study group received 5mg finasteride/kg b.w., orally during 56 days (duration of one spermatogenesis). Immunopres-

sion of ERs was also studied in epididymal epithelial cells cultured with or without finasteride.

Results: It was shown that DHT deficiency, both *in vivo* and *in vitro* condition, modulated ERs expression in comparison to the epididymis from control rats and to epididymal cells cultured without finasteride. Distribution of ER α and ER β in epididymal cells changed (from nucleus to cytoplasm) and the level of ERs expression was markedly decreased.

Conclusion: The present findings show that the DHT deficiency caused by finasteride altered the expression of ER α and ER β in the epididymis and possibly may have destabilized the functioning of this organ.

Key words: epididymis – finasteride – estrogen receptors α and β .

Streszczenie

Wstęp: Celem pracy było określenie wpływu deficytu dihydrotestosteronu (DHT) na ekspresję receptorów estrogenowych α i β (ER α , ER β) w najądrzu szczurów w warunkach *in vivo* i *in vitro*. Poziom ekspresji receptorów estrogenowych (ERs) badano z uwagi na fakt, że męski układ płciowy oprócz kontroli androgenowej podlega również rozległej i złożonej regulacji estrogenowej na drodze aktywacji ERs,

* Zwięzła wersja rozprawy doktorskiej przyjętej przez Radę Wydziału Lekarskiego Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Promotor: dr hab. n. med. Barbara Wiszniewska. Oryginalny maszynopis obejmuje: 102 strony, 10 rycin, 10 tabel, 303 pozycji piśmiennictwa.

* Concise version of doctoral thesis approved by the Council of the Faculty of Medicine, Pomeranian Medical University in Szczecin. Promotor: Barbara Wiszniewska M.D., D.M.Sc. Habil. Original typescript comprises: 102 pages, 10 figures, 10 tables, 303 references.

szeroko dystrybuowanych w nabłonku przewodu najądrza. Deficyt DHT wywołano podając zwierzętom per os, bądź dodając do medium hodowlanego finasteryd – steroidowy inhibitor 5 α -reduktazy typu 2 (5 α -red2), konwertującej testosteron (T) do dihydrotestosteronu, uważanego za główny androgen najądrza, utrzymujący i regulujący jego morfologię oraz funkcję.

Material i metody: Materiałem do badań były najądrza dojrzałych płciowo szczurów szczepu Wistar. Zwierzęta podzielono losowo na dwie grupy: kontrolną (K) i doświadczalną (Fin56), której podawano finasteryd przez 56 dni (czas jednej spermatogenezy) w dawce 5mg/kg masy ciała. Wypreparowane najądrza zwierząt obydwu grup posłużyły do sporządzenia skrawków histologicznych. Równolegle najądrza szczurów kontrolnych wykorzystano do badań *in vitro*. Wyizolowane enzymatycznie komórki nabłonkowe hodowano w pożywce Dulbecco – zmodyfikowane podłoże Eagle’a, Dulbecco’s Modified Eagle’a Medium (DMEM) w czterech układach doświadczalnych: z egzogennym testosteronem bez finasterydu (+T/-Fin); z egzogennym testosteronem i z finasterydem (+T/+Fin); bez testosteronu i bez finasterydu (-T/-Fin); bez testosteronu z finasterydem (-T/+Fin). Zarówno na skrawkach histologicznych, jak i na utrwalonych hodowlach wykonano reakcję immunohistochemiczną (*immunohistochemistry reaction* – IHC) techniką z wykorzystaniem kompleksu awidyny z biotyną i peroksydazy chrzanowej (*avidin-biotin complex/horseradish peroxidase* – ABC/HRP) w celu wykazania obecności ER α i ER β .

Wyniki: Metodą IHC w komórkach najądrza szczurów obydwu badanych grup wykazano obecność receptorów ER α i ER β . Zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* farmakologicznie wywołany deficyt DHT prowadził do zmian wzoru ekspresji ER α i ER β w komórkach najądrza. Zmiany dotyczyły nie tylko poziomu ekspresji ERs (słabszy odczyn immunoreakcji), ale również dystrybucji ERs (z jądrowej na cytoplazmatyczną) w komórce.

Wnioski: Uzyskane wyniki pozwalają wnioskować, że wywołany finasterydem deficyt DHT moduluje ekspresję ER α i ER β w najądrzu, co może powodować zaburzenie funkcji tego narządu.

H a s ł o: najądrze – finasteryd – receptory estrogenowe α i β .

Wstęp

Plemniki, opuszczając jądro nie są jeszcze w pełni dojrzałymi komórkami rozrodczymi. Zdolność do przeżycia, samodzielnego ruchu i zapłodnienia komórki jajowej nabywają dopiero podczas przebywania w najądrzu. W trakcie kilkunastodniowego pasażu najądrzowego, plemniki w zmieniających się warunkach mikrośrodowiska, krewowanego przez komórki nabłonkowe, osiągają dojrzałość morfologiczną i funkcjonalną. W pełni dojrzałe plemniki magazynowane są w ogonie najądrza [1].

Komórki nabłonkowe najądrza i hormony najądrza

Najlicniejszą populację komórek nabłonkowych najądrza stanowią walcowate komórki główne ze stereocyliami [2]. Cytoplazma tych komórek zawiera liczne wakuole, pęcherzyki i elektronowo gęste ciała podobne do lizosomów, rozbudowaną siateczkę wewnątrzplazmatyczną i aparat Golgiego, liczne mitochondria z lamellarnymi grzebieniami oraz krople lipidowe. Ultrastruktura komórek głównych świadczy o ich wysokiej aktywności sekrecyjno-resorpcyjnej i steroidogennej [2]. Rola pozostałych komórek nabłonkowych najądrza (przypodstawnych, szczytowych, jasnych) jest dyskusyjna. Przypisuje się im udział w absorpcji nadwyżek sekrecyjnych komórek głównych i fagocytowaniu kropli cytoplazmatycznej dojrzewających plemników [3] oraz udział w procesie zakwaszania płynu kanalikowego i kontroli równowagi wodno-elektrolitowej [4, 5].

Zależny od aktualnych potrzeb plemników, charakterystyczny dla danej strefy najądrza, skład mikrośrodowiska jest odzwierciedleniem sekwencyjnej ekspresji szeregu genów [6, 7], a skład płynu w świetle przewodu jest wynikiem równolegle zachodzących procesów sekrecji i resorpcji [8, 9]. Ekspresja genów w komórkach nabłonkowych najądrza, a następnie synteza i uwalnianie składników płynu najądrzowego: białek, glikoprotein, glikolipidów i fosfolipidów podlega rozległej regulacji hormonalnej. Komórki nabłonkowe najądrza hodowane w obecności androgenów (T lub DHT) zachowują morfologię i podejmują swoją funkcję. Tworzą jeden pokład przylegających do siebie komórek, gromadzą w cytoplazmie ziarna glikogenu, PAS-dodatnią (barwiącą się zasadą Schiffa, Periodic Acid Schiff) wydzielinę oraz krople lipidowe [10, 11, 12] świadczące o wysokiej aktywności metabolicznej. Liczne mitochondria z lamellarnymi grzebieniami oraz obfita siateczka wewnątrzplazmatyczna gładka świadczą o ich steroidogennym charakterze [12]. Komórki nabłonkowe najądrza hodowane natomiast w pożywce bez androgenów wolniej przylegają do podłoża i przyjmują gwiazdkowaty kształt, a ich aktywność metaboliczna jest obniżona. Gromadzą mniej ziaren glikogenu i PAS-dodatniej wydzieliny [10, 11, 12]. Najądrze jest zatem narządem androgenozależnym, pozostającym pod kontrolą testosteronu i dihydrotestosteronu [13, 14], działających poprzez receptor androgenowy (*androgen receptor* – AR) [15]. W komórkach nabłonkowych T ulega redukcji do DHT, uważanego za główny androgen najądrza [16]. Nieodwracalna konwersja T do DHT zachodzi przy udziale 5 α -reduktazy (5 α -red) – enzymu występującego w dwóch izoformach: 5 α -red1 i 5 α -red2 [16]. Formą preferencyjnie działającą w najądrzu jest 5 α -red2 [17].

Coraz większą rolę w regulacji funkcji najądrza przypisuje się estrogenom [18], działającym poprzez receptory estrogenowe (ERs) [15]. Część estrogenów, podobnie jak androgeny, dociera do najądrza bezpośrednio z jądra (z płynem kanalikowym) lub z krwią (drogą naczyń krwionośnych), a część pochodzić może z syntezy lokalnej. Kluczowym enzymem procesu konwersji androgenów do estrogenów jest mikrosomalny, enzymatyczny kompleks aromatazy

cytochromu P450 (P450arom). Komórki nabłonkowe wyścielające przewód posiadają zarówno mRNA dla aromatazy, jak i aktywny enzym, zatem mogą przeprowadzać syntezę estrogenów [19, 20]. Również w warunkach in vitro komórki nabłonkowe aromatyzują androgeny. Uwalniają do pożywki obok androgenów, także estradiol [10, 11]. Oprócz funkcji estrogenów w stymulacji syntezy niektórych białek najądrzowych wykazano również, że nadrzędną rolą tych hormonów, działających poprzez ER α jest kontrola procesu resorpcji w przewodnikach odprowadzających płynu kanalikowego napływającego z jądra [18, 21]. Dzięki temu plemniki po dotarciu do najądrza przebywają w mikrośrodkowisku specyficznym jedynie dla tego narządu.

Lokalizacja receptorów hormonów steroidowych (SHRs) – AR, ER α , ER β w najądrzu

Dystrybucja AR w nabłonku najądrza człowieka i zwierząt jest porównywalna [22, 23]. W najądrzu mRNA oraz białko receptora androgenowego ulegają ekspresji wzdłuż całego przewodu [24]. W przeciwieństwie do najądrza gryzoni [22, 23, 25], przewodniki odprowadzające męczyzny są wolne od AR [24].

Dystrybucja ERs w obrębie płodowej [26] i wykształconej już gonady oraz dróg wyprowadzających nasienie jest bardzo zróżnicowana. W najądrzu człowieka, szczura [18, 22, 23, 25, 27, 28] i wielu innych ssaków [22, 23, 26] obserwuje się ekspresję zarówno ER α , jak i ER β . Receptory estrogenowe α zlokalizowane są przede wszystkim w komórkach przewodników odprowadzających [23, 25, 28], natomiast ER β występują zarówno w komórkach przewodników odprowadzających [25], jak i w nabłonku przewodu najądrza [22, 23, 28].

Z uwagi na fakt, że w najądrzu synteza DHT – głównego androgenu najądrza [16], katalizowana jest przez izomeryczny enzym – 5 α -red2, w niniejszej pracy przeprowadzono badania, mające na celu ustalenie zmian funkcji komórek nabłonkowych w warunkach deficytu DHT. Model doświadczenia opracowano stosując finasteryd – steroidowy inhibitor 5 α -red2 – preferencyjnej w najądrzu izoformy enzymu. Brak lub obniżony poziom androgenów zmienia nie tylko morfologię najądrza i aktywność sekrecyjną komórek głównych [13, 14], ale wpływa również na ekspresję białek receptorowych [25, 29]. Natomiast szeroka dystrybucja ERs [18] oraz P450arom w najądrzu przemawia za kluczowym udziałem estrogenów, obok androgenów w regulacji funkcji tego narządu [11, 18, 20, 30]. Zasadnym zatem było zbadanie ekspresji ERs w komórkach nabłonkowych najądrza w warunkach deficytu DHT wywołanego in vivo i in vitro.

Badania na zwierzętach wykazały, że określony stosunek T do E₂ warunkuje ekspresję SHRs [20, 25, 31]. Utrzymanie równowagi między testosteronem a jego metabolitami oraz między androgenami a estrogenami jest konieczne dla utrzymania prawidłowej funkcji najądrza – miejsca dojrzewania i magazynowania plemników. Pomocnym narzędziem w odpowiedzi na zadane w niniejszej pracy pytanie: „Jaką konsekwencję dla ekspresji ER α i ER β w najądrzu niesie

deficyt DHT?” stanowiły badania in vitro. Hodowle komórkowe pozwalają bowiem wykluczyć działanie hormonów i innych czynników docierających do najądrza bezpośrednio z jądra lub/i z łożyska naczyniowego.

Material i metody

Badania prowadzone były na dojrzałych płciowo (3–4-miesięcznych) samcach szczurów szczepu Wistar za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach – nr zgody 33/02. Zwierzęta przebywały w zwierzętarni w temperaturze pokojowej, w 12-godzinny cykl dobowym i karmione były suchą paszą standardową. Zwierzęta podzielono losowo na dwie grupy: kontrolną (K) i doświadczalną (Fin56), której podawano inhibitor 5 α -red2 (finasteryd; Proscar®, MSD Szwecja) przez 56 dni (czas jednej spermatogenezy) w dawce 5mg/kg masy ciała. Zwierzęta usypiano Tiopentalem (Biochemie, Austria) podawanym dootrzewnowo w dawce 200 mg/kg masy ciała. Z najądrzy zwierząt obydwu badanych grup sporządzono skrawki histologiczne, a najądrza szczurów kontrolnych wykorzystano dodatkowo do badań in vitro. Wyizolowane komórki nabłonkowe przeznaczone do hodowli pochodziły ze strefy 1, 2, 3 i z początkowej strefy 4 głowy oraz ze strefy 5, 6A, 6B ogona najądrza wg klasyfikacji *Reida* i *Clelanda* [32].

Izolacja komórek, zakładanie i prowadzenie hodowli

Najądrza oczyszczono z otaczającej tkanki łącznej w sterylnych warunkach, w płynie Hanksa (Biomed, Lublin) z dodatkiem antybiotyków (penicillin, streptomycin solution; Sigma, USA). Po oddzieleniu głowy i ogona najądrza, dalszą obróbkę prowadzono oddzielnie w pożywce DMEM z czerwienią fenolową (Biomed, Wytwórnia Surowic i Szczepionek, Lublin) z dodatkiem antybiotyków. Izolację komórek oraz zakładanie hodowli przeprowadzono wg metody przedstawionej w pracy *Wiszniewskiej* [12]. Hodowle prowadzono w pożywce pełnej zawierającej: podłoże DMEM, 5% inaktywowaną cielęcą surowicę płodową, *fetal calf serum* (FCS, GIBCO BRL, USA), penicylinę (100 jedn./mL).

Komórki hodowano pięć dni w pożywce z/bez testosteronu (testosterone, Sigma, USA) w stężeniu końcowym 0,1 nmol/L, z/bez finasterydu w stężeniu końcowym 50 μ mol/mL. Trzeciego dnia hodowli komórki nabłonkowe formowały jednowarstwowy pokład i tego dnia zmieniano pożywkę.

Przygotowanie materiału do oceny w mikroskopie świetlnym

Utrwalone płynem Bouin'ea najądrza zatopiono w parafinie i wykonano skrawki seryjne. Hodowle komórek natomiast przepłukano roztworem soli fizjologicznej zbuforowanej fosforanem – PBS (Wytwórnia Surowic i Szczepionek, Lublin) i utrwalano w 4% zbuforowanej formalinie. Zarówno

skrawki najądrza, jak i hodowle komórkowe posłużyły do reakcji immunohistochemicznej na obecność ER α i ER β . Do IHC wykonanej techniką ABC/HRP, opisaną w pracy Kolasy i wsp. [27] oraz Trybka i wsp. [29] użyto dwóch przeciwciał I-rzędowych: mysiego, monoklonalnego przeciw ER α (1:100) (ER α -1D5 DAKO A/S, Dania) oraz króliczego, poliklonalnego przeciw ER β (1:50) (PA1-310, Affinity BioReagents, USA).

Wyniki

Barwny produkt reakcji immunohistochemicznej, wskazujący obecność ER α i ER β obserwowano zarówno w jądrze komórek, jak i w ich cytoplazmie. W skrawkach najądrza i hodowanych komórkach inkubowanych bez przeciwciała I-rzędowego reakcji IHC nie odnotowano.

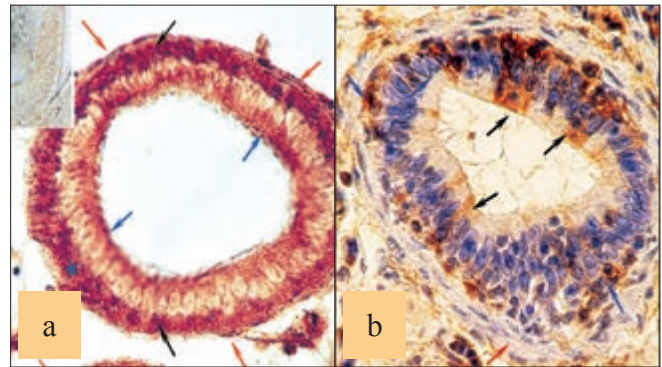
Immunolokalizacja ER α i ER β w skrawkach najądrza

Obecność ER α i ER β wykazano w komórkach nabłonkowych na całej długości (głowa, ogon) przewodu najądrza szczurów kontrolnych (ryc. 1a–4a) i doświadczalnych (ryc. 1b–4b) oraz w komórkach mięśni gładkich ściany początkowych odcinków przewodu najądrza (ryc. 1a, 2a, 2b). Dystrybucja oraz nasilenie ekspresji ERs było zróżnicowane (tab. 1 i 2).

1. Przewód głowy najądrza

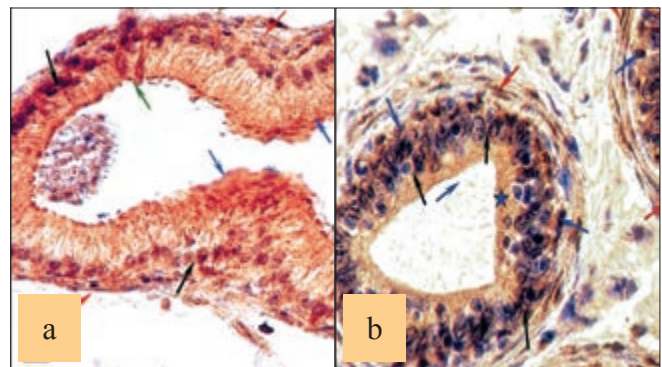
Lokalizacja (jądro, cytoplazma) i poziom ekspresji ER α (tab. 1) w komórkach nabłonkowych głowy najądrza szczurów otrzymujących finasteryd przez 56 dni (ryc. 1b) uległ daleko idącym zmianom w stosunku do zwierząt kontrolnych (ryc. 1a), u których intensywnie immunopoztywne były jądro (czarna strzałka) i cytoplazma okołojądrowej (niebieska gwiazdka) oraz apikalnej części (niebieska strzałka) walcowatych komórek nabłonka oraz miocytu okołoprzewodowe (czerwona strzałka) (ryc. 1a). W 56-dniowym modelu deficytu DHT odnotowano znaczący spadek immunoreakcji jądrowej na korzyść cytoplazmatycznej objawiającej się tylko w nielicznych komórkach głównych (czarna strzałka) (ryc. 1b). Większość walcowatych komórek nabłonka była immunonegatywna (ryc. 1b). Immunododatnie w nabłonku głowy najądrza zwierząt doświadczalnych były przede wszystkim komórki przypadkowe (niebieska strzałka) (ryc. 1b). Odczyn immunoreakcji w miocytach gładkich ściany własnej głowy przewodu najądrza tych zwierząt również był znikomy/zerowy (czerwona strzałka) (ryc. 1b, tab. 1).

Ekspresję ER β w nabłonku głowy najądrza szczura kontrolnego wykazano w jądrze (czarna strzałka) oraz cytoplazmie okołojądrowej (niebieska gwiazdka) i apikalnej części (niebieska strzałka) komórek (ryc. 2a). W pojedynczych komórkach nabłonkowych immunododatnia była również nadjądrowa część cytoplazmy (zielona strzałka) (ryc. 2a). W głowie najądrza szczurów z 56-dniowym deficytem DHT pozytywny wynik reakcji obserwowano natomiast w jądrze większości (czarna strzałka) i cytoplazmie



Ryc. 1. Immunoekspresja ER α w głowie najądrza szczurów kontrolnych (a) i otrzymujących finasteryd (b); (a, b $\times 670$); kontrola swoistości reakcji IHC (*)

Fig. 1. Immunoeexpression of ER α in caput epididymis of control (a) and finasteride treated (b) rats; (a, b $670\times$); control of the specificity of IHC reaction (*)



Ryc. 2. Immunoekspresja ER β w głowie najądrza szczurów kontrolnych (a) i otrzymujących finasteryd (b); (a, b $\times 670$)

Fig. 2. Immunoeexpression of ER β in caput epididymis of control (a) and finasteride treated (b) rats; (a, b $670\times$)

Tabela 1. Lokalizacja ER α i ER β w głowie najądrza zwierząt kontrolnych oraz przyjmujących finasteryd przez 56 dni

Table 1. Localization of ER α and ER β in caput epididymis of control and 56 day-finasteride treated rats

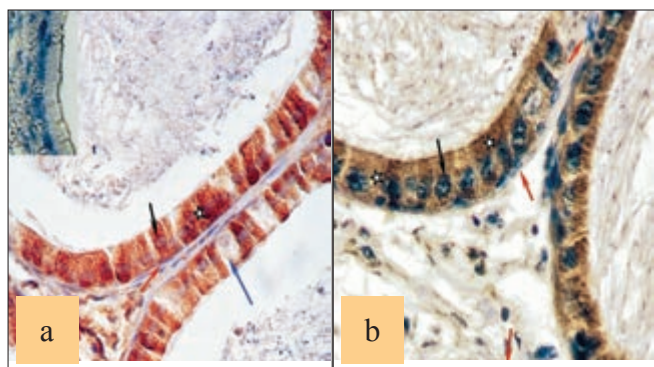
Głowa Caput	Komórki nabłonkowe Epithelial cells				Miocyty gładkie ściany własnej Smooth muscle cells	
	jądro nucleus		cytoplazma cytoplasm		ER α	ER β
	ER α	ER β	ER α	ER β		
Kontrola Control	+++	++	+++	+	++	+/-
Finasteryd Finasteride	+	+	+	+	-	+/-

+++ bardzo mocna reakcja / very strong reaction; ++ umiarkowana reakcja / moderate reaction; + słaba reakcja / weak reaction; +/- znikoma reakcja / slight reaction; - brak reakcji / no reaction

wszystkich (gwiazdka) komórek nabłonkowych (ryc. 2b). Odczyn cytoplazmatyczny był słabszy w porównaniu do kontroli (tab. 1). Wyraźniej immunododatnie były komórki przypadkowe (niebieska strzałka) (ryc. 2b, tab. 1). Miocyty ściany własnej głowy najądrza były immunododatnie tylko u szczurów grupy kontrolnej (ryc. 2a), natomiast u zwierząt z 56-dniowym deficytem DHT komórki te nie wykazały immunoekspresji ER β (ryc. 2b, tab. 1).

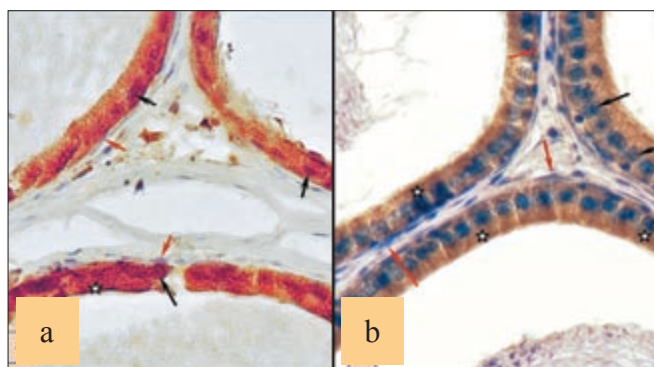
2. Przewód ogona najądrza

W ogonie najądrza szczurów kontrolnych wykazano umiarkowaną ekspresję ER α w jądrze (czarna strzałka) oraz intensywną w cytoplazmie (gwiazdka) większości komórek nabłonkowych (ryc. 3a). Immunonegatywne były jedynie nieliczne komórki nabłonkowe (niebieska strzałka), odpowiadające komórkom jasnym (ryc. 3a). U zwierząt grupy Fin56 we wszystkich komórkach nabłonkowych ogona najądrza występowała intensywna reakcja cytoplazmatyczna (gwiazdka), przy słabej reakcji jądrowej (czarna strzałka)



Ryc. 3. Immunoekspresja ER α w ogonie najądrza szczurów kontrolnych (a) i otrzymujących finasteryd (b); (a, b $\times 670$); kontrola swoistości IHC (*)

Fig. 3. Immunoeexpression of ER α in cauda epididymis of control (a) and finasteride treated (b) rats; (a, b $670\times$); control of the specificity of IHC reaction (*)



Ryc. 4. Immunoekspresja ER β w ogonie najądrza szczurów kontrolnych (a) i otrzymujących finasteryd (b); (a, b $\times 670$)

Fig. 4. Immunoeexpression of ER β in cauda epididymis of control (a) and finasteride treated (b) rats; (a, b $670\times$)

Tabela 2. Lokalizacja ER α i ER β w ogonie najądrza zwierząt kontrolnych oraz przyjmujących finasteryd przez 56 dni

Table 2. Localization of ER α and ER β in cauda epididymis of control and 56 day-finasteride treated rats

Ogon Caput	Komórki nabłonkowe / Epithelial cells				Miocyty gładkie ściany własnej Smooth muscle cells	
	jądro / nucleus		cytoplazma cytoplasm			
	ER α	ER β	ER α	ER β		
Kontrola Control	++	++	+++	+++	-	-
Finasteryd Finasteride	+	+/-	+++	+	-	-

+++ bardzo mocna reakcja / very strong reaction; ++ umiarkowana reakcja / moderate reaction; + słaba reakcja / weak reaction; +/- znikoma reakcja / slight reaction; - brak reakcji / no reaction

(ryc. 3b, tab. 2). W obydwu badanych grupach (K, Fin56), miocyty ściany własnej przewodu ogona najądrza (czerwona strzałka) były wolne od ER α (ryc. 3a, 3b; tab. 2).

Intensywność immunoekspresji ER β w jądrze (czarna strzałka) i cytoplazmie (gwiazdka) komórek nabłonkowych ogona przewodu najądrza po 56-dniowym deficycie DHT była znacznie niższa (ryc. 4b, tab.2), w porównaniu do kontroli (ryc. 4a, tab. 2). Miocyty gładkie ściany własnej ogona najądrza (czerwona strzałka) badanych zwierząt były ER β -negatywne (ryc. 4a, 4b, tab. 2).

Immunolokalizacja ER α i ER β w hodowanych komórkach nabłonkowych najądrza

Doświadczenie in vitro prowadzono w czterech różnych odpowiednio skonstruowanych pożywkach hodowlanych: +T/-Fin, +T/+Fin, -T/-Fin, -T/+Fin. Kontrolę dla hodowli z finasterydem prowadzonej z testosteronem (+T/+Fin) lub bez testosteronu (-T/+Fin) stanowiły hodowle bez finasterydu, odpowiednio +T/-Fin i -T/-Fin. Odczyn i miejsce reakcji IHC w komórce zarówno dla ER α , jak i ER β był zróżnicowany (tab. 3).

Tabela 3. Lokalizacja i poziom ekspresji ER α i ER β w komórkach nabłonkowych najądrza szczurów kontrolnych hodowanych w różnych warunkach (+T/-Fin; +T/+Fin; -T/-Fin; -T/+Fin)

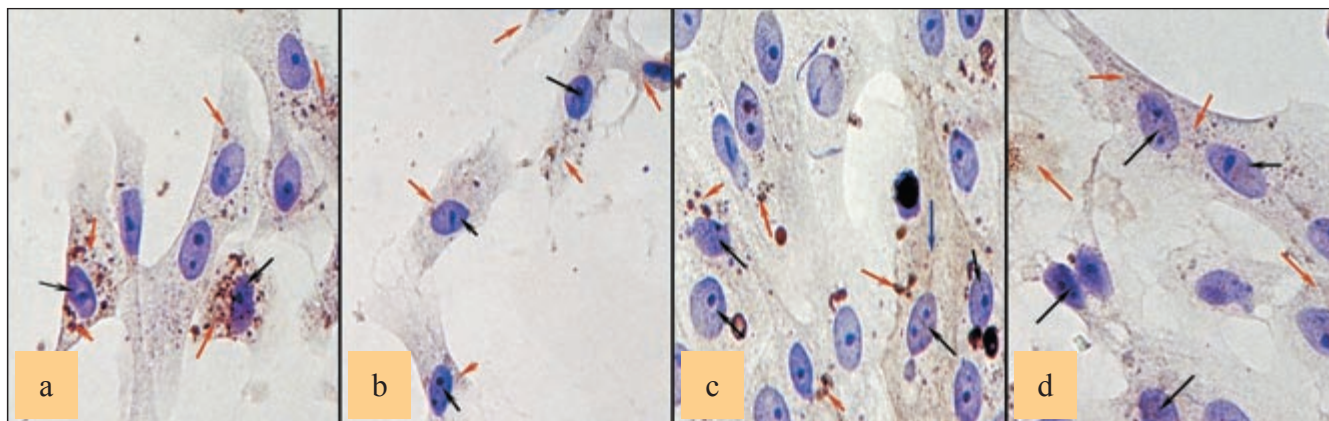
Table 3. Localization and level of ER α and ER β expression in epididymal epithelial cells of control rat epididymis cultured under different conditions (+T/-Fin; +T/+Fin; -T/-Fin; -T/+Fin)

Pożywka Medium	Komórki nabłonkowe / Epithelial cells			
	jądro / nucleus		cytoplazma / cytoplasm	
	ER α	ER β	ER α	ER β
+T/-Fin	++	+	+++	++
+T/+Fin	+/-	+	+/-	+
-T/-Fin	+/-	+/-	+	+
-T/+Fin	+/-	+/-	+/-	+/-

+++ bardzo mocna reakcja / very strong reaction; ++ umiarkowana reakcja / moderate reaction; + słaba reakcja / weak reaction; +/- znikoma reakcja / slight reaction; +/-- bardzo znikoma reakcja / minimal reaction; - brak reakcji / no reaction

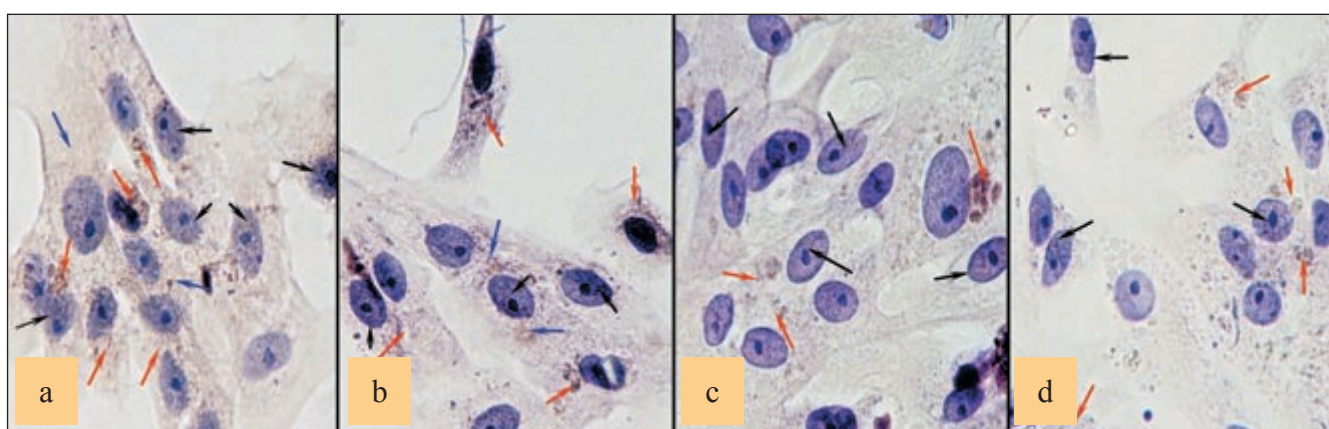
Umiarkowaną, przede wszystkim jądrową (czarna strzałka) reakcją IHC dla ER α (ryc. 5a) i ER β (ryc. 6a) obserwowano w komórkach nabłonkowych najądrza hodowanych w obecności egzogenego testosteronu, bez inhibitora 5 α -red2 (+T/-Fin). W tym modelu doświadczalnym, w porównaniu do pozostałych trzech modeli (+T/+Fin, -T/-Fin, -T/+Fin) odczyn jądrowy (czarna strzałka) był najintensywniejszy (tab. 3). Odczyn dla ER α (ryc. 5a) i ER β (ryc. 6a) w cytoplazmie tych komórek był zaznaczony umiarkowanie (tab. 3), dyfuzyjnie (niebieska strzałka) i ziarniście (czerwona strzałka).

W komórkach hodowanych natomiast w obecności egzogenego testosteronu i finasterydu (+T/+Fin) poziom ekspresji ERs uległ obniżeniu (tab. 3) i był porównywalny do obserwowanego odczynu w komórkach hodowanych bez testosteronu i finasterydu (-T/-Fin) (ryc. 3c, 4c; tab. 3). Dla ER α (ryc. 5b, 5c) i ER β (ryc. 6b, 6c) reakcja jądrowa (czarna strzałka) była raczej znikoma, a cytoplazmatycz-



Ryc. 5. Immunoekspresja ER α w hodowanych w różnych warunkach (+T/-Fin; +T/+Fin; -T/+Fin; -T/-Fin) komórkach nabłonkowych najądrza szczurów kontrolnych; (a–d $\times 670$)

Fig. 5. Immunoexpression for ER α in epithelial cells of ductus epididymis of control rats cultured under different conditions (+T/-Fin; +T/+Fin; -T/+Fin; -T/-Fin); (a–d 670 \times)



Ryc. 6. Immunoekspresja ER β w hodowanych w różnych warunkach (+T/-Fin; +T/+Fin; -T/+Fin; -T/-Fin) komórkach nabłonkowych najądrza szczurów kontrolnych; (a–d $\times 670$)

Fig. 6. Immunoexpression for ER β in epithelial cells of ductus epididymis of control rats cultured under different conditions (+T/-Fin; +T/+Fin; -T/+Fin; -T/-Fin); (a–d 670 \times)

na zarówno dyfuzyjna (niebieska strzałka), jak i ziarnista (czerwona strzałka) także była słaba.

Najsłabszy, prawie niewidoczny odczyn reakcji immunocytochemicznej na obecność ERs notowano w jądrze (czarna strzałka) i cytoplazmie (czerwona strzałka) komórek hodowanych w pożywce -T/+Fin (ryc. 5d, 6d). Jednakże odczyn cytoplazmatyczny (czerwona strzałka) był wyraźniejszy od odczynu jądrowego (tab. 3).

Dyskusja

W komórkach nabłonkowych najądrza, tak jak w innych androgenozależnych, testosteron jest przekształcany do 5 α -metabolitów [16]. Preferencyjnie działająca w najądrzu 5 α -red2 [17] konwertuje T do DHT – biologicznie aktywniejszego hormonu, uważanego za główny androgen najądrza [16]. Opracowany zwierzęcy model deficytu DHT wywołanego finasterydem, umożliwił poznanie morfologii jądra i najądrza [29] oraz ekspresji wybranych białek [33] w tych narządach przy zmieniających się warunkach hormonalnych. Podczas gdy w nabłonku plemnikotwórczym zwierząt z 56-dniowym (czas jednej spermatogenezy)

deficytem DHT obserwowano przedwczesne złuszczenie się komórek plemnikotwórczych, to morfologia nabłonka przewodu najądrza tych zwierząt nie uległa zmianie [33]. Odnotowano natomiast zmiany w poziomie i dystrybucji AR w komórkach nabłonkowych najądrza [29]. Podobne zmiany wykazano także w przypadku ERs. Deficyt DHT prowadził do znacznego osłabienia ekspresji ER α w jądrze i cytoplazmie komórek oraz prowadził do zmiany dystrybucji ER α w komórkach nabłonkowych najądrza zwierząt otrzymujących finasteryd. W przypadku ER β spadek ekspresji w nukleoplazmie komórek nabłonkowych najądrza zwierząt z deficytem DHT był wyraźniej zaznaczony. Immunopozytywna była przede wszystkim ich cytoplazma. Badania in vitro potwierdziły znaczne osłabienie ekspresji ERs w komórkach hodowanych w obecności finasterydu (+T/+Fin; -T/+Fin). Jądra komórek były bardzo słabo immunopozytywne, a w cytoplazmie obserwowano odczyn dyfuzyjny o niskim poziomie ekspresji ERs, w przeciwieństwie do silnie immunododatnich ziarnistości w cytoplazmie i w nukleoplazmie komórek hodowanych w obecności egzogenego testosteronu, bez finasterydu (+T/-Fin).

Uzyskaną w niniejszej pracy, zarówno cytoplazmatyczną, jak i jądrową lokalizację ERs w komórkach najądrza

należy tłumaczyć sposobem ich działania w komórce. Według klasycznej drogi, receptory te są jednocześnie czynnikami transkrypcyjnymi modulującymi aktywność genów docelowych. W sytuacji braku liganda, SHRs znajdują się w cytoplazmie i związane są z białkami opiekuńczymi [15]. Interakcja hormonu z domeną wiążącą ligand (*ligand binding domain* – LDB), prowadzi do oddysocjowania kompleksu opiekuńczego, fosforylacji, dimeryzacji i translokacji receptora do jądra komórki, gdzie zdimeryzowany receptor wiąże się z elementem odpowiedzi na hormon (*hormone response element* – HRE) zlokalizowanymi w promotorze genu docelowego [15]. Liczne prace donoszą także o trwałym związaniu SHRs z sekwencją HRE w jądrze komórkowym, prowadzącym do represji/supresji genów [34]. W sytuacji braku liganda receptory są dyfuzyjnie rozmieszczone w nukleoplazmie [35], a z chwilą pojawienia się hormonu w środowisku komórki ulegają punktowemu zogniskowaniu wewnątrz jej jądra [36]. Przykładem cytoplazmatycznego i jądrowego współwystępowania ERs mogą być nowotworowo zmienione komórki gruczołu mlekowego i komórki endometrium [37].

Jak dotąd mało wiadomo na temat hormonalnej regulacji ekspresji ERs w najądrzu [25]. Badania prowadzono przede wszystkim *in vivo* na zwierzętach wykastrowanych lub z podwiązywanymi przewodnikami odprowadzającymi, suplementowanych następnie testosteronem. Autorzy tych badań nie brali pod uwagę jego metabolitów, takich jak DHT. Obustronne podwiązanie przewodników odprowadzających skutkuje nie tylko obniżeniem poziomu AR, ale również spadkiem ekspresji ERs w najądrzu [25]. Finasteryd w podobny sposób reguluje ekspresję powyższych receptorów. Badania *Wanga i wsp.* [38] oraz *Trybka i wsp.* [29] pokazały spadek ekspresji AR w komórce, natomiast badania *wasne* – spadek ekspresji ERs. Przeprowadzone w tej pracy doświadczenia *in vitro*, w których hodowle prowadzono w obecności finasterydu, umożliwiły poszerzenie wiedzy na temat wpływu deficytu DHT na ekspresję ERs w komórkach nabłonkowych najądrza. Światowe dane z literatury przedmiotu dowodzą androgenozależność ekspresji receptorów hormonów steroidowych. Wywołany deficytem androgenów spadek ekspresji AR pociąga za sobą obniżenie ekspresji ERs, a podanie zwierzętom T lub DHT przywraca wyjściowy poziom SHRs, w szczególności ER α [25]. Ponadto, wczesne badania *Toney i Danzo* [39] sugerują, że androgeny regulują nie tylko ilość, ale również lokalizację (cytoplazmatyczną lub jądrową) receptora estrogenowego w komórkach najądrza królika. W myśl badań *Panet-Raymond i wsp.* [40] SHRs dimeryzują ze sobą na drodze interakcji N-końca receptora androgenowego z domeną LBD receptora estrogenowego. Zatem obserwowane przez autora niniejszej pracy obniżenie ogólnej puli ERs w komórkach nabłonkowych hodowanych w obecności finasterydu oraz zmiana ich lokalizacji z jądrowej na cytoplazmatyczną mogło być pośrednio wywołane deficytem DHT (bezpośredni udział AR). Chociaż SHRs uważane są za receptory o ściśle jądrowej lokalizacji, to w warunkach niskiej koncentracji

hormonu w środowisku receptory tworzą w cytoplazmie komórki kompleks z białkami opiekuńczymi, np. z białkami szoku termicznego (*heat shock protein* – HSP) [15]. Dopiero po związaniu receptora z ligandem (hormonem), kompleks ulega translokacji do nukleoplazmy. W myśl tej teorii, niskie stężenie DHT mogło sprzyjać lokalizacji AR w cytoplazmie, gdzie receptor ten mógł dimeryzować z ER. Dodanie do pożywki hodowlanej inhibitora 5 α -red2 zmieniło zarówno stosunek androgenów do estrogenów, jak również T do DHT (dane niepublikowane). Zachwianie równowagi androgeno-estrogenowej mogło być bodźcem dla procesu heterodimeryzacji, który zależny jest od 17 β -estradiolu [40, 41].

Wyraźniej zaznaczony spadek ekspresji ERs w głowie najądrza szczurów otrzymujących finasteryd mógł wynikać z bardzo wysokiej, udokumentowanej przez innych badaczy [42], dystrybucji receptorów estrogenowych, zwłaszcza ER α w tym odcinku narządu. W ogonie najądrza nie obserwowano tak wyraźnych różnic w ekspresji ERs, gdyż w tym odcinku ER β dominują nad ER α , a wg *Panet-Raymond i wsp.* [40] tylko ER α może wejść w kontakt z AR. W komórkach, w których ulegają koekspresji wszystkie trzy SHRs (ER α , ER β , AR), ER β teoretycznie może „przejąć funkcję” ER α , którego aktywność transkrypcyjna została znacznie osłabiona przez AR [40]. „Asekuracyjne” współdziałanie ERs dotyczy jednak raczej nieznacznych zmian w ich aktywności, o czym traktuje wiele prac poświęconych transgenicznym myszom ERKO (Estrogen Receptor Knock Out) z nieaktywnym, którymś z receptorów estrogenowych (α ERKO, β ERKO, $\alpha\beta$ ERKO) [43, 44, 45, 46, 47] lub z nieaktywnym genem dla aromatazy, Aromatase Knock Out (ArKO) [48, 49]. Według sugestii *Krege'a i wsp.* [45] oraz *Li i wsp.* [47] funkcjonalnie sprawny ER α , a nie aktywność ER β czy obecność aromatazy w komórce jest podstawą dla pełnej płodności męskiej. Potwierdzają to badania *Rosenfelda i wsp.* [50] dowodzące, że ER β nie jest w stanie zrekompensować całkowitego braku ER α . Nie oznacza to, że nieaktywny ER β , czy za wysoki/za niski poziom aromatazy, a tym samym zaburzenie równowagi hormonalnej nie upośledza funkcji męskiego układu płciowego [47].

Wniosek

Na podstawie uzyskanych wyników wnosić można, że wywołany finasterydem deficyt DHT prowadzi do zmiany ekspresji ER α i ER β w najądrzu, co może powodować zaburzenie funkcji tego narządu.

Piśmiennictwo

1. *Wenda-Różewicka L., Wiszniewska B.*: Najądrze. In: Molekularne podstawy rozrodczości człowieka i innych ssaków. Ed. M. Kurpisz. Termedia Wyd. Med. Poznań 2002, 183–190.
2. *Piomboni P.*: Microanatomy of the epididymis and vas deferens. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 1997, 29, 583–593.

3. Vierula M., Rankin T.L., Orgebin-Crist M.C.: Electron microscopic immunolocalization of the 18 and 29 kilodalton secretory proteins in the mouse epididymis: evidence for differential uptake by clear cells. *Microscopy Res. Tech.* 1995, 30, 24–36.
4. Andonian S., Adamali H., Hermo L.: Expression and regulation of H⁺K⁺-ATPase in lysosomes of epithelial cells of the adult rat epididymis. *Mol. Reprod. Dev.* 2001, 58, 398–410.
5. Hermo L., Adamali H.L., Andonian S.: Immunolocalization of CA II and H⁺ V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. *J. Androl.* 2000, 21, 376–391.
6. Jervis K.M., Robaire B.: Dynamic changes in gene expression along the rat epididymis. *Biol. Reprod.* 2001, 65, 69–703.
7. Kirchhoff Ch.: Gene expression in the epididymis. *Int. Rev. Cytol.* 1999, 188, 133–202.
8. Andonian S., Hermo L.: Cell- and region-specific localization of lysosomal and secretory proteins and endocytic receptors in epithelial cells of cauda epididymis and vas deferens of the adult rats. *J. Androl.* 1999, 20, 415–429.
9. Clulow J., Jones R.C., Hansen L.A., Man S.Y.: Fluid and electrolyte reabsorption in the ductuli efferentes testis. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1998, 53, 1–14.
10. Świder-Al-Amawi M.: Regulacja steroidogenezy w komórkach nabłonkowych najądrza szczura. *Ann. Acad. Med. Stetin.* 2004, 50, 115–122.
11. Wiszniewska B.: Primary culture of the rat epididymal epithelial cells as a source of oestrogen. *Andrologia*, 2002, 34, 180–187.
12. Wiszniewska B.: Steroidogeneza w komórkach nabłonkowych najądrza szczura. *Ann. Acad. Med. Stetin.* 1998, Suppl. 40, 1–66.
13. Ezer N., Robaire B.: Gene expression is differentially regulated in the epididymis after orchidectomy. *Endocrinology*, 2003, 144, 977–988.
14. Ezer N., Robaire B.: Androgen regulation of epididymal structure and function. In: *The epididymis from molecules to clinical practice*. Eds B. Robaire, B.T. Hinton. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York 2002, 297–316.
15. Beato M., Klug J.: Steroid hormone receptors: an update. *Human. Reprod. Update*, 2000, 6, 225–236.
16. Jin Y., Penning T.M.: Steroid 5 α -reductase and 3 α -hydroxy-steroid dehydrogenases: key enzymes in androgen metabolism. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 15, 79–94.
17. Viger R.S., Robaire B.: The mRNAs for the steroid 5 α -reductase isoenzymes, types 1 and 2, are differentially regulated in the rat epididymis. *J. Androl.* 1996, 17, 27–34.
18. Hess R.A.: Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2003, 1, 52.
19. Carpino A., Romeo F., Rago V.: Aromatase immunolocalization in human ductuli efferentes and proximal ductus epididymis. *J. Anat.* 2004, 204, 217–220.
20. Pereyra-Martinez A.C., Roselli C.E., Stadelman H.L., Resko J.A.: Cytochrome P450 aromatase in testis and epididymal of male rhesus monkeys. *Endocrine*, 2001, 16, 15–29.
21. Zhou Q. et al.: Estrogen action and male fertility: Roles of the sodium/hydrogen exchanger-3 and fluid reabsorption in reproductive tract function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, 14132–14137.
22. Pelletier G.: Localization of androgen and estrogen receptors in rat and primate tissues. *Histol. Histopathol.* 2000, 15, 1261–1270.
23. Yamashita S.: Localization of estrogen and androgen receptors in male reproductive tissues of mice and rats. *Anat. Rec. A. Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.* 2004, 279A, 768–778.
24. Ungefroren H., Ivell R., Ergün S.: Region-specific expression of the androgen receptor in the human epididymis. *Mol. Hum. Reprod.* 1997, 3, 933–940.
25. Oliveira C.A. et al.: Differential hormonal regulation of estrogen receptors ER α and ER β and androgen receptor expression in rat efferent ductules. *Reproduction*, 2004, 128, 73–86.
26. Albrecht E.D., Billiar R.B., Aberdeen G.W., Babischkin J.S., Pepe G.J.: Expression of estrogen receptors alpha and beta in the fetal baboon testis and epididymis. *Biol. Reprod.* 2004, 70, 1106–1113.
27. Kolasa A., Wiszniewska B., Marchlewicz M., Wenda-Różewicka L.: Localisation of oestrogen receptors (ER α and ER β) in the human and rat epididymides. *Folia Morphol.* 2003, 62, 467–469.
28. Saunders P.T.K. et al.: Differential expression of oestrogen receptor α and β proteins in the testes and male reproductive system of human and non-primates. *Mol. Hum. Reprod.* 2001, 7, 227–236.
29. Trybek G., Kolasa A., Marchlewicz M., Wenda-Różewicka L., Wiszniewska B.: Immunolocalization of androgen receptor in the epididymis of rats with dihydrotestosterone deficiency. *Reprod. Biol.* 2005, 5, 291–301.
30. Li D., Han X.: The effect of estrogens on male reproduction. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2004, 10, 211–214.
31. Williams K. et al.: Neonatal exposure to potent and environmental oestrogens and abnormalities of male reproductive system in the rat: evidence for importance of the androgen-oestrogen balance and assessment of the relevance to man. *Hum. Reprod. Update*, 2001, 7, 236–247.
32. Reid B.L., Cleland K.W.: The structure and function of the epididymis. I. The histology of the rat epididymis. *Austr. J. Zool.* 1957, 5, 223–246.
33. Kolasa A., Marchlewicz M., Wenda-Różewicka L., Wiszniewska B.: Morphology of the testis and the epididymis in rats with dihydrotestosterone (DHT) deficiency. *Rocz. Akad. Med. Białymst.* 2004, 49, 117–119.
34. Zamir I. et al.: A nuclear hormone receptor corepressor mediates transcriptional silencing by receptors with distinct repression domain. *Mol. Cell. Biol.* 1996, 16, 5458–5465.
35. Htun H., Holth L.T., Walker D., Davie J.R., Hager D.L.: Direct visualization of ligand occupied and unoccupied human estrogen receptor alpha reveals a role for ligand in the nuclear distribution of the receptor. *Mol. Biol. Cell.* 1999, 10, 471–486.
36. Hager G.L., Lim C.S., Elbi C., Baumann C.T.: Trafficking of nuclear receptors in living cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2000, 74, 249–254.
37. Lee S.H.: Coexistence of cytoplasmic and nuclear estrogen receptors. A histochemical study on human mammary cancer and rabbit uterus. *Cancer*, 1989, 64, 1461–1466.
38. Wang L.G., Liu X.M., Kreis W., Budman D.R.: Down-regulation of prostate-specific antigen expression by finasteride through inhibition of complex formation between androgen receptor and steroid receptor-binding consensus in the promoter of the PSA gene in LNCaP cells. *Cancer Res.* 1997, 57, 714–719.
39. Toney T.W., Danzo B.J.: Developmental changes in and hormonal regulation of estrogen and androgen receptors present in the rabbit epididymis. *Biol. Reprod.* 1988, 39, 818–828.
40. Panet-Raymond V., Gottlieb B., Betel L.K., Pinsky L., Trifiro M.A.: Interactions between androgen and estrogen receptors and the effects on their transactional properties. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2000, 167, 137–150.
41. Migliaccio A. et al.: Steroid-induced androgen receptor-oestradiol receptor β -Src complex triggers prostate cancer cell proliferation. *EMBO J.* 2000, 19, 5406–5417.
42. Hess R.A. et al.: Estrogen receptor (α and β) expression in the efferent ducts of the adult male rat reproductive tract. *J. Androl.* 1997, 18, 602–611.
43. Hess R.A., Bunick D., Lubahn D.B., Zhou Q., Bouma J.: Morphologic changes in efferent ductules and epididymis in estrogen receptor-alpha knockout mice. *J. Androl.* 2000, 21, 107–121.
44. Couse J.F., Korach K.: Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocrine Rev.* 1999, 20, 358–417.
45. Krege J.H. et al.: Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor β . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95, 15677–15682.
46. Nakai M. et al.: Morphological analysis of endocytosis in efferent ductules of estrogen receptor-alpha knockout male mouse. *Anat. Rec.* 2001, 263, 10–18.
47. Li X. et al.: Altered structure and function of reproductive organs in transgenic male mice overexpressing human aromatase. *Endocrinology*, 2001, 142, 2435–2442.

48. *Toda K. et al.*: Oestrogen on the neonatal stage is critical for the reproductive ability of male mice as revealed by supplementation with 17 β -oestradiol to aromatase gene (Cyp19) knockout mice. *J. Endocrinol.* 2001, 168, 455–463.
49. *Robertson K.M., Simpson E.R., Lacham-Kaplan O., Jones M.E.*: Characterization of the fertility of male aromatase knockout mice. *J. Androl.* 2001, 22, 825–830.
50. *Rosenfeld C.S. et al.*: Transcription and translation of estrogen receptor- β in the male reproductive tract of estrogen receptor- α knock-out and wild-type mice. *Endocrinology*, 1998, 139, 2982–2987.

Komentarz

Morfologia i funkcja najądrza jest ciągle mało doceniana w ustalaniu przyczyn męskiej niepłodności. Wielu lekarzy interesuje się tylko stanem anatomicznym najądrza i traktuje je jako przewód, który może być niedrożny. Tymczasem szereg czynników, takich jak: leki, hormony, substancje toksyczne, zmiany w naczyniach tego narządu czy infekcje mogą powodować morfologiczne uszkodzenia

lub zaburzenia jego funkcji bez częściowego lub całkowitego zamknięcia światła.

Najądrze podlega rozległej kontroli hormonalnej. Obok androgenów – testosteronu i dwuhydrotestosteronu duże znaczenie w regulacji tej kontroli przypisuje się estrogenom. Utrzymanie prawidłowych proporcji między tymi hormonami warunkuje wytworzenie korzystnego środowiska dla różnicowania, dojrzewania i przeżywania plemników w najądrzu. Podejmowane coraz częściej leczenie męskiej niepłodności, stosowanie różnych terapii hormonalnych polepszających funkcję męskiego układu płciowego czy leczenie hormonalne w przypadkach raka stercza, wymagają znajomości wzajemnych zależności hormonalnych, dystrybucji i funkcji receptorów dla tych hormonów i aktywności enzymów uczestniczących w ich syntezie. Badania tej pracy wychodzą naprzeciw tym oczekiwaniom.

prof. dr hab. n. med. *Lidia Wenda-Różewicka*

MAREK MASIUK

**OCENA EKSPRESJI NUKLEOLINY I JEJ WEWNĄTRZJĄDROWEJ
DYSTRYBUCJI W ESTROGENO-UJEMNYCH I ESTROGENO-DODATNICH
RAKACH SUTKA U KOBIET ZA POMOCĄ LASEROWEGO
CYTOMETRU SKANINGOWEGO***

**EXPRESSION AND INTRANUCLEAR DISTRIBUTION OF NUCLEOLIN
IN ESTROGEN RECEPTOR-NEGATIVE AND ESTROGEN
RECEPTOR-POSITIVE BREAST CANCERS IN WOMEN MEASURED
BY LASER SCANNING CYTOMETRY***

Zakład Patomorfologii Pomorskiej Akademii Medycznej
ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Wenancjusz Domagała*

Summary

Introduction: Nucleolin (NU) is one of the most abundant nucleolar proteins. Nucleolin is mainly involved in ribosome biogenesis that is supported by the ability of NU to bind rDNA and modify the structure of chromatin by binding to histon H1. Estrogen receptor α (ER α) is a DNA-binding transcriptional factor. It is estimated that 69–85% of breast cancers in women are ER α -positive.

The aim of the study was to assess the expression and intranuclear distribution of NU in invasive ductal and lobular breast cancers in women and their relationship to ER α -status, histologic type and grade of breast cancer, and lymph node status. For this purpose, laser scanning cytometry (LSC) was used.

Material and methods: Measurements were done in cytopins of cancer cells of 87 ductal and 11 lobular invasive breast cancers. The cells were labeled with mouse anti-human NU antibody followed by F(ab')₂ fragments of FITC-conjugated goat anti-mouse antibody. Nuclei were counterstained with 5 μ g/mL of propidium iodide in the presence of 100 μ g/mL of RNase A. All measurements

were performed using LSC. The following parameters of individual cancer cells were calculated: NU fluorescence within the nucleus, within nucleolin aggregates (NUA) and in the remaining karyoplasm, number of NUA, area of the nucleus and NUA. The percentage of ER-positive breast cancer cells was calculated in parallel by the automated image analysis in formalin-fixed sections using immunohistochemistry with anti-ER α antibody. The cut-off value for ER-negative tumors was set at 10% of positively stained nuclei. Statistical analysis was done using the Statistica 5.0 software. P values less than 0.05 were considered statistically significant.

Results: The mean area of the nucleus of ductal cancer cells was significantly higher and NU expression lower in ER α -negative cancers than in ER α -positive ones ($p = 0.007$ and $p = 0.04$, respectively). The mean area of NUA and NU expression in ductal cancers were higher than in lobular cancers ($p = 0.03$ and $p = 0.02$, respectively). The expression of NU within the nucleus and within the karyoplasm besides NUA was significantly higher in ductal than in lobular cancers ($p = 0.02$ and $p = 0.04$, respectively). The expression of NU in the remaining karyoplasm of tumor

* Zwięzła wersja rozprawy doktorskiej przyjętej przez Radę Wydziału Lekarskiego Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Promotor: dr hab. n. med. *Elżbieta Uraśńska*. Oryginalny maszynopis obejmuje 67 stron, 28 tabel, 11 rycin, 152 pozycje piśmiennictwa.

* Concise version of doctoral thesis approved by the Council of the Faculty of Medicine, Pomeranian Medical University in Szczecin. Promotor: *Elżbieta Uraśńska* M.D., D.M.Sc. Habil. Oryginal typescript comprises: 67 pages, 28 tables, 11 figures, 152 references.

cells of lymph node-positive cancers was lower than in node-negative ones ($p = 0.04$). The same relation was found for ductal cancers ($p = 0.02$).

Conclusions: The differences in nucleolin expression and its intranuclear distribution in ER α -negative and ER α -positive breast cancers, as well as ductal and lobular cancers point to biologic differences between these carcinomas. The method used in the study may be applied to measurements of expression and intranuclear distribution of other nuclear proteins or to simultaneous measurement of expression and distribution of nuclear and cytoplasmic proteins.

Key words: nucleolus – ductal breast carcinoma – lobular breast carcinoma – cytometry.

Streszczenie

Wstęp: Nukleolina (NU) jest jednym z głównych białek jąderka. Receptor estrogenowy α (ER α) jest czynnikiem transkrypcyjnym, którego ekspresję stwierdza się w 69–85% przypadków raków sutka u kobiet.

Celem pracy była ocena ekspresji NU i jej wewnątrzjądrowej dystrybucji w komórkach naciekających raków przewodowych i zrazikowych sutka za pomocą laserowego cytometru skaningowego i jej związku z obecnością ER α , typem histologicznym raka, stopniem histologicznej złośliwości oraz obecnością przerzutów w węzłach chłonnych pachowych.

Materiały i metody: Badano preparaty cytologiczne 98 pierwotnych, naciekających raków sutka (87 przewodowych i 11 zrazikowych). Ekspresję ER α mierzono w preparatach histologicznych z tych samych raków. Oceniano parametry fluorescencji związanej z NU oraz z DNA jąder komórkowych. Ekspresję nukleoliny mierzono w obrębie całego jądra komórkowego oraz w agregatach nukleoliny (NUA) i karioplazmie poza NUA.

Wyniki: Średnia powierzchnia jąder komórek raków przewodowych była wyższa w rakach ER-, natomiast zawartość NU w jądrze komórkowym była w tych rakach niższa niż w rakach ER+. Raki przewodowe cechowały się większą średnią powierzchnią NUA niż raki zrazikowe. Ekspresja NU w jądrze i w karioplazmie poza NUA była wyższa w rakach przewodowych niż w rakach zrazikowych. Raki z obecnością przerzutów w węzłach chłonnych pachowych charakteryzowały się niższą zawartością NU w karioplazmie poza NUA niż raki bez przerzutów.

Wnioski: Różnice w zawartości nukleoliny pomiędzy rakami ER- i ER+ oraz rakami przewodowymi i zrazikowymi wskazują na różnice w biologii tych nowotworów. Zastosowana metoda może zostać wykorzystana do oceny ekspresji i wewnątrzjądrowej dystrybucji innych białek oraz do jednoczesnego pomiaru ekspresji i rozmieszczenia białek jądrowych i cytoplazmatycznych.

Hasła: jąderko – rak przewodowy sutka – rak zrazikowy sutka – cytometria.

Wstęp

Jąderko, widoczne w jądrze komórek interfazowych, utworzone jest przez organizator jąderkowy zawierający informację genetyczną dla syntezy rybosomalnych RNA [1, 2]. Główną funkcją jąderka jest przetwarzanie rRNA od momentu transkrypcji do składania cząstek prerybosomalnych. Po 30 latach badań nad składnikami białkowymi jąderka znanych jest dziś prawie 400 białek wchodzących w jego skład [3, 4]. Odkryta w 1973 roku przez *Orricka i wsp.* [5] nukleolina jest jednym z głównych białek jąderka, stanowiącym około 10% wszystkich jego białek [6].

W cząsteczce nukleoliny (NU) można wyodrębnić trzy domeny różniące się składem aminokwasów, jak i funkcją: domenę N-końcową, domenę centralną oraz domenę C-końcową. Region N-końcowy zawiera występujące na przemian sekwencje aminokwasów kwaśnych i zasadowych, analogiczne do sekwencji w histonie H1 [6]. Domena centralna, wiążąca RNA, zawiera cztery odcinki, zwane RBD (RNA binding domain) lub RRM (RNA recognition motif), mające zdolność oddziaływania z RNA [7, 8]. Domena C-końcowa charakteryzuje się występowaniem powtarzającej się sekwencji Arg-Gly-Gly, globularną strukturą i zdolnością wiązania kwasów nukleinowych [9].

Nukleolina zlokalizowana jest głównie w jąderkach komórek interfazowych [10], a także w organizatorach jąderka w chromosomach [11]. W jąderku zlokalizowana jest w obrębie centrów włóknistych i gęstego składnika włóknistego [12] oraz współwystępuje z prerybosomalnymi rybonukleoproteinami [13]. Wykazano również obecność nukleoliny w cytoplazmie [14, 15], a także na powierzchni komórki [16, 17].

Nukleolina podlega głównie procesom fosforylacji i defosforylacji. Fosforylacja nukleoliny w reakcji katalizowanej przez kinazę kazeinową typu II [18] zachodzi podczas interfazy, co zwiększa specyficzność oddziaływania nukleoliny z polimerazą RNA typu I i z rDNA [19]. W czasie mitozy nukleolina ulega fosforylacji przez kinazę p34^{cdc2}, co wiąże się ze zmianą lokalizacji nukleoliny w czasie cyklu komórkowego [6]. Zawartość nukleoliny w komórce podlega także samoregulacji przez wiązanie nukleoliny z własnym mRNA, co powoduje zahamowanie translacji w przypadku jej nadmiaru [20].

Zasadniczą funkcją nukleoliny w komórce jest udział w biosyntezie rybosomów. Udział nukleoliny w procesie transkrypcji rDNA potwierdza preferencyjne wiązanie z bogatym w reszty glicyny kwasem nukleinowym, tj. rDNA [21], jej zdolność do modulacji struktury chromatyntyny przez oddziaływanie z histonem H1 [22, 23], większe powinowactwo do jednoniciowego niż dwuniciowego DNA i wiązanie się z odcinkiem rDNA niepodlegającym transkrypcji powyżej miejsca inicjacji transkrypcji dla 45S prerybosomalnego RNA [24]. Nukleolina bierze także udział w regulacji transkrypcji genów rybosomalnych [25]. Nukleolina uczestniczy w pierwszym, zwanym też wczesnym, rozcinaniu końca 5' zewnętrznej sekwencji transkrybowanej

nej w obrębie pre-rRNA, wiążąc się z rozpoznającym nukleolinę fragmentem pre-rRNA [8, 26] oraz bierze udział w procesie wydłużania pierwotnego transkryptu rRNA poprzez wiązanie i wpływ na aktywność kompleksu polimerazy I RNA [19, 25, 27]. Nukleolina, poprzez wpływ na transkrypcję rRNA, uczestniczy w procesie dojrzewania rybosomalnego prekursora 40S [28] oraz wpływa na dalsze etapy dojrzewania pre-rRNA. Nie stwierdza się nukleoliny w obrębie dojrzałych rybosomów, co może świadczyć, że bierze ona czynny udział wyłącznie we wczesnych etapach ich biosyntezy [29]. Nukleolina pełni także inne funkcje w komórce, m.in.: funkcję receptorową [16, 17], przekaźnika sygnału [30], regulującą ekspresję genów [31] czy białka szoku termicznego (*heat shock protein*) [32].

Odkryty w 1967 roku receptor estrogenowy (ER) jest białkowym czynnikiem transkrypcyjnym, należącym do rodziny białek wiążących DNA [33, 34]. Odkrycie w 1996 roku izoformy β receptora pozwala na wyróżnianie ER α i ER β [35]. Ludzki receptor estrogenowy budową przypomina inne białka z rodziny steroidowych receptorów jądrowych, zawierając w swojej budowie sześć domen funkcjonalnych (A-F) [25]. Fragment N-końcowy posiada domeny A/B odpowiedzialne za transaktywację [36], domena C rozpoznaje i wiąże sekwencję rozpoznającą receptor estrogenowy w obrębie DNA (*estrogen responsive element* – ERE), domena D odpowiada za transport receptora do jądra komórkowego [33], a domeny E i F są miejscem wiązania estradiolu i białka Hsp90 oraz warunkują dimeryzację receptora [33, 37]. Związanie ligandu z receptorem estrogenowym prowadzi do zmian konformacyjnych receptora [38], a w ich wyniku dochodzi do jego dimeryzacji, oddziaływania z DNA, rekrutacji i koaktywacji innych czynników transkrypcyjnych i ostatecznie tworzenia kompleksu preinicjacyjnego [39].

Metodą referencyjną do oceny receptora estrogenowego w rakach sutka jest metoda immunohistochemiczna stosowana w skrawkach histologicznych, utrwalonych w formaldehydzie i zatopionych w bloczkach parafinowych. Receptor estrogenowy wykrywany jest w 69–85% raków sutka u kobiet [40, 41]. Raki estrogeno-dodatnie różnią się od raków estrogeno-ujemnych: budową histologiczną, przebiegiem klinicznym i rokowaniem oraz budową molekularną. Do raków sutka, które nie wykazują ekspresji receptora estrogenowego, należą przede wszystkim nisko zróżnicowane raki przewodowe [42, 43] oraz raki rdzeniaste [43, 44]. Rakami estrogeno-dodatnimi są głównie wysoko zróżnicowane raki przewodowe [42] i raki zrazikowe [45, 46, 47].

Ekspresja ER ma znaczenie predykcyjne [48, 49, 50]. Na terapię hormonalną odpowiada 60–70% chorych z rakami estrogeno-dodatnimi, podczas gdy w grupie pacjentek z rakami estrogeno-ujemnymi odsetek ten wynosi nie więcej niż 10% [49]. Rokownicze znaczenie receptora estrogenowego zanika po 5–8 latach obserwacji [42, 51].

Estrogeny odgrywają rolę zarówno w rozwoju prawidłowej tkanki gruczołowej sutka, jak i proliferacji komórek raka sutka, regulując przejście komórek z fazy G₁ do fazy S cyklu komórkowego [33, 52, 53]. Celem molekularnym dla

receptora estrogenowego jest cyklina D1, która warunkuje progresję cyklu komórkowego [52]. Stwierdzono także stymulujący wpływ estrogenów na ekspresję *c-myc* i na proliferację komórek zależną od białka MYC w hodowli komórek rakowych [52, 54, 55]. Zaobserwowane różnice w ekspresji białek zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego pomiędzy rakami estrogeno-ujemnymi a estrogeno-dodatnimi, pozwalają sądzić, że raki te różnią się pomiędzy sobą biosyntezą białek potrzebnych do progresji cyklu komórkowego. Za biosyntezę białek w komórce odpowiadają rybosomy, których prekursorzy powstają w jąderku. Struktury te wykazują zdolność wiązania jonów srebra zależną od obecności białek z nimi związanych, takich jak: nukleolina [6, 56], białko B23 [56], polimeraza RNA typu I [57, 58], jąderkowy czynnik transkrypcyjny wiążący się powyżej miejsca startu polimerazy RNA typu I [57]. Srebrochłonne organizatory jąderka (*argyrophilic nucleolar organizers regions* – AgNOR) odpowiedzialne są za aktywność transkrypcyjną, a ich ilość, uwidoczniona srebrzeniem, rośnie w aktywnie proliferujących komórkach, odzwierciedlając wzrost liczby aktywnych transkrypcyjnie miejsc rDNA [59]. Znaczenie AgNOR w diagnostyce nowotworów sutka pozostaje kontrowersyjne zarówno w odniesieniu do różnicowania zmian łagodnych od złośliwych [60, 61, 62], jak i ich roli prognostycznej w rakach [63, 64, 65, 66]. Tylko niektórzy autorzy znajdują statystycznie istotne związki pomiędzy AgNOR a obecnością receptora estrogenowego w komórkach raków sutka [64, 65, 67, 68].

Celem pracy była ocena ekspresji nukleoliny oraz jej wewnątrzjądrowej dystrybucji w komórkach naciekających raków przewodowych i zrazikowych sutka za pomocą laserowego cytometru skaningowego, a także jej związku z obecnością receptora estrogenowego, typem histologicznym raka, stopniem histologicznej złośliwości i obecnością przerzutów w węzłach chłonnych pachowych.

Material i metody

Grupę badaną stanowiło 98 pacjentek z pierwotnym, naciekającym rakiem sutka, operowanych w Regionalnym Szpitalu Onkologicznym w Szczecinie od października 2002 r. do grudnia 2003 r. Przed wykonaniem zabiegu nie stosowano żadnego dodatkowego leczenia. W każdym przypadku, w preparatach histologicznych utrwalonych w 10% formaldehydzie oraz barwionych rutynowo hematoksyliną i eozyną, oceniano: typ histologiczny raka, stopień histologicznej złośliwości wg *Blooma* i *Richardsona* [69], obecność przerzutów w węzłach chłonnych pachowych i – za pomocą analizatora obrazu – odsetek komórek z obecnością receptora estrogenowego (%ER+). Podstawowe dane kliniczno-morfologiczne przedstawiono w tabeli 1.

Badano preparaty cytologiczne odwirowanej w cytowirówce (Shandon Inc., Pittsburg, PA, USA) zawiesiny komórek rakowych uzyskanych przez skrobanie ostrzem skalpela powierzchni guza zanurzonego w zbuforowanym

Tabela 1. Podstawowe dane kliniczno-morfologiczne

Table 1. Clinico-pathologic characteristics of patients

Parametr / Parameter	n (%)
Wiek (mediana: 53 lata; średnia: 57,5 ± 14,1) Age (median: 53 years, mean: 57,5 ± 14,1)	
< 53 r.ż./years	46
≥ 53 r.ż./years	52
Średnica guza (mediana: 20 mm; średnia: 20,9 ± 8,2) Tumor diameter (median: 20 mm, mean: 20,9 ± 8,2)	
< 2 cm	44
≥ 2 cm	54
Stan węzłów chłonnych / Lymph node status Bez przerzutów / Z przerzutami Without metastases / With metastases	48 / 50
Typ histologiczny raka / Histologic type of cancer Przewodowy / Ductal (n = 87) GI / GII / GIII	87 6 / 38 / 43
Zrazikowy / Lobular (n = 11)	11
Obecność receptora estrogenowego Estrogen receptor status ER- / ER+	20 / 78
Raki przewodowe / Ductal cancers ER- / ER+	20 / 67
Raki zrazikowe / Lobular cancers ER- / ER+	0 / 11

roztworze soli fizjologicznej (*phosphate buffered saline* – PBS). Preparaty utrwalano w 1% roztworze formaldehydu, a następnie w 70% alkoholu etylowym.

Ekspresję nukleoliny oznaczano dwustopniową metodą immunocytochemiczną z zastosowaniem monoklonalnego mysiego przeciwciała pierwotnego przeciwko ludzkiej nukleolinie (sc-8031; Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) w rozcieńczeniu 1:20, a następnie fragmentów F(ab')₂ koziego przeciwciała skoniugowanych z izotiocyanianem fluoresceiny (*fluorescein isothiocyanate* – FITC) (F 0479; DAKO Corp., USA), również w rozcieńczeniu 1:20. DNA jąder komórkowych barwiono roztworem 5 µg/mL jodku propydyiny (PI) (Molecular Probes, USA) w obecności 100 µg/mL RNazy A (Sigma-Aldrich, sp. z.o.o., Polska). Jako kontrolę ujemną zastosowano przeciwciało izotypowe (X0931, DAKO Corp., USA) zamiast przeciwciała pierw-

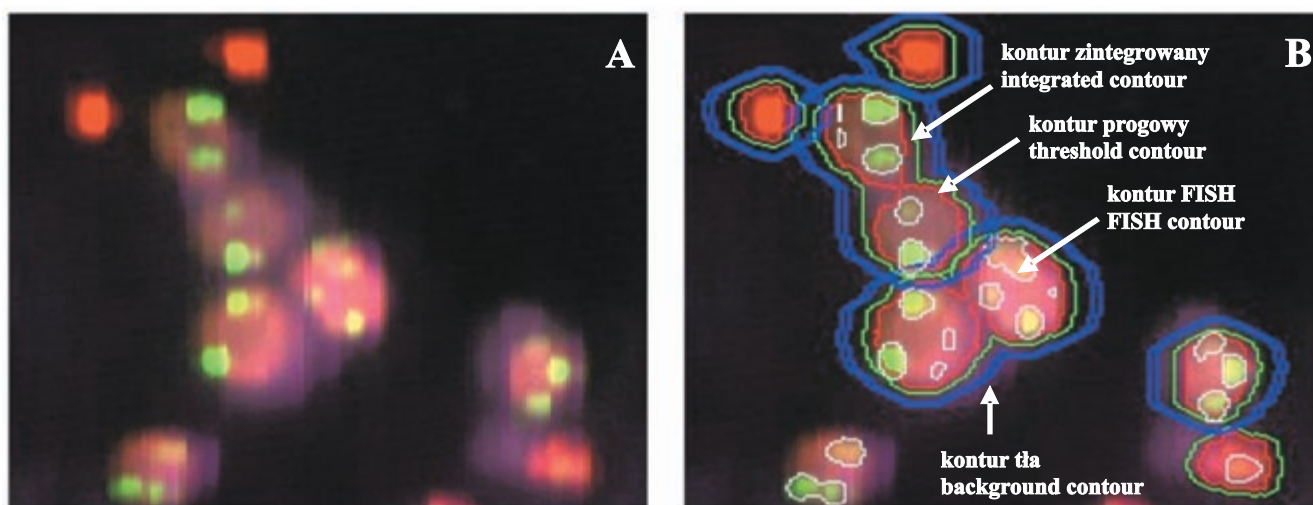
szorządowego. Po zakończeniu barwienia i płukaniu w PBS preparaty przykrywano szkiełkiem nakrywkowym w kropli medium (Dako Faramount Aqueous Mounting Medium, S 3025 DAKO Corp., USA).

Pomiarów fluorescencji komórek dokonywano za pomocą laserowego cytometru skaningowego (Compucyte Corp., USA) z zastosowaniem protokołu jednokrotnego skanowania z użyciem lasera argonowego (długość wiązki światła 466 nm). W badanych komórkach oceniano parametry zielonej fluorescencji FITC związanej z NU (maksimum emisji 520 nm) oraz parametry czerwonej fluorescencji PI związanej z DNA jąder komórkowych (maksimum emisji 610 nm).

Obraz komórek raka sutka uzyskany w czasie rzeczywistym oraz obraz tych samych komórek z konturami nałożonymi przez oprogramowanie cytometru (WinCyte 3.4) przedstawiono na rycinie 1.

Parametrem konturującym była czerwona fluorescencja PI (ryc. 1B – linie czerwone). Trzy piksele dodawane były do konturu progowego tworząc kontur zintegrowany jądra komórki, w obrębie którego dokonywano pomiarów zintegrowanej fluorescencji FITC (ryc. 1B – linie zielone). Tło definiowane było dynamicznie w obrębie pierścienia o średnicy dwóch pikseli i w odległości czterech pikseli od zintegrowanego konturu jądra komórkowego (ryc. 1B – linie niebieskie). Do oceny agregatów nukleoliny (NUA) wykorzystano funkcję FISH programu WinCyte 3.4, która pozwala na automatyczne odszukiwanie obszarów fluorescencji w obrębie konturu i powyżej progu intensywności zdefiniowanych przez użytkownika (ryc. 1B – linie białe). Za NUA uznawano obszary zielonej fluorescencji o intensywności powyżej progu ustalonego pod kontrolą wzroku na 900 jednostek względnych i o powierzchni ≥ 1 µm². W każdym przypadku mierzono fluorescencję przynajmniej w 10 000 komórek, skanując obszar preparatu o powierzchni około 1 cm².

W analizie fluorescencji posługiwano się wartością maksymalnego piksela fluorescencji (najwyższa wartość fluorescencji pojedynczego piksela w obrębie konturu zin-



Ryc. 1. Obraz komórek raka sutka uzyskany w czasie rzeczywistym bez konturów (A) oraz z nałożonymi konturami (B)

Fig. 1. LSC software-generated real-time image of breast cancer cells without contours (A) and with appropriate contours (B)

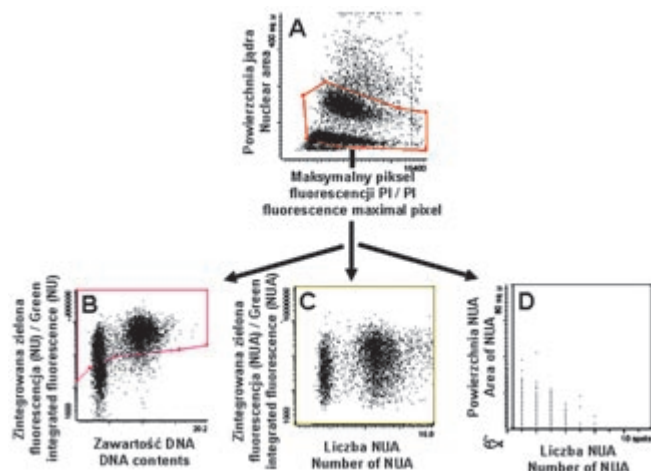
tegrowanego) oraz wartością zintegrowanej fluorescencji (suma wartości fluorescencji wszystkich pikseli w obrębie konturu zintegrowanego). Ekspresję NU mierzono w obrębie całego jądra komórkowego oraz w obrębie jego przedziałów: NUA i karioplazmy poza NUA.

Analizowano następujące parametry morfologiczne jąder komórkowych: powierzchnię jądra komórkowego, powierzchnię NUA (powierzchnia wszystkich NUA w jądrze komórkowym), powierzchnię karioplazmy poza NUA, obliczane w oparciu o pomiar powierzchni rzutu odpowiednich fluorescencji na płaszczyznę pomiarową szkiełka podstawowego preparatu i wyrażane w μm^2 oraz liczbę NUA w jądrze komórkowym.

W każdym badanym przypadku raka sutka analizowano następujące parametry fluorescencji: 1) zintegrowaną fluorescencję NU w jądrze komórkowym (NU w jądrze); 2) zintegrowaną fluorescencję NU w agregatach nukleoliny (NUA) w jądrze komórkowym (NU w NUA); 3) zintegrowaną fluorescencję NU w karioplazmie poza NUA, wyrażoną różnicą zintegrowanej fluorescencji NU w jądrze i zintegrowanej fluorescencji NU w NUA (NU w karioplazmie poza NUA); 4) stosunek zintegrowanej fluorescencji NU w jądrze komórkowym do jego powierzchni (NU w jądrze do powierzchni jądra); 5) stosunek zintegrowanej fluorescencji NUA do ich powierzchni (NU w NUA do ich powierzchni); 6) stosunek zintegrowanej fluorescencji NU w karioplazmie poza NUA do jej powierzchni (NU w karioplazmie poza NUA do jej powierzchni).

Schemat analizy poszczególnych parametrów fluorescencji badanych komórek raka sutka przedstawiono na rycinie 2.

Analiza wartości maksymalnego pikselu czerwonej fluorescencji PI w stosunku do powierzchni jądra pozwoliła na wyodrębnienie populacji pojedynczych komórek do dalszej analizy (ryc. 2A). W bramkach powyżej kontroli izotypowej analizowano: zintegrowaną fluorescencję NU w obrębie



Ryc. 2. Schemat analizy parametrów zintegrowanej fluorescencji nukleoliny w jądrach komórek raka sutka oraz liczby i powierzchni agregatów nukleoliny

Fig. 2. Approach to analysis of green integrated fluorescence in nuclei of breast cancer cells, and number and area of aggregates of nucleolin

jądra (ryc. 2B) i w obrębie agregatów nukleoliny (ryc. 2C) oraz liczbę NUA i pole ich powierzchni (ryc. 2D).

Wycinki histologiczne z raków sutka utrwalone w 10% roztworze formaldehydu i bloczkowane w parafinie barwiono immunohistochemicznie na obecność receptora estrogenowego α (ER α). Preparaty inkubowano z przeciwciałem przeciwko ludzkiemu ER α (M 7047 DAKO Corp., USA) w rozcieńczeniu 1:50 a następnie uwidoczniano w reakcji streptawidyna-biotyna z użyciem zestawu DAKO LSAB + System, HRP (K 0690 DAKO Corp., USA). Jądra komórek podbarwiano hematoksyliną. Oceniano barwną reakcję immunohistochemiczną w co najmniej 1000 jąder komórkowych przy użyciu obiektywu o powiększeniu $\times 40$ i systemu automatycznej analizy obrazu Leica Q600 QWin (Leica Cambridge Ltd., UK). Reakcję barwną w co najmniej 10% badanych jąder komórkowych przyjmowano za próg pozwalający uznać dany przypadek raka za wykazujący ekspresję ER α .

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą oprogramowania Statistica 5.0. Obliczano średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe oraz oceniano zgodność rozkładu z rozkładem normalnym. W dalszej analizie stosowano testy nieparametryczne: test Kruskala–Wallisa, test U Manna–Whitneya, test ANOVA Friedmana i test par Wilcoxon. Wartości $p < 0,05$ uznano za istotne statystycznie.

Wyniki

Parametry morfologiczne jąder komórek rakowych zmierzone za pomocą laserowego cytometru skaningowego

Średnia powierzchnia jądra komórkowego badanych raków sutka wyniosła $73 \pm 17,2 \mu\text{m}^2$, zaś średnia powierzchnia agregatów nukleoliny $5,7 \pm 1,1 \mu\text{m}^2$. Powierzchnia NUA stanowiła zatem 0,08 powierzchni jądra komórkowego. Średnia liczba NUA w jądrze wynosiła $1,39 \pm 0,2$. Średnia powierzchnia karioplazmy poza NUA wynosiła $67,3 \pm 17,5 \mu\text{m}^2$.

Raki przewodowe charakteryzowały się większą średnią powierzchnią NUA ($5,8 \pm 1,1 \mu\text{m}^2$) niż raki zrazikowe ($4,9 \pm 1,1 \mu\text{m}^2$, $p = 0,03$), a raki przewodowe ER- cechowały się większą średnią powierzchnią jądra komórkowego niż raki ER+ ($p = 0,04$). Poza tym nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności między parametrami morfologicznymi jąder komórkowych badanych raków sutka a ekspresją receptora estrogenowego i obecnością przerzutów w węzłach chłonnych pachowych.

Ekspresja nukleoliny i jej wewnątrzjądrowa dystrybucja w komórkach raka sutka

Ekspresję nukleoliny w poszczególnych przedziałach jądra komórkowego w badanych rakach przedstawiono w tabeli 2.

We wszystkich naciekających rakach sutka średnia fluorescencja NU w agregatach stanowiła 57% średniej fluorescencji NU w jądrze komórkowym i była 1,34 raza wyższa

Tabela 2. Parametry fluorescencji NU w jądrach komórkowych naciekających raków sutka (średnia \pm SD)

Table 2. Parameters of NU fluorescence in nuclei of invasive breast cancer cells (mean \pm SD)

Parametr / Parameter	Wartość (średnia \pm SD) Value (mean \pm SD)
Nukleolina w jądrze Nuclear nucleolin	314547 \pm 154690
Nukleolina w agregatach (NUA) Nucleolin in aggregates (NUA)	180089 \pm 101818
Nukleolina w karioplazmie poza agregatami (NUA) Nucleolin in the karyoplasm besides aggregates (NUA)	134458 \pm 107719
Stosunek nukleoliny w jądrze do powierzchni jądra Ratio of nuclear nucleolin to nuclear area	4557 \pm 2660
Stosunek nukleoliny w agregatach (NUA) do ich powierzchni Ratio of nucleolin in aggregates (NUA) to area of NUA	30068 \pm 12204
Stosunek nukleoliny w karioplazmie poza agregatami (NUA) do jej powierzchni Ratio of nucleolin in the karyoplasm besides aggregates (NUA) to its area	2111 \pm 1893

niż średnia fluorescencja NU w karioplazmie poza NUA. Porównanie stosunku średniej fluorescencji NU w NUA do ich powierzchni i stosunku średniej fluorescencji NU w karioplazmie poza NUA do jej powierzchni pokazuje, że średnia intensywność fluorescencji NU na μm^2 w agregatach NUA jest ponad 14 razy wyższa niż w pozostałej karioplazmie.

Ekspresja nukleoliny i jej wewnątrzjądrowa dystrybucja a obecność receptora estrogenowego α

Raki ER+ charakteryzowały się wyższym stosunkiem średniej fluorescencji NU w jądrze do jego średniej powierzchni (4762 \pm 2697) w porównaniu do raków ER- (3759 \pm 2412, $p = 0,02$). Również grupa raków przewodowych ER+

charakteryzowała się wyższym stosunkiem średniej fluorescencji NU w jądrze do jego średniej powierzchni (5042 \pm 2792) niż raki przewodowe ER- (3759 \pm 2412, $p = 0,007$). Raki przewodowe ER+ charakteryzowały się także wyższą średnią fluorescencją NU w jądrze komórkowym (340583 \pm 163416) niż raki przewodowe ER- (279756 \pm 136323, $p = 0,05$), chociaż różnica ta pozostawała na granicy istotności statystycznej.

Ekspresja nukleoliny i jej wewnątrzjądrowa dystrybucja a typ histologiczny raka

Raki przewodowe charakteryzowały się wyższą średnią fluorescencją NU w jądrze komórkowym ($p = 0,02$), wyższą średnią fluorescencją NU w karioplazmie poza NUA ($p = 0,04$) oraz wyższym stosunkiem średniej fluorescencji NU w jądrze komórkowym do jego średniej powierzchni ($p = 0,02$) niż raki zrazikowe (tab. 3).

Parametry fluorescencji NU jąder komórkowych raków przewodowych nie różniły się istotnie statystycznie w zależności od stopnia histologicznej złośliwości wg *Blooma* i *Richardsona* [69].

Ekspresja nukleoliny i jej wewnątrzjądrowa dystrybucja a obecność przerzutów w węzłach chłonnych pachowych

Raki z obecnością przerzutów w węzłach chłonnych pachowych cechowały się istotną statystycznie niższą średnią fluorescencją NU w karioplazmie poza NUA (113638 \pm 108703, $p = 0,04$) i niższym stosunkiem średniej fluorescencji NU w karioplazmie poza NUA do jej średniej powierzchni (1714 \pm 1792) niż raki bez przerzutów w węzłach chłonnych pachowych (odpowiednio: 156145 \pm 103376 i 2524 \pm 1924, $p = 0,02$).

Raki przewodowe z obecnością przerzutów w węzłach chłonnych pachowych cechowały się istotną statystycznie niższą średnią fluorescencją NU w karioplazmie poza NUA (118110 \pm 111487, $p = 0,02$) i niższym stosunkiem średniej fluorescencji NU w karioplazmie poza NUA do jej średniej

Tabela 3. Parametry fluorescencji NU w jądrach komórkowych naciekających raków sutka w zależności od typu histologicznego raka (średnia \pm SD)

Table 3. Parameters of NU fluorescence in nuclei of breast cancer cells in relation to histologic type (mean \pm SD)

Parametr / Parameter	Raki przewodowe Ductal cancers (n = 87)	Raki zrazikowe Lobular cancers (n = 11)	p
Nukleolina w jądrze / Nuclear nucleolin	326560 \pm 158942	219222 \pm 59945	0,02
Nukleolina w agregatach (NUA) Nucleolin in aggregates (NUA)	185393 \pm 104717	138143 \pm 63815	0,15
Nukleolina w karioplazmie poza agregatami (NUA) Nucleolin in the karyoplasm besides aggregates (NUA)	141207 \pm 110508	81079 \pm 63235	0,04
Stosunek nukleoliny w jądrze do powierzchni jądra Ratio of nuclear nucleolin to nuclear area	4747 \pm 2750	3060 \pm 1026	0,02
Stosunek nukleoliny w agregatach (NUA) do ich powierzchni Ratio of nucleolin in aggregates (NUA) to area of NUA	30491 \pm 12584	26720 \pm 8300	0,43
Stosunek nukleoliny w karioplazmie poza agregatami (NUA) do jej powierzchni Ratio of nucleolin in the karyoplasm besides aggregates (NUA) to its area	2221 \pm 1951	1241 \pm 918	0,06

powierzchni (1780 ± 1846) niż raki przewodowe bez przerzutów w węzłach chłonnych pachowych (odpowiednio: 165954 ± 105184 i 2693 ± 1971 , $p = 0,01$). Natomiast parametry fluorescencji NU jąder komórkowych raków zrazikowych nie różniły się istotnie statystycznie w zależności od obecności przerzutów w węzłach chłonnych pachowych.

Omówienie wyników i dyskusja

Ekspresja nukleoliny i parametry morfologiczne jąder komórkowych a obecność receptora estrogenowego α

Mechanizm wykazany w niniejszej pracy związku ekspresji NU z ER α w rakach przewodowych sutka pozostaje nieznany. Gen kodujący NU ulega aktywacji przez produkt onkogenu *c-myc* oddziałujący bezpośrednio na promotor genu NU [70]. Natomiast związek ekspresji *c-myc* z obecnością ER α wykazano zarówno w badaniach doświadczalnych na hodowlach ludzkich komórek raka sutka, jak i w materiale klinicznym. W rakach ER+ do wzrostu ekspresji *c-myc* dochodzi na drodze dwóch mechanizmów: zwiększonej transkrypcji *c-myc* lub amplifikacji *c-myc* [54, 55, 71]. Wzrost transkrypcji mRNA *c-myc* po stymulacji estrogenami uwarunkowany jest występowaniem ERE – odcinka DNA wiążącego receptor estrogenowy, zlokalizowanego w obrębie promotora genu *c-myc* [72]. Raki sutka niezawierające receptora estrogenów cechują się amplifikacją *c-myc* i wysoką ekspresją *c-myc*, którym towarzyszy wzrost mRNA *c-myc* [54, 55, 73, 74].

W grupie wszystkich badanych raków ER+ oraz w grupie raków przewodowych ER+ stwierdzono wyższy stosunek fluorescencji NU do powierzchni jądra niż w rakach ER-. W związku z tym, że aktywacja genu NU w rakach sutka może być związana z amplifikacją *c-myc* [54, 55, 74], a w rakach estrogeno-dodatnich również ze wzrostem transkrypcji *c-myc* [54, 55], istnieje prawdopodobieństwo, że większa zawartość NU w jądrze komórek ER+ raków sutka może mieć związek ze wzrostem transkrypcji *c-myc*.

Wyższa fluorescencja NU w rakach przewodowych ER+ może być także spowodowana obecnością ER α , które pozostają w jądrze komórkowym w połączeniu z kompleksem białek opiekuńczych z rodziny Hsp (*heat shock proteins*) [53]. Stwierdzono, że NU w doświadczeniach *in vitro* hamuje replikację DNA komórek po szoku termicznym [32], co wskazuje, że pełni ona funkcję białka Hsp.

W badaniach własnych raki przewodowe ER- charakteryzowały się większą powierzchnią jąder komórkowych niż raki przewodowe ER+. Podobne zależności stwierdzili *Maiorana i wsp.* w materiale cytologicznym z 66 raków sutka [75] oraz *Tosi i wsp.* [76], a także *Maehle i wsp.* [77] w materiale histologicznym, odpowiednio z 50 naciekających raków przewodowych i 378 naciekających raków sutka.

Na uwagę zasługuje brak różnic w liczbie i powierzchni NUA w zależności od obecności ER α . Również w badaniach nad AgNOR (ich składową stanowi nukleolina) w rakach

sutka *Sacks i wsp.* w 75 pierwotnych rakach sutka w subiektywnej ocenie AgNOR [65] oraz *Nakayama i Abe* w 131 rakach sutka w pomiarach za pomocą automatycznej analizy obrazu [64] nie znaleźli statystycznie istotnego związku między liczbą AgNOR a obecnością ER α .

Ekspresja nukleoliny i parametry morfologiczne jąder komórkowych a typ histologiczny raka i stopień histologicznej złośliwości

Typ histologiczny raka oraz stopień histologicznej złośliwości są uznanymi czynnikami rokowniczymi w raku sutka [49, 78, 79, 80]. Naciekające raki przewodowe bez szczególnych cech mikroskopowych (*not otherwise specified* – NOS) i raki zrazikowe wywodzą się z tej samej końcowej jednostki przewodowo-zrazikowej gruczołu sutkowego (*terminal duct lobular unit* – TDLU), ale różnią się obrazem morfologicznym, rokowaniem i budową molekularną. Raki przewodowe częściej charakteryzują się ekspresją wimentyny [46, 78, 81], katepsyny D [46, 82], mutacją p53 [46, 78, 83], ekspresją białka *c-erb-B2* [68, 84] czy rzadszym występowaniem receptora estrogenowego i progesteronowego [42, 43, 45, 46, 47]. Z badań własnych wynika, że raki przewodowe wykazują także wyższą zawartość NU w jądrze komórkowym niż raki zrazikowe. Wyniki te wymagają potwierdzenia na większym materiale, gdyż liczba badanych przez autora raków zrazikowych była niewielka.

Wszystkie badane raki zrazikowe wykazywały ekspresję ER α . Jeżeli przyjąć za prawdziwą hipotezę zależności ekspresji NU od ekspresji ER α i białka C-MYC powinno się to wiązać z wyższą ekspresją NU w stosunku do grupy raków przewodowych, w której występowały też guzy ER-. Jednak w rakach zrazikowych stwierdza się niską amplifikację *c-myc* [85] lub jej brak [86] w porównaniu z rakami przewodowymi NOS. Można zatem sądzić, że mechanizmy molekularne ekspresji NU w rakach przewodowych i zrazikowych sutka oraz w rakach ER- i ER+ są różne i mogą obejmować także inne białka niż ER α i C-MYC.

W rakach przewodowych sutka stwierdzono większą powierzchnię NUA niż w rakach zrazikowych (odpowiednio $5,8 \mu\text{m}^2$ i $4,9 \mu\text{m}^2$). *Bankfalvi i wsp.* w grupie 43 raków przewodowych i 26 zrazikowych stwierdzili większą średnią powierzchnię AgNOR w rakach przewodowych ($3,46 \mu\text{m}^2$) niż w zrazikowych ($2,35 \mu\text{m}^2$). Dodatkowo wykazali wyższą liczbę AgNOR w rakach przewodowych niż zrazikowych, która wynosiła 2,2 dla raków przewodowych i 1,81 dla zrazikowych [60]. Podobnie *Raymond i Leong* stwierdzili wyższą liczbę AgNOR w rakach przewodowych niż w zrazikowych, które wynosiły odpowiednio 5,5 i 4,3, jednak autorzy podali analizie 79 raków przewodowych i jedynie 3 przypadki raków zrazikowych [67]. W badaniach własnych nie stwierdzono różnic w liczbie NUA w jądrach komórek rakowych w zależności od typu histologicznego raka sutka. Podobnie nie stwierdzono różnic pomiędzy stopniem histologicznej złośliwości raków przewodowych a badanymi parametrami fluorescencji NU. Dane z piśmiennictwa dotyczące AgNOR w rakach sutka o różnym stopniu złośliwości histologicznej

są rozbieżne [62, 65, 66, 67, 68, 87]. Niektórzy autorzy nie znajdują różnic w liczbie AgNOR w zależności od stopnia złośliwości histologicznej [29, 34, 68], czemu mogą odpowiadać własne wyniki; inni stwierdzają różnice w liczbie i powierzchni AgNOR, wskazując, że większa liczba AgNOR i ich mniejsza powierzchnia koreluje z wyższym stopniem histologicznej złośliwości raka [62, 68, 87].

Ekspresja nukleoliny a obecność przerzutów w węzłach chłonnych pachowych

Wyniki badań własnych wskazują, że lokalizacja NU w obrębie karioplazmy poza NUA może mieć związek ze zmniejszoną zdolnością komórek raka do przerzutów do węzłów chłonnych pachowych. W rakach przewodowych bez przerzutów w węzłach chłonnych pachowych stwierdzono wyższą średnią fluorescencję NU w karioplazmie poza NUA oraz wyższy stosunek fluorescencji NU w karioplazmie poza NUA do ich powierzchni w stosunku do raków przewodowych, które dały przerzuty do węzłów chłonnych pachowych. Nukleolina jest białkiem, które przemieszcza się między jąderkiem a nukleoplazmą [88]. *Chen i Huang* w badaniach za pomocą mikroskopu konfokalnego, stwierdzili w komórkach HeLa zmiany lokalizacji białek zaangażowanych w dojrzewanie rRNA i składanie rybosomów, m.in. NU, pomiędzy jąderkiem i nukleoplazmą. Szybkość przemieszczania się tych białek zależna była od transkrypcji rRNA, stąd autorzy wnioskują, że translokacja ta może być odpowiedzialna za regulację procesu syntezy rybosomów [88]. Stwierdzono również, że na przemieszczanie się NU pomiędzy jąderkiem a nukleoplazmą [6] i regulację biosyntezy rybosomów [19] ma wpływ cykliczna fosforylacja NU. Na podstawie wyników niniejszej pracy i cytowanych danych z piśmiennictwa można postawić hipotezę, że być może zwiększona ilość NU w karioplazmie poza NUA zaburza biosyntezę białek odpowiedzialnych za zdolność komórki do dawania przerzutów do węzłów chłonnych.

Wnioski

1. Różnice w zawartości nukleoliny pomiędzy rakami sutka ER- i ER+ oraz rakami przewodowymi i zrazikowymi sutka wskazują na różnice w biologii tych nowotworów.

2. Metoda wykorzystana w przedstawionych badaniach może znaleźć zastosowanie w ocenie ekspresji i wewnątrzjądrowej dystrybucji innych białek oraz w jednoczasowym pomiarze ekspresji i rozmieszczenia białek jądrowych i cytoplazmatycznych.

Piśmiennictwo

1. *Dundr M., Misteli T.*: Functional architecture in the cell nucleus. *Biochem. J.* 2001, 356, 297–310.
2. *Klyszejko-Stefanowicz L.*: *Cytobiochemia*. PWN, Warszawa 1995, 414–417.

3. *Andersen J.S., Lyon C.E., Fox A.H., Leung A.K., Lam Y.W., Steen H. et al.*: Directed proteomic analysis of the human nucleolus. *Curr. Biol.* 2002, 12, 1–11.
4. *Leung A.K., Andersen J.S., Mann M., Lamond A.I.*: Bioinformatic analysis of the nucleolus. *Biochem. J.* 2003, 376, 553–569.
5. *Orrick L.R., Olson M.O.J., Busch H.*: Comparison of nucleolar proteins of normal rat liver and Novikoff hepatoma ascites cells by two-dimensional polyacrylamide gell electrophoresis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1973, 70, 1316–1320.
6. *Ginisty H., Sicard H., Roger B., Bouvet P.*: Structure and functions of nucleolin. *J. Cell Sci.* 1999, 112, 761–772.
7. *Bugler B., Bourbon H., Lapeyre B., Wallace M.O., Chang J.H., Amalric F. et al.*: RNA binding fragments from nucleolin contain the ribonucleoprotein consensus sequence. *J. Biol. Chem.* 1987, 262, 10922–10925.
8. *Ghisolfi-Nieto L., Joseph G., Puvion-Dutilleul F., Amalric F., Bouvet P.*: Nucleolin is a sequence-specific RNA-binding protein: characterization of targets on pre-ribosomal RNA. *J. Mol. Biol.* 1996, 260, 34–53.
9. *Sapp M., Richter A., Weisshart K., Caizergues-Ferrer M., Amalric F., Wallace M.O. et al.*: Characterization of a 48-kDa nucleic-acid-binding fragment of nucleolin. *Eur. J. Biochem.* 1989, 179, 541–548.
10. *Olson M.O., Guetzow K., Busch H.*: Localization of phosphoprotein C23 in nucleoli by immunological methods. *Exp. Cell Res.* 1981, 135, 259–265.
11. *Lischwe M.A., Richards R.L., Busch R.K., Busch H.*: Localization of phosphoprotein C23 to nucleolar structures and to the nucleolus organizer regions. *Exp. Cell Res.* 1981, 136, 101–109.
12. *Spector D.L., Ochs R.L., Busch H.*: Silver staining, immunofluorescence and immunoelectron microscopic localisation of nucleolar phosphoproteins B23 and C23. *Chromosoma*, 1984, 90, 139–148.
13. *Herrera A.H., Olson M.O.*: Association of protein C23 with rapidly labeled nucleolar RNA. *Biochemistry*, 1986, 25, 6258–6264.
14. *Gorczyca W., Smolewski P., Grabarek J., Ardel B., Ita M., Melamed M.R. et al.*: Morphometry of nucleoli and expression of nucleolin analyzed by laser scanning cytometry in mitogenically stimulated lymphocytes. *Cytometry*, 2001, 45, 206–213.
15. *Ochs R., Lischwe M., O'Leary P., Busch H.*: Localisation of nucleolar phosphoproteins B23 and C23 during mitosis. *Exp. Cell Res.* 1983, 146, 139–149.
16. *Christian S., Pilch J., Akerman M.E., Porkka K., Laakkonen P., Ruoslahti E.*: Nucleolin expressed at the cell surface is a marker of endothelial cells in angiogenic blood vessels. *J. Cell Biol.* 2003, 163, 871–878.
17. *Hovanessian A.G., Puvion-Dutilleul F., Nisole S., Svab J., Perret E., Deng J.S. et al.*: The cell-surface-expressed nucleolin is associated with the actin cytoskeleton. *Exp. Cell Res.* 2000, 261, 312–328.
18. *Schneider H.R., Issinger O.G.*: Nucleolin (C23), a physiological substrate for casein kinase II. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988, 156, 1390–1397.
19. *Leary D.J., Huang S.*: Regulation of ribosome biogenesis within the nucleolus. *FEBS Lett.* 2001, 509, 145–150.
20. *Kim S.K., Srivastawa M.*: Stability of nucleolin protein as the basis for the differential expression on nucleolin mRNA and protein during serum starvation. *DNA Cell Biol.* 2003, 22, 171–178.
21. *Hanakahi L.A., Sun H., Maizels N.*: High affinity interactions of nucleolin with G-G-paired rDNA. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 15908–15912.
22. *Erard M., Lakhdar-Ghazal F., Amalric F.*: Repeat peptide motifs which contain beta-turns and modulate DNA condensation in chromatin. *Eur. J. Biochem.* 1990, 191, 19–26.
23. *Erard M.S., Belenguer P., Caizergues-Ferrer M., Pantaloni A., Amalric F.*: A major nucleolar protein, nucleolin, induces chromatin decondensation by binding to histone H1. *Eur. J. Biochem.* 1988, 175, 525–530.
24. *Olson M.O., Rivers Z.M., Thompson B.A., Kao W.Y., Case S.T.*: Interaction of nucleolar phosphoprotein C23 with cloned segments of rat ribosomal deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*, 1983, 22, 3345–3351.
25. *Roger B., Moisand A., Amalric F., Bouvet P.*: Repression of RNA polymerase I transcription by nucleolin is independent of the RNA sequence that is transcribed. *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 10209–10219.
26. *Ginisty H., Amalric F., Bouvet P.*: Nucleolin functions in the first step of ribosomal RNA processing. *EMBO J.* 1998, 17, 1476–1486.

27. *Ginisty H., Serin G., Ghisolfi-Nieto L., Roger B., Libante V., Amalric F. et al.*: Interaction of nucleolin with an evolutionarily conserved pre-ribosomal RNA sequence is required for the assembly of the primary processing complex. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 18845–18850.
28. *Roger B., Moisan A., Amalric F., Bouvet P.*: Nucleolin provides a link between RNA polymerase I transcription and preribosome assembly. *Chromosoma*, 2003, 111, 399–407.
29. *Pinol-Roma S.*: Association of nonribosomal nucleolar proteins in ribonucleoprotein complexes during interphase and mitosis. *Mol. Biol. Cell*, 1999, 10, 77–90.
30. *Schulz M., Schneider S., Lottspeich F., Renkawitz R., Eggert M.*: Identification of nucleolin as a glucocorticoid receptor interacting protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001, 280, 476–480.
31. *Tu X., Baffa R., Luke S., Prisco M., Baserga R.*: Intracellular redistribution of nuclear and nucleolar proteins during differentiation of 32D murine hemopoietic cells. *Exp. Cell. Res.* 2003, 288, 119–130.
32. *Daniely Y., Borowiec J.A.*: Formation of a complex between nucleolin and replication protein A after cell stress prevents initiation of DNA replication. *J. Cell Biol.* 2000, 149, 799–810.
33. *Kulig E.*: Receptor estrogenowy: budowa i funkcja w normalnej i neoplastycznej tkance. *Postepy Biochem.* 1994, 40, 222–229.
34. *Toft D., Shymala G., Gorski J.*: A receptor molecule for estrogens: studies using a cell-free system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1967, 57, 1740–1743.
35. *Kuiper G.G.J.M., Enmark E., Peltö-Huikko M., Nilsson S., Gustafsson J.A.*: Cloning of novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93, 5925–5930.
36. *Tora L., White J., Brou C., Tasset D., Webster N., Scheer E. et al.*: The human estrogen receptor has two independent nonacidic transcriptional activation functions. *Cell*, 1989, 59, 477–487.
37. *Lees J.A., Fawell S.E., White R., Parker M.G.*: A 22-amino-acid peptide restores DNA-binding activity to dimerization-defective mutants of the estrogen receptor. *Mol. Cell Biol.* 1990, 10, 5529–5531.
38. *Beekman J.M., Allan G.F., Tsai S.Y., Tsai M.J., O'Malley B.W.*: Transcriptional activation by the estrogen receptor requires a conformational change in the ligand binding domain. *Mol. Endocrinol.* 1993, 7, 1266–1274.
39. *Nilsson S., Gustafsson J.A.*: Estrogen receptor transcription and transactivation. Basic aspects of estrogen action. *Breast Cancer Res.* 2000, 2, 360–366.
40. *Cavaliere A., Bucciarelli E., Sidoni A., Bianchi G., Pietropaoli N., Ludovini V. et al.*: Estrogen and progesterone receptors in breast cancer: comparison between enzyme immunoassay and computer-assisted image analysis of immunocytochemical assay. *Cytometry*, 1996, 26, 204–208.
41. *Tafford S., Bohler P.J., Risberg B., Torlakovic E.*: Estrogen and progesterone hormone receptor status in breast carcinoma: comparison of immunocytochemistry and immunohistochemistry. *Diagn. Cytopathol.* 2002, 26, 137–141.
42. *Pichon M.F., Broet P., Magdelenat H., Delarue J.C., Spyrtos F., Baysyau J.P. et al.*: Prognostic value of steroid receptors after long-term follow-up of 2257 operable breast cancers. *Br. J. Cancer*, 1996, 73, 1545–1551.
43. *Scawn R., Shousha S.*: Morphologic spectrum of estrogen receptor-negative breast carcinoma. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2002, 126, 325–330.
44. *Jensen M.L., Kiaer H., Melsen F.*: Medullary breast carcinoma vs. poorly differentiated ductal carcinoma: an immunohistochemical study with keratin 19 and oestrogen receptor staining. *Histopathology*, 1996, 29, 241–245.
45. *Coradini D., Pellizzaro C., Veneroni S., Ventura L., Daidone M.G.*: Infiltrating ductal and lobular breast carcinomas are characterised by different interrelationships among markers related to angiogenesis and hormone dependence. *Br. J. Cancer*, 2002, 87, 1105–1111.
46. *Domagala W., Markiewski M., Kubiak R., Bartkowiak J., Osborn M.*: Immunohistochemical profile of invasive lobular carcinoma of the breast: predominantly vimentin and p53 protein negative, cathepsin D and oestrogen receptor positive. *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.* 1993, 423, 497–502.
47. *Sastre-Garau X., Jouve M., Asselain B., Vincent-Salomon A., Beuzebec P., Dorval T. et al.*: Infiltrating lobular carcinoma of the breast. Clinicopathologic analysis of 975 cases with reference to data on conservative therapy and metastatic patterns. *Cancer*, 1996, 77, 113–120.
48. *Bejar J., Sabo E., Eldar S., Lev M., Misselevich I., Boss J.H.*: The prognostic significance of the semiquantitatively determined estrogen receptor content of breast carcinomas. *Clinicopathological study. Pathol. Res. Pract.* 2002, 198, 455–460.
49. *Bundred N.J.*: Prognostic and predictive factors in breast cancer. *Cancer Treat. Rev.* 2001, 27, 137–142.
50. *Kelleher M., Miles D.*: 21. The adjuvant treatment of breast cancer. *Int. J. Clin. Pract.* 2003, 57, 195–199.
51. *Costa S.D., Lange S., Klinga K., Merkle E., Kaufmann M.*: Factors influencing the prognostic role of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer – results of the analysis of 670 patients with 11 years of follow-up. *Eur. J. Cancer*, 2002, 38, 1329–1334.
52. *Doisneau-Sixou S.F., Sergio C.M., Carroll J.S., Hui R., Musgrove E.A., Sutherland R.L.*: Estrogen and antiestrogen regulation of cell cycle progression in breast cancer cells. *Endocr. Relat. Cancer*, 2003, 10, 179–186.
53. *Kalita K., Lewandowski S., Skrzypczak M., Szymczak S., Tkaczyk M., Kaczmarek L.*: Receptory estrogenowe. In: J.Z. Nowak, J.B. Zawilska: Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału. PWN, Warszawa 2004, 604–616.
54. *Dubik D., Dembinski T.C., Shiu R.P.*: Stimulation of c-myc oncogene expression associated with estrogen-induced proliferation of human breast cancer cells. *Cancer Res.* 1987, 47, 6517–6521.
55. *Dubik D., Shiu R.P.C.*: Transcriptional regulation of c-myc oncogene expression by estrogen in hormone-responsive human breast cancer cells. *J. Biol. Chem.* 1988, 263, 12705–12708.
56. *Lischwe M.A., Smetana K., Olson M.O., Busch H.*: Proteins C23 and B23 are the major nucleolar silver staining proteins. *Life Sci.* 1979, 25, 701–708.
57. *Torres-Montaner A., Bolivar J., Ortiz M., Valdivia M.M.*: Immunohistochemical detection of ribosomal transcription factor UBF: diagnostic value in malignant specimens. *J. Pathol.* 1998, 184, 77–82.
58. *Williams M.A., Kleinschmidt J.A., Krohne G., Franke W.W.*: Argyrophilic nuclear and nucleolar proteins of *Xenopus laevis* oocytes identified by gel electrophoresis. *Exp. Cell. Res.* 1982, 137, 341–351.
59. *Lewin B.*: Gene expression. 2. Eucaryotic chromosomes. John Wiley, New York 1980.
60. *Bankfalvi A., Öfner D., Schmid K.W., Schmitz K.J., Breukelmann D., Krech R. et al.*: Standardized in situ AgNOR analysis in breast pathology: diagnostic and cell kinetic implications. *Pathol. Res. Pract.* 1999, 195, 219–229.
61. *Giri D.D., Dundas S.A.C., Sanderson P.R., Howat A.J.*: Silver binding nucleoli and nucleolar organizer regions in fine needle aspiration cytology of the breast. *Acta Cytol.* 1989, 33, 173–175.
62. *Giri D.D., Nottingham J.F., Lawry J., Dundas S.A.C., Underwood J.C.E.*: Silver-binding nucleolar organizer regions (AgNORs) in benign and malignant breast lesions: correlation with ploidy and growth phase by DNA flow cytometry. *Pathol. J.* 1989, 157, 307–313.
63. *Ceccarelli C., Trere D., Santini D., Taffurelli M., Chicco P., Derenzini M.*: AgNORs in breast tumours. *Micron*, 2000, 31, 143–149.
64. *Nakayama K., Abe R.*: Argyrophilic nucleolar organizer region (AgNOR) area per nucleus as a prognostic factor in breast cancer. *J. Surg. Oncol.* 1995, 60, 160–167.
65. *Sacks N.P., Robertson J.F., Ellis I.O., Nicholson R.I., Crocker J., Blamey R.W.*: Silver-stained nucleolar organiser region counts are of no prognostic value in primary breast cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 1992, 18, 98–102.
66. *Toikkanen S., Joensuu H.*: AgNOR counts have no prognostic value in breast cancer. *J. Pathol.* 1993, 169 (2), 251–254.
67. *Raymond W.A., Leong A.S.Y.*: Nucleolar organizer regions relate to growth fraction in human breast carcinoma. *Hum. Pathol.* 1989, 20, 741–746.
68. *Rüschhoff J., Neumann K., Contractor H., Plate K., Thomas C.*: Assessment of nucleolar organizer regions by automatic image analysis in breast cancer: correlation with DNA content, proliferation rate, receptor

- status and histopathological grading. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1990, 116, 480–485.
69. Bloom H.J., Richardson W.W.: Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br. J. Cancer*, 1957, 11, 359–377.
 70. Greasley P.J., Bonnard C., Amati B.: Myc induces the nucleolin and BN51 genes: possible implications in ribosome biogenesis. *Nucleic Acids Res.* 2000, 28, 446–453.
 71. Collyn-d'Hooghe M., Vandewalle B., Hornez L., Lantoine D., Revillion F., Lefebvre J. et al.: C-myc overexpression, c-mil, c-myb expression in a breast tumor cell line. Effects of estrogen and antiestrogen. *Anticancer Res.* 1991, 11, 2175–2180.
 72. Dubik D., Shiu R.P.C.: Mechanism of estrogen activation of c-myc oncogene expression. *Oncogene*, 1992, 7, 1587–1594.
 73. Naidu R., Wahab N.A., Yadav M., Kutty M.K.: Protein expression and molecular analysis of c-myc gene in primary breast carcinomas using immunohistochemistry and differential polymerase chain reaction. *Int. J. Mol. Med.* 2002, 9, 189–196.
 74. Shiu R.P.C., Watson P.H., Dubik D.: C-myc oncogene expression in estrogen-dependent and independent breast cancer. *Clin. Chem.* 1993, 39, 353–355.
 75. Maiorana A., Cavallari V., Bagni A., Ussia F., Maiorana M.C., Fano R.A.: Nuclear areas in breast cancer: relationship with estrogen and progesterone receptor expression. *Anal. Cell Pathol.* 1996, 11, 199–209.
 76. Tosi P., Baak J.P., Luzi P., Sforza V., Santopietro R., Lio R.: Correlation between immunohistochemically determined oestrogen receptor content, using monoclonal antibodies, and qualitative and quantitative tissue features in ductal breast cancer. *Histopathology*, 1987, 11, 741–751.
 77. Maehle B.O., Skjaerven R., Collett K., Thorsen T., Hartveit F.: Estrogen receptor in breast cancer; its relation to mean nuclear area, age and lymph node status. *Eur. J. Surg. Oncol.* 1989, 15, 463–468.
 78. Domagala W., Markiewski M., Harezga B., Dukowicz A., Osborn M.: Prognostic significance of tumor cell proliferation rate as determined by the MIB-1 antibody in breast carcinoma: its relationship with vimentin and p53 protein. *Clin. Cancer Res.* 1996, 2, 147–154.
 79. Ellis I.O., Galea M., Broughton N., Locker A., Blamey R.W., Elston C.W.: Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 1992, 20, 479–489.
 80. Elston C.W., Ellis I.O.: Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 1991, 19, 403–410.
 81. Domagala W., Wozniak L., Lasota J., Weber K., Osborn M.: Vimentin is preferentially expressed in high-grade ductal and medullary, but not in lobular breast carcinomas. *Am. J. Pathol.* 1990, 137, 1059–1064.
 82. Bedner E., Harezga B., Osborn M., Domagala W.: Cathepsin D in invasive ductal NOS, medullary, lobular and mucinous breast carcinoma. An immunohistochemical study. *Pol. J. Pathol.* 1995, 46, 11–15.
 83. Domagala W., Harezga B., Szadowska A., Markiewski M., Weber K., Osborn M.: Nuclear p53 protein accumulates preferentially in medullary and high-grade ductal but rarely in lobular carcinomas. *Am. J. Pathol.* 1993, 142, 669–674.
 84. Dawkins H.J., Robbins P.D., Smith K.L., Sarna M., Harvey J.M., Sterrett G.F. et al.: What's new in breast cancer? Molecular perspectives of cancer development and the role of the oncogene c-erbB-2 in prognosis and disease. *Pathol. Res. Pract.* 1993, 189, 1233–1252.
 85. Shackney S.E., Silverman J.F.: Molecular evolutionary patterns in breast cancer. *Adv. Anat. Pathol.* 2003, 10, 278–290.
 86. Janocko L.E., Brown K.A., Smith C.A., Gu L.P., Pollice A.A., Singh S.G. et al.: Distinctive patterns of Her-2/neu, c-myc, and cyclin D1 gene amplification by fluorescence in situ hybridization in primary human breast cancers. *Cytometry*, 2001, 46, 136–149.
 87. Aubele M., Auer G., Gais P., Jutting U., Rodenacker K., Voss A.: Nucleolus organizer regions (AgNORs) in ductal mammary carcinoma. *Pathol. Res. Pract.* 1994, 190, 127–137.
 88. Chen D., Huang S.: Nucleolar components involved in ribosome biogenesis cycle between the nucleolus and nucleoplasm in interphase cells. *J. Cell Biol.* 2001, 153, 169–176.

IWONA STEINER, MAGDALENA SOBIESKA¹, BEATA PUCHER,
MICHAŁ GRZEGOROWSKI, WŁODZIMIERZ SAMBORSKI¹

BADANIE STEŻEŃ BIAŁEK OSTREJ FAZY U DZIECI Z ALERGICZNYM NIEŻYTEM NOSA

EXAMINATION OF ACUTE PHASE PROTEINS CONCENTRATIONS IN CHILDREN WITH ALLERGIC RHINITIS

Klinika Otolaryngologii Dziecięcej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Michał Grzegorowski*

¹Klinika Fizjoterapii, Reumatologii i Rehabilitacji Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego
ul. 28 Czerwca 1956 roku 135/147, 61-545 Poznań

Kierownik: dr hab. med., prof. AM *Włodzimierz Samborski*

Summary

Introduction: Allergic rhinitis is an inflammatory disorder of upper respiratory tract (about 15 per cent of the population in industrialized countries suffer from this condition), characterized by frequent sneezing and a runny or stuffy nose sometimes accompanied by watery eyes. As the most common allergic condition, allergic rhinitis affects people of all ages. Boys are twice as likely to get allergic rhinitis than girls. The median age of onset of the condition is 10 years old, meaning that equal numbers of children develop the condition before and after age 10. Symptoms usually appear in childhood first and then lessen by the age of 30 or 40. Seasonal allergic rhinitis usually results from tree, grass or weed pollen. With this type of rhinitis, symptoms will decrease with the arrival of cold weather. Perennial allergic rhinitis can cause year-round symptoms. This allergic reaction is the result of indoor irritants such as feathers, mold spores, animal dander (hair and skin shed by pets) or dust mites. It is often aggravated by a food allergy, the most common being an allergy to milk.

Acute phase proteins (APP) belong to the most ancient part of the unspecific immunity and contribute markedly to the keeping of homeostasis. As much as 30 various proteins are for the moment regarded as APP. Being multifunctional regulators and effectors APP stay in multiple relations to practically all types of cells and molecules.

Among APP following functional groups may be described: transport proteins (transferrin, ceruloplasmin and haptoglobin), clotting factors (fibrinogen), antiproteases (alpha₁-antitrypsin, alpha₁-antichymotrypsin, alpha₂-macroglobulin), complement components (C3, C4) and several proteins of hardly known function, like C-reactive protein (CRP), serum amyloid A, acid alpha₁-glycoprotein (AGP) and others.

Material and methods: From a group of 32 children, aged from 5 to 14 years, with symptoms of seasonal allergic rhinitis, and from a control group of 10 healthy children sex and age matched, blood sample was taken after written parents' consent. In all children skin tests (Stallergens) were performed at the beginning of the year. Any reaction was present in the control group. Following proteins were analyzed: CRP, AGP, alpha₁-antichymotrypsin (ACT), transferrin, ceruloplasmin (Cp), alpha₁-antitrypsin, haptoglobin and alpha₂-macroglobulin (A2M).

Results: C-reactive protein level was very low, what allowed us to exclude all acute conditions. As expected, AGP and ACT concentrations were not elevated, either, and even non significantly lower values were observed in allergic children in comparison to controls. It is worth noticing that transferrin concentration was statistically lower in allergic children, as well as A2M and Cp concentrations. All this suggest an on-going disturbance in cytokine network that may directly affect both the iron metabolism and the non-specific immunity.

Conclusions: It may be stated that allergic rhinitis causes impairment of acute phase proteins synthesis, which may affect natural defense or homeostasis in the immune system of a child.

K e y w o r d s: allergic rhinitis – acute phase proteins.

Streszczenie

Wstęp: Alergiczny nieżyt nosa to zapalna choroba górnych dróg oddechowych (około 15% populacji krajów rozwiniętych zgłasza objawy tej choroby), którą charakteryzuje częste kichanie, wyciek z nosa lub uczucie jego zapchania, czasami także łzawienie oczu. Jako najczęstsza choroba alergiczna, nieżyt nosa dotyczy osób z każdej grupy wiekowej. Dwukrotnie częściej występuje u chłopców niż u dziewcząt. Pierwsze objawy najczęściej pojawiają się około 10. roku życia i słabną nieco w wieku 30–40 lat. Sezonowy alergiczny nieżyt nosa jest zwykle wywołany przez pyłki drzew, traw lub powszechnych chwastów. Z nadejściem zimy nasilenie objawów zmniejsza się. Całoroczny alergiczny nieżyt nosa wiąże się z objawami występującymi przez cały rok, a reakcja alergiczna powstaje w kontakcie z alergenami występującymi w mieszkaniu, takimi jak pióra, zarodniki pleśni, sierść i naskórek zwierząt domowych lub roztocza. Nasilenie objawów notuje się często pod wpływem alergii pokarmowej, zwykle na mleko.

Białka ostrej fazy należą do starej filogenetycznie odporności wrodzonej i znacząco przyczyniają się do utrzymania homeostazy. Zalicza się do tej kategorii około 30 różnych białek osocza. Jako wielofunkcyjne regulatory i białka efektorowe pozostają one w ścisłym związku ze wszystkimi praktycznie typami komórek i cząsteczek. W tej grupie białek można wyróżnić wiele kategorii: białka transportowe (transferyna, ceruloplazmina czy haptoglobina), czynniki krzepnięcia (fibrynogen), antyproteazy (alfa₁-antytrypsyna, alfa₁-antychymotrypsyna, alfa₂-makroglobulina), składowe dopełniacza (C3, C4) i wiele innych o słabo poznanej funkcji, jak białko C-reaktywne (CRP), surowiczy składnik amyloidu A, kwaśna alfa₂-glikoproteina (AGP) i inne.

Material i metody: Po uzyskaniu pisemnej zgody rodziców pobrano próbkę krwi obwodowej od grupy 32 dzieci, w wieku od 5 do 14 lat, wykazujących objawy sezonowego alergicznego nieżyty nosa, i od grupy kontrolnej: 10 zdrowych dzieci, dobranych pod względem wieku i płci. U wszystkich dzieci wykonano badanie za pomocą testów skórnych (Stallergens) na początku roku kalendarzowego. W grupie kontrolnej nie notowano żadnych reakcji dodatnich poza kontrolą (histamina). Analizowano następujące białka surowicy: CRP, AGP, alfa₁-antychymotrypsynę (ACT), transferynę, ceruloplazminę (Cp), alfa₁-antytrypsynę, haptoglobinę i alfa₂-makroglobulinę (A2M).

Wyniki: Poziom CRP był bardzo niski, co pozwoliło wykluczyć wszelkie choroby zapalne. Stężenia AGP i ACT również nie były podwyższone, a nawet u dzieci alergicznych

notowano nieznamiennie obniżone stężenia w porównaniu z kontrolami. Na podkreślenie zasługuje znamiennie niższe stężenie transferyny, a także A2M i Cp u dzieci alergicznych. Pozwala to na przypuszczenie, że nawet pod nieobecność objawów klinicznych w organizmie dzieci alergicznych występuje zakłócenie w sieci cytokinowej, co może wpływać i na metabolizm żelaza, i na procesy odpornościowe.

Wnioski: Można stwierdzić, że alergiczny nieżyt nosa powoduje zakłócenie w produkcji białek ostrej fazy, co może negatywnie wpływać na homeostazę i procesy obronne w organizmie dziecka.

H a s ł a: alergiczny nieżyt nosa – białka ostrej fazy.

Wstęp

Termin nieżyt nosa (*rhinitis*) oznacza chorobę zapalną błony śluzowej nosa. Objawy nieżyty nosa pod postacią jego niedrożności, spływania wydzieliny, kichania, świądu, bólów głowy i w rzucie zatok przynosowych oraz utraty powonienia i smaku nie są charakterystyczne i występują zarówno w infekcyjnych, alergicznych i niealergicznych nieżytach nosa. Czasowy związek wystąpienia tych objawów z ekspozycją na alergen przemawia za tłem alergicznym.

Alergiczny nieżyt nosa jest procesem zapalnym, o objawach miejscowych, takich jak niedrożność, świąd i wyciek z nosa [1, 2]. Jest to reakcja bogato unaczynionej błony śluzowej nosa na kontakt z antygenem, na który organizm wcześniej się uczulił, zwanym w tym wypadku alergenem [3]. Choroba ma charakter okresowy, jeżeli alergenem są pyłki roślin występujących tylko wiosną lub latem (drzew, traw, chwastów), natomiast może mieć charakter przewlekły (całoroczny), jeśli doszło do uczulenia na antygeny obecne cały czas (roztocza kurzu domowego, pleśń lub alergeny zwierzęce: sierść psów lub kotów, wydaliny karaluchów).

Najczęstszymi alergenami są pyłki roślin wiatropylnych, ponieważ ich wielkość (zwykle 10–100 µm) odpowiada rozmiarom cząstek sprawnie filtrowanych przez nos osoby zdrowej, ponadto pyłki te są produkowane w ogromnej ilości i długo unoszą się w powietrzu. Rośliny kwitnące są zwykle owadopylne i ich pyłki nie są produkowane tak licznie, a stężenie w powietrzu jest niższe. Reakcja błony śluzowej na alergen jest błyskawiczna: 30–60 sekund wystarczy na pojawienie się jednego lub zespołu objawów. Za ich powstawanie odpowiedzialne są mediatory produkowane przez komórki stale naciekające błonę śluzową nosa osoby chorej na alergiczny nieżyt nosa, głównie bazoofile, komórki tuczne i eozynofile, mniej licznie makrofagi i limfocyty [4, 5]. W prawidłowym obrazie cytologicznym błony śluzowej nosa obserwuje się liczne komórki nabłonkowe pochodzenia miejscowego i nieliczne napływające neutrofile, natomiast rzadko spotyka się eozynofile i bazoofile [6].

U podłoża alergicznego nieżyty nosa leży najczęściej atopia, czyli genetyczna predyspozycja do produkcji nadmiernej ilości immunoglobulin klasy IgE. W mechanizmie

reakcji alergicznej podstawową rolę odgrywają komórki prezentujące antygen, limfocyty pomocnicze typu Th2 oraz produkowane przez nie cytokiny: interleukina 4 (IL4) i IL5 [5]. Pod wpływem alergenu dochodzi do wzmożonego uwalniania IL4 przez limfocyty Th2, która sprawia, że zwiększona liczba limfocytów B dojrzewa w kierunku plazmocytów zdolnych do produkcji IgE. Wyraźne jest też obciążenie rodzinne, raczej jako skłonność do reakcji alergicznych w ogóle niż konkretnie do alergicznego nieżyty nosa. Aby wystąpiły objawy kliniczne, konieczny jest kontakt alergenu z przeciwciałem IgE opłaszczającym powierzchnię komórek tucznych śluzówki nosa. Prowadzi to do uwolnienia z tych komórek szeregu mediatorów zapalenia alergicznego. Objawy, takie jak kichanie, wodniasta wydzielina, świąd nosa i spojówek, łzawienie oczu, są wynikiem działania przede wszystkim histaminy. Obrzęk błony śluzowej nosa występuje w wyniku działania zarówno mediatorów preformowanych, jak i syntetyzowanych de novo leukotrienów. Mediatory uwalniane z komórek efektorowych mają silne właściwości chemotaktyczne, co jest przyczyną napływu licznych komórek w miejsce zapalenia. Dużą rolę w tym procesie odgrywają cząsteczki adhezyjne [7]. U części chorych, poza wczesną (natychmiastową) fazą reakcji alergicznej, pojawia się jeszcze po około 24 godzinach reakcja późna. Jej charakterystyczną cechą jest nacieczenie błony śluzowej przez neutrofile i eozynofile, a także przez limfocyty T pomocnicze, które potęgują reakcję przez produkcję cytokin [3].

W przypadku sezonowego alergicznego nieżyty nosa występuje wyraźny związek między okresem pylenia na danym terenie i warunkami klimatycznymi, a pojawieniem się objawów choroby [3]. Im bardziej zaawansowany jest sezon pylenia, tym bardziej nasilone są objawy alergicznego nieżyty nosa, jeśli leczenie nie zostało rozpoczęte w odpowiednim czasie.

Podkreślić też trzeba, że poza czynnikiem swoistym (czyli alergenem), do wywołania reakcji alergicznej mogą się też przyczynić inne bodźce, na przykład zimne lub suche powietrze, a także bodźce emocjonalne. W przypadku dzieci szkolnych tworzy to błędne koło: objawy alergicznego nieżyty nosa pogarszają ich koncentrację i wyniki w nauce, a stres tym wywołany może pogłębiać objawy choroby [7].

Nieleczony alergiczny nieżyt nosa może przyczyniać się do powstania zapalenia zatok i ucha środkowego, a także do powstawania na tle nieżyty alergicznego zapaleń wirusowych i bakteryjnych [2, 6, 8, 9].

Material i metody

Badaniami objęto grupę 32 dzieci w wieku od 5 do 14 lat, z objawami alergicznego sezonowego nieżyty nosa. Grupę kontrolną stanowiło 10 dzieci zdrowych w tym samym wieku, od których pobierano krew za zgodą rodziców w ramach programu badawczego. Wszystkim dzieciom (z grupy badanej i kontrolnej) wykonano na początku roku

kalendrzowego testy skórne za pomocą zestawu podstawowego firmy Stallergens. U dzieci z grupy kontrolnej nie wykazano żadnej reakcji dodatniej, poza dodatnią kontrolą. U dzieci z grupy badanej testy wypadły pozytywnie: u 8 notowano alergię na kurz, u 9 na roztocza, u 4 na pleśnie, u 11 na pyłki. Poszczególne podgrupy grupy badanej zamieszczono w tabeli 1.

Tabela 1. Podwyższone miano swoistych IgE

Table 1. Elevated titer of specific IgE

Antygen Antigen	Kurz Dust	Roztocza Mite	Pleśnie Mould	Pyłki Pollens
Liczba dzieci Number of children (n = 32)	8	9,0	4,0	11,0
Odsetek Percentage (32 = 100%)	25	28,1	12,5	34,4

Materiał stanowiły resztkowe surowice, pozostałe po rutynowych badaniach laboratoryjnych. W badaniach uwzględniono następujące białka: białko C-reaktywne, kwaśną alfa₁-glikoproteinę, alfa₁-antychymotrypsynę, transferynę (Tf), ceruloplazminę (Cp), alfa₁-antytropsynę, haptoglobinę i alfa₂-makroglobulinę (A2M). Stężenia białek badano metodą immunoelektroforezy rakiетkowej [10], używając przeciwciał i roztworów standardowych firmy DakoCytomation (Dania).

Wyniki

Wyniki całej grupy badanej w porównaniu z grupą kontrolną poddano szczegółowej analizie statystycznej i przedstawiono w tabeli 2. Zaznaczono wyniki dla dzieci alergicznych odbiegające od wyników dzieci z grupy kontrolnej.

Warto zauważyć, że pomimo zapalnego podłoża, stężenia białek nie zachowują się jak podczas reakcji zapalnej, ale są obniżone w stosunku do grupy kontrolnej. Jest to szczególnie wyraźne w przypadku A2M i Cp.

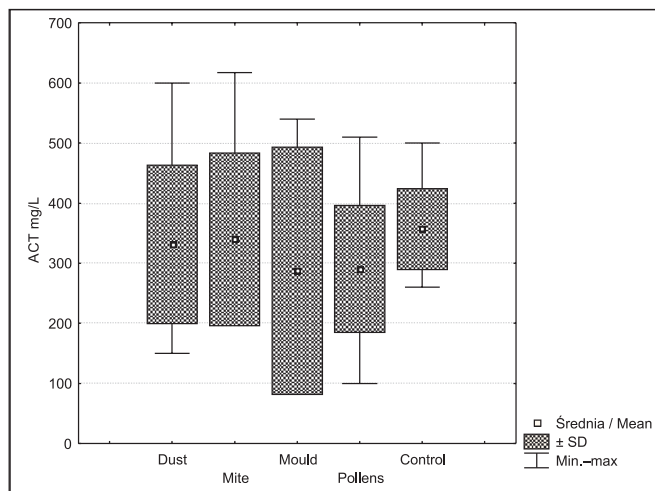
Dalszą analizę przeprowadzono z rozbiem grupy badanej na poszczególne rodzaje alergenu, na jaki dzieci były uczulone. Podziału dokonano w oparciu o analizę stężenia swoistych IgE. Wyniki badań przedstawiono w postaci wykresów stężeń poszczególnych białek w badanych grupach, z rozbiem grupy dzieci alergicznych na rodzaje alergenu. Kontrole zaznaczono jako grupę kontrolną – „controls”. Na rycinach od 1 do 4 przedstawiono kolejno stężenia ACT, A2M, Tf i Cp. Dwa pierwsze białka, jako antyproteazy w warunkach prawidłowych, pełnią funkcję obronną w stosunku do tkanek, chroniąc je przed niszczeniem przez proteazy. W przypadku dzieci alergicznych, ich obniżone stężenia mogą przyczyniać się do uszkodzeń tkanek, ponieważ proteazy, produkowane obficie przez komórki nacieku, głównie granulocyty, nie są dostatecznie neutralizowane. Kolejne dwa białka mają związek z gospodarką żelazem, a ceruloplazmina

Tabela 2. Wyniki badań stężeń białek ostrej fazy dla całej grupy badanej wobec grupy kontrolnej (średnia z odchyleniem standardowym)

Table 2. Concentrations of the investigated proteins for the whole group versus controls (mean and standard deviation)

Grupa / Group	CRP mg/L	AGP mg/L	ACT mg/L	Tf mg/L	A2M g/L	Cp mg/L	Hp g/L	AT g/L
Badana / Children under study (n = 32)	1,9	894 ± 365	313 ± 131	2150 ± 409	3,90 ± 1,00	358 ± 114	0,79 ± 0,50	1,85 ± 0,46
Kontrolna / Controls (n = 10)	0,6	891 ± 295	353 ± 68	2656 ± 529	5,32 ± 0,71	466 ± 108	1,03 ± 0,38	2,05 ± 0,23

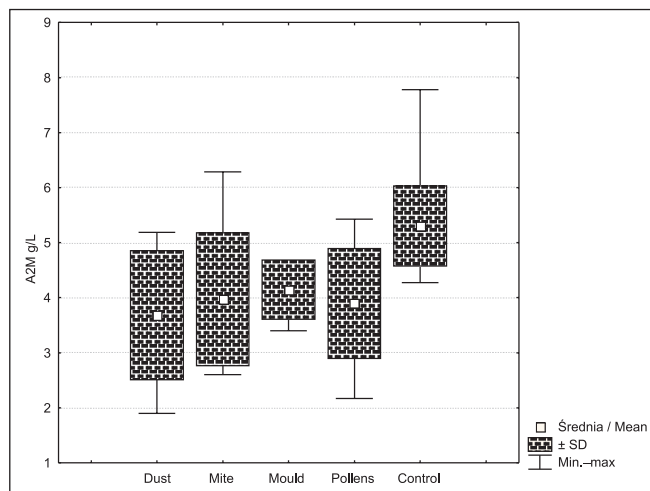
CRP – białko C-reaktywne / C-reactive protein; AGP – kwaśna alfa₁-glikoproteina / acid alpha₁-glycoprotein; ACT – alfa₁-antychymotrypsyna / alpha₁-antichymotrypsin; Tf – transferyna / transferrin; A2M – alfa₂-makroglobulina / alpha₂-macroglobulin; Cp – ceruloplazmina / ceruloplasmin; Hp – haptoglobina / haptoglobin; AT – alfa₁-antytropsyna / alpha₁-antitrypsin



ACT – alfa₁-antychymotrypsyna / alpha₁-antichymotrypsin; K-W H – test Kruskalla–Wallisa / Kruskall–Wallis test

Ryc. 1. Obniżenie stężenia antychymotrypsyny w grupach dzieci alergicznych (w porównaniu z grupą kontrolną różnica nie była znamienna statystycznie)

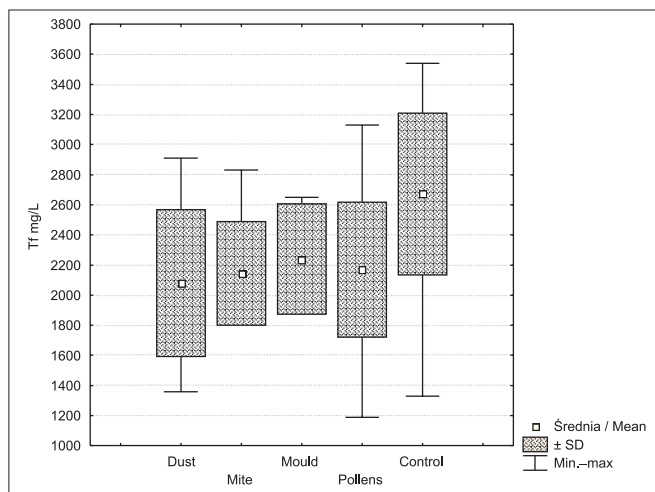
Fig. 1. Decreased concentration of alpha1-antichymotrypsin in comparison to controls (the difference was not significant)



A2M – alfa₂-makroglobulina / alpha₂-macroglobulin; K-W H – test Kruskalla–Wallisa (4,55) = 20,9787789 / Kruskall–Wallis test (4,55) = 20,9787789; p = 0,0003

Ryc. 2. Znamienne obniżone stężenie alfa2-makroglobuliny we wszystkich grupach dzieci alergicznych w stosunku do grupy kontrolnej (różnice pomiędzy podgrupami nie były znamienne)

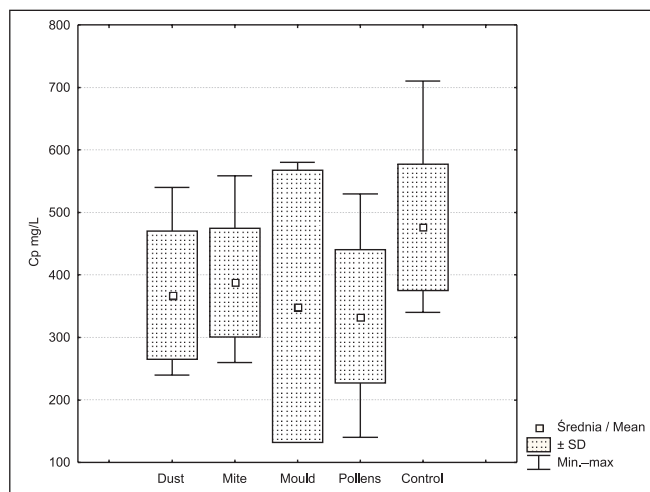
Fig. 2. Significantly decreased concentration of alpha2-macroglobulin in all groups of allergic children in comparison to controls (the differences between subgroups of allergic children were not significant)



Tf – transferyna / transferrin; p = 0,0075; K-W H – test Kruskalla–Wallisa (4,55) = 13,9486284 / Kruskall–Wallis test (4,55) = 13,9486284

Ryc. 3. Znamienne obniżone stężenie transferyny we wszystkich grupach dzieci alergicznych w porównaniu z grupą kontrolną (różnice pomiędzy podgrupami nie były znamienne statystycznie)

Fig. 3. Significantly decreased concentration of transferrin in all groups of allergic children in comparison to controls (the differences between subgroups of allergic children were not significant)



Cp – ceruloplazmina / ceruloplasmin; K-W H – test Kruskalla–Wallisa (4,55) = 13,8484151 / Kruskall–Wallis test (4,55) = 13,8484151; p = 0,0078

Ryc. 4. Znamienne obniżone stężenie ceruloplazminy w badanych podgrupach dzieci alergicznych w porównaniu z grupą kontrolną (różnice pomiędzy podgrupami nie były znamienne statystycznie)

Fig. 4. Significantly decreased concentration of ceruloplasmin in all groups of allergic children in comparison to controls (the differences between subgroups of allergic children were not significant)

pełni także funkcję głównego osocznego antyoksydantu i neutralizatora wolnych rodników. Obniżone stężenie obu tych białek może się przyczyniać do zaburzonej gospodarki żelazem, prowadząc do niedokrwistości, a ponadto niedostatek ceruloplazminy jest niekorzystny w związku z niszczącym działaniem wolnych rodników, produkowanych w dużych ilościach podczas reakcji zapalnej.

Wnioski

Nie wydaje się, żeby rodzaj alergenu znacząco wpływał na stężenia badanych białek, jedynie stężenie ceruloplazminy było najbardziej obniżone dla grupy dzieci uczulonych na pyłki. Ten typ zależności wymaga jednak dalszych badań.

Można zatem ostrożnie podsumować, że alergiczny nieżyt błony śluzowej nosa powoduje, że synteza szeregu białek ostrej fazy, które mają funkcje ochronne bądź naprawcze, jest obniżona, co może upośledzać zdolności obronne organizmu dziecka.

Piśmiennictwo

1. *Kańtoch H.*: Diagnostyka i leczenie sezonowego alergicznego nieżyty nosa i spojówek. *Alergologia*, 2002, 2, 44–49.
2. *Kobayashi R.H., Kiechel F., Kobayashi A.I., Mellion M.B.*: Topical nasal sprays: Treatment of allergic rhinitis. *Am. Fam. Physician*, 1994, 50, 151–157.
3. *Lasek W.*: Nadwrażliwość typu I. In: *Immunologia*. Ed. J. Gołąb. PWN, Warszawa 2002, 372–400.
4. *Latoś T.*: Wzajemne powiązania występowania alergii i zapalenia zatok. *Post. Aerosoloterapii*, 1994, 2, 43–49.
5. *White M.V., Kaliner M.A.*: Mediators of allergic rhinitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992, 90, 699–704.
6. *Rapiejko P.*: Alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa – diagnostyka i leczenie. *Nowa Klin.* 2001, 8 (5/6), 588.
7. *Zawisza E., Samolińska-Zawisza U.*: Choroby alergiczne. *Nowa Med.* 1999, 6 (1), 2–4.
8. *Carewicz R., Chciałowski A.*: Bacteria and viruses in allergic diseases. *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol.* 2002, 8 (2), 102.
9. *Janowicz W.*: Praktyczne postępowanie w zakażeniach górnych dróg oddechowych u dzieci. *Medipress Pediat.* 1996, 2 (1), 6.
10. *Laurell C.B.*: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Scand. J. Clin. Invest.* 1972, 124, 21–28.

Komentarz

U pacjentów z chorobami alergicznymi często oznaczane są wskaźniki ostrej fazy, ponieważ ich podwyższone wartości wskazują na współistnienie chorób infekcyjnych, a choroby te często są wikłane zakażeniami.

Autorzy artykułu zajęli się zupełnie odmiennym problemem. Badali oni surowicze stężenia białek ostrej fazy u dzieci z chorobą alergiczną w okresie jej remisji klinicznej i odnosili uzyskane wartości do uzyskiwanych przez zdrowe dzieci. Stwierdzili, że u dzieci z katarem alergicznym stężenie białek ostrej fazy jest niższe niż wśród zdrowych dzieci. Wprawdzie uzyskane przez nich różnice nie miały istotności statystycznej, ale objęli oni badaniami małą ilość dzieci. Ta ciekawa obserwacja musi być potwierdzona na szerszym materiale badawczym. Szkoda, że autorzy nie przedstawili, jakie w ich ocenie przyczyny odpowiadają za występowanie niższego niż u zdrowych stężenia wskaźników ostrej fazy. Za uruchomienie syntezy białek ostrej fazy odpowiadają cytokiny, przede wszystkim IL-1, IL-6 oraz TNF-alfa, a te nie osiągają niższych stężeń u dzieci z alergią niż u dzieci zdrowych.

Białka ostrej fazy są grupą białek osocza syntetyzowaną w wątrobie jako niespecyficzna reakcja organizmu na działający bodziec, uszkadzający bądź zapalny. Mają one za zadanie ograniczyć reakcję zapalną i uczestniczyć w procesach naprawczych ustroju. Mogą również wywierać modulujący wpływ na limfocyty T. Oprócz tych funkcji, jako markery zapalenia, wykonują także swoiste funkcje nośnikowe (np. ceruloplazmina, haptoglobina). Wytwarzaniu białek ostrej fazy towarzyszy równoczesny spadek „antybiałek ostrej fazy”, czyli prealbumin, albumin i transferyny.

Do białek ostrej fazy, które są najczęściej badane, zaliczamy: białko C-reaktywne, fibrynogen, seromukoid, prokalcytoninę, haptoglobinę, ceruloplazminę, alfa1-antytrypsynę, alfa1-antychymotrypsynę i kwaśną glikoproteinę. Są one laboratoryjnym wykładnikiem aktywności procesu zapalnego. Najwyższe wartości osiągają zazwyczaj w zakażeniach bakteryjnych, nowotworach i chorobach autoagresyjnych. Zróżnicowanie przyczyny infekcji na podstawie ich wartości nie ma jednak charakteru rozstrzygającego, a jedynie orientacyjny. Wyższe stężenia z reguły towarzyszą chorobom bakteryjnym, aktywnej postaci choroby autoagresyjnej, nowotworom. Niższe wartości są charakterystyczne dla chorób wirusowych.

W ostatnich latach zwrócono uwagę, że białka ostrej fazy w niewielkim stopniu wzrastają także w otyłości, wskazując na toczące się w tej chorobie zapalenie. Viljanen M. i wsp. w pracy pt. „Induction of inflammation as a possible mechanism of probiotic effect in atopic eczema-dermatitis syndrom” (*J. Allergy Clin. Immunol.* 2005 Jun, 115 (6), 1254–1259) wykazali, że u niemowląt z IgE-zależną alergią na mleko krowie, wygasaniu zapalenia alergicznego również może towarzyszyć normalizacja surowiczego stężenia IL-6 i białka C-reaktywnego.

dr hab. n. med. *Grażyna Czaja-Bulsa*

MAGDALENA SOBIESKA, IWONA STEINER¹, BEATA PUCHER¹,
MICHAŁ GRZEGOROWSKI¹, WŁODZIMIERZ SAMBORSKI

GLIKOZYLACJA BIAŁEK OSTREJ FAZY U DZIECI Z ZAPALENIEM MIGDAŁKÓW PODNIEBIENNYCH I OBJAWAMI ALERGII

GLYCOSYLATION PROFILE OF SELECTED ACUTE PHASE PROTEINS IN CHILDREN WITH CHRONIC TONSILLITIS AND ALLERGIC SYMPTOMS

Klinika Fizjoterapii, Reumatologii i Rehabilitacji Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego
ul. 28 Czerwca 1956 roku 135/147, 61-545 Poznań

Kierownik: dr hab. n. med., prof. AM *Włodzimierz Samborski*

¹Klinika Otolaryngologii Dziecięcej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Michał Grzegorowski*

Summary

Introduction: Acute phase proteins may be regarded as laboratory markers of inflammatory processes of various origin, but they also play several important biological roles. As majority of them are glycoproteins alterations in glycosylations profiles form additional sign of disturbances in the cytokines network during inflammation and allow to distinguish between acute and chronic inflammatory conditions.

Material and methods: A group of 25 children, aged from 6 to 13 years, admitted due to tonsillectomy was examined using skin tests towards specific allergens. Fifteen children out of the whole group showed reaction to pollens, whereas in ten children no allergen was detected despite clear allergic symptoms. In sera samples from every child concentrations of C-reactive protein, α_1 -acid glycoprotein (AGP) and α_1 -antichymotrypsin (ACT) were measured using rocket immunoelectrophoresis acc. to Laurell, and glycosylations profiles of AGP and ACT were determined, using crossed affino-immunoelectrophoresis acc. to Bøg–Hansen.

Results: Lower concentration of AGP and higher of ACT was shown for children allergic to pollens. Glycosylation profile of both proteins was altered towards higher reactivity with ConA for children allergic to pollens, whereas rather chronic image was observed in children allergic to unknown allergen. The latter image was similar to previously described in children with food allergies.

Conclusions: The presence of allergic reaction may alter the cytokine network activity in children, thus affecting also the immune status, independently from chronic inflammatory process in tonsillitis.

Key words: glycosylation profile – acute phase proteins
– allergy – chronic tonsillitis.

Streszczenie

Wstęp: Białka ostrej fazy można uznać za laboratoryjny wykładnik procesów zapalnych o różnej etiologii, ale pełnią one także liczne istotne role biologiczne. Jako że większość z nich to glikoproteiny, zmiany dotyczące ich bocznych łańcuchów cukrowych są dodatkowym sygnałem o zakłóceniach w sieci cytokinowej, zachodzących podczas zapalenia i mogą służyć jako wyznacznik stanów zapalnych o ostrym lub przewlekłym charakterze.

Material i metody: Badaniom poddano grupę 25 dzieci w wieku od 6 do 13 lat, przyjętych na oddział laryngologiczny ze wskazań do tonsylektomii. Wszystkie dzieci poddano badaniom testami skórnymi (Stallergens). Piętnastoro dzieci z całej grupy wykazało obecność reakcji alergicznych na pyłki, a u 10 nie ustalono alergenu mimo występowania objawów. Od wszystkich dzieci zabezpieczono próbkę krwi, pobraną do badań rutynowych i wykonano w surowicy oznaczenie stężeń białka C-reaktywnego, kwaśnej

alfa₁-glikoproteiny (AGP) i alfa₁-antychymotrypsyny (ACT) z profilami glikozylacji. Stężenia białek badano metodą immunoelektroforezy rakietkowej, używając przeciwciał i roztworów standardowych firmy DakoCytomation (Dania). Profil glikozylacji badano metodą immunoelektroforezy krzyżowej powinowactwa według Bóg-Hansena z ConA, jako ligandem.

Wyniki: Niższe stężenia AGP i ACT wykazano u dzieci uczulonych na pyłki. Profil glikozylacji obu białek był u tych dzieci przesunięty w kierunku większej reaktywności z ConA, podczas gdy u dzieci, u których nie ustalono alergenu, obraz glikozylacji był przewlekły. Podobny obraz opisano wcześniej u dzieci z alergią pokarmową.

Wnioski: Reakcje alergiczne mogą powodować zmiany w funkcjonowaniu sieci cytokinowej u dzieci, wpływając na status immunologiczny niezależnie od przewlekłego procesu zapalnego, jaki towarzyszy zapaleniu migdałków podniebiennych.

H a s ł a: profil glikozylacji – białka ostrej fazy – alergologia – przewlekłe zapalenie migdałków podniebiennych.

Wstęp

Podstawą zaliczenia do kategorii „białko ostrej fazy” jest zmiana surowiczego stężenia podczas odpowiedzi (reakcji) ostrej fazy co najmniej o 25%. W większości białka te są pochodzenia wątrobowego; warto wspomnieć, że często w odpowiedzi na bodziec stężenie konkretnego białka w tkankach może się wyraźnie różnić od surowiczego, jednak właśnie to ostatnie jest najczęściej badane.

Białka ostrej fazy (BOF) są laboratoryjnym wykładnikiem istnienia i aktywności procesu zapalnego, stąd pomiar ich stężeń może dostarczać informacji o stanie organizmu. Natomiast biologicznie białka ograniczają reakcję zapalną, uczestniczą w procesach naprawczych, mogą wywierać wpływ modulujący (zwykle hamujący) na limfocyty T, zapobiegają utracie cennych składników (np. żelaza) [1].

Za uruchomienie syntezy białek ostrej fazy w trakcie reakcji na bodziec uszkodzający bądź zapalny odpowiadają przede wszystkim trzy cytokiny: interleukina (IL)-1, czynnik martwicy nowotworów (TNF α) i IL-6, choć także inne (transformujący czynnik wzrostu, interferon γ , wątrobowy czynnik wzrostu) mogą wywierać potem wpływ wzmagający produkcję czy modulujący proporcje syntetyzowanych białek. Odrębnie regulowane są zmiany glikozylacji. O ile zapoczątkowanie produkcji białek odbywa się głównie pod wpływem wymienionych cytokin, na jej wielkość i czas trwania wpływa szereg innych czynników, zarówno działających w tym samym czasie, jak obecnych już przed zaistnieniem reakcji zapalnej. Jednym z najważniejszych czynników modulującym działanie cytokin są glikokortykosteroidy. Ich wpływ na ekspresję genów różnych białek jest różny, zależny także od gatunku. Ponadto należy pa-

miętać, że cytokiny nie działają w odosobnieniu, a zatem wywierany przez nie efekt nie tylko jest wypadkową działań poszczególnych mediatorów, ale ich działania w różnych kombinacjach mogą być addytywne, synergistyczne czy antagonistyczne.

Wszystkie glikoproteiny syntetyzowane przez wątrobę, a zatem większość glikoprotein surowicy, zawierają boczne łańcuchy cukrowcowe powiązane z łańcuchem białkowym wyłącznie pierwszym typem wiązania, czyli N-glikozydoaminowym [2]. Występujące na nich oligosacharydy mogą się składać z samych reszt mannozy (typ bogatomannozy), z N-acetyloglukozoaminy, galaktozy, fukozy i kwasu sjałowego (typ złożony) albo mogą być mieszane (hybrydowe), czyli zawierające łańcuchy obu typów. Wszystkie złożone oligosacharydy, a takie są składnikiem glikoprotein produkowanych przez wątrobę, zawierają identyczny rdzeń utworzony z dwóch reszt N-acetyloglukozoaminy i z trzech reszt mannozy. Część rdzenna połączona jest z łańcuchem polipeptydowym poprzez GlcNAc, która łączy się z asparaginą łańcucha polipeptydowego, położoną w sekwencji Asn-X-Ser lub Tre, gdzie X to dowolny aminokwas. Oprócz części rdzennej w skład heteroglikanów wchodzi dwa, trzy lub cztery łańcuchy boczne, nazwane antenami, odchodzące od rdzennych α 1,3 i α 1,6 reszt Man, stąd mówi się o oligosacharydach dwu-, trój- lub czteroantennarych. Anteny zbudowane są głównie z N-acetyloglukozoaminy, galaktozy i galaktozoaminy. Ponadto mogą dodatkowo zawierać fukozę, a na końcu kwas sjałowy [2, 3]. Wyszczególnione struktury antenarne mogą ponadto zawierać dodatkową, tzw. „rozdzielającą” GlcNAc, połączoną wiązaniem 1,4 z α Man części rdzennej.

Biosynteza N-związanych łańcuchów cukrowcowych białek surowicy zachodzi początkowo w części szorstkiej siateczki endoplazmatycznej, a dalsze etapy modyfikacji reszt cukrowcowych, potranslacyjnie w części gładkiej siateczki endoplazmatycznej i w aparacie Golgiego. Glikozylacja uwarunkowana jest poziomem substratów (nukleotydów przenoszących reszty cukrowe) i swoistą dla danej tkanki aktywnością glikozylotransferaz, jak i obecnością ich produktów [2]. Nagromadzenie lub obniżenie zawartości produktów glikozylacji w komórce może być wynikiem zmian na jednym lub kilku etapach ich syntezy. Coraz więcej jest dowodów na to, że struktura oligosacharydów jest ściśle związana z ich funkcją i podlega precyzyjnej regulacji. Za przyczynę powstawania bardziej rozgałęzionych, złożonych glikanów uważa się tworzenie dodatkowego rozgałęzienia (anteny) łańcucha oligosacharydowego. Dodatkowa antena powstaje w wyniku podwyższenia aktywności transferazy-5-galaktozy, która zapoczątkowuje syntezę tego rozgałęzienia. Te dodatkowe rozgałęzienia mogą być następnie podstawione przez inne cukry, takie jak: galaktoza, fukoza, kwas sjałowy. Stwierdzono, że niektóre transferazy podlegają regulacji w czasie rozwoju osobniczego, a ich ekspresja jest zależna od stopnia zróżnicowania komórek [3].

Glikany pełnią w komórce dwa rodzaje funkcji. Pierwsza wynika z ich właściwości fizykochemicznych i dotyczy

stabilizacji białek poprzez udział w formowaniu struktur trzeciorzędowych, ochrony przed działaniem proteaz, stabilizacji błony komórkowej oraz kontroli jej przepuszczalności i utrzymywania ładunku elektrycznego powierzchni komórki. Drugi rodzaj stanowią funkcje biologiczne, a głównie pośredniczenie w oddziaływaniach międzykomórkowych. Warstwa różnorodnych złożonych struktur cukrowych stanowi najbardziej zewnętrzną część powierzchni komórki i potencjalnie jest zdolna do przenoszenia informacji rozpoznawanych przez inne komórki. Rozmaitość glikanów oraz ich zróżnicowana ekspresja komórkowa i tkankowa sugerują, że mogą to być oddziaływania swoiste. Komórki ssaków posiadają białka o charakterze lektyn, które potrafią rozpoznawać struktury cukrowe na innych komórkach. Lektyny to glikoproteiny, zdolne rozpoznawać konkretne reszty oligocukrowe, często jeszcze tylko występujące w danej konfiguracji [4].

Cechą charakterystyczną glikoprotein surowicy, a tym samym białek ostrej fazy, jest heterogenność charakteru ich reszt cukrowych. Ten typ heterogenności nazwano mikroheterogennością. Obejmuje on dwie jej formy: główną i poboczną. Mikroheterogenność główna dotyczy różnorodności struktur antenarnych, poboczna natomiast różnic ilościowych kwasu sialowego i fukozy. W warunkach fizjologicznych ilość grup cząsteczek (wariantów) tego samego białka o identycznej strukturze bocznych łańcuchów cukrowych jest stała. Przy badaniu glikozylacji metodą immunoelektroforezy lub chromatografii powinowactwa z lektynami, oznacza to, że ilość i proporcje wariantów, czyli grup cząsteczek tego samego białka obarczonych podobnymi cukrowcami są stałe. W przebiegu zjawiska ostrej fazy obserwuje się zaburzenie proporcji występujących fizjologicznie wariantów, a często pojawiają się inne, o zupełnie zmienionej reakcji z daną lektyną.

Najogólniej można powiedzieć, że przeprowadzone dotąd badania z użyciem ConA pozwalają wnioskować o istnieniu dwóch zasadniczych i w miarę wspólnych tendencji w zmianach glikozylacji BOF: w ostrych zapaleniach występuje względny wzrost ilości struktur dwuantenarnych [5, 6, 7, 8], a w ciąży i w przewlekłych stanach zapalnych przewaga trój- i czteroantenarnych cukrowców [9, 10]. Ostry profil glikozylacji kojarzy się w przypadku pozytywnych BOF zazwyczaj z ich podwyższonym stężeniem, podczas gdy przewlekły obraz glikozylacji można wykryć zarówno przy podwyższonym, jak i obniżonym stężeniu danego białka, zależnie od etiologii i charakteru procesu zapalnego. Ponadto procesy zmian glikozylacji mogą się częściowo nakładać, w efekcie czego powstaje obraz zaostrego profilu glikozylacji typowego dla stanów przewlekłych (jednoczesna przewaga struktur trójantenarnych i obecność wariantów silnie reagujących z lektyną, czyli o przeważająco dwuantenarnych cukrowcach).

Najszerzej badaną ludzką glikoproteiną jest niewątpliwie kwaśna α_1 -glikoproteina, czyli orozomukoid. Struktura jej bocznych łańcuchów cukrowych była badana wieloma metodami, zarówno przez wiązanie z lektynami, jak i prepa-

ratorywną chromatografią [11]. Wiele jest też prac, w których opisywano jej zależny od mikroheterogenności wpływ na różne komórki układu immunologicznego [12]. Dotyczy to zwłaszcza pojawiania się ugrupowań sLeX i ich wpływu na diapedezę leukocytów [13]. Wszystkie białka ostrej fazy, z wyjątkiem białka C-reaktywnego, surowiczego składnika amyloidu A i albuminy, są glikoproteinami. W badaniach najczęściej pojawia się kwaśna alfa₁-glikoproteina (AGP), a w badaniach wykonywanych uprzednio przez autorów – również alfa₁-antychymotrypsyna (ACT).

Badanie glikozylacji AGP ujawnia u zdrowych ludzi obecność trzech wariantów, od niereagującego z ConA do silnie reagującego, stanowiących odpowiednio W0 – 43%, W1 – 45% i W2 – 12%. W ciąży i w przewlekłych stanach zapalnych reaktywność z ConA spada.

Badanie glikozylacji ACT pozwoliło opisać występowanie prawidłowo czterech wariantów, od słabo (A1) do silnie reagującego (A4) z ConA. Stanowią one przeciętnie po 25% całkowitego stężenia tego białka. U dzieci oraz w ostrych stanach zapalnych pojawia się czasem wariant piąty (A5), bardzo silnie reagujący z ConA, stanowiący przeciętnie do 5% całości. W ciąży, podobnie jak w przypadku AGP, reaktywność ACT z ConA spada.

Material i metody

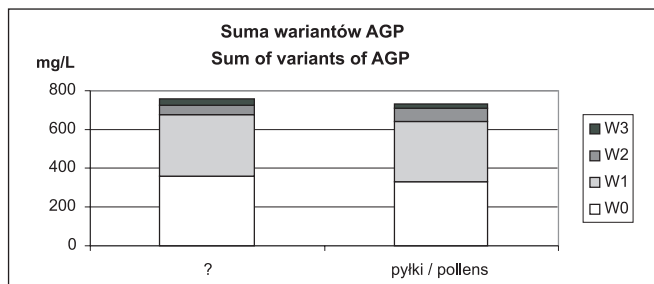
Badaniami objęto grupę 25 dzieci w wieku od 6 do 13 lat, poddawanych zabiegowi tonsylektomii. W ocenie klinicznej ani w badaniach laboratoryjnych nie stwierdzano obecności wykładników ostrego stanu zapalnego. Wszystkim dzieciom wykonano testy skórne za pomocą zestawu podstawowego firmy Stallergens. W momencie przyjęcia u żadnego z dzieci nie stwierdzano reakcji alergicznej. Porównano grupę dzieci, u których testy wykazały alergię na pyłki (n = 15) i dzieci, u których, mimo objawów alergii, testy skórne wypadły ujemnie (n = 10). Materiał stanowiły resztkowe surowice, pozostałe po rutynowych badaniach laboratoryjnych. W badaniach uwzględniono następujące białka: CRP oraz AGP i ACT z profilami glikozylacji. Stężenia białek badano metodą immunoelektroforezy rakietowej [14], używając przeciwciał i roztworów standardowych firmy DakoCytomation (Dania). Profil glikozylacji badano metodą immunoelektroforezy krzyżowej powinowactwa według Bóg-Hansena, z ConA jako ligandem [15].

Wyniki

Stężenie CRP nie odbiegało od normy w obu badanych grupach. Stężenia obu badanych glikoprotein były nieznacznie niższe niż wartości obserwowane u dzieci zdrowych, przy czym obniżenie to dotyczyło głównie ACT (odpowiednio 759 ± 276 i 728 ± 309 mg/L w obu grupach dla AGP i 235 ± 107 i 283 ± 105 mg/L dla ACT). Zwraca

uwagę stężenie ACT, obniżone przede wszystkim u dzieci, u których nie ustalono rodzaju alergenu.

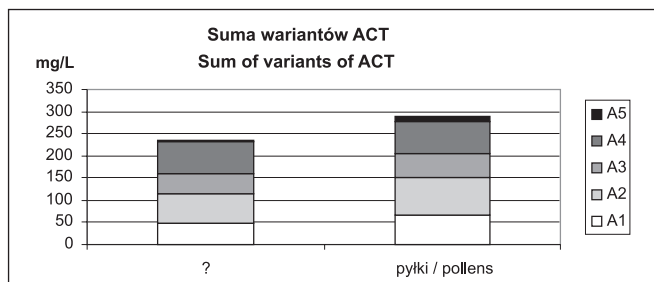
Gdy poddano analizie proporcje wariantów AGP i ACT, uzyskanych w badaniu immunoelektroforezy krzyżowej z konkanawaliną A jako liganiem, ustalono, że różni się on znacznie pomiędzy grupami. Udział wariantów w całkowitym stężeniu białka przedstawiono na rycinach, odpowiednio dla AGP na rycinie 1 i dla ACT na rycinie 2.



W0 – wariant niereagujący z ConA / ConA non-reactive variant; W1 – wariant słabo reagujący z ConA / ConA weakly reactive variant; W2 – wariant reagujący z ConA / ConA reactive variant; W3 – wariant silnie reagujący z ConA / ConA strongly reactive variant

Ryc. 1. Proporcja wariantów kwaśnej alfa1-glikoproteiny składających się na całkowite stężenie białka u dzieci uczulonych na pyłki i u dzieci, u których w testach skórnych nie ustalono rodzaju alergenu

Fig. 1. Proportion of distinctly glycosylated variants forming the total AGP concentration in children allergic to pollens and in those allergic to unknown allergen



A1 – wariant słabo reagujący z ConA / ConA weakly reactive variant; A2, A3 – warianty reagujące z ConA / ConA reactive variants; A4 – wariant silnie reagujący z ConA / ConA strongly reactive variant

Ryc. 2. Proporcja wariantów alfa1-antychymotrypsyny składających się na całkowite stężenie białka u dzieci uczulonych na pyłki i u dzieci, u których w testach skórnych nie ustalono rodzaju alergenu

Fig. 2. Proportion of distinctly glycosylated variants forming the total ACT concentration in children allergic to pollens and in those allergic to unknown allergen

Dyskusja

W grupie dzieci, u których nie udało się ustalić alergenu w porównaniu z grupą dzieci uczulonych na pyłki zwraca uwagę bardziej zmieniony profil glikozylacji. Składa się na to większy udział wariantów odpowiednio W0 lub A1, ale także obecność silnie reagujących z ConA wariantu W3 AGP. Obraz glikozylacji w grupie dzieci uczulonych na pyłki jest zmieniony bardziej w kierunku przewlekłego zaostrzonego procesu zapalnego, natomiast w drugiej grupie dzieci obraz bliższy jest typowym zmianom obserwowanym podczas ostrego zapalenia. Należy podkreślić,

że samo przewlekłe zapalenie migdałków podniebiennych także może indukować zmiany w profilu glikozylacji obu badanych białek [9], ale zdecydowanie o charakterze przewlekłym, wydaje się zatem, że widoczne oznaki zaostrzenia procesu można przypisać procesom związanym z reakcjami alergicznymi.

Podobnie jeśli chodzi o glikozylację ACT, zmiany w grupie dzieci uczulonych na nieokreślony antygen miały wyraźnie charakter ostry (większej reaktywności z ConA), podczas gdy profil oznaczony u dzieci uczulonych na pyłki można określić jako „przewlekły zaostrzony”.

Wnioski

Tendencja zmian dla obu badanych glikoprotein była podobna, co może przemawiać za wspólnym mechanizmem regulacji glikozylacji obu białek przez cytokiny. Ciekawym jest, że w podobnych grupach dzieci różnica wydaje się wynikać z charakteru alergenu, a zatem być może z charakteru odpowiedzi immunologicznej, przeważającej w danym typie reakcji. Wymaga to jednak dalszych badań.

Obraz zmian glikozylacji tych samych białek, przesunięty w kierunku mniejszej reaktywności z ConA, czyli w stronę bardziej rozgałęzionych struktur cukrowych, został opisany u dzieci z alergią pokarmową [16, 17]. Być może nie tylko rodzaj alergenu, ale lokalizacja reakcji alergicznej odgrywa rolę, jeśli chodzi o rodzaj toczącego się procesu zapalnego. Charakterystyczne dla alergii pokarmowych było jednak również obniżone surowicze stężenie ACT. Przedstawione wyniki są zaledwie przyczynkiem do zrozumienia procesów toczących się w ustroju dziecka, należy jednak podkreślić, że obecność reakcji alergicznej znacząco zmienia charakter procesu zapalnego i może dodatkowo wpływać na przebieg leczenia dzieci poddawanych zabiegowi tonsylektomii.

Piśmiennictwo

1. Sobieska M.: Homeostaticzna funkcja białek ostrej fazy w odporności. Referat zjazdowy na I Krajowym Sympozjum Immunologów Weterynaryjnych, Świnoujście, 12–14.05.1994 r. Pol. J. Immun. 1994, 19, Suppl. 2.
2. Streyer L.: Biochemia. PWN, Warszawa 1997.
3. Mackiewicz A.: Badania mechanizmów regulujących glikozylację białek ostrej fazy. [Maszynopis powielany] Akad. Med. w Poznaniu, Poznań 1988.
4. Hatton M.W.C., Marz L., Regoeci E.: On the significance of heterogeneity of plasma glycoproteins possessing N-glycans of the complex type: a perspective. Trends Biochem. Sci. 1983, 92, 287–290.
5. Sobieska M., Kostro K., Wołoszyn S., Wiktorowicz K.E.: Acute phase proteins in domestic and laboratory animals – a useful tool in veterinary diagnostics. Pol. J. Immun. 1995, 20, 135–155.
6. Sobieska M., Machyńska-Bučko Z.: Zmiany stężeń wybranych białek ostrej fazy u oparzonych. Roczn. Oparzeń, 1996–1997, 7–8, 25–32.
7. Sobieska M., Mikstacki A., Wiktorowicz K.: Zmiany stężeń cytokin i wybranych białek ostrej fazy pod wpływem urazów wielonarządowych. Now. Lek. 1998, 67 (4), 515–523.

8. *Sobieska M., Wiktorowicz K., Mikstacki A.*: Selected acute phase proteins in patients with polytrauma. *Shock*, 1997, Suppl. 7, 15–16.
9. *Steiner I., Grzegorowski M., Sobieska M.*: Stężenie wybranych białek ostrej fazy i immunoglobulin u dzieci przed i po tonsylektomii. *Now. Lek.* 1995, 64 (6), 695–700.
10. *Wittmann K., Ciszynska A., Sobieska M., Wiktorowicz K.*: Badanie stężeń i profili glikozylacji alfa2-makroglobuliny i ceruloplazminy w przebiegu fizjologicznej ciąży. *Now. Lek.* 1999, 68 (7), 654–664.
11. *Stubbs H.J., Shia M.A., Rice K.G.*: Preparative purification of tetra-antennary oligosaccharides from human asialyl orosomucoid. *Anal. Biochem.* 1997, 247 (2), 357–365.
12. *Fournier T., Medjoubi N.N., Porquet D.*: Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, 1482 (1–2), 157–171.
13. *Jorgensen H.G., Elliott M.A., Priest R., Smith K.D.*: Modulation of sialyl Lewis X dependent binding to E-selectin by glycoforms of alpha-1-acid glycoprotein expressed in rheumatoid arthritis. *Biomed. Chromatogr.* 1998, 12 (6), 343–349.
14. *Laurell C.B.*: Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Scand. J. Clin. Invest.* 1972, 124, 21–28.
15. *Bøg-Hansen T.C.*: Crossed immuno-affinoelectrophoresis: an analytical method to predict the result of affinity chromatography. *Anal. Biochem.* 1973, 56, 480–488.
16. *Springer E., Sobieska M., Wiktorowicz K.*: Measurements of acute phase proteins in food allergy and tolerance. XVII International Congress of Allergology and Clinical Immunology, 15–20 October 2000, Sydney, Australia. Abstract P-540.
17. *Springer E., Sobieska M.*: Monitorowanie białek ostrej fazy w alergii i tolerancji pokarmowej. VII Zjazd Polskiego Towarzystwa Alergologicznego, Łódź, 27–30 sierpnia 2000.

ELŻBIETA GAWRYCH, IRENA MAZURKIEWICZ, ARTUR KWAS, JERZY WĘGRZYNOWSKI¹

TORBIELE JAJNIKA U NOWORODKÓW W ASPEKTCIE DIAGNOSTYKI PŁODOWEJ I PÓŹNIEJSZEJ

ANTENATAL DIAGNOSIS AND POSTNATAL MANAGEMENT OF OVARIAN CYSTS

Klinika Chirurgii Dziecięcej i Onkologicznej Pomorskiej Akademii Medycznej
ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Irena Latawiec-Mazurkiewicz

¹ Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej Pomorskiej Akademii Medycznej
ul. Unii Lubelskiej 1, 72-252 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Ronin-Walknowska

Summary

Introduction: Advances in perinatal sonography have brought to light the problem of ovarian cysts in the fetus and their management during pregnancy and after birth. The majority of such cysts disappear during infancy. According to most researchers, surgery is required when cyst diameter exceeds 5 cm. Complex cysts and complicated cysts also require surgical intervention.

Aim: To present an analysis of the diagnostic and surgical approach to ovarian cysts disclosed antenatally or during the first months of life and managed at the Department of Pediatric and Oncological Surgery, Pomeranian Medical University in Szczecin.

Material and methods: A retrospective study was done in 11 newborns/infants treated for an ovarian cyst in 1998–2004, including 5 with antenatal diagnosis of ovarian cyst. Circumstances and time when the decision to operate was made were studied in the context of eventual complications and risk of loss of ovary.

Results: The decision to operate in 10 newborns/infants (one cyst with a diameter of 1.86 cm disappeared spontaneously in the fifth month of life) was made when cyst diameter was 4 cm or greater or when the cyst was smaller but revealed mobility and sonographic signs of a complex cyst or torsion (5 cases). The diameter of cysts disclosed perinatally ranged from 2.5 to 7 cm (one of them was a chocolate cyst). The ovary was spared in eight patients.

Conclusions: Early sonographic monitoring should be undertaken in newborns with perinatal diagnosis of ovar-

ian cyst. Because of the risk of torsion (50% of cases in the present study), surgical intervention is necessary when cyst diameter is 4 cm or greater.

Key words: ovarian cyst in newborn/infant – chocolate cyst – antenatal diagnosis – therapy.

Streszczenie

Wstęp: Z chwilą wprowadzenia perinatalnych badań ultrasonograficznych pojawił się problem rozpoznawania torbieli jajnika u płodu oraz postępowania leczniczego w okresie ciąży, a zwłaszcza w okresie noworodkowo-niemowlęcym. Większość tak rozpoznanych torbieli prostych zanika w okresie niemowlęcym; zdaniem większości autorów wskazanie do operacji stanowią torbiele o średnicy przekraczającej 5 cm oraz torbiele złożone i powikłane.

Cel: Ocena diagnostyki i postępowania w torbielach jajnika rozpoznanych prenatalnie i w pierwszych miesiącach życia na podstawie materiału Kliniki Chirurgii Dziecięcej i Onkologicznej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie.

Material i metody: Retrospektywnej analizie poddano dokumentację kliniczną 11 noworodków/niemowląt, w tym 5 z perinatalnym rozpoznaniem torbieli leczonych w latach 1998–2004. Zwrócono szczególną uwagę na moment/przyczyny postawienia wskazań do leczenia operacyjnego w kontekście ewentualnych powikłań i związanego z nimi ryzyka utraty jajnika.

Wyniki: Wskazaniem do operacji u 10 noworodków/niemowląt (1 torbiel o średnicy 1,86 cm, prowadzona zachowawczo, zanikła w 5. miesiącu życia) stanowiły torbiele proste o średnicy ≥ 4 cm bądź mniejsze – ruchome, mające ultrasonograficzne cechy torbieli złożonej oraz skręcone (5 przypadków). Średnica torbieli rozpoznanych perinatalnie wahała się od 2,5 cm do 7 cm; jedna z nich okazała się torbielą czekoladową (*cystis picea*). Jajnik udało się zachować u 8 operowanych noworodków/niemowląt.

Wnioski: Podkreślono konieczność wczesnego monitorowania ultrasonograficznego noworodków z perinatalnym rozpoznaniem torbieli jajnika oraz rozważenie wczesnej interwencji chirurgicznej torbieli osiągających średnicę 4 cm, ze względu na ryzyko skrętu (w przedstawionym materiale dotyczyło to 50% przypadków).

H a s ł a: torbiel jajnika u noworodka/niemowlęcia – torbiel czekoladowa – diagnostyka płodowa – leczenie.

Wstęp

W dobie szeroko stosowanej perinatalnie diagnostyki ultrasonograficznej coraz częściej rozpoznawane są torbiele jajnika u płodów. Ich wykrycie możliwe jest po 29. tygodniu życia płodowego. Od czasu pierwszej publikacji w 1975 r. autorstwa *Valentiego i wsp.* [1] do 1991 r. opublikowano 257 takich przypadków [2]. Obecnie częstość perinatalnego rozpoznawania torbieli jajnika określa się na 80–84% [1, 3]. Powstają one w wyniku stymulacji płodowego jajnika matczynymi estrogenami, gonadotropiną łożyskową (HCG) i gonadotropinami płodowymi [1, 2, 4]. Znacznie częściej występują u noworodków urodzonych przedwcześnie (prawdopodobnie wskutek niedojrzałości osi podwzgórze–przysadka–jajnik) oraz z matek obciążonych konfliktem w zakresie czynnika Rh lub cukrzycą, u których dochodzić może do wzrostu poziomu HCG [4]. Ponad 85% torbieli rozpoznanych perinatalnie jest pochodzenia pęcherzykowego (zalicza się do nich także torbiele proste) lub luteinowego. Bardzo rzadko spotyka się u płodu/novorodka guzy złośliwe, a wyjątkowo torbiel czekoladową jajnika (endometrioma). Wiele torbieli (33%) nie przekracza średnicy 2 cm i ulega zanikowi w pierwszych miesiącach życia dziecka w wyniku ustania płodowej stymulacji hormonalnej [5, 6, 7, 8, 9].

Wzrost częstości wykrywania torbieli jajnika w okresie perinatalnym zmusza do dyskusji co do sposobu postępowania w przypadku jej rozpoznania u płodu/novorodka [1, 4, 7, 10]. Za kryteria wyboru postępowania służą ultrasonograficzne cechy torbieli (wielkość, charakter i ruchomość) oraz przebieg kliniczny. Torbiele o średnicy ≥ 4 cm (wg niektórych ≥ 5 cm), wykazujące dużą ruchomość, złożone oraz powikłane (skręt, krwawienie, pęknięcie) lub dające objawy uciskowe stanowią wskazania do leczenia operacyjnego. Przeprowadza się je ostatnio także i metodami małoinwazyjnymi – minilaparotomią [11, 12, 13] bądź laparoskopowo [7, 14, 15]. Postępowanie zachowaw-

cze zarezerwowane jest dla torbieli prostych o średnicy < 4 cm (lub < 5 cm), bez tendencji do powiększania się w kontrolnych badaniach USG [1, 2, 6, 9, 12, 15, 16]. Proponowana przez niektórych wewnątrzmaciczna aspiracja zawartości torbieli niesie ryzyko ponownego wzrostu tej zmiany wskutek trwającej stymulacji hormonalnej, ryzyko uszkodzenia ściany torbieli będącej w zrostach [7, 15] oraz ryzyko ogólnego zagrożenia – tak dla matki, jak i płodu [1, 2, 4, 6, 9, 17]. Alternatywnym rozwiązaniem ma być przezskórne nakłucie dużej torbieli bezpośrednio po urodzeniu [7, 9]. Przebieg kliniczny (zanik torbieli) lub badanie histopatologiczne usuniętej zmiany pozwala na ustalenie ostatecznego rozpoznania. Postanowiono poddać analizie materiał pochodzący z Kliniki Chirurgii Dziecięcej PAM w Szczecinie za okres ostatnich 7 lat, badany pod kątem zastosowanego postępowania w torbielach jajnika oraz przy odwołaniu się do badań USG przeprowadzonych perinatalnie i/lub w okresie niemowlęcym.

Materiał i metody

Retrospektywnej analizie poddano dokumentację kliniczną 11 noworodków/niemowląt płci żeńskiej z ustalonym ultrasonograficznie rozpoznaniem torbieli jajnika, obserwowanych/leczonych w Klinice Chirurgii Dziecięcej i Onkologicznej PAM w Szczecinie w latach 1998–2004. U 5 z nich, urodzonych w Klinice Medycyny Matczyno-Płodowej, rozpoznanie postawiono perinatalnie między 31. a 38. tygodniem ciąży, u pozostałych 6 w okresie noworodkowo-niemowlęcym.

Noworodki z rozpoznaniem perinatalnym torbieli jajnika urodzone były o czasie, z prawidłową masą ciała, w stanie ogólnym dobrym, drogą cięcia cesarskiego; dwa z nich pochodziły z ciąży obciążonej toksoplazmozą lub krwawieniem z dróg rodnych w pierwszych tygodniach ciąży. Obecność torbieli jajnika potwierdzono u nich badaniem USG w pierwszej dobie życia. U 4 kolejnych noworodków wskazaniem do badania ultrasonograficznego, wykonanego między 2. a 38. dobą życia, były objawy ze strony przewodu pokarmowego (głównie wymioty) lub objawy „ostrego brzucha”. Nagłe wskazania do badania USG, spowodowane dolegliwościami brzuszными, zaistniały też w 2 pozostałych przypadkach 4-miesięcznych niemowląt. U 10 noworodków/niemowląt postawiono wskazania do leczenia operacyjnego z powodu średnicy torbieli ≥ 4 cm (w 4 przypadkach), bądź torbieli złożonej, echogenicznej czy na długiej szypule (w 6 przypadkach). Pozostałe, miesięczne dziecko zakwalifikowano do postępowania zachowawczego (tab. 1).

Wyniki

Badaniem perinatalnym stwierdzono u 3 płodów torbiel prostą, u 2 – złożoną; średnica zmiany wahała się od 2,5 cm do 7 cm. Spośród pozostałych 6 noworodków/niemowląt,

u 1 rozpoznano torbiel prostą (< 2 cm), u 3 – prostą i dwie złożone (o średnicy 2,5 cm, 4 cm, 5 cm), u 2 badanych ultrasonograficznie w 4. miesiącu życia z powodu objawów „ostrego brzucha” – zmianę lito-torbielowatą (o średnicy 4 cm) oraz torbiel wielokomorową (o średnicy 4,2 cm) jajnika prawego i lito-płynową (o średnicy 6,3 cm) jajnika lewego. Dominowały zatem zmiany jednostronne, dotyczące głównie prawego jajnika; w 1 przypadku były one obustronne (tab. 1).

W pierwszych 6 tygodniach życia (między 2. a 42. dobą; średnia 15,8) operowano 8 noworodków/niemowląt, w 4. miesiącu życia – 2. U 8 z nich (w tym u 3 ze stwierdzonym skrętem – noworodki/niemowlęta o l.p. 4, 5, 10) usunięto torbiel z zachowaniem jajnika, a w pozostałych 2 przypad-

kach skrętu zaistniała konieczność wycięcia zmienionej martwiczo gonady. Jedna z usuniętych torbieli, oceniona w perinatalnym badaniu USG jako zmiana lito-płynowa o średnicy 2,5 cm, wypełniona była gęstą treścią barwy czekoladowej (noworodek o lp. 7) – rycina 1. U niemowlęcia prowadzonego zachowawczo torbiel uległa stopniowej inwolucji w ciągu 5 miesięcy obserwacji. Podobnie inwolucji uległa poddana śródoperacyjnej aspiracji torbiel prawego jajnika (ewakuowano klarowny płyn) u dziewczynki poddanej operacji z powodu skrętu torbieli jajnika lewego (niemowlę o lp. 4). W tym ostatnim przypadku, przebieg pooperacyjny powikłany był wytrzewieniem w 4 dobie po zabiegu.

Badanie histopatologiczne usuniętych zmian potwierdziło sugestie płynące z badania USG i oceny śródoperacyjnej,

Tabela 1. Diagnostyka i postępowanie w torbielach jajnika u noworodków/niemowląt w materiale Kliniki Chirurgii Dziecięcej Pomorskiej Akademii Medycznej

Table 1. Diagnosis and treatment of ovarian cysts in newborns and infants referred to the Department of Paediatric and Oncological Surgery, Pomeranian Medical University

Nr №	Rok leczenia Year of treatment	Płodowe USG Antenatal USG	Po urodzeniu / Postnatal USG				Leczenie / Treatment		Histopatologia Histopathology
			wiek age	średnica diameter (cm)	strona (L/P)* Side L/R*	typ type	metoda (wskazania) method (indications)	wiek age	
1	1998	po 31 tyg. after 31 st week	1 doba day	7,0	P / R	prosta simple	wycięcie excision	2 dni days	torbiel pęcherzykowa follicular cyst
2	1998	po 31 tyg. after 31 st week	1 doba day	4,3	P / R	prosta simple	wycięcie excision	3 dni days	torbiel pęcherzykowa follicular cyst
3	2000	–	38 dni days	2,5	P / R	prosta simple	wycięcie (wymioty) excision (vomiting)	42 dni days	torbiel pęcherzykowa follicular cyst
4	2001	–	4 miesiące months	R – 4,2 L – 6,3	P, L R, L	P – złożona R – complex L – złożona complex	P – aspiracja R – aspiration L – wycięcie (skręt) excision (torsion)	4 miesiące months	martwica ściany torbieli cyst wall necrosis
5	2002	–	6 dni days	4,0	L	złożona complex	wycięcie (skręt) excision (torsion)	6 dni days	martwica ściany torbieli cyst wall necrosis
6	2003	–	4 miesiące months	4,0	P / R	złożona complex	wycięcie z jajnikiem (skręt jajnika) ovariectomy (torsion)	4 miesiące months	martwica ściany torbieli i jajnika cyst wall and ovarian necrosis
7	2003	po 31 tyg. after 31 st week	1 doba day	2,5	P / R	złożona complex	wycięcie excision	5 dni days	torbiel czekoladowa chocolate cyst
8	2004	–	32 dni days	1,86	P / R	prosta simple	zachowawcze (zanik w 5. mies.) conservative (resolved in 5 month)	–	–
9	2004	po 31 tyg. after 31 st week	1 doba day	4,0	P / R	złożona complex	wycięcie z jajnikiem (skręt jajnika) ovariectomy (torsion)	22 dni days	martwica ściany torbieli i jajnika cyst wall and ovarian necrosis
10	2004	po 31 tyg. after 31 st week	1 doba day	5,0	P / R	złożona complex	wycięcie (skręt) excision (torsion)	7 dni days	martwica ściany torbieli cyst wall necrosis
11	2004	–	2 dni days	5,0	P / R	złożona complex	wycięcie excision	39 dni days	torbiel luteinowa lutein cyst

* P – prawy jajnik; L – lewy jajnik

* R – right ovary; L – left ovary



Ryc. 1. Badanie USG płodu w 39. tygodniu ciąży: torbiel złożona (płód o lp. 7)

Fig. 1. Autental ultrasound in 39th week of gestation: complex cyst (fetus № 7)

wskazując na torbiel pęcherzykową/luteinową w 4 przypadkach, na torbiel czekoladową (*cystis picea/endometrioma*) w 1 (noworodek o lp. 7) oraz na zmiany martwicze w pozostałych 5. Okres hospitalizacji u 10 noworodków/niemowląt wynosił od 1 doby (dalsza obserwacja ambulatoryjna) do 9 dni (średnia 5,4); u pozostałego, z pooperacyjnym wytrzewieniem – 28 dni (niemowlę o lp. 4).

Dyskusja

Powszechność stosowania badań ultrasonograficznych znacznie zwiększyła stopień wykrywalności torbieli jajnika zarówno u płodów, jak i u noworodków [3, 9, 18]. Dominują torbiele małe, nieprzekraczające średnicy 2 cm [1, 2, 4]. W omawianym materiale, na 12 torbieli stwierdzonych ogółem, średnica tylko trzech nie przekraczała 2,5 cm: torbiel prostą i złożoną usunięto operacyjnie, najmniejszą z nich, prostą poddano – z powodzeniem – obserwacji. Wszystkie rozpoznania perinatalne znalazły potwierdzenie w badaniu kontrolnym wykonanym w 1. dobie życia oraz w ocenie śródoperacyjnej. Rozpoznanie torbieli jajnika u płodu stanowiło wskazanie do rozwiązania ciąży drogą cięcia cesarskiego. Nie wszyscy jednak podzielają ten pogląd [1, 2]. U żadnego z noworodków nie stosowano Spirolaktonu (podawanego w przypadkach wcześniactwa z niedojrzałością płuc) – leku mogącego mieć wpływ na rozwój torbieli jajnika ze względu na swe działanie estrogenowe [18].

Ustalone przez *Nussbauma i wsp.* [13] kryteria ultrasonograficzne, różnicujące torbiele jajnika co do ich charakteru na prostą (nieechogeniczną, wypełnioną klarownym płynem) oraz złożoną (echogeniczną, zawierającą poziomy płyn, strąty włóknika, przegrody i/lub często komponenty), pomocne są w decyzjach co do wyboru postępowania. Ponadto w diagnostyce różnicowej torbieli jajnika, zwłaszcza tych na długiej szypule, przemieszczających się w jamie brzusznej, należy brać pod uwagę zdwojenie przewodu pokarmowego, torbiel krezki, torbiel moczownika, naczyniak

limfatyczny, przepuklinę oponowo-rdzeniową przednią [7, 8]. W przedstawionym materiale perinatalnie postawiono rozpoznanie torbieli jajnika u 3 płodów (noworodek o l. p. 1, 2, 7), a torbieli jamy brzusznej u 2, u których torbiel wykazywała znaczną ruchomość (noworodek o lp. 9, 10).

Większość torbieli, zwłaszcza małych, istnieje bezobjawowo. Taki przebieg notowano u 4 noworodków; 3 z nich operowano w pierwszych dobach życia z powodu charakteru torbieli. Z podawanych w piśmiennictwie objawów/powikłań powodowanych przez duże torbiele jajnika, takich jak: skręt, samoamputacja, pęknięcie, krwawienie do światła torbieli, potencjalne zezłotwienie, notowano wyłącznie skręt w 5 przypadkach. W 2 z nich powikłanie to spowodowało utratę jajnika. Skrętowi ulegać ma od 42% do 92% dużych torbieli, zarówno w okresie perinatalnym, jak i noworodkowym [12, 14, 15], a przedstawione dane wskazują na wartość $\pm 50\%$. Dlatego wczesna interwencja chirurgiczna wydaje się być wskazana.

Zapewne zbyt mała wielkość torbieli w omawianym materiale nie predysponowała do wystąpienia omawianych w piśmiennictwie objawów uciskowych, powodujących niedrożność przewodu pokarmowego, dróg moczowych bądź zaburzeń oddechowych wynikających z uniesienia przepony [13, 18, 19]. Stwierdzono natomiast torbiel czekoladową u noworodka z rozpoznaniem prenatalnym torbieli złożonej, niedającą objawów klinicznych do chwili operacji w 5. dobie życia. Według wiedzy autorów, rozpoznanie to u płodów/novorodków stanowi wielką rzadkość. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że na 257 rozpoznania prenatalnych torbieli jajnika [2] nie notowano takiego przypadku, a wśród doniesień opublikowanych od lat 80. ubiegłego wieku – na ponad 30 pozycji dotyczących torbieli czekoladowej jajnika w ogóle – udało się znaleźć opis jednego noworodka z rozpoznaniem endometrioma [17]. Z powodu wyjątkowej rzadkości występowania tej zmiany w życiu płodowym przypadek ten jest przedmiotem oddzielnego doniesienia.

O ile istnieje zgodność co do postępowania zachowawczego w torbielach prostych o średnicy < 2 cm (w toku okresowej kontroli USG, zwykle do 4.–6. miesiąca życia, notuje się ich samoistny zanik), o tyle nie ma zgodności co do średnicy torbieli prostej jako kryterium wskazań do leczenia operacyjnego [6, 10, 16, 20, 21]. Zdaniem jednych [2, 7, 11, 12, 15] średnica 4 cm jest już takim wskazaniem, zdaniem innych [6, 18, 21] – jest nim dopiero średnica 5 cm. Analiza przedstawionego materiału wskazuje na celowość stosowania pierwszego z podanych kryteriów: na 5 skręconych torbieli 3 (w tym 2 z martwicą jajnika) miały średnicę 4 cm. Pozostałe torbiele, według większości autorów, wymagają leczenia operacyjnego ze względu na ryzyko wystąpienia powikłań [2, 9, 15, 21, 22]. I tak też postępowano w omawianym materiale.

Postępowanie wyczekujące z okresową kontrolą ultrasonograficzną prowadzono tylko w jednym przypadku; zmiana ulegała stopniowemu zanikowi do 5. miesiąca życia wyłącznie. Pomimo braku objawów klinicznych zdecydowano

o interwencji chirurgicznej ze względu na rozmiar/obraz ultrasonograficzny torbieli w 8 przypadkach. Tylko w 2 pozostałych, operowanych w 4. miesiącu życia, przyczyną wkroczenia były objawy „ostrego brzucha”.

Wskazań do sugerowanej przez niektórych wewnątrzmacicznej aspiracji [1, 4, 6, 15, 17, 23], jak i aspiracji przez powłoki brzuszne bezpośrednio po urodzeniu zawartości dużych torbieli [7, 9], w materiale własnym nie postawiono. Dokonano natomiast śródoperacyjnej punkcji torbieli jajnika prawego podczas operacji podjętej u niemowlęcia 4-miesięcznego z powodu skrętu torbieli lewego jajnika. Do nawrotu opróżnionej tak torbieli nie doszło, jednak w 4 dobie pooperacyjnej notowano wytrzewienie, które mogło być powikłaniem jej nakłucia (w aspirowanym płynie stwierdzono obecność komórek zapalnych – limfocytów i makrofagów; bad. cytol. nr NC 52284-7/02, Zakład Patomorfologii PAM). Powikłanie to wymagało ponownego wkroczenia operacyjnego i zastosowania antybiotyków oraz przedłużyło okres hospitalizacji do 28 dni.

Jak wynika z piśmiennictwa, małoinwazyjna laparotomia, choć ma coraz częstsze zastosowanie, budzi jednak wątpliwości co do możliwości przeprowadzenia kontroli wzrokowej drugiego jajnika, którego patologia może również wymagać leczenia – jak to miało miejsce w jednym z omawianych przypadków. Takiego ograniczenia nie ma natomiast operacja metodą laparoskopową. Jednak barierą w jej szerokim stosowaniu u noworodków/niemowląt stanowią: masa ciała pacjenta w tym wieku, ewentualne choroby serca oraz konieczność posiadania odpowiedniego sprzętu, w tym odpowiednich rozmiarów portów i optyki [1, 11, 12, 13, 15]. W omawianym materiale posługiwano się jedynie metodą laparotomii.

Dane z piśmiennictwa oraz obserwacje własne potwierdzają znaczenie wczesnego rozpoznania torbieli jajnika u płodu i monitorowania badaniem ultrasonograficznym do chwili urodzenia i po nim [2, 4, 24]. Postawienie wskazań do leczenia operacyjnego torbieli ruchomych, mieszanych i dużych warunkuje osiągnięcie dobrych wyników, a także zapobiega powikłaniom, zaś ocena histologiczna usuniętej zmiany pozwala ustalić ostateczne rozpoznanie. Biorąc pod uwagę ryzyko zezłośliwienia guzów torbielowato-litych w 11% oraz torbielowatych w 3%, wczesne usunięcie torbieli poprawia rokowanie co do wyleczenia [25].

Piśmiennictwo

1. Valenti C., Kassner E.G., Yermakow V., Cromb E.: Antenatal diagnosis of a fetal ovarian cyst. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1975, 15, 216–219.
2. Chiamonte C., Piscopo A., Cataliotti F.: Ovarian cysts in newborns. *Pediatr. Surg.* 2001, 17, 171–174.
3. Ferro F., Iacobelli B.D., Zaccara A., Spagnoli A., Trucchi A., Bagolan P.: Exteriorization – aspiration minilaparotomy for treatment of neonatal ovarian cysts. *J. Pediatr. Adolesc. Gynecol.* 2002, 15, 205–207.
4. Khong P.L., Cheung S.C.W., Leong L.L.Y., Ooi C.G.C.: Ultrasonography of intra – abdominal cystic lesions in the newborn. *Clin. Radiol.* 2003, 58, 449–454.
5. Bagolan P., Giorlandino C., Nahom A., Bilancioni E., Trucchi A., Gatti C.: The management of fetal ovarian cysts. *J. Pediatr. Surg.* 2002, 37, 25–30.
6. Brandt M.L., Luks F.I., Filiatrault D., Garel L., Desjardins J.G., Youssef S.: Surgical indications in antenatally diagnosed ovarian cysts. *J. Pediatr. Surg.* 1991, 26, 276–282.
7. Schmahmann S., Haller J.O.: Neonatal ovarian cysts: pathogenesis, diagnosis and management. *Pediatr. Radiol.* 1997, 27, 101–105.
8. Van der Zee D.C., Van Seumeren I.G.C., Bax K.M.A., Rövekamp M.H., Pull ter Gunne A.J.: Laparoscopic approach to surgical management of ovarian cysts in the newborn. *J. Pediatr. Surg.* 1995, 30, 42–43.
9. Vogtlander M.F., Rijntjes-Jacobs E.G.J., Van den Hoonaard Th.L., Versteegh F.G.A.: Neonatal ovarian cysts. *Acta Pediatr.* 2003, 92, 498–509.
10. Helmraath M.A., Shin C.E., Warner B.W.: Ovarian cysts in the pediatric population. *Sem. Pediatr. Surg.* 1998, 7, 19–28.
11. Colby C., Brindle M., Moss R.L., Alto P.: Minimally invasive laparotomy for treatment of neonatal ovarian cysts. *J. Pediatr. Surg.* 2001, 36, 868–869.
12. Louis-Borrione C., Delarue A., Petit P., Sabiani F., Guys J.M.: Diagnostic anténatal de kyste de l'ovaire: conduite à tenir périnatale. *Arch. Pediatr.* 2002, 9, 417–421.
13. Nussbaum A.R., Sanders R.C., Hartman D.S.: Neonatal ovarian cysts: sonographic pathologic correlation. *Radiology*, 1988, 168, 817–821.
14. Dolgin S.E.: Ovarian masses in the newborn. *Semin. Pediatr. Surg.* 2000, 9, 121–127.
15. Von Schweinitz D., Habenicht R., Hoyer P.F.: Spontane Regression von neonatalen Ovarialzysten. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 1993, 141, 48–52.
16. Luzzatto C., Midrio P., Toffolutti T., Suma V.: Neonatal ovarian cysts: management and follow-up. *Pediatr. Surg.* 2000, 16, 56–59.
17. Garcia R.D., Diez D.P., Tremoya F.A.: Endometriosis ovárica neonatal: tratamiento conservador. *An. Esp. Pediatr.* 1996, 44, 397–398.
18. Vachharajani A.J., Shah J.K., Paes B.A.: Ovarian cyst in a premature infant treated with spironolactone. *Am. J. Perinatol.* 2001, 18, 353–356.
19. Quimette M.V., Bree R.L.: Sonography of pelvoabdominal cystic masses in children and adolescents. *J. Ultrasound. Med.* 1984, 3, 149–153.
20. Brown M.F., Hebra A., Mc Geehin K., Ross A.J.: Ovarian masses in children: A review of 91 cases of malignant benign masses. *J. Pediatr. Surg.* 1993, 28, 930–933.
21. Dobremez E., Moro A., Bondonny J.M., Vergnes P.: Laparoscopic treatment of ovarian cyst in the newborn. *Surg. Endosc.* 2003, 17, 328–332.
22. Tseng D., Curran T.J., Silen M.L.: Minimally invasive management of the prenatally torsed ovarian cyst. *J. Pediatr. Surg.* 2002, 37, 1467–1469.
23. Crombleholme T.M., Craigo S.D., Garmel S., D'Alton M.E.: Fetal ovarian cyst decompression to prevent torsion. *J. Pediatr. Surg.* 1997, 32, 1447–1449.
24. Rzepka-Górska I.: Ginekologia dziecięca dziewczęca. In: Położnictwo i ginekologia. Ed. G.H. Bręborowicz. PZWL, Warszawa 2005.
25. Mc Cluggage W.G., Bryson C., Lamki H., Boyle D.D.: Benign, borderline, and malignant endometrioid neoplasia arising in endometriosis in association with tamoxifen therapy. *Inter J. Gynecol. Pathol.* 2000, 19, 276–279.

ANETA IWONA GZIUT

**PORÓWNAWCZA OCENA DYSTRYBUCJI BLASZKI MIAŻDŻYCOWEJ W PNIU
GŁÓWNYM LEWEJ TĘTNICY WIĘNCOWEJ ORAZ PROKSYMALNYCH
ODCINKACH LEWEJ TĘTNICY ZSTĘPUJĄCEJ I OKALAJĄCEJ U CHORYCH
KIEROWANYCH NA ANGIOPLASTYKĘ WIĘNCOWĄ***

**COMPARATIVE ANALYSIS OF ATHEROSCLEROTIC PLAQUE DISTRIBUTION IN
THE LEFT MAIN CORONARY ARTERY AND PROXIMAL SEGMENTS OF LEFT
ANTERIOR DESCENDING AND LEFT CIRCUMFLEX ARTERIES IN PATIENTS
QUALIFIED FOR PERCUTANEOUS CORONARY ANGIOPLASTY***

Klinika Kardiologii Inwazyjnej, Centralny Szpital Kliniczny Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji
ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Robert J. Gil*

Summary

Purpose: The most frequent cause of ischemic heart disease is atherosclerosis. The atherosclerotic process is responsible for lumen stenosis in coronary arteries leading to impaired blood flow and reduced perfusion. The most important human epicardial artery is the left main coronary stem (LMS) which divides into two “daughter” branches: left anterior descending artery (LAD) and left circumflex artery (LCX). LMS is responsible for the blood supply to 80% of the left ventricular wall, apex and interventricular septum. Therefore, the diagnosis with coronary angiography of significant LMS stenosis is associated with a much poorer prognosis than in the case of other epicardial arteries. Undoubtedly, this finding is associated with fast qualification to revascularization, but at the same time leaves evaluation of the phases of plaque development “neglected” in this part of the coronary system. The situation is compounded by the fact that no ultrasound criteria for LMS have been established so far to correctly determine the severity of atherosclerosis and qualification for percutaneous coronary intervention (PCI).

The aim of study was to evaluate plaques in LMS and proximal LAD and LCX segments in patients with symptomatic multivessel coronary disease who underwent PCI.

Material and methods: The present retrospective analysis was performed in 48 patients with significant stenoses in middle segments of LAD and LCX. The study population was divided into 2 equal groups. Group 1 (Gr1) consisted of patients with angiographically normal LMS, whereas group 2 (Gr2) was composed of patients with angiographically moderate stenosis in LMS (diameter stenosis – %DS 30–50%). Revascularization in each case was preceded by intracoronary ultrasound (ICUS) during which LMS, as well as proximal segments of LAD and LCX over a distance equal to LMS were studied. Quantitative angiography (QCA) included measurements of reference diameter (RD) and %DS. Planimetric and volumetric measurements during ICUS were done at 1 mm intervals and vessel diameter (VD), minimal lumen area (L_{Amin}), lumen stenosis (%LS), plaque burden (PB), plaque volume (PV), and remodeling index were determined. Additionally, a new ICUS parameter representing the distribution of atherosclerotic plaque – plaque volume index (PVI) was proposed.

* Zwięzła wersja rozprawy doktorskiej przyjętej przez Radę Wydziału Lekarskiego Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Promotor: prof. dr hab. n. med. *Robert J. Gil*. Oryginalny maszynopis obejmuje: 105 stron, 45 rycin, 11 tabel, 116 pozycji piśmiennictwa.

* Concise version of doctoral thesis approved by the Council of the Faculty of Medicine, Pomeranian Medical University in Szczecin. Promotor: prof. *Robert J. Gil* MD, M.D. D.M.Sc. Habil. Original typescript comprises: 105 pages, 45 figures, 11 tables, 116 references.

Conclusions: 1. Sequential development of the atherosclerotic plaque occurs in LMS and proximal segments of LAD and LCX. The proximal segment of LAD is especially predisposed to plaque formation, followed by LMS and LCX. 2. PVI is the parameter best suited for determination of atherosclerotic plaque distribution. $PVI = 1.45$ is the borderline value between insignificant and moderate plaque size in LMS. 3. The significant correlation between diameters and areas of LMS and proximal segments of its branches allows for calculation of expected size of LMS. The lumen area of LMS measured with ICUS should be the sum of lumen areas of its branches, whereas in moderate LMS stenosis the area should exceed 75% of the sum. 4. $LMS\ LA < 6.0\ mm^2$ and $\%LS > 50\%$ satisfy the criteria qualifying for revascularization.

Key words: left main coronary artery – atherosclerotic plaque – intracoronary ultrasound – plaque volume index.

Streszczenie

Wstęp: Jednym z największych problemów zdrowotnych obecnej cywilizacji jest choroba niedokrwienna serca, której najczęstszą przyczyną jest miażdżycy. Powoduje ona zwężenie światła tętnic wieńcowych, a tym samym upośledzenie przepływu krwi i zmniejszenie perfuzji mięśnia sercowego. Największą i najważniejszą z tętnic nasierdziowych jest pień główny lewej tętnicy wieńcowej (LMS) dzielący się na 2 „siostrzane” gałęzie przednią zstępującą (LAD) i okalającą (LCX). Za perfuzję na obszarze około 80% wolnej ściany lewej komory, koniuszka i przegrody międzykomorowej odpowiada LMS. Stąd jego zwężenie wiąże się z groźnymi następstwami klinicznymi oraz ze znacznie gorszym rokowaniem dla chorego niż każde inne zwężenie w pozostałych tętnicach nasierdziowych. Niewątpliwie wpłynęło to na szybką kwalifikację tych chorych do leczenia, „zaniedbując” ocenę poszczególnych etapów rozwoju blaszki miażdżycowej w tej części drzewa wieńcowego. Wpłynęło to także na fakt, że do tej pory nie ustalono dla LMS jednoznacznych kryteriów ultrasonograficznych określających stopień zaawansowania miażdżycy i kwalifikujących do zabiegu PCI.

Celem pracy była ocena blaszki miażdżycowej w pniu głównym lewej tętnicy wieńcowej oraz segmentach proksymalnych jej gałęzi – tętnicy przedniej zstępującej oraz tętnicy okalającej u chorych poddawanych przezskórnym zabiegom rewaskularyzacyjnym z powodu objawowej wielonaczyniowej choroby wieńcowej.

Material i metody: Retrospektywnej analizie poddano populację 48 pacjentów, u których stwierdzono obecność istotnych zwężeń w segmentach środkowych LAD i LCX. Badaną populację podzielono na 2 grupy (Gr1 i Gr2) po 24 pacjentów, w zależności od angiograficznej oceny światła LMS. W Gr1 nie stwierdzono zwężeń w LMS, natomiast w Gr2 stwierdzono w nim pośrednie zwężenie (stopień zwężenia średnicy

światła – $\%DS\ 30\text{--}50\%$). W każdym przypadku wykonano badanie ultrasonografii wewnątrzwieńcowej (ICUS) przed właściwą częścią zabiegu rewaskularyzacji – analiza obejmowała LMS oraz równe jej długością proksymalne segmenty LAD i LCX. W analizie angiograficznej oceniano średnicę referencyjną oraz $\%DS$. W ramach analizy ultrasonografii wewnątrzwieńcowej co 1 mm dokonano pomiarów planimetrycznych i wolumetrycznych. Do analizy włączono średnicę naczynia, pole światła (LA), stopień zwężenia światła ($\%LS$), rezydualną wielkość blaszki miażdżycowej, a także objętość blaszki i wskaźnik remodelingu. Zaproponowano nowy parametr ICUS obrazujący dystrybucję blaszki miażdżycowej – wskaźnik objętości blaszki (PVI).

Wnioski: 1. W lewej tętnicy wieńcowej u chorych z wielonaczyniową IHD obserwuje się sekwencyjność tworzenia się blaszki miażdżycowej. Ma to miejsce w proksymalnym odcinku LAD, a wraz z nasileniem stopnia zaawansowania procesu miażdżycowego kolejno w LMS i w LCX. 2. Parametrem najlepiej charakteryzującym blaszkę miażdżycową jest PVI. Jego wartość = 1,45 i stanowi granicę pomiędzy nieistotnym a pośrednim stopniem zaawansowania miażdżycy w LMS. 3. Istnienie istotnego związku pomiędzy średnicami, polem proksymalnych odcinków LAD i LCX a LMS pozwala na wyliczenie należnej wielkości tego ostatniego naczynia. W badaniu ICUS pole światła LMS powinno być równe sumie pól światła jego bocznic. Natomiast w pośrednio zwężonym LMS jego pole powinno wynosić powyżej 75% tej sumy. 4. Stwierdzenie w LMS $LA < 6,0\ mm^2$, przy jednoczesnej $\%LS > 50\%$ świadczy o spełnieniu kryteriów wymaganych dla kwalifikacji do zabiegu rewaskularyzacyjnego.

Hasła: pień główny lewej tętnicy wieńcowej – blaszka miażdżycowa – ultrasonografia wewnątrzwieńcowa – wskaźnik objętości blaszki.

Wstęp

Jednym z największych problemów zdrowotnych obecnej cywilizacji jest choroba niedokrwienna serca, której najczęstszą przyczyną jest miażdżycy. Powoduje ona zwężenie światła tętnic wieńcowych, a tym samym upośledzenie przepływu krwi i zmniejszenie perfuzji mięśnia sercowego.

Największą i najważniejszą z tętnic nasierdziowych jest pień główny lewej tętnicy wieńcowej (*left main stem* – LMS) dzielący się na 2 „siostrzane” gałęzie: przednią zstępującą (*left anterior descending* – LAD) i okalającą (*left circumflex* – LCX). Za perfuzję na obszarze około 80% wolnej ściany lewej komory, koniuszka i przegrody międzykomorowej odpowiada LMS. Stąd jego zwężenie, poza groźnymi następstwami klinicznymi, wiąże się także ze znacznie gorszym rokowaniem dla chorego [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13] niż każde inne zwężenie w pozostałych tętnicach nasierdziowych. Wieloletnie obserwacje wykazały, że odległe rokowanie u pacjentów ze zwężeniem w LMS leczonych zachowawczo

jest złe zarówno w aspekcie długości życia (około połowa z nich umiera w ciągu 5 lat od rozpoznania choroby), jak i występowania ponownych incydentów wieńcowych [4, 14, 15, 16]. Stąd też stwierdzenie istotnego zwężenia w LMS (stopień zwężenia średnicy światła – %DS > 50%) w koronarografii, jeśli nie zostanie wdrożone leczenie rewaskularyzacyjne, związane jest ze znacznie gorszym rokowaniem dla chorego. Wyniki te niewątpliwie wpłynęły na szybką kwalifikację tych chorych do rewaskularyzacji (PCI lub CABG), „zaniedbując” ocenę poszczególnych etapów rozwoju blaszki miażdżycowej w tej części drzewa wieńcowego. Ponadto w licznych badaniach [1, 8, 11, 16, 17, 18, 19, 20, 21] dowiedziono, że LMS jest trudnym naczyniem do oceny angiograficznej. Jego ocena często obarczona jest dużą rozpiętością w zależności od badającego. Składa się na to wiele przyczyn, do których zaliczyć można m.in.: krótki przebieg LMS, proksymalną i dystalną lokalizację jego zwężenia, współobecność zwężeń w proksymalnych odcinkach LAD i LCX oraz ich kręty przebieg. Stosując dodatkowe projekcje podczas angiografii należy liczyć się z niedoszacowaniem zmiany w LMS ze względu na trudności w uwidocznieniu zwężenia. Dodatkowo należy pamiętać o możliwości wpływu remodelingu na projekcję tworzącej się blaszki miażdżycowej w naczyniu [7, 9, 22, 23, 24]. Wszystkie te wątpliwości może rozwiązać badanie ultrasonografii wewnątrzwieńcowej (*intracoronary ultrasound* – ICUS) [4, 19, 20, 25, 26, 27]. Pozwala ono na precyzyjną ocenę zaawansowania procesu miażdżycowego, dokładną charakterystykę blaszki miażdżycowej, a także wielkości badanego naczynia. Jednak, pomimo udokumentowanego znaczenia ICUS, wykonanie tego badania dla oceny stopnia zaawansowania procesu miażdżycowego w LMS w dalszym ciągu budzi kontrowersje. Wpłynęło to niewątpliwie na fakt, że do tej pory nie ustalono dla LMS jednoznacznych kryteriów określających zaawansowanie miażdżycy i kwalifikujących do zabiegu PCI.

Celem pracy była ocena blaszki miażdżycowej w pniu głównym lewej tętnicy wieńcowej oraz segmentach proksymalnych jej gałęzi – tętnicy przedniej zstępującej oraz tętnicy okalającej u chorych poddawanych przezskórnym zabiegom rewaskularyzacyjnym w segmentach środkowych obu bocznic z powodu objawowej choroby wieńcowej. W ramach tego badania przeprowadzono:

- 1) analizę ilościową blaszki miażdżycowej w badanych segmentach lewej tętnicy wieńcowej;
- 2) próbę wyznaczenia najbardziej specyficznego parametru obrazującego wielkość i dystrybucję blaszki miażdżycowej oraz określenia jego wartości granicznej pomiędzy kolejnymi etapami zaawansowania procesu miażdżycowego;
- 3) ocenę przydatności znajomości typu remodelingu w badanych segmentach naczyniowych w początkowych etapach procesu miażdżycowego;
- 4) ocenę związków między analogicznymi parametrami ultrasonograficznymi i angiograficznymi obrazującymi pień główny lewej tętnicy wieńcowej i proksymalne segmenty jego bocznic.

Material i metody

Retrospektywnej analizie poddano populację 48 pacjentów (średnia wieku $60,81 \pm 8,64$ lat, w tym 9 kobiet i 39 mężczyzn), u których stwierdzono obecność istotnych zwężeń *de novo* poniżej proksymalnego segmentu w LAD i LCX. Wszyscy chorzy byli zakwalifikowani do przezskórnej rewaskularyzacji wieńcowej, w trakcie której wykonano badanie ICUS. Badaną populację podzielono na 2 grupy (Gr1 i Gr2) po 24 pacjentów, w zależności od oceny światła LMS w angiografii ilościowej (*quantitative coronary angiography* – QCA). W Gr1 nie stwierdzono zwężenia w LMS (%DS < 30%), natomiast w Gr2 stwierdzono w nim pośrednie zwężenie (%DS 30–50%). Ponadto przy ocenie wskaźnika objętości blaszki badaną populację podzielono na 2 podgrupy w zależności od wartości uśrednionej wielkości rezydualnej blaszki miażdżycowej (*plaque burden mean* – PBśr). Arbitralnie wartość PBśr = 35% przyjęto za graniczną. Podgrupę A (pGrA) stanowili pacjenci z PBśr < 35%, a podgrupę B (pGrB) z PBśr > 35%.

Charakterystyka kliniczna chorych, poza istotnie większą frakcją skurczową w Gr1 niż w Gr2, nie różniła się istotnie pomiędzy grupami (tab. 1).

Wszystkie zabiegi PCI w obu bocznicach zakończyły się sukcesem. Z badania wyłączono pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym oraz z zamknięciem lub istotnym zwężeniem umiejscowionym w proksymalnym segmencie jednej z bocznic.

Badanie angiograficzne wykonano za pomocą kardioangiografów firmy Philips (Integris 3000HM) oraz Toshiba (Infinitx™). Do oceny ilościowej segmentów tętnic zastosowano system CASS II (Pie Medical Data, Meastricht, Holandia). System ten wykorzystuje program komputerowy, który automatycznie wyznacza zarys naczynia na podstawie algorytmu edge-detection. Do analizy ilościowej badanych segmentów włączono średnicę referencyjną (*reference diameter* – RD) oraz %DS. Ten ostatni parametr policzono na podstawie stosunku średnicy naczynia w największym miejscu zwężenia (*minimal lumen diameter* – MLD) do średnicy referencyjnej (RD) według wzoru: $\%DS = (1 - MLD/RD) \times 100\%$.

Wewnątrzwieńcowe badanie ultrasonograficzne (*intracoronary ultrasound* – ICUS) wykonano w obu bocznicach, przed właściwą częścią zabiegu rewaskularyzacji, zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (Study Group on Intracoronary Imaging of the Working Group of Coronary Circulation i Subgroup on Intravascular Ultrasound of the Working Group of Echocardiography of European Society of Cardiology) [28], akceptowanymi także przez American Heart Association i Society for Cardiac Angiography and Interventions [29]. Dzięki automatycznemu urządzeniu (*pull-back device*) wysuwano sondę ultrasonograficzną z dystalnego segmentu naczynia ze stałą prędkością 0,5 mm/s. Obraz ultrasonograficzny rejestrowano w sposób ciągły w komputerze cyfrowo lub analogowo na taśmie magnetowidowej S-VHS. Do bada-

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna badanej populacji

Table 1. Clinical data of the patients

Parametry / Parameters	Grupa 1 Group 1	Grupa 2 Group 2	p
Liczba pacjentów (kobiet/mężczyzn) Number of patients (female/male)	24 6/18 (25%/75%)	24 3/21 (12,5%/87,5%)	NS
Średni wiek pacjentów (lata) Mean age of patients (years)	59,08 ± 8,25	62,54 ± 9,29	NS
EF (%)	54,38 ± 6,96	40,33 ± 8,26	0,00001
Postać dławicy piersiowej (AP): Type of angina (AP): stabilna / stable (SAP) niestabilna / unstable (UAP)	20 (83,33%) 4 (16,67%)	14 (58,33%) 10 (41,67%)	NS NS
Przebyty zawał serca History of myocardial infarction	13 (54,17%)	15 (62,5%)	NS
Nadciśnienie tętnicze Arterial hypertension	18 (75%)	14 (58,33%)	NS
Cukrzyca (DM) Diabetes	6 (25%)	11 (45,83%)	NS
Dyslipidemia	21 (87,5%)	16 (66,67%)	NS
Nikotynizm Nicotinism	12 (50%)	11 (45,83%)	NS
3-naczyniowa IHD 3-vessel IHD	7 (29,17%)	13 (54,17%)	NS

nia ICUS używano systemu mechanicznego ClearView (Boston Scientific Co) z cewnikiem ultrasonograficznym Atlantis o częstotliwości fali akustycznej 40 MHz (n = 23) oraz systemu elektronicznego InVision Imaging System (JOMED Inc) z cewnikiem ultrasonograficznym Avamar o zmiennej częstotliwości 18–26 MHz (n = 25). W przypadku rejestracji badania ICUS aparatem firmy JOMED analizę przeprowadzono na podstawie zatrzymanego obrazu odtworzonego z dysku optycznego, korzystając z oprogramowania stanowiącego integralną część aparatu. Natomiast do analizy obrazów ICUS zarejestrowanych aparatem firmy Boston wykorzystano system służący do trójwymiarowej rekonstrukcji obrazu EchoPlaque (INDEC System, USA), uzyskując pomiary poprzeczne oraz podłużne analizowanych fragmentów tętnic.

Analiza obejmowała cały segment LMS oraz równe jego długości proksymalne segmenty LAD i LCX. Pomiary przekroju poprzecznego wykonywano co 1 mm analizowanych odcinków naczyń. W ramach analizy ilościowej dokonano pomiarów planimetrycznych i wolumetrycznych. Do analizy włączono:

- pole powierzchni przekroju poprzecznego światła naczynia (*lumen area* – LA) – mm²;
- pole powierzchni przekroju poprzecznego światła w miejscu największej PB blaszki (*lumen area minimal* – LA_{min}) – mm²;
- średni wymiar średnicy naczynia (*vessel diameter* – VD) – mm;
- redukcja światła naczynia (*% lumen stenosis* – %LS) wyliczona za pomocą wzoru:

$$\%LS = (1 - LA_{min}/LA_{ref}) \times 100\%;$$

- uśredniona wielkość rezydualna blaszki miażdżycowej (*plaque burden mean* – PB_{sr}) – % – (PB = PA/VA × 100%) całego badanego segmentu naczyniowego przedstawiona jako iloraz wielkości blaszki (PB) w poszczególnych przekrojach i liczby tych przekrojów; wyraża oceniany ultrasonograficznie stopień zwężenia tętnicy;

- objętość blaszki miażdżycowej (*plaque volume* – PV) – mm³ – wyliczona zgodnie z regułą Simpsona, gdzie objętość danego elementu stanowi suma wartości uzyskanych z analizy planimetrycznej kolejnych przekrojów badanego segmentu;

- wskaźnik remodelingu tętnicy (*remodeling index* – RI) liczony z wzoru:

$$RI = VD_{target} / 0,5 (VD_{prox} + VD_{dyst});$$

- wskaźnik objętości blaszki (*plaque volume index* – PVI) obliczany z wzoru:

$$PVI = (PV/VD \text{ w miejscu minimalnego PB danego segmentu}).$$

Uzyskane wartości pomiarów średnic, pól powierzchni przekroju poprzecznego światła oraz parametrów analizy wolumetrycznej przedstawiono jako wartości średnie ± odchylenie standardowe. Zgodność rozkładu zmiennych z rozkładem normalnym weryfikowano testem Shapiro–Wilka. Zależności między zmiennymi nieciągłymi badano metodami regresji wielokrotnej. Jako graniczny przyjęto poziom istotności p = 0,05, natomiast za miarę siły zależności – współczynnik korelacji cząstkowej (R). Za silne uznano zależności, dla których współczynnik znajdował się w przedziale 0,5–0,7, a bardzo silne – znajdujące się w przedziale 0,7–1,0. Obliczenia wykonano z wykorzystaniem pakietu oprogramowania statystycznego Statistica 5.0 PL.

Wyniki

W badanej populacji angiografia wykazała istotnie bardziej zaawansowany proces miażdżycowy w Gr2 niż Gr1. Przeprowadzona analiza ujawniła, że stopień zwężenia naczynia wyrażony redukcją jego średnicy (%DS) różnił się istotnie jedynie między LMS Gr1 a Gr2 ($9,18 \pm 3,6$ vs $45,32 \pm 11,55$, $p < 0,000001$). Pomimo że wyniki QCA nie wskazywały na istotne zaawansowanie procesu miażdżycowego w proksymalnych segmentach LAD i LCX, to jednak badanie ICUS wykazało nasilony w nich proces miażdżycowy (PBśr, PV) (tab.2).

Analiza pierwszego z parametrów obrazujących blaszkę w ICUS, tj. uśrednionej wielkości rezydualnej blaszki, ujawniła wyższe wartości parametru w każdym naczyniu Gr2 w stosunku do Gr1 (tab. 2). Jednak tylko dla LAD różnica pomiędzy grupami nie była istotna statystycznie. Co ciekawe, tylko w Gr1 obserwowana była istotnie większa PBśr w LAD niż LCX. Różnica ta jednak znika wraz z narastaniem blaszki w LMS (Gr2). Stwierdza się, że wraz z istotnym wzrostem PBśr w LMS ($25,60 \pm 6,85\%$ vs $43,96 \pm 8,73\%$) znacznie powiększa się PBśr w LCX ($34,36 \pm 8,41\%$ vs $41,38 \pm 10,78\%$) niż LAD ($44,88 \pm 11,95\%$ vs $47,27 \pm 11,27\%$). Dodatkowo porównywano PBśr całego segmentu pomiędzy poszczególnymi naczyniami w obrębie każdej z grup. Tylko w Gr1 stwierdzono istotnie mniejszą PBśr w LMS niż LAD, mniejszą w LMS niż LCX, a także mniejszą w LCX niż LAD.

Kolejny badany parametr – objętość blaszki, pomimo że wskazał największą wartość w LAD z Gr1 i w LMS z Gr2, to jednak w obu grupach PV w LAD ($71,32 \pm 38,28 \text{ mm}^3$ vs $90,50 \pm 48,19 \text{ mm}^3$) jest porównywalny do PV stwierdzanej w LMS ($66,47 \pm 28,50 \text{ mm}^3$ vs $117,11 \pm 57,08 \text{ mm}^3$). Jednakże objętość blaszki w LMS różni się istotnie pomiędzy obiema grupami – w Gr2 była ponad dwukrotnie większa od PV w Gr1. Pomimo że objętość blaszki w LAD i LCX w Gr2 była większa od PV stwierdzonej w Gr1 w tych naczyniach, różnica ta nie była istotna (tab. 2).

Ponieważ znany jest wpływ tworzącej się blaszki miażdżycowej na remodeling naczynia, próbowano ocenić także jego wskaźnik w badanych naczyniach. W tej analizie arbitralnie przyjęto wartość PBśr = 35% jako decydującą o wielkości blaszki miażdżycowej. Przyjęto, że blaszka o PBśr > 35% jest zmianą istotną, stwierdzenie której dyskwalifikowało dany odcinek naczynia jako refe-

rencyjny. Ponieważ przeprowadzona analiza wykazała, że tylko w LMS i LCX Gr1 występowała PBśr < 35%, uniemożliwiło to wyznaczenie rzeczywistej średnicy referencyjnej w pozostałych naczyniach. Tym samym stanowiło to podstawę do rezygnacji z badania RI jako wykładnika blaszki miażdżycowej.

Dotychczas analizowane parametry wykazały możliwość niedoszacowania zmian w proksymalnych odcinkach lewej tętnicy wieńcowej, zwłaszcza w początkowych stadiach miażdżycy. Dlatego na podstawie uzyskanych pomiarów w obrębie poszczególnych naczyń wyznaczono nowy parametr służący do oceny wielkości blaszki miażdżycowej – wskaźnik objętości blaszki (tab. 3).

Tabela 3. Porównanie wartości wskaźnika objętości blaszki w poszczególnych tętnicach obu grup

Table 3. Plaque volume index for the arteries studied

	LMS	LAD	LCX
Gr1	$1,37 \pm 0,24^*$	$1,54 \pm 0,53$	$1,19 \pm 0,39$
Gr2	$1,79 \pm 0,48^*$	$1,85 \pm 0,67$	$1,38 \pm 0,56$
Łącznie / Total	$1,59 \pm 0,66$	$1,69 \pm 0,62$	$1,27 \pm 0,49$

* $p < 0,01$

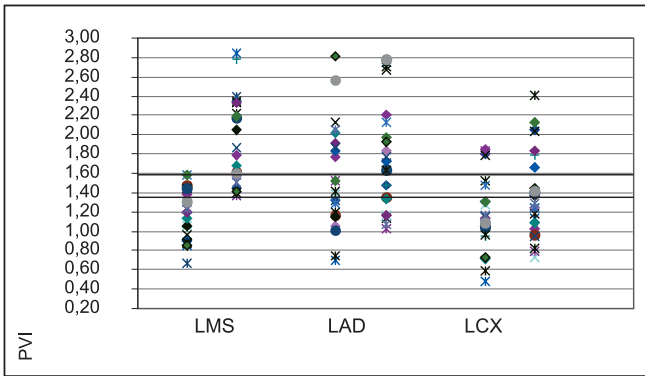
Wskaźnik ten, podobnie jak PBśr i PV, wskazał na największe zawansowanie miażdżycy w LAD ($1,69 \pm 0,62$), a następnie kolejno w LMS ($1,59 \pm 0,66$) i LCX ($1,27 \pm 0,49$). Ponadto, analizując PVI w obrębie LMS, stwierdzono istotnie wyższą ($p < 0,0001$) jego wartość u chorych w Gr2 ($1,79 \pm 0,48$) niż w Gr1 ($1,37 \pm 0,24$). Ponieważ stopień zaawansowania miażdżycy pomiędzy grupami różni się tylko w LMS, w tym naczyniu podjęto próbę wyznaczenia wartości granicznej, która pozwoliłaby zróżnicować stopień zaawansowania procesu miażdżycowego w naczyniach (*cut-off value*). Założono, że punkt ten powinien być równy minimalnej wartości parametru otrzymanego w LMS Gr2. Tak wyznaczony punkt byłby teoretycznie maksymalną wartością PVI dla „nieistotnej” blaszki miażdżycowej. Przyjmując takie założenie, powyżej tej jego wartości nie powinno się stwierdzić żadnego pomiaru w LMS z Gr1. Jednak okazało się, że wyznaczenie jednostkowej wartości PVI, będącej wartością graniczną, jest niemożliwe. W Gr1 stwierdzono bowiem przypadki występowania przekraczających minimalną ich wartość w Gr2 (zakres 1,37–1,58). W przedziale tym stwierdzono po 6 (25%) chorych z Gr1 i z Gr2 (ryc. 1).

Tabela 2. Porównanie wielkości blaszki miażdżycowej ocenianej w ICUS (PBśr, PV) i QCA (%DS)

Table 2. Size of atherosclerotic plaque measured by ICUS (PBśr, PV) and QCA (%DS)

	LMS (mm)			LAD (mm)			LCX (mm)		
	PBśr (%)	PV (mm ³)	%DS	PBśr (%)	PV (mm ³)	%DS	PBśr (%)	PV (mm ³)	%DS
Gr1	$25,60 \pm 6,85$	$66,47 \pm 28,50^*$	$9,18 \pm 3,6^*$	$44,88 \pm 11,95$	$71,32 \pm 38,28$	$36,31 \pm 19,15$	$34,36 \pm 8,41$	$48,45 \pm 21,24$	$27,53 \pm 13,14$
Gr2	$43,96 \pm 8,73$	$117,11 \pm 57,08^*$	$45,32 \pm 11,55^*$	$47,27 \pm 11,27$	$90,50 \pm 48,19$	$33,36 \pm 12,63$	$41,38 \pm 10,78$	$69,93 \pm 44,54$	$30,72 \pm 12,03$

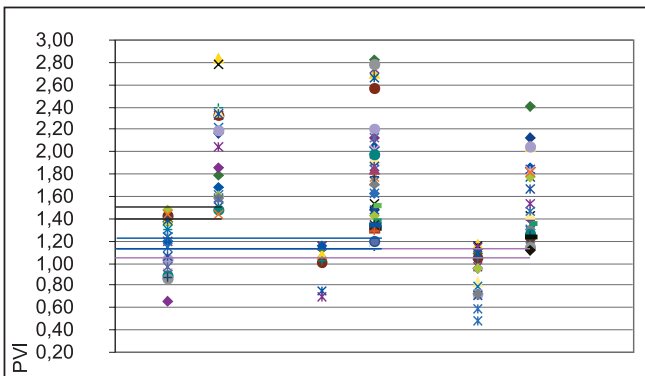
* $p < 0,000001$



1. kolumna w każdym naczyniu – Gr1, 2. kolumna – Gr2 / For each vessel left column represents group 1, right column – group 2

Ryc. 1. Wskaźnik objętości blaszki w każdym z badanych naczyń obu grup
Fig. 1. Plaque volume index for the arteries studied

Dodatkowo w badanych naczyniach analizowano wartość PVI w zależności od wielkości PBśr. W tej analizie także przyjęto PBśr = 35% jako wartość graniczną, powyżej której kończą się możliwości adaptacyjnej przebudowy naczynia w przebiegu procesu miażdżycowego. Na podstawie przyjętego kryterium podziału uzyskano zmniejszenie przedziału granicznego dla LMS oraz wyznaczono taki przedział dla jego bocznic. Dzięki tej modyfikacji osiągnięto następujące zakresy: dla LMS 1,44–1,48, a dla LAD 1,16–1,17 i LCX 1,12–1,17. W tym granicznym przedziale w LMS stwierdzono po 2 pomiary z pGrA (7,2%) i z pGrB (8,7%). Natomiast zarówno dla LAD, jak i LCX stwierdzo-



1. kolumna w każdym naczyniu – GrA z PBśr < 35%, 2. kolumna – GrB z PBśr ≥ 35%; linia czarna – zakres graniczny dla LMS, linia niebieska – LAD, linia czerwona – LCX / For each vessel left column represents group A with PBśr < 35%, right column – group B with PBśr ≥ 35%; borderline values for LMS, LAD, and LCX marked with black, blue, and red lines, respectively

Ryc. 2. Wskaźnik objętości blaszki w każdym z badanych naczyń
Fig. 2. Plaque volume index for the arteries studied

no po 3 (kolejno 30% i 15%) z pGrA i po 2 (kolejno 5,3% i 7,2%) z pGrB (ryc. 2).

Rozwijająca się w ścianie tętnicy blaszka miażdżycowa zmienia wartość parametru, od którego bezpośrednio zależy przepływ krwi, tj. pole światła naczynia. Stwierdzono mniejsze wartości LA w badanych tętnicach w Gr2 niż w Gr1, choć istotna różnica występowała tylko w obrębie LMS (tab. 4).

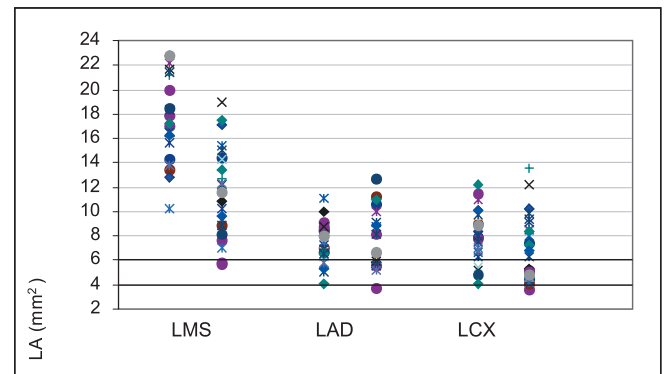
Na podstawie danych uzyskanych w ICUS stwierdzono, że w naczyniach nieznacznie zmienionych miażdżycowo pole światła LMS zbliżone jest do sumy pól jego bocznic:

$$LA_{LMS} = 108 \% (LA_{LAD} + LA_{LCX})$$

Jednak wraz z nasileniem miażdżycy zależność ta maleje:

$$LA_{LMS} = 79 \% (LA_{LAD} + LA_{LCX})$$

Analizie poddano również średnią wartość pola światła w miejscu największej PB blaszki, tj. LAmin (tab. 4). Średnia wartość tego parametru była istotnie mniejsza w Gr2 niż w Gr1 w LMS i LCX. Natomiast LAmin w LAD była większa w Gr1 w porównaniu do Gr2, choć różnice te nie były istotne statystycznie. Ponadto przeanalizowano jednostkowe wartości LAmin w każdym segmencie badanej populacji (ryc. 3). Analiza ta ujawniła, że z wyjątkiem jednego chorego wartości tego parametru dla LMS przekraczały 6 mm² (dokładnie 5,7 mm²). W przypadku LAD i LCX wartość LAmin, z wyłączeniem jednego chorego, przekraczały 4 mm² (odpowiednio LAD – 3,73 mm², LCX – 3,6 mm²). Te wartości LAmin, nie osiągające wartości uznanych za minimalne dla zachowania wystarczającego przepływu (tj. wielkości graniczne LA), stwierdzono w tętnicach jednego chorego.



1. kolumna w każdym naczyniu – Gr1, 2. kolumna – Gr2 / For each vessel left column represents group 1, right column – group 2

Ryc. 3. Porównanie pola światła w miejscu zwężenia naczynia (LAmin) ocenianego w każdym z badanych segmentów w obu grupach

Fig. 3. Lumen area of the stenotic part of artery (LAmin)

Tabela 4. Porównanie wartości pola światła (LA) i minimalnego pola światła (LAmin) w poszczególnych tętnicach obu badanych grup

Table 4. Lumen area (LA) and minimal lumen area (LAmin) for the arteries studied

	LMS			LAD			LCX		
	LA (mm ²)	LAmin (mm ²)	%LS	LA (mm ²)	LAmin (mm ²)	%LS	LA (mm ²)	LAmin (mm ²)	%LS
Gr1	19,72 ± 4,19*	18,12 ± 4,38	18,86 ± 2,12	9,66 ± 2,24	7,52 ± 1,56	42,86 ± 1,98	9,19 ± 3,04	8,12 ± 2,07	37,25 ± 2,32
Gr2	13,88 ± 4,22*	11,59 ± 3,62	42,46 ± 2,74	8,99 ± 2,1	7,69 ± 2,27	40,35 ± 2,51	8,55 ± 3,35	7,14 ± 2,64	42,53 ± 3,23

* p < 0,0005

Ponadto oceniono redukcję światła naczynia, tzn. o ile zmniejszyło się pole światła naczynia w miejscu kumulacji blaszki w porównaniu do odcinka uznanego za referencyjny. Wyższe wartości tego parametru stwierdzono w naczyniach chorych z grupy z bardziej zaawansowaną miażdżycą w porównaniu do grupy o mniejszym stopniu jej zaawansowania (tab. 4). Jednak w żadnej z badanych tętnic nie stwierdzono, aby %LS przekraczała 50%.

W analizowanej populacji badano także zależności między wartościami średnicy referencyjnej uzyskanymi za pomocą obu technik obrazujących – QCA (RD) i ICUS (VD). We wszystkich przypadkach, poza LMS w Gr1, wyniki pomiarów uzyskanych w badaniu ICUS były istotnie większe niż wyniki QCA (tab. 5).

Na podstawie pomiarów QCA oceniono, że w badanej populacji średnica referencyjna w LMS pozostawała w silnej korelacji z sumą RD proksymalnych segmentów LAD i LCX ($R = 0,62$; $p = 0,000003$) – rycina 4.

W oparciu o powyższe dane ułożono równanie umożliwiające wyliczenie RD dla poszczególnych naczyń:

$$RD_{LMS} = 0,7 (RD_{LAD} + RVD_{LCX})$$

W badanej populacji badano również zależności pomiędzy średnicą analizowanych naczyń w oparciu o pomiary ICUS. Także, na podstawie wyników uzyskanych w ICUS, stwierdzono silną zależność między średnicą referencyjną w odcinku dystalnym LMS a sumą średnic jego bocznic ($R = 0,62$; $p = 0,000002$) – rycina 5.

Porównując średnice referencyjne otrzymane w QCA i ICUS, stwierdzono bardzo silną zależność pomiędzy tymi parametrami (ryc. 6).

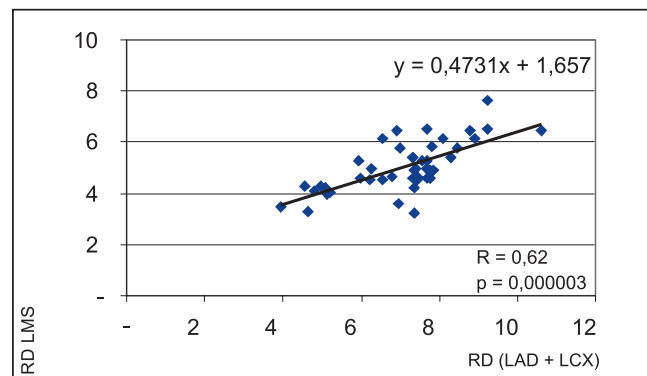
Uzyskane dane umożliwiły także ułożenie równania opisującego zależność pomiędzy średnicami naczyń:

$$D_{LMS} = 0,75 (VD_{LAD} + VD_{LCX})$$

Dyskusja

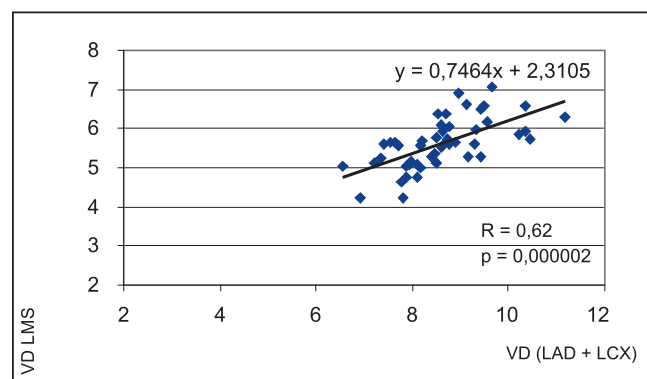
Koronarografia, w tym także ilościowa, oparta o technikę cyfrową (QCA), ma swoje powszechnie znane ograniczenia. Stało się to szczególnie oczywiste po wprowadzeniu ultrasonografii wewnątrzwieńcowej, która w zasadniczy sposób zmieniła ocenę stopnia zaawansowania miażdżycy tętnic wieńcowych, a także przyczyniła się do lepszego zrozumienia mechanizmów zabiegów przezskórnych interwencji wieńcowych (PCI). Koronarografia zwykle niedoszacowuje rozległości procesu miażdżycowego w naczyniach wieńcowych, chociaż zdarzają się również

sytuacje odwrotne [27, 30, 31, 32]. Zbyt optymistyczne wnioski płynące z koronarografii, nabierają szczególnego znaczenia przy ocenie newalgicznych segmentów drzewa



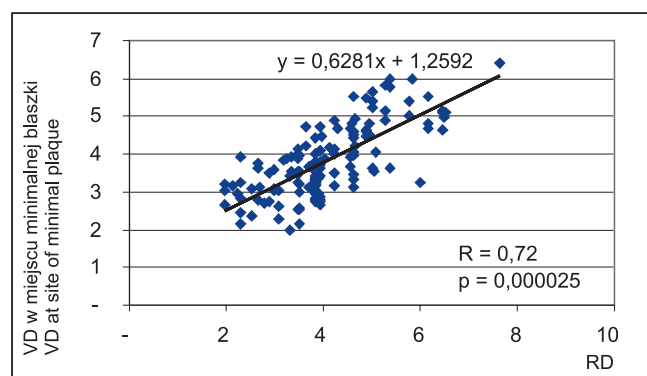
Ryc. 4. Analiza zależności pomiędzy średnicami referencyjnymi (RD) w pniu głównym a jego bocznicami w badanej populacji

Fig. 4. Correlation between RD values for the main stem and branches of the left coronary artery



Ryc. 5. Analiza zależności między średnicami referencyjnymi (VD) w LMS a LAD i LCX w badanej populacji

Fig. 5. Correlation between VD values for LMS and LAD + LCX



Ryc. 6. Porównanie wartości średnicy referencyjnej naczynia otrzymanych w oparciu o QCA i ICUS

Fig. 6. Correlation between VD and RD values

Tabela 5. Porównanie pomiarów średnic referencyjnych (RD i VD) uzyskanych w obu metodach diagnostycznych

Table 5. Comparison of RD and VD values measured with QCA and ICUS, respectively

	LMS (mm)		LAD (mm)		LCX (mm)	
	QCA	ICUS	QCA	ICUS	QCA	ICUS
Gr1	5,48 ± 0,82	5,78 ± 0,57	3,89 ± 0,67*	4,49 ± 0,44*	3,75 ± 0,61**	4,19 ± 0,36**
Gr2	4,58 ± 0,83*	5,55 ± 0,83*	3,35 ± 0,78*	4,63 ± 0,66*	3,24 ± 0,7*	4,28 ± 0,72*

* $p < 0,001$; ** $p < 0,05$

wieńcowego, takich jak pień i początkowe odcinki gałęzi przedniej zstępującej i okalającej lewej tętnicy wieńcowej. Konsekwencje złej kwalifikacji terapeutycznej – leczenie zachowawcze lub rewaskularyzacja – podjęte w oparciu o zbyt optymistyczną lub pesymistyczną interpretację obrazu koronarograficznego mogą być w tych przypadkach dramatyczne. Chociaż istotne zwężenie LMS stwierdza się tylko u 7–10% pacjentów poddawanych koronarografii, to fakt, że naczynie to odpowiada za perfuzję około 80% obszaru wolnej ściany lewej komory, koniuszka i przegrody międzykomorowej jest wystarczająco wymowny.

Złe rokowanie u pacjentów z istotnie zwężonym LMS było przyczyną szybkiej kwalifikacji tych chorych do leczenia zabiegowego [1, 5, 6, 10, 12, 13, 14]. Wydaje się, że podejście to spowodowało skoncentrowanie się na leczeniu grupy chorych, jednocześnie „zaniedbując” ocenę poszczególnych etapów rozwoju blaszki miażdżycowej w tej części drzewa wieńcowego. Należy przy tym podkreślić, że prawie 4% pacjentów z rejestru CASS było asymptomatycznych [14]. Spostrzeżenia te potwierdzają wyniki badań anatomopatologicznych, które wskazują, że problem zwężenia w LMS dotyczy znacznie większej populacji niż się powszechnie przypuszcza [1, 7, 8, 9, 11, 16, 17, 19, 21]. Dlatego też w dalszym ciągu brakuje badań dotyczących zachowania się ściany LMS podczas kolejnych etapów rozwoju miażdżycy.

W niewidocznej w obrazie angiograficznym „przedzwężeniowej” fazie procesu miażdżycowego występujące zaburzenia przepływu wieńcowego są niewielkie i często nie powodują objawów klinicznych [30]. Jednak w wyniku zmniejszenia przepływu krwi przez tętnice nasierdziowe oraz zmniejszenia sił ścierania (*shear stress*) dochodzi do uszkodzenia śródbłonna, przebudowy naczynia wraz z przerostem błony wewnętrznej, co powoduje powstawanie rozlanych zmian miażdżycowych. Do pogrubienia błony wewnętrznej i rozwoju blaszki miażdżycowej, m.in. na skutek zmiany charakteru przepływu krwi (*lesion-prone segments*) dochodzi zwłaszcza w miejscach rozgałęzienia tętnic [33]. Dlatego też zarówno LMS, jak i proksymalne segmenty LAD i LCX, ze względu na swoją anatomię wydają się być szczególnie predysponowane do szybszego rozwoju miażdżycy. Zarówno *Kimura i wsp.* [34] oraz *Balghith i wsp.* [35] ocenili, że proksymalny segment LAD, będący przedłużeniem LMS, jest naczyniem szczególnie narażonym na miażdżycę. Także w prezentowanej rozprawie, w obrębie LAD badanej populacji stwierdzono cechy najbardziej zaawansowanej miażdżycy. Wyrażało się to największym %DS określonym w angiografii ilościowej, a także najwyższymi parametrami określającymi wielkość blaszki miażdżycowej w badaniu ICUS w porównaniu do pozostałych segmentów. Biorąc pod uwagę, że u każdego z pacjentów, oprócz proksymalnego odcinka LAD badano takiej samej długości proksymalny odcinek LCX, spodziewano się podobnego stopnia zaawansowania miażdżycy. Faktycznie, choć w badaniu QCA wartości %DS były mniejsze w LCX niż w LAD, to nie były to

istotne różnice. Trend ten utrzymywał się w obu grupach chorych.

Wśród badanej populacji, pomimo że wyniki QCA nie wskazywały na istotne zaawansowanie procesu miażdżycowego w proksymalnych segmentach głównych tętnic nasierdziowych, to badanie ICUS wykazało, że tylko w LCX wielkość blaszki (oceniana parametrem PBśr) nie przekraczała 40%, czyli wartości wykazanej przez *Glagov i wsp.* [23] jako granicznej dla początku procesu przebudowy naczynia (remodelingu). Analiza klasycznego (jednowymiarowego) parametru ultrasonograficznego, jakim jest wielkość rezydualna blaszki (PBśr) jednoznacznie wskazuje w obu grupach na LAD jako naczynie o najbardziej rozwiniętej blaszce miażdżycowej w porównaniu do pozostałych badanych segmentów. Wyniki te po raz kolejny potwierdzają obserwacje przedstawione przez *Kimura i wsp.* [34] oraz *Balghith i wsp.* [35]. Co istotne, w badanej populacji obserwuje się różnice w dystrybucji blaszki w zależności od stopnia jej zaawansowania w LMS. W Gr1, w której nie stwierdzono zwężenia w LMS, obserwuje się istotnie większą PBśr w LAD niż LCX, jednak ta różnica w wielkości blaszki pomiędzy obiema bocznkami zanika wraz z narastaniem blaszki w LMS (Gr2). Ponadto obserwuje się, że wraz z istotnym wzrostem PBśr w LMS ($25,60 \pm 6,85\%$ vs $43,06 \pm 8,73\%$) znacznie powiększa się średnia wielkość blaszki w LCX ($34,36 \pm 8,41\%$ vs $41,38 \pm 10,79\%$) niż w LAD ($44,58 \pm 11,95\%$ vs $47,27 \pm 11,27\%$). Prowadzi to do zniwelowania w Gr2 istotnej różnicy w wielkości blaszki pomiędzy obiema bocznkami, która występowała w Gr1. Może to pośrednio tłumaczyć kierunek dystrybucji blaszki w początkowych segmentach lewej tętnicy wieńcowej. Uzyskane wyniki wskazują na proksymalny LAD jako najbardziej narażony na kumulację blaszki, a w dalszej kolejności obserwuje się jej narastanie w LMS i następnie w proksymalnym LCX.

Ponieważ miażdżycą jest rozsianym procesem w całym naczyniu i w dodatku ma tendencję do nierównomiernego rozkładu w poszczególnych segmentach, próbowano wyznaczyć parametr dający możliwość analizy przestrzennego rozmieszczenia blaszki miażdżycowej. Tym parametrem obrazującym rozmiar blaszki, a uzyskiwanym przy stosowaniu techniki automatycznego wycofywania cewnika (*pull-back*) w trakcie badania ultrasonograficznego, jest objętość blaszki. Także analiza tego parametru częściowo potwierdziła wcześniejsze obserwacje o kolejności progresji blaszki miażdżycowej – wśród pacjentów Gr1 największą blaszkę obserwuje się w „predysponowanej” do miażdżycy LAD. W tej grupie pacjentów stwierdzono, że PV w LAD jest istotnie większa niż w siostrzanej boczniczy – LCX (odpowiednio $71,32 \pm 38,28$ vs $48,45 \pm 21,25$ mm³). Jednak w obu grupach PV w LAD ($71,32 \pm 38,28$ vs $90,50 \pm 48,9$ mm³) jest porównywalna do objętości blaszki stwierdzonej w LMS ($66,47 \pm 28,50$ vs $117,11 \pm 57,08$ mm³). Natomiast wśród pacjentów Gr2, pomimo znacznego narastania rozmiaru blaszki w LMS (prawie dwukrotnie), nie zauważa się znacznego przyrostu blaszki w jego bocznicach. Zanika także, obserwowana w Gr1, dysproporcja między wiel-

kością blaszki między LAD i LCX. Prawdopodobnie jest to związane z tym, że wraz z narastaniem blaszki LMS intensywniej narasta blaszka miażdżycowa w LCX niż w LAD. Jednak pomimo tego zaawansowanie miażdżycy w LCX nie dorównuje procesom zachodzącym w drugiej boczniczy LMS. Zjawisko to potwierdza tezę o występowaniu w pewnej grupie chorych (tych z wielonaczyniową stabilną IHD) ustalonej sekwencji rozwoju blaszki miażdżycowej, tj. jej formowaniu się początkowo w proksymalnym LAD, a następnie w LMS i w proksymalnym LCX. Oczywiście dotyczy to chorych ze stabilnym przebiegiem choroby wieńcowej, u których w tzw. międzyczasie nie tworzy się nowe istotne hemodynamiczne zwężenie.

Właśnie ta ostatnia obserwacja, dotycząca narastania blaszki w LMS, sprowokowała postawienie pytania, czy słusznym jest porównywanie wielkości blaszki w naczyniach różniących się istotnie pomiędzy sobą pod względem średnicy. Przecież taka sama objętość blaszki w mniejszym naczyniu, np. LAD czy LCX, może już zaburzać proporcje światło/naczynie, a w dużym naczyniu, tj. LMS, nie wpływa jeszcze na jego światło. Przeprowadzona stosowna analiza potwierdziła istnienie istotnej zależności pomiędzy wielkością blaszki a rozmiarem naczynia. Mając na uwadze te zależności zaproponowano nowy parametr obrazujący blaszkę miażdżycową – wskaźnik objętości blaszki uwzględniający zarówno objętość blaszki, jak i wielkość naczynia, w którym dochodzi do jej powstawania.

Ten nowy parametr, przewidziany do obiektywnej oceny stopnia zaawansowania miażdżycy (PVI) wskazywał na największe zaawansowanie procesu miażdżycowego w LAD oraz kolejno w LMS i w LCX. W badanej populacji wartość PVI w LAD znacząco przewyższała PVI w LCX. Potwierdza to wcześniej przedstawione spostrzeżenie o „preferencji” gromadzenia się blaszki miażdżycowej w proksymalnym segmencie LAD i kolejno w LMS oraz w LCX. Analiza jednostkowa tego parametru pomiędzy Gr1 a Gr2 nie wykazała istotnych różnic w jego wartości dla LAD i LCX. Rozkład wartości PVI w poszczególnych naczyniach odpowiada stopniowi zaawansowania miażdżycy w naczyniach ocenianych angiograficznie i klasycznymi parametrami ultrasonograficznymi. Ponieważ w materiale własnym tylko LMS jest naczyniem o zróżnicowanym w ocenie QCA zaawansowaniu miażdżycy, dlatego próbowano w nim wyznaczyć graniczną wartość pomiędzy nieistotnym i pośrednim stopniem zaawansowania procesu miażdżycowego w naczyniach wartość PVI. Pomimo że spodziewano się wyraźnego rozgraniczenia wielkości PVI pomiędzy obiema grupami, to w zakresie między minimalną wartością PVI w Gr2 a maksymalną w Gr1 (zakres 1,37–1,58) stwierdzono po 25% pomiarów z Gr1 i z Gr2. Ponieważ w piśmiennictwie PB jest używany do określenia stopnia zaawansowania procesu miażdżycowego, dlatego też poddano ocenie przydatność PVI w oparciu o PBśr.

Na podstawie wykonanej szczegółowo analizy PVI we wszystkich przypadkach Gr1 z tego „granicznego” zakresu

wykazano występowanie miękkiej blaszki miażdżycowej o PBśr powyżej 40%, co świadczyłoby o angiograficznym niedoszacowaniu stopnia zwężenia naczynia. Natomiast z wyodrębnionych przypadków Gr2 tylko 1 naczynie odróżniało się od pozostałych najmniejszym VD (równym 4,65 mm), a w pozostałych nie stwierdzono żadnych cech mogących odróżnić je od pozostałych z tej grupy. Wyniki tej analizy sugerują, że pomiary PVI z LMS Gr1 znajdujące się w tym przedziale mogą zawyżać jego górną granicę. Dlatego też wydaje się bardzo prawdopodobne, że graniczna wartość wielkości PVI dla LMS pomiędzy dwoma początkowymi etapami miażdżycy wynosi około 1,45.

Powyższa hipoteza została sprawdzona poprzez szczegółową analizę PVI uwzględniającą podział na grupy w zależności od wielkości PBśr. Jednak w odróżnieniu od propozycji *Glagova i wsp.* [23] za graniczną wartość tego ostatniego parametru przyjęto 35%. O wyborze tej wartości PBśr zadecydowano ze względu na wyniki przedstawione w pracy *Radomskiego i wsp.* [24]. Wykazali oni, że segment z blaszką miażdżycową o $PB \geq 35\%$ nie nadaje się na odcinek referencyjny ze względu na rozsznany i istotny proces miażdżycowy. Przyjęcie PBśr jako kryterium podziału badanej populacji (pGrA z $PB\acute{s}r < 35\%$ i pGrB z $PB\acute{s}r \geq 35\%$), umożliwiło analizę wartości PVI w zależności od zaawansowania miażdżycy we wszystkich 3 badanych segmentach naczyniowych. We wszystkich naczyniach z $PB\acute{s}r < 35\%$ stwierdzono niższą wartość tego parametru niż w grupie z $PB\acute{s}r \geq 35\%$. Jednak, nawet pomimo tego kryterium, nie uzyskano jednostkowej wartości PVI stanowiącej granicę między nieistotną a pośrednią blaszką miażdżycową. Choć niewątpliwie za sukces można uznać wyznaczenie bardzo wąskich zakresów wartości wspólnych dla pGrA i pGrB w poszczególnych naczyniach. W obrębie LMS przedział ten wynosił tylko 1,44–1,48. Warto podkreślić, że w jego obrębie stwierdzono tylko po 2 pomiary z obu grup (odpowiednio 7,2% i 8,7%). Potwierdzałyby to wcześniejszą obserwację, że dla LMS wartość PVI około 1,45 stanowi graniczną wartość pomiędzy dwoma początkowymi stopniami rozwoju miażdżycy. Ponieważ zakładano, że poprzez wprowadzenie VD do wzoru PVI wyeliminowano wpływ wielkości naczynia na wartość tego parametru, spodziewano się otrzymać w LAD i LCX zbliżone wartości graniczne do uzyskanych w LMS. Jednak analiza przeprowadzona w obu bocznicach wykazała niższe wartości zakresu PVI rozgraniczającego stopień zaawansowania procesu miażdżycowego (LAD 1,16–1,17 i LCX 1,12–1,17). W każdej z bocznic w tym przedziale stwierdzono tylko po 3 naczynia z pGrA i po 2 z pGrB.

Powyższe spostrzeżenie jest kolejnym dowodem świadczącym o specyfice LMS i potwierdzającym, że nie można go traktować na równi z pozostałymi głównymi tętnicami nasierdziejowymi. Dlatego też, tak jak w przypadku odrębności przy kwalifikacji angiograficznej zwężenia w LMS, tak i w przypadku oceny każdego parametru ultrasonograficznego należy stosować różne kryteria dla LMS i dla pozostałych naczyń.

Pomimo przeprowadzonych już badań, brak jest powszechnie akceptowanych ultrasonograficznych kryteriów granicznych określających istotność zwężenia LMS, a tym samym wymagających przeprowadzenia zabiegu rewaskularyzacyjnego [7, 8, 9, 11, 17, 19, 20]. *Mintz* [25] oraz *Nissen* i *Yock* [26] przedstawili różniące się istotnie propozycje odnośnie kryterium istotności zmiany obstrukcyjnej w LMS w oparciu o badanie ICUS. *Nissen* i *Yock* jako zwężenie istotne przyjmują takie, którego pomiary badania ICUS wynoszą: pole światła $< 9 \text{ mm}^2$ lub zwężenie pola powierzchni światła powyżej 50%. Natomiast *Mintz* sugeruje, że dopiero pole powierzchni światła w LMS $< 6,0 \text{ mm}^2$ świadczy o istotności zmiany. Za drugi wskaźnik, charakteryzujący istotność zwężenia LMS, uznaje on redukcję średnicy światła $> 50\%$ w porównaniu do odcinka referencyjnego w badaniu ICUS. Ten drugi z parametrów służy do weryfikacji poprawności uzyskiwanego wyniku, tj. prawidłowej kwalifikacji zwężenia w przypadku „małych naczyń”.

Pamiętając, że LMS dzieli się na 2 „siostrzane” gałęzie, tj. LAD i LCX, należy przyjąć, że pole naczyń czy światła LMS powinno być równe sumie analogicznych pól jego bocznic. Jednak wydaje się oczywiste, że toczący się proces miażdżycowy musi mieć wpływ na relacje pomiędzy światłem LMS oraz jego rozgałęzień. W materiale własnym u pacjentów Gr1 (bez angiograficznych cech miażdżycy w LMS) pole światła LMS stanowiło 108% LA sumy jego bocznic, a u pacjentów Gr2 tylko 79%. Wyniki te dowodzą, że im mniejsze zmiany miażdżycowe w LMS, tym bardziej pole jego światła zbliżone jest do sumy pól światła jego bocznic. Co więcej, znalezienie różnicy pomiędzy wynikami dla Gr1 oraz Gr2 pozwala wyznaczać tzw. graniczną wartość pola światła LMS. Z tej analizy wynika, że nie powinna być ona większa od 79% sumy pól światła LAD oraz LCX. Przy założeniu, że minimalne dopuszczalne światło tych ostatnich naczyń ma wynosić 4 mm^2 , to graniczna wartość L_{Amin} dla LMS powinna być mniejsza lub równa $6,32 \text{ mm}^2$. Z tak wyliczoną wartością granicznego L_{Amin} dla LMS doskonale koresponduje koncepcja *Mintza* [25], który przyjmuje, iż istotna redukcja pola światła LMS ma miejsce w sytuacji, gdy będzie ono wynosiło poniżej 150% pola jednej z jej bocznic (lub 75% sumy pól LAD i LCX). Przy założeniu, że minimalne dopuszczalne światło bocznic wynosi 4 mm^2 , daje to wartość 6 mm^2 w LMS, a więc bardzo bliską do wartości granicznej L_{Amin} zaprezentowanej w materiale własnym, tj. $6,32 \text{ mm}^2$.

W oparciu o uzyskane w niniejszej pracy wyniki, propozycja *Mintza* [25] wydaje się być bardziej prawdopodobna. W prezentowanej rozprawie tylko u jednego chorego w miejscu zwężenia stwierdzono pole światła równe $5,70 \text{ mm}^2$, czyli spełniało ono kryterium istotności wg *Mintza* oraz *Nissena* i *Yocka*. Jednak pole światła w miejscu referencyjnym było równe $9,84 \text{ mm}^2$, natomiast średnica światła w miejscu zwężenia wynosi $2,85 \text{ mm}$, a w referencyjnym $4,95 \text{ mm}$, co stanowi jedynie 42% redukcję średnicy i pola jego światła. Te wartości świadczą, że nie było spełnione drugie kryterium *Nissana* i *Yocka* oraz *Mintza* wymagane dla kwalifikacji do

zabiegu rewaskularyzacji. Warto podkreślić, że szczegółowa analiza wymiarów pozostałych naczyń u tego pacjenta wykazała, że zarówno LAD, jak i LCX należały do tzw. małych naczyń, tj. o $LA < 4,0 \text{ mm}^2$ i $\%LS < 50\%$ w ocenie ICUS. Dowodzi to trudności w jednoznacznym ustaleniu wartości granicznej niezbędnej do oceny istotności zwężeń tętnic wieńcowych w oparciu o jedno proste kryterium.

Podobnie jak ocena stopnia zwężenia, tak i oszacowanie wielkości LMS nie jest łatwe, zwłaszcza jeśli możliwe jest wykorzystanie tylko badania angiograficznego. *Nissan* i *Yock* [18] uznali LMS za naczynie, w przypadku którego szczególnie może wystąpić angiograficzne niedoszacowanie jego prawdziwych wymiarów, tzn. uzyskanych w ICUS. *Moussa* i *wsp.* [36] wykazali także istotne różnice pomiędzy analogicznymi parametrami w proksymalnych segmentach LAD i LCX. Wyniki zawarte w materiale własnym wskazują, że w badaniu QCA wielkość analizowanej tętnicy jest zaniżona w porównaniu do ICUS. Ponadto różnice te nasilają się wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania procesu miażdżycowego w pniu głównym. W całej badanej populacji różnica ta wynosiła średnio 13%. Należy jednak podkreślić, że w Gr1 różnica ta tylko nieznacznie przekraczała 7%, a w Gr2 wynosiła już około 21%. Natomiast w proksymalnych segmentach LAD i LCX, czyli naczyniach mniejszych od LMS, QCA w porównaniu do ICUS jeszcze bardziej zaniża wielkość średnicy naczyń.

W pracy wykazano bardzo silną zależność pomiędzy średnicami referencyjnymi (RD vs VD w miejscu minimalnej blaszki). Te silne związki pomiędzy parametrami uzyskanymi obiema metodami skłoniły do postawienia pytania, czy znając wartości średnic referencyjnych dwóch z trzech naczyń (LMS, LAD, LCX), można wyliczyć brakujący parametr obrazujący wielkość naczyń. To pytanie wydaje się tym bardziej ważne, że u części chorych kierowanych na koronarografię występuje krytyczne lub całkowite zamknięcie w proksymalnym segmencie LAD lub LCX, co utrudnia wybór sposobu prowadzenia zabiegu PCI na tych tętnicach. Podobnie w oparciu o wymiary proksymalnych segmentów LAD i LCX byłoby korzystne precyzyjnie ustalić stopień zwężenia oraz wielkość LMS. Wyliczenie w takich sytuacjach „należnej” średnicy referencyjnej powinno wiązać się z właściwą kwalifikacją do zabiegu PCI oraz pozwalać na precyzyjne dobranie wielkości balonika angioplastycznego, co sprzyja jego optymalizacji, a tym samym zwiększa szansę pacjenta na uniknięcie procesu restenozy w leczonych segmentach naczyń wieńcowych. Przy założeniu, że wielkość średnicy LMS jest skorygowaną sumą średnic LAD i LCX, ułożono równania przedstawiające zależności między nimi. Z ich analizy wynika, że bardziej wiarygodne (większa istotność), jak i stosunkowo łatwiejsze jest obliczenie „należnej” średnicy referencyjnej LMS w oparciu o ICUS. Tak uzyskane wielkości bardzo dobrze korespondują z rzeczywistymi dzięki uwzględnieniu stopnia zaawansowania miażdżycy. Jednak należy podkreślić, że ułożone równania dla obu

metod diagnostycznych nie różniły się istotnie ($p < 0,05$). Na podstawie powyższych wyników można przyjąć, że angiograficzna średnica referencyjna LMS wynosi około 70% sumy średnic LAD i LCX. Przy założeniu, że te dwie ostatnie wartości nie różnią się między sobą, można przyjąć, iż angiograficzna średnica LMS równa się 140% średnicy jednej z bocznic (tej mniej zajętej przez miażdżycę). W oparciu o powyższe założenie średnica balonika angioplastycznego używanego do PCI w LMS powinna przekraczać o 40% wielkość średnicy jednej z bocznic. Oczywiście jest to podejście stosunkowo agresywne. Należy pamiętać, że wyliczone parametry mają charakter orientacyjny, na wartość których bardzo duży wpływ ma stopień zaawansowania miażdżycy (w tym proces remodelingu), stąd w każdej sytuacji należy indywidualizować decyzję, m.in. poprzez analizę wielkości drugiej z bocznic.

Wnioski

1. W lewej tętnicy wieńcowej u chorych z wielonaczyniową IHD obserwuje się sekwencyjność tworzenia się blaszki miażdżycowej. Ma to miejsce w proksymalnym odcinku LAD, a wraz z nasileniem stopnia zaawansowania procesu miażdżycowego kolejno w LMS, a następnie w LCX.

2. Parametrem najlepiej charakteryzującym blaszkę miażdżycową jest wskaźnik objętości blaszki, który poza objętością blaszki uwzględnia długość oraz średnicę analizowanego naczynia. Wartość PVI = 1,45 stanowi granicę pomiędzy nieistotnym a pośrednim stopniem zaawansowania procesu miażdżycowego w obrębie LMS.

3. Istnienie istotnego związku pomiędzy średnicami, polem proksymalnych odcinków LAD i LCX a LMS pozwala na wyliczenie należnej wielkości tego ostatniego naczynia. W przypadku niezmiennych angiograficznie proksymalnych odcinków lewej tętnicy wieńcowej, w badaniu ICUS pole światła LMS powinno być równe sumie pól światła jego bocznic. Natomiast w pośrednio zwężonym LMS jego pole powinno wynosić $> 75\%$ tej sumy.

4. Stwierdzenie w LMS LA $< 6,0 \text{ mm}^2$ przy jednoczesnej redukcji jego światła $> 50\%$ świadczy o spełnieniu kryteriów wymaganych dla kwalifikacji do zabiegu rewaskularyzacyjnego.

Piśmiennictwo

- Bergelson B.A., Tomnaso C.L.: Left main coronary artery disease: assessment, diagnosis and therapy. *Am. Heart J.* 1995, 129, 350–359.
- Alfonso F., Macaya C., Goicolea J. et al.: Intravascular ultrasound imaging of angiographically normal coronary segments in patients with coronary artery disease. *Am. Heart J.* 1994, 127, 536–544.
- Gil R., Gziut A.I., Kubica J.: Istotne zwężenie pnia lewej tętnicy wieńcowej – czy nadal jest wskazaniem do operacji kardiologicznej? *Folia Cardiol.* 2003, 10 (2), 119–126.
- Ge J., Erbel R.: The left main coronary artery. In: *Intravascular ultrasound*. Eds: R. Erbel, J.R.T.C. Roelandt, J. Ge, G. Gorge, Martin Dunitz 1998, 125–130.
- Boccalatte M., Mulvihill N.T., Fajadet J., Marco J.: Unprotected left main coronary artery stenting in 2003. In: *EuroPCR*, 2003, 155–172.
- Park S.J., Park S.W., Hong M.K. et al.: Stenting of unprotected left main coronary artery stenoses: immediate and late outcomes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998, 31, 37–42.
- Gerber T.C., Erbel R., Gorge G. et al.: Extent of atherosclerosis and remodeling of the left main coronary artery determined by intravascular ultrasound. *Am. J. Cardiol.* 1994, 73, 666–671.
- Ricciardi M.J., Meyers S., Choi K. et al.: Angiographically silent left main disease detected by intravascular ultrasound: a marker for future adverse cardiac events. *Am. Heart J.* 2003, 146, 507–512.
- Shiran A., Mintz G.S., Leiboff B. et al.: Serial volumetric intravascular ultrasound assessment of arterial remodeling in left main coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 1999, 83 (10), 1427–1432.
- Herrick J.: Clinical features of sudden obstruction of the coronary arteries. *JAMA*, 1912, 59, 2015–2020.
- Abizaid A.S., Mintz G.S., Abizaid A. et al.: One-year follow-up after intravascular ultrasound assessment of moderate left main coronary artery disease in patients with ambiguous angiograms. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999, 34, 707–715.
- Marso S.P., Steg G., Plokker T. et al.: Catheter-based reperfusion of unprotected left main stenosis during an acute myocardial infarction (the ULTIMA experience). *Am. J. Cardiol.* 1999, 83, 1513–1517.
- O'Keefe J.H. Jr, Hartzler G.O., Rutherford B.D. et al.: Left main coronary angioplasty: early and late results of 127 acute and elective procedures. *Am. J. Cardiol.* 1989, 64, 144–147.
- Taylor H.A., Deumite N.J., Chaitman B.R. et al.: Asymptomatic left main coronary disease in the Coronary Artery Surgery Study (CAAS) register. *Circulation*, 1989, 79, 1171.
- Takaro T., Peduzzi P., Detre K.M. et al.: Survival in subset of patients with left main coronary artery disease. Veterans Administration Cooperative Study of surgery for coronary arterial occlusion disease. *Circulation*, 1982, 66, 14–22.
- Doenges K., Schiele R., Taubert G. et al.: Intracoronary ultrasound of angiographically ambiguous left main coronary artery stenoses: safety and effect on further clinical decision making. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002, 39 (5), suppl. A, 1030–1033.
- Ge J., Liu F., Gorge G. et al.: Angiographically "silent" plaque in the left main coronary artery detected by intravascular ultrasound. *Coron. Artery Dis.* 1995, 6 (10), 805–810.
- Nissen S.E., Yock P.: Intravascular ultrasound. Novel pathophysiological insights and current clinical applications. *Circulation*, 2001, 103, 604–616.
- Hausmann D., Blessing E., Mugge A. et al.: Angiographically undetected plaque in the left main coronary artery. Findings of intravascular ultrasound imaging. *Int. J. Card. Imaging*, 1997, 13 (4), 293–299.
- Johnston P.W., Fort S., Cohen E.A.: Noncritical disease of the left main coronary artery: limitations of angiography and the role of intravascular ultrasound. *Can. J. Cardiol.* 1999, 15 (3), 297–302.
- Hermiller J.B., Buller C.E., Tenaglia A.N. et al.: Unrecognized left main coronary artery disease in patients undergoing interventional procedures. *Am. J. Cardiol.* 1993, 71, 173–176.
- Burke A.P., Kolodgie F.D., Farb A. et al.: Morphological predictors of arterial remodeling in coronary atherosclerosis. *Circulation*, 2002, 105, 297–303.
- Glagov S., Weisenberg E., Zarins B.A.C. et al.: Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1987, 316, 1371–1375.
- Radomski M., Kubica J., Gil R. et al.: Jak oceniać remodeling tętnic wieńcowych? Kryteria wyboru przekrojów referencyjnych. *Folia Cardiol.* 2001, 8, 181–195.
- Mintz G.S.: Intravascular ultrasound imaging: practical considerations. In: *Euro-PCR*, 2002, 9–37.

26. Nissen S.E., Yock P.: Intravascular ultrasound. Novel pathophysiological insights and current clinical applications. *Circulation*, 2001, 103, 604–616.
27. Kubica J.: Przydatność ultrasonografii wewnątrznaczyniowej w kardiologii inwazyjnej. Porównanie z badaniem angiograficznym. *Via Medica*, Gdańsk 1998.
28. Di Mario C., Gorge G., Peters R. et al.: on behalf of the study group on Intracoronary Imaging of the working group of coronary circulation and of the subgroup on intravascular ultrasound of the working group of echocardiography of the european society of cardiology. Clinical application and image interpretation in intravascular ultrasound. *Eur. Heart J.* 1998, 19, 207–229.
29. American College of Cardiology, American Heart Association. Guidelines for coronary angiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Coronary Angiography) Development in collaboration with the Society for Cardiac Angiography and Interventions. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999, 33, 1797–1799.
30. Shah V.T., Ge J., Ashry M., Erbel R.: Distribution of atherosclerosis. In: *Intravascular ultrasound*. Eds: R. Erbel, J.R.T.C. Roelandt, J. Ge, G. Gorge. Martin Dunitz, 1998, 81–89.
31. Nissen S.E.: Coronary angiography and intravascular ultrasound. *Am. J. Cardiol.* 2001, 87 Supp. 15A–20A.
32. Takahashi T., Honda Y., Russo R.J., Fitzgerald P.J.: Intravascular ultrasound and quantitative coronary angiography. *Cathet Cardiovasc. Interv.* 2002, 55, 118–128.
33. Frangos S.G., Gahtan V., Sumpio B.: Localization of atherosclerosis. Role of hemodynamics. *Arch. Surg.* 1993, 134, 1142–1149.
34. Kimura B.J., Russo R.J., Bhargava V. et al.: Atheroma morphology and distribution in proximal left anterior descending coronary artery: in vivo observations. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996, 27 (4), 825–831.
35. Balghith M.A., Schoenhagen P., Foody A.M. et al.: Atherosclerotic plaque distribution in the left anterior descending coronary artery as assessed by intravascular ultrasound. *Am. J. Cardiol.* 2003, 91, 443–445.
36. Moussa I., Kobayashi Y., Adanian M. et al.: Characteristics of patients with a large discrepancy in coronary artery diameter between quantitative angiography and intravascular ultrasound. *Am. J. Cardiol.* 2001, 88, 294–296.

Komentarz

Zwężenie głównego pnia lewej tętnicy wieńcowej (*left main* – LM) stanowi wyzwanie dla kardiologów: klinicystów, bo zamknięcie LM stanowi olbrzymie zagrożenie dla życia – wszak około 80% lewej komory serca jest zaopatrywanych przez lewą tętnicę wieńcową, kardiologów inwazyjnych, bo „pień jest trudny”.

Diagnostycznie: w koronarografii ilościowej często nie dostrzegamy wielkości naczynia, wewnątrzwieńcowe badanie ultrasonograficzne jest drogie, wymaga dodatkowych umiejętności od operatora, a przede wszystkim wydłuża procedurę diagnostyczną, badanie cząstkowej rezerwy przepływu, tak rekomendowane dla zwężeń pośrednich, czyli z granicznymi zwężeniami (w pniu 30–50%, w innych naczyniach 50–70%), akurat dla pnia jest praktycznie nieużyteczne.

Wykonanie procedury poszerzenia pnia nie jest łatwe i wymaga dużego doświadczenia operatora.

Dodatkowo LM jest w dalszym ciągu, mimo postępu technik inwazyjnych, „przedmiotem działań” raczej kardiologów niż kardiologów inwazyjnych.

Ultrasonograficzne badanie wewnątrzwieńcowe (IVUS) pozwoliło na poczynienie wielu spostrzeżeń istotnych dla lepszej diagnostyki i interwencyjnego leczenia głównego pnia lewej tętnicy wieńcowej.

Z badań anatomopatologicznych wiadomo, że włókna elastyczne ściany aorty w różnym stopniu spotykane są w ścianie LM, często przechodzą aż do początkowych odcinków tętnicy międzykomorowej przedniej. Stąd zastosowanie stentów zapobiegających przemykaniu się naczynia tuż po zabiegu (zjawisko *elastic recoil*) jest istotne w tym odcinku naczyń wieńcowych. Odejście pnia od zatoki wieńcowej pod większym lub mniejszym kątem sprzyja niejednorodności przepływu strumienia krwi i powoduje często niecentryczne występowanie blaszki miażdżycowej w początkowym odcinku LM. Podobny mechanizm jest odpowiedzialny za stwarzanie sprzyjających warunków do tworzenia się zmian miażdżycowych, przede wszystkim na rozwidleniu, głównie w początkowym odcinku tętnicy międzykomorowej przedniej.

Również charakterystyka zwężeń w zależności od lokalizacji blaszki w pniu jest różna. Zwężenia umiejscowione w ujściu są mniejszego stopnia, są mniej zwapniałe i częściej niż dla zwężeń umiejscowionych w połowie i w dystalnej jego części stwierdza się negatywny remodeling naczynia. Złą korelację między pomiarami LM za pomocą IVUS a angiografią ilościową, podobnie jak autorka komentowanej pracy, wykazali wcześniej inni badacze. W badaniach Moehara i wsp. średnica referencyjna LM (84 badanych) wynosiła $3,9 \pm 0,8$ mm, a długość $9,5 \pm 4,7$ mm.

Brak jest powszechnie akceptowanych ultrasonograficznych kryteriów granicznych, określających istotność zwężenia LM. Według Nissena i wsp. zwężenie istotne w badaniu IVUS to pole światła < 9 mm² lub zwężenie pola powierzchni światła powyżej 50%, wg Mintza i wsp. zwężenie istotne LM to pole powierzchni światła naczynia $< 6,0$ mm² lub redukcja średnicy światła naczynia $> 50\%$ w porównaniu do odcinka referencyjnego. Ostatni wniosek autorki komentowanej pracy jest zgodny z kryteriami Mintza.

Przez długie lata zwężenie głównego pnia lewej tętnicy wieńcowej było zastrzeżone dla postępowania kardiochirurgicznego. Wprowadzenie do kardiologii inwazyjnej stentów spowodowało, że w szeregu przypadków w pracowniach inwazyjnych wykonywany jest zabieg poszerzenia LM, zwłaszcza gdy pacjent z powodu dużego ryzyka operacyjnego jest dyskwalifikowany przez kardiochirurgów. Do 2004 roku zalecenia co do interwencji na pniu głównym bez protekcji (bez wcześniej wykonanego by-passu wieńcowego) mieściły się w klasie III B wg standardów amerykańskich ACC/AHA (American College of Cardiology/American Heart Association). W 2004 roku przeszły do klasy IIb C. W 2005 roku Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne opracowało najnowsze standardy obowiązujące obecnie również w Polsce. Zabieg na pniu głównym pozostaje nadal domeną kardiochirurgów. Chociaż 2% śmiertelność okołozabiegowa i 95% przeżywalność roczna po zabiegu interwencyjnym u chorych, u których wcześniej wykonano

CABG, jest wynikiem akceptowanym, zwłaszcza, że dotyczy chorych, u których wykonanie ponownego zabiegu kardiochirurgicznego na naczyniach wieńcowych związane byłoby z dużym ryzykiem.

Według obowiązujących standardów europejskich stenowanie pnia głównego bez protekcji jest dopuszczalne tylko wtedy, gdy nie ma innej opcji terapeutycznej. Ale jeżeli ryzyko by-passu jest wg EuroSCORE > 10%, wówczas interwencja kardiologa inwazyjnego jest opcją mieszczącą się w rekomendacjach takich samych, jak amerykańskie, tj. IIb C.

Do grupy dużego ryzyka zalicza się pacjentów w wieku > 75 lat, po wcześniejszym zabiegu CABG, z frakcją wyrzutową < 35%, niewydolnością nerek, pacjentów niebędących kandydatami do CABG z innych powodów, np. choroby nowotworowej, ale również na wyraźne życzenie chorego.

Mimo tych ograniczeń u wielu pacjentów wykonano zabieg interwencyjny na pniu głównym również w grupach małego ryzyka (wiek < 75 lat, frakcja wyrzutowa > 40% i średnica referencyjna > 3,6 mm) uzyskując bardzo dobry wynik – śmiertelność okołoszpitalna 0–2%. U pacjentów z grupy wysokiego ryzyka kardiochirurgicznego wynosiła ona 6–13%.

Czytelnika zainteresowanego szczegółowo tymi wynikami odsyłam do rejestru ULTIMA (Unprotected Left Main Trunk Intervention Multi – Center Assessment), prac Parka i wsp., Takagi i wsp., Lezo i wsp., rejestru Lefèvre i wsp. czy Chieffo i wsp.

Restenoza jest znanym ograniczeniem zabiegów interwencyjnych na naczyniach wieńcowych. Dotyczy ona również głównego pnia lewej tętnicy wieńcowej. Nie trudno sobie wyobrazić, że restenoza w tym miejscu może wiązać się z dysfunkcją bardzo dużego obszaru lewej komory i być dużym zagrożeniem wystąpienia nagłej śmierci sercowej. W opublikowanych dotychczas pracach wystąpiła w 9,5–34%.

W rejestrze krajów Azji wystąpiła u 21,1% chorych poddanych zabiegowi. Jedynym jej predyktorem w tym badaniu był wymiar referencyjny głównego pnia. W obserwacji De Lezo i wsp. czynnikami predysponującymi do wystąpienia restenozy, którą potwierdzono w 9-miesięcznej obserwacji kontrolną koronarografią, w 34% były: niewielki wymiar referencyjny naczynia (średnio < 3,6 mm), umiejscowienie

blaszki miażdżycowej w miejscu podziału i konieczność zastosowania długiego stentu.

Dodatkowo w obserwacji Parka i wsp. również sposób wykonania zabiegu był nie bez znaczenia dla wystąpienia restenozy. Wcześniejsze poszerzenie naczynia balonem, a dopiero potem założenie stentu ma duże znaczenie dla poprawienia wyniku zabiegu, zwłaszcza w pniu o małej średnicy (13% vs 40% w naczyniu < 3,6 mm średnicy).

Czy wprowadzenie stentów pokrywanych lekami zmniejszającymi odczyn na stent rozwiązało problem restenozy? Liczba chorych, których poddano tego rodzaju zabiegowi jest jeszcze niedostateczna. I mimo że wyniki są zachęcające zwłaszcza we wczesnym okresie po zabiegu, to możliwość wystąpienia późnej zakrzepicy w tak ważnym strategicznie miejscu nie jest bez znaczenia.

Wstępne wyniki badania LEMANS (Prospective Randomized Trial of Stent Implantation Versus Bypass Graft Surgery in Patients With Left Main Coronary Disease) dla zrandomizowanych 105 pacjentów, na razie ze zbyt krótkim czasem obserwacji, wskazują na podobne wyniki w grupie leczonych przez kardiochirurgów i kardiologów inwazyjnych. Podobne, roczne wyniki obserwacji uzyskał Chieffo i wsp. w jednoośrodkowym badaniu z Mediolanu ogłoszonym w tym roku w renomowanym *Circulation*.

Wszystkie badania potwierdzają to, jak niezwykle istotna jest właściwa ocena wymiaru referencyjnego, wielkości blaszki i jej redystrybucji. Stąd badania, tak jak Autorki, są niezwykle istotne dla „kliniki”.

Być może w przyszłości stosowanie innych technik (tomografii wielorzędowej, zmodyfikowanych technik ultrasonograficznych itd.) pozwoli na jeszcze dokładniejszą a mniej inwazyjną metodę oceny przebiegu LM, morfologii blaszki, jej znaczenia jako bariery mechanicznej dla przepływu, ale również stadium metabolicznego i ewentualnego zagrożenia pęknięciem. Chociaż akurat w przypadku zwężenia pnia głównego, przy nieprzewidywalności ewentualnego pęknięcia blaszki miażdżycowej, to i tak w momencie stwierdzenia istotnego zwężenia należy wykonać zabieg przywrócenia pełnej drożności naczynia. Stąd lepsze poznanie zjawisk zachodzących w tym odcinku drzewa wieńcowego jest niezwykle istotne i badania, które się do tego przyczyniają, mają niezaprzeczalną wartość.

prof. dr hab. n. med. *Zdzisława Kornacewicz-Jach*

AGNIESZKA KORDEK, LIDIA KOŁODZIEJCZYK¹, BEATA PAWLUS,
BEATA ŁONIEWSKA, WANDA KUŻNA-GRYGIEL¹, JACEK RUDNICKI

PNEUMOCYSTOZA NOWORODKÓW – AKTUALNE WYZWANIE W INTENSYWNEJ TERAPII

PNEUMOCYSTIS PNEUMONIA IN NEWBORNS: A CHALLENGE IN CONTEMPORARY INTENSIVE CARE

Katedra Położnictwa, Ginekologii i Neonatologii Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Ryszard Czajka*

¹Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

Kierownik: dr hab. n. med. *Wanda Kuźna-Grygiel*

Summary

Pneumocystis jiroveci (*P. jiroveci*) is the etiological agent of pneumocystis pneumonia (PCP) in immunodeficient patients. The increased interest of clinicians in this particular pathogen during the past decade was prompted by rising numbers of patients with immunosuppression caused by AIDS, chemotherapy, or organ transplantation. Premature, seriously ill infants at intensive care units constitute a potential risk group for infection with *P. jiroveci*. Recent advances in medical sciences, owing mainly to developments in molecular biology, permitted the verification of the taxonomic position of pathogens and contributed to a better understanding of new aspects of pathophysiology and pathogenesis of PCP. It has been demonstrated that the genus *Pneumocystis* represents a heterogeneous group of opportunistic fungi exhibiting narrow host specificity. *Pneumocystis jiroveci* is the species which is specific for humans. The present paper outlines the clinical symptoms of PCP in infants, currently used diagnostic methods, and treatment procedures in PCP.

Key words: *Pneumocystis jiroveci* – pneumocystosis pneumonia – newborn.

Streszczenie

Pneumocystis jiroveci (*P. jiroveci*) jest czynnikiem etiologicznym pnemocystozowego zapalenia płuc (PZP)

u pacjentów z niedoborami immunologicznymi. Wzrost zainteresowania klinicystów tym patogenem w ostatniej dekadzie związany jest ze zwiększeniem się liczby chorych z immunosupresją w następstwie AIDS, chemioterapii i transplantacji narządów. Niedojrzałe, ciężko chore noworodki w oddziałach intensywnej terapii są potencjalną grupą ryzyka narażoną na zarażenie *P. jiroveci*. Postęp badań w ostatnich latach, głównie dzięki udoskonaleniu metod biologii molekularnej, pozwolił na weryfikację przynależności systematycznej, a także przyczynił się do poznania nowych aspektów patofizjologii i patogenyzy PZP.

Wykazano, że rodzaj *Pneumocystis* reprezentuje heterogenną grupę oportunistycznych grzybów odznaczających się wysoką specyficnością żywicielską, wśród której *P. jiroveci* jest gatunkiem specyficznym dla człowieka. W artykule przedstawiono charakterystykę objawów klinicznych PZP u noworodków, jak również przegląd aktualnie stosowanych metod diagnostycznych oraz metod leczenia PZP.

H a s ł a: *Pneumocystis jiroveci* – pneumocystozowe zapalenie płuc – noworodek.

Wstęp

Pneumocystis jiroveci, do niedawna znany jako *Pneumocystis carinii forma specialis hominis*, jest atypowym grzybem, wywołującym pneumocystozowe zapalenie płuc – PZP (*pneumocystis pneumonia* – PCP) u pacjentów z nie-

doborami immunologicznymi. Gwałtowny wzrost zainteresowania tym patogenem w ostatnich latach wiąże się ze zwiększoną liczbą chorych o upośledzonej odporności (AIDS, chemioterapia, transplantacja) [1, 2, 3, 4, 5].

Trwający około dwóch tygodni cykl życiowy pasożyta, który rozwija się w pęcherzykach płucnych, nie jest dotychczas dobrze poznany. Zapoczątkowuje go adhezja do komórek żywiciela, przy czym patogen wykazuje szczególne powinowactwo do pneumocytów typu 1. W rozwoju *Pneumocystis* opisano 3 główne formy rozwojowe: trofozoity, precysty i cysty. Haploidalne trofozoity rozmnażają się przez podział. W wyniku ich koniugacji powstają diploidalne trofozoity, które po mejozie (rozmnażanie płciowe) tworzą cysty z 8 sporozoitami zwanymi ciałkami wewnątrzcytowymi. Pośrednie formy – precysty zawierają 2 lub 4 ciałka wewnątrzcytowe.

Aktualnie w związku z reklasyfikacją *P. jiroveci* do królestwa grzybów, zaleca się stosowanie terminologii mikologicznej [6], zgodnie z którą cysty odpowiadają workom (*asci*), a ciałkom śródcystowym – spory.

Pozycja taksonomiczna

Stanowisko taksonomiczne *Pneumocystis carinii* (*P. carinii*) od początku wzbudzało liczne kontrowersje. Po raz pierwszy *P. carinii* opisał w 1909 r. Chagas jako formę morfologiczną *Trypanosoma cruzii* [7]. W latach pięćdziesiątych XX w. Vanek i Jirovec [8] zwrócili uwagę na obecność tego patogenu w płynie pobranym z pęcherzyków płucnych, jako czynnika etiologicznego zapalenia płuc u wcześniaków i niedożywionych niemowląt. Ivady i Paldy [9] opisali skuteczność leczenia pneumocystozy izotiozatem pentamidyny. Do późnych lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku *Pneumocystis* zaliczano do pierwotniaków, m. in. ze względu na występowanie cech morfologicznych charakterystycznych dla Protozoa, a także na wrażliwość na leki przeciwprzywrotniakiowe [10]. Zasadniczy przełom nastąpił dzięki zastosowaniu metod biologii molekularnej w latach osiemdziesiątych ubiegłego stulecia, kiedy reklasyfikowano *Pneumocystis* do królestwa grzybów, m.in. na podstawie homologii rRNA i mitochondrialnego DNA *P. carinii* i gatunków grzybów z klasy workowców (*Ascomycetes*), a także innych cech charakterystycznych dla grzybów, jak: lamellarna budowa grzebieni mitochondrialnych, obecność 1,3- β -glukanu i chityny w ścianie komórkowej czy obecność czynnika EF 3 (*elongation factor 3*) [11]. Cechą specyficzną dla *Pneumocystis* jest obecność cholesterolu i brak ergosterolu w ścianie cyst [12].

Późniejsze badania wykazały różnice fenotypowe, a przede wszystkim genotypowe między izolatami *Pneumocystis* pochodzącymi od różnych żywicieli. Frenkel już w 1976 r. na podstawie różnic fenotypowych zaproponował nazwę *P. jiroveci* dla gatunku wyizolowanego od ludzi lecz nazwa ta nie uzyskała w tym czasie akceptacji [13]. Nowa nazwa *P. jiroveci* pojawiła się dopiero w 1999 r. (na

część czeskiego parazytologa Otto Jiroveca, który opisał ten mikroorganizm u ludzi) [1, 10].

Dzięki badaniom z zastosowaniem technik molekularnych wykazano, że rodzaj *Pneumocystis* reprezentuje heterogenną grupę oportunistycznych grzybów odznaczających się wysoką specyficznością żywicieli, a polimorfizm sekwencji DNA izolatów *P. jiroveci* sugeruje występowanie licznych szczepów w obrębie tego gatunku [10, 14, 15].

Patogeneza i epidemiologia pneumocystozowego zapalenia płuc u noworodków

Ciężko chore, niedojrzałe noworodki, z upośledzoną odpowiedzią immunologiczną [16], należą do grupy wysokiego ryzyka pneumocystozy. U zdrowych noworodków po urodzeniu ilość makrofagów w pęcherzykach płucnych gwałtownie się zwiększa. Natomiast u dzieci, u których rozwija się zespół zaburzeń oddychania związany, m.in. z niedoborem surfaktantu, ilość makrofagów w układzie oddechowym jest bardzo mała [17]. Monocyty i makrofagi u noworodków wykazują mniejszą niż u dorosłych zdolność fagocytozy, chemotaksji i opsonizacji [18]. Niedojrzałość limfogenezy u noworodków wiąże się ze zmniejszeniem niektórych subpopulacji limfocytów. Istotną rolę w obronie żywiciela przed inwazją pasożyta odgrywają limfocyty CD4⁺; spadek ich liczby poniżej 200/mm³ predysponuje do rozwoju pneumocystozy [19].

Znaczne różnice dotyczą również odporności humoralnej. Niskie stężenie immunoglobulin klasy G (IgG) występujące u wszystkich noworodków, zależne od funkcjonowania stymulowanych limfocytów B, sprzyja proliferacji tego mikroorganizmu wewnątrz pęcherzyków płucnych [18, 20]. Z kolei niedobór składników dopełniacza, powodujący zaburzenia ich wiązania się z kompleksem immunoglobulina-drobnoustrój, utrudnia eliminację pasożyta.

Badania w mikroskopie elektronowym pozwoliły prześledzić zmiany komórkowe wywołane przez *Pneumocystis*. Trofozoity wykazują powinowactwo do pneumocytów typu 1, powodując początkowo zwiększenie przepuszczalności bariery pęcherzykowo-łośniczkowej. Drobnoustroje są obecne pod śródbłonkiem naczyń włosowatych lub w tkance śródmiąższowej płuc [18]. W świetle pęcherzyków płucnych widoczny jest pienisty, kwasochłonny wysięk, z licznymi trofozoitami i cystami *Pneumocystis* oraz fragmentami błon komórkowych pęcherzyków płucnych. Zanik pneumocytów typu 1 ułatwia przenikanie włóknika i innych białek surowicy do światła pęcherzyków. Zmianom tym towarzyszą nacieki limfocytów i komórek plazmatycznych, grubienie i włóknienie przegród międzypęcherzykowych oraz hipertrofia pneumocytów typu 2. W konsekwencji dochodzi do upośledzenia wymiany gazowej, hipoksemii, alkalozji i redukcji powierzchni dyfuzyjnej płuc [11]. Wakefield i wsp. [21] wykazali w obecności *Pneumocystis* tworzenie ziarniników otoczonych palisadą komórek histiocytarnych. Fibronektyna i białka surfaktantu wiążą się z pasożytem,

ułatwiają jego wiązanie się z makrofagami płucnymi, które wydzielają większą ilość elastazy niszczącej włókna elastyczne przegród pęcherzykowych. Te zmiany prowadzą do rozwoju śródmiąższowego zapalenia płuc, charakterystycznego dla zarażenia *Pneumocystis*. Rozwojowi PZP sprzyjają zmiany w składzie i ilości surfaktantu [18, 22].

Drogi infekcji *Pneumocystis* nie są ostatecznie wyjaśnione. Wiadomo, że patogen ten jest szeroko rozpowszechniony w środowisku, ale jego naturalny rezerwuar pozostaje nadal nieznany [18]. Badania *Durand-Joly i wsp.* [23] dowodzą, że ludzie nie mogą zarazić się pneumocystozą od zwierząt.

Możliwa jest długotrwała kolonizacja *Pneumocystis* u immunokompetentnych żywicieli i pomimo wykrywania DNA *Pneumocystis* w powietrzu, najbardziej prawdopodobną drogą zarażenia pozostaje transmisja między ludźmi [10]. Objawowa infekcja u dorosłych może być wynikiem kolonizacji różnymi genetycznie szczepami *Pneumocystis* od okresu niemowlęctwa lub wczesnego dzieciństwa [24, 25]. Z kolei *Vargas i wsp.* [26] sugerują, że PZP rozwija się na skutek nowej inwazji, ponieważ *Pneumocystis* nie posiada zdolności trwałej kolonizacji dróg oddechowych. Do zarażenia dochodzi drogą kropelkową. Sprzeczne są informacje na temat konieczności izolacji chorych.

W piśmiennictwie dostępne są doniesienia o istnieniu rezerwuaru tego patogenu u zdrowych ludzi i przenoszeniu zarażenia z człowieka na człowieka [27, 28]. DNA *Pneumocystis* wykrywano w wydzielinie nosowogardłowej zdrowych niemowląt [26]. Również badania *Chabé i wsp.* [29] wykazały, że *Pneumocystis* ma zdolność do namnażania się w płucach immunokompetentnego żywiciela, co wskazuje na możliwość przenoszenia tego patogenu między zdrowym personelem medycznym a pacjentami [30, 31]. Sporadyczne przypadki pozapłucnych ognisk zarażenia *Pneumocystis* (w wątrobie, w węzłach chłonnych, mięśniach i wyjątkowo rzadko w nerkach, w grasicy, w trzustce, w gałkach ocznych, w uchu środkowym) odnotowano u terminalnie chorych z AIDS [32, 33, 34].

W oddziałach intensywnej terapii noworodków zarażenia *Pneumocystis* mogą mieć charakter epidemiczny, a także mogą występować sporadycznie u dzieci z pierwotnymi i wtórnymi niedoborami odporności [35, 36, 37, 38]. Jedynie nieliczne doniesienia dotyczą pneumocystozy u niemowląt bez współistniejącego zakażenia wirusem HIV [4, 39, 40, 41, 42].

Objawy kliniczne pneumocystozowego zapalenia płuc u noworodków

Kliniczne objawy pneumocystozy u noworodków występują zazwyczaj między 3. a 5. tygodniem życia [43, 44]. W badaniach *Kordek i wsp.* [45] obserwowano pojedyncze przypadki klinicznie jawnego zarażenia, potwierdzonego badaniem mikroskopowym, już po kilku dobach życia u noworodków o małej urodzeniowej masie ciała, które były wentylowane mechanicznie od urodzenia. Na wcze-

sne wystąpienie PZP mogły mieć wpływ, oprócz ciężkiego ogólnego stanu dzieci i ich niedojrzałości, także takie przyczyny jatrogenne, jak: długotrwała mechaniczna wentylacja, antybiotyko- i steroidoterapia. Pierwszymi sygnałami rozwoju zarażenia *Pneumocystis* u noworodków są bezdechy [26, 40]. *Kordek i wsp.* [45] opisują spadki saturacji rejestrowane przez pulsoksymetr, bez zwolnienia akcji serca, występujące samoistnie lub przy wykonywaniu czynności pielęgnacyjnych. Pneumocystoza u wszystkich pacjentów pogarsza ich wydolność oddechową. Noworodki przedwcześnie urodzone, pozostające do chwili zachorowania na oddechu własnym, zazwyczaj w wyniku zarażenia *P. jiroveci* wymagają wsparcia oddechowego typu CPAP (stałe dodatnie ciśnienie w drogach oddechowych) lub IMV (przerwana mechaniczna wentylacja). U wentylowanych noworodków obserwuje się konieczność zwiększania parametrów respiratora oraz wzrost zapotrzebowania na tlen. Najbardziej charakterystycznym objawem jest znaczna ilość pianistej śluzowej wydzieliny zalegającej w drogach oddechowych [18, 45]. U pacjentów pozostających na oddechu własnym wiąże się to z intensywnym odkrztuszaniem, a u wentylowanych – z koniecznością częstszego odsłuzowywania. Znaczna ilość pianistej wydzieliny w drogach oddechowych jest wynikiem hipertrofii i proliferacji komórek pęcherzykowych typu 2, infiltracji makrofagów i eozynofili do światła pęcherzyków [25]. Opisywano krwawienie z dróg oddechowych o różnym stopniu nasilenia [45]. Równocześnie występuje zmiana kolorytu powłok skórnych. Najczęściej obserwuje się szarość lub błądź pomimo prawidłowych wartości morfologii krwi, saturacji i ciśnienia parcjalnego tlenu (paO₂) w badaniach gazometrycznych krwi tętniczej. Często występującymi objawami pozapłucnymi są: biegunki, utrata masy ciała, ulewianie, zaleganie treści pokarmowej w żołądku, wzdęcie brzucha [22], nasilenie się lub wystąpienie drgawek [45]. *Vargas i wsp.* [46] podają, że infekcja *Pneumocystis* może być odpowiedzialna za nagły zgon łóżeczkowy.

Rutynowo oznaczane wykładniki zarażenia *Pneumocystis* w badaniach dodatkowych (bezwzględna liczba leukocytów, limfocytów, granulocytów obojętnochłonnych oraz płytek krwi, wskaźnik leukocyтары) pozostają bez odchyień [18, 45].

Przydatne w rozpoznaniu pneumocystozowego zapalenia płuc jest stwierdzenie zmian śródmiąższowych w badaniu radiologicznym. We wczesnym okresie choroby obraz radiologiczny nie jest charakterystyczny, a do najczęściej opisywanych zmian należą: zmniejszenie przejrzystości tkanki płucnej, gorsze jej upowietrzenie, okołonękowe zagęszczenia zapalne, rozedma śródmiąższowa oraz rozdęcie obwodowych partii płuc. W stanach zaawansowanej choroby mogą występować zmiany pod postacią wielogniskowego zapalenia płuc. Widoczne są wówczas pasmowate zagęszczenia rozchodzące się od okolic przywnękowych lub przykręgosłupowych, najczęściej z towarzyszącym rozdęciem obwodowych partii płuc. Późny okres choroby charakteryzuje niedodma płatowa lub segmentowa [18, 19].

Diagnostyka

Diagnostyka laboratoryjna zapalenia płuc u ludzi o pneumocystozowej etiologii ograniczona jest brakiem zdolności namnażania pasożyta w warunkach *in vitro*. Materiałem do badań w kierunku pneumocystozy mogą być: biopłaty płuc, popłuczyny oskrzelikowo-pecherzykowe (*bronchoalveolar lavage* – BAL), popłuczyny z drzewa oskrzelowego, płwocina wykrztuszana w sposób wymuszony lub spontanicznie, wymaz spod nagłośni, rzadziej surowica krwi [2, 3, 47, 48, 49]. Do metod pozwalających wykryć obecność *Pneumocystis* w materiale uzyskanym bezpośrednio od chorego należą: metody barwienia (Giemsy, srebrzenia Gomoriego–Grocotta), metody wykrywania antygenów (przy użyciu znakowanych przeciwciał monoklonalnych) oraz metody genetyczne PCR (*polymerase chain reaction*).

Badania immunoserologiczne pozwalają na wykrycie specyficznych przeciwciał anti-*P. jiroveci* lub krążących antygenów pasożyta. Wiarygodność rozpoznania pneumocystozy zależy od rodzaju badanego materiału biologicznego, jak również czułości i swoistości stosowanych metod [50]. Pomimo znaczącego postępu w stosowanych technikach, zwłaszcza molekularnych, brak jest nadal metody w pełni skutecznej i jednoznacznej [51, 52]. Pobranie do badań diagnostycznych bronchoaspiratu, który przez wielu jest uznany za materiał z wyboru w diagnostyce PZP [3] wymaga inwazyjnej procedury intubacji, która nie zawsze jest możliwa do wykonania.

Wielkie nadzieje wiąże się z metodami molekularnymi, czyli wykrywaniem DNA *Pneumocystis* w pobranym materiale metodami *single* i *nested* PCR. Chociaż z drugiej strony *Sing i wsp.* [3] powołują się na 27 publikacji porównujących tradycyjne metody mikroskopowe i PCR w diagnostyce PZP w popłuczynach pęcherzykowo-oskrzelowych, które nie potwierdziły znaczącej przewagi metod genetycznych. Autorzy ci wykazali, że nawet u pacjentów HIV-dodatnich, ważniejszym dla szybkiego rozpoznania PZP jest czas pobrania próbki, jej ilość i jakość, aniżeli zastępowanie konwencjonalnych metod mikroskopowych metodami molekularnymi. Uważa się, że mała liczba osobników *P. jiroveci* kolonizujących płuca stwarza poważne trudności w diagnostyce molekularnej [30]. Ponadto trzeba podkreślić, że poszczególne gatunki *Pneumocystis* wykazują silną specyficzność żywicielską. Gatunkiem zarażającym człowieka jest *P. jiroveci*, jeszcze do niedawna uważany za szczep *P. carinii* [10, 15].

W diagnostyce pneumocystozy wykorzystywane są również metody immunoserologiczne. Wykonanie tych badań nie nastęrcza trudności, natomiast interpretacja wyników jest niezwykle trudna. Jak wiadomo, czynne zarażenie jest związane z obecnością przeciwciał klasy M (*immunoglobulin M* – IgM), a wcześniejszy kontakt z antygenem *Pneumocystis* z obecnością przeciwciał klasy G (*immunoglobulin G* – IgG). Jednak sekwencja pojawiania się przeciwciał w surowicy i miano ich narastania, zależą od stopnia dojrz-

łości i sprawności układu immunologicznego. Przeciwciała IgG obecne u noworodków i niemowląt mogą pochodzić od matki. Ponadto ich obecność działa supresyjnie na produkcję własnych przeciwciał przez noworodka. W badaniach *Witwickiego* i *Dobrzańskiej* nie udało się wykazać swoistych dla *Pneumocystis* przeciwciał w klasie IgM u noworodków z PZP, pojawiały się one natomiast w związku z objawami rozsianej fungemii [18].

Leczenie

Pneumocystozowe zapalenie płuc nie poddaje się klasycznej terapii przeciwgrzybiczej czy antybiotykowej [18]. W leczeniu przyczynowym najczęściej stosuje się kotrimoksazol, pentamidynę lub skojarzenie obu tych leków [4]. *Jules-Elysee i wsp.* [53] oraz *Dautzenberg i wsp.* [54] opisują dobre efekty stosowania pentamidyny w nebulizacji. W badaniach *Berringtona i wsp.* [2] monoterapia kotrimoksazolem była skuteczna u wszystkich 50 leczonych niemowląt z pierwotnym niedoborem odporności. Ponieważ PZP jest poważnym powikłaniem u ciężko chorych pacjentów, związanym ze znaczną śmiertelnością, ważna jest identyfikacja grup wysokiego ryzyka zachorowania w populacji, celem stosowania odpowiedniej profilaktyki [42]. W badaniach *Grimwade* i *Swingler* [5] oraz *Madhi i wsp.* [4] kotrimoksazol okazał się nieskuteczny w profilaktyce PZP u pacjentów HIV-dodatnich lub u dzieci, których matki były HIV-dodatnie.

Kotrimoksazol w leczeniu stosuje się jako lek pierwszego rzutu w dawce 50–80 mg/kg masy ciała/dobę dożylnie w dwóch dawkach podzielonych. Kuracja trwa zwykle 10–14 dni i wymaga kontrolowania obrazu krwi oraz diurezy. Pentamidynę w dawce 4 mg/kg masy ciała/dobę podaje się dożylnie raz dziennie. Przy zachowaniu zalecanych dawek zazwyczaj nie obserwuje się objawów ubocznych stosowania leków. W leczeniu objawowym wykorzystuje się mukolityki i zabiegi fizjoterapeutyczne ułatwiające ewakuację wydzieliny, tlenoterapię, leki poprawiające wydolność układu krążenia, wyrównywanie zaburzeń elektrolitowych i równowagi kwasowo-zasadowej oraz niedoborów białkowych i kalorycznych [18].

Piśmiennictwo

1. *Frenkel J.K.*: *Pneumocystis jiroveci* n. sp. from man: morphology, physiology, and immunology in relation to pathology. *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 1976, 43, 13–30.
2. *Berrington J.E., Flood T.J., Abinun M., Galloway A., Cant A.J.*: Unsuspected *Pneumocystis carinii* pneumonia at presentation of severe primary immunodeficiency. *Arch. Dis. Child.* 2000, 82, 144–147.
3. *Sing A., Trebesius K., Roggenkamp A., Ruesmann H., Tybus K., Pfaff F. et al.*: Evaluation of diagnostic value and epidemiological implications of PCR for *Pneumocystis carinii* in different immunosuppressed and immunocompetent patient groups. *J. Clin. Mikrobiol.* 2000, 38, 1461–1467.

4. Madhi S.A., Cutland C., Ismail K., O'Reilly C., Mancha A., Klugman K.P.: Ineffectiveness of Trimethoprim-Sulfamethoxazole prophylaxis and the importance of bacterial and viral coinfections in African children with *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Clin. Inf. Dis.* 2002, 35, 1120–1126.
5. Grimwade K., Swingler G.: Cotrimoxazole prophylaxis for opportunistic infections in children with HIV infection. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2003, 2, CD003508.
6. Schuh J.C.L., Harrington K.A., Fanslow W.C.: Terminology changes needed for descriptions of *Pneumocystis carinii* infection. *Infect. Immun.* 1997, 65, 1135–1136.
7. Chagas C.: Nova tripanosomíaze humana. *Mem. Istit. Oswaldo. Cruz.* 1909, 1, 159–218.
8. Vanek J., Jirovec D.: Parasitäre Pneumoniae. Interstitielle Plasmacellen Pneumoniae der Frühgeborenen, verursacht durch *Pneumocystis carinii*. *Zbl. Bakt.* 1952, 158, 120–127.
9. Ivady G., Paldy L.: A new method of treating interstitial plasma cell pneumonia in premature infant with 5-valent antimony and aromatic diamidines. *Monatsschr. Kinderheilk.* 1958, 106, 1, 10–14.
10. Stringer J.R., Beard C.B., Miller R.F., Wakefield A.E.: A new name (*Pneumocystis jiroveci*) for *Pneumocystis* from humans. *Emerg. Infect. Dis.* 2002, 8, 891–896.
11. Pietrzyk A.: *Pneumocystis carinii*: Nowe spojrzenie na taksonomię. *Epidemiologia i patogeneza pneumocystozy.* *Post. Mikrobiol.* 1998, 37, 217–231.
12. Kaneshiro E.S.: The lipids of *Pneumocystis carinii*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998, 11, 27–41.
13. Frenkel J.K.: *Pneumocystis* pneumonia, an immunodeficiency-dependent disease (IDD): a critical historical overview. *J. Eucaryot. Microbiol.* 1999, 46, 89S–92S.
14. Guillot J., Demanche C., Hugot J.P., Berthelemy M., Wakefield A.E., Dei-Cas E. et al.: Parallel phylogenies of *Pneumocystis* species and their mammalia hosts. *J. Eukaryot. Microbiol.* 2001, Suppl., 113S–115S.
15. Guillot J., Demanche C., Berthelemy M., Hugot J.P., Dei-Cas E.: Host specificity and cospeciation in *Pneumocystis* spp. Multidisciplinary for parasites, vectors and parasitic diseases. IX European Multicolloquium of Parasitology, Programme and abstracts. Valencia, Spain, 18–23 July 2004, 248–249.
16. Levis D.B., Wilson Ch.B.: Developmental immunology and role of host defenses in neonatal susceptibility to infection. In: *Infectious diseases of the fetus newborn infant.* Eds: J.S. Remington, J.O. Klein. W.B. Saunders Company, 1995, 20–78.
17. Jacobs R.F., Wilson C.B., Palmer S., Springmeyer S.C., Henderson W.R., Glover D.M. et al.: Factors related to the appearance of alveolar macrophages in the developing lung. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1985, 131, 548–553.
18. Witwicki J.M., Dobrzańska A.: Zараżenie *Pneumocystis hominis* u noworodków i niemowląt – nowe możliwości diagnostyczne. *Post. Ped.* 2001, 76, 791–798.
19. Roths J.B., Sidman C.L.: Both immunity and hyper-responsiveness to *Pneumocystis carinii* result from transfer of CD4+ but not CD8+ T cells into severe combined immunodeficiency mice. *J. Clin. Invest.* 1992, 90, 673–678.
20. Herrod H.G., Valensky W.R.: The in vitro response of human lymphocytes to *Pneumocystis carinii*. *Clin. Res.* 1979, 27, 811–814.
21. Wakefield A.E., Miller R.F., Guiver L.A., Hopkin J.M.: Granulomatous *Pneumocystis carinii* pneumonia: DNA amplification studies on bronchoscopic alveolar lavage samples. *J. Clin. Pathol.* 1994, 47, 664–666.
22. Royce F.H., Blumberg D.A.: *Pneumocystis carinii* isolated from lung lavage fluid in an infant with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 2000, 29, 235–238.
23. Durand-Joly I., Aliouat E.M., Recourt C., Guyot K., Francois N., Wauquier M. et al.: *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* is not infectious for SCID mice. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 1862–1865.
24. Stringer J.R.: *Pneumocystis*. *Int. J. Med. Microbiol.* 2002, 292, 391–404.
25. Dei-Cas E.: *Pneumocystis* infections: the iceberg? *Med. Mycol.* 2000, 38, Suppl. 1, 23–32.
26. Vargas S.L., Hughes W.T., Santolaya M.E., Ulloa A.V., Ponce C.A., Cabrera C.E. et al.: Search for primary infection by *Pneumocystis carinii* in a cohort of normal, healthy infants. *Clin. Infect. Dis.* 2001, 32, 855–861.
27. Miller R.F., Ambrose H.E., Novelli V., Wakefield A.E.: Probable mother-to-infant transmission of *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* infection. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 1555–1557.
28. Morris A., Beard C.B., Huang L.: Update on the epidemiology and transmission of *Pneumocystis carinii*. *Microbes Infect.* 2002, 4, 95–103.
29. Chabé M., Dei-Cas E., Creusy C., Fleurisse L., Respaldiza N., Camus D. et al.: Immunocompetent hosts as a reservoir of *Pneumocystis* organisms: histological and rt-PCT data demonstrate active replication. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2004, 23, 89–97.
30. Nevez G., Totet A., Jounieaux V., Schmit J.L., Dei-Cas E., Raccourt Ch.: *Pneumocystis jiroveci* internal transcribed spacer types in patients colonized by the fungus and in patients with pneumocystosis from the same French geographic region. *J. Clin. Microbiol.* 2003, 41, 181–186.
31. Medrano F.J., de la Horra C., Aldana M.J.: High rate of *Pneumocystis jiroveci* colonisation among in-patients and hospital staff members of general medical service. Host specificity and cospeciation in *Pneumocystis* spp. Multidisciplinary for parasites, vectors and parasitic diseases. IX European Multicolloquium of Parasitology 2004. Programme and abstracts. Valencia, Spain, 18–23 July 2004, 251–252.
32. Cailiez J.C., Séguy N., Denis C.M., Aliouat E.M., Mazars E., Polonelly L. et al.: *Pneumocystis carinii*: an atypical fungal microorganism. *J. Med. Vet. Mycol.* 1996, 34, 227–239.
33. Pearl G.S., Sierger B.: Granulomatous *Pneumocystis carinii* myositis presenting as intramuscular mass. *Clin. Infect. Dis.* 1996, 22, 577–578.
34. Ng V.L., Yajko D.M., Hadley W.K.: Extrapulmonary pneumocystosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997, 10, 401–418.
35. Burke B.A., Good R.A.: *Pneumocystis carinii* infection. *Medicine (Baltimore)*, 1973, 52, 1, 23–51.
36. Starkiewicz J., Chelkowska H., Piasecki W., Szozda M., Szymańska A.: Trudności diagnostyczne i przebieg epidemii *Pneumocystosis* w I Klinice Instytutu Pediatrii w Szczecinie. *Prz. Pediatr.* 1974, 4, 35–42.
37. Walzer P.D., Perl D.P., Krogstad D.J., Rawson P.G., Schultz M.G.: *Pneumocystis carinii* pneumonia in the United States. Epidemiologic, diagnostic, and clinical features. *Ann. Int. Med.* 1974, 80, 83–93.
38. Goldman A.S., Goldman L.R., Goldman D.A.: What caused the epidemic of *Pneumocystis pneumonia* in European premature infants in the mid-20th century? *Pediatrics*, 2005, 115, 725–736.
39. Hostoffer R.W., Litman A., Smith P.G., Jacobs H.S., Tosi M.F.: *Pneumocystis carinii* pneumonia in a term newborn infant with a transiently depressed T lymphocyte count, primarily of cells carrying the CD4 antigen. *J. Pediatr.* 1993, 122, 792–794.
40. Garcia C.A., Delpiano L., Prado F., Ponce C.A., Amaya M., Vargas S.L.: Severe apnea: an early sign of *Pneumocystis carinii* pneumonia in an HIV-negative infant. *Rev. Med. Chil.* 2000, 128, 425–429.
41. Jadot O., Rocour-Brumioul D., Senterre J.: *Pneumocystis carinii* pneumonia in a child without immunodepression. *Rev. Med. Liege*, 2000; 55, 1033–1036.
42. Russian D.A., Levine S.J.: *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without HIV infection. *Am. J. Med. Sci.* 2001, 321, 56–65.
43. Dutz W., Post C., Kohout E., Aghamohammadi A.: Cellular reaction to *Pneumocystis carinii*. *Z. Kinderkrank.* 1973, 114, 1–11.
44. Gulczyńska E., Pastula-Mańko E., Zjawiona A., Sobolewska B., Gądzinowski J.: Zakażenia *Pneumocystis carinii* wśród noworodków leczonych w Oddziale Intensywnej Opieki Neonatologicznej. *Post. Neonatol.* 2002, Suppl. 2, 53–55.
45. Kordek A., Loniewska B., Kołodziejczyk L., Pawlus B., Rudnicki J., Kuźna-Grygiel W. et al.: *Pneumocystis carinii* pneumonia in Neonatal Intensive Care Unit. *Arch. Perinatal. Med.* 2004, 10, 42–44.
46. Vargas S.L., Ponce C.A., Hughes W.T., Wakefield A.E., Weitz I.C., Donoso S. et al.: Association of primary *Pneumocystis carinii* in-

- fection and sudden infant death syndrom. Clin. Infect. Dis. 1999, 29, 1489–1493.
47. Yung R.C., Weinacker A.B., Steiger D.J., Miller T.R., Stern E.J., Salmon C.J. et al.: Upper and middle lobe bronchoalveolar lavage to diagnose *Pneumocystis carinii* pneumonia. Am. Rev. Respir. Dis. 1993, 148, 1563–1566.
 48. Pinlaor S., Mootsikapun P., Pinlaor P., Phunmanee A., Pipitgool V., Sithithaworn P. et al.: PCR diagnosis of *Pneumocystis carinii* on sputum and bronchoalveolar lavage sample in immuno-compromised patients. Parasitol. Res. 2004, 94, 213–218.
 49. Gołęb E., Sobolewska A., Matysiak E.: Występowanie DNA *Pneumocystis carinii* i przeciwciał pneumocystozowych w surowicach niemowląt w okresie fizjologicznego spadku odporności. Wiad. Parazytol. 2002, 48, 287–292.
 50. Rowecka-Trzebicka K.: Pneumocystoza, postępowanie diagnostyczne, lecznicze i zapobiegawcze. Wyd. Instytutu Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka, Warszawa 1993.
 51. Flori P., Bellele B., Durand F., Raberin H., Cazorla C., Hafid J. et al.: Comparison between real-time PCR, conventional PCR and different staining techniques for diagnosing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia from bronchoalveolar lavage specimens. J. Med. Microbiol. 2004, 53, 603–607.
 52. Gołęb E., Sobolewska A., Bitkowska E., Bednarska A., Berak H.: „Nestled” PCR w diagnostyce przypadków pneumocystozowego zapalenia płuc (PCP) u pacjentów z AIDS. Wiad. Parazytol. 2001, 47, 521–525.
 53. Jules-Elysee K.M., Stover D.E., Zaman M.B., Bernard E.M., White D.A.: Aerosolized pentamidine: Effect on diagnosis and presentation of *Pneumocystis carinii* pneumonia. Ann. Int. Med. 1990, 112, 750–757.
 54. Dautzenberg B., Fauroux B., Bonfilis P., Diot P., Faurisson F.: Good clinical practice in nebulization. Ann. Fr. Anesth. Reanim. 1998, 17, 31–36.

Komentarz

Problem zakażeń pneumocystozowych od wielu lat powtarza się w odniesieniu do pacjentów leczonych przy użyciu sztucznej wentylacji, a zwłaszcza cierpiących z po-

wodu wrodzonych lub nabytych niedoborów odporności. Problem ten dotyczy również noworodków urodzonych z bardzo małą masą ciała. W pracy poglądowej autorzy podjęli się próby usystematyzowania dotychczasowego stanu wiedzy na temat pneumocystozowego zapalenia płuc u noworodków. Zwrócili uwagę na zmianę nazwy atypowego grzyba, z *Pneumocystis carinii* na *Pneumocystis jirovecii*, a także na dokonane w ostatnich latach XX wieku zmiany pozycji taksonomicznej tego patogenu. Opisałi również szeroko – stwierdzone w mikroskopie elektronowym – zmiany degeneracyjne w płucach dokonujące się po inwazji *Pneumocystis jirovecii*. Zniszczenia mięszu płucnego są rozległe i trwałe, i niestety nie ma dotychczas możliwości skutecznej profilaktyki nadkażeń *Pneumocystis jirovecii* u słabych i chorych noworodków hospitalizowanych na Oddziałach Intensywnej Terapii. Nosicielstwo tego patogenu u zdrowych dorosłych osób jest bardzo powszechne, tak więc rezerwuarem umożliwiającym nadkażenia noworodków jest zdrowy personel medyczny oraz osoby odwiedzające pacjentów przebywających na Oddziałach Intensywnej Terapii. Cóż więc nam pozostaje w tej sytuacji? Przede wszystkim wczesne rozpoznawanie inwazji *Pneumocystis jirovecii* przy użyciu, opisanych szeroko w artykule, współczesnych możliwości diagnostycznych oraz skuteczne leczenie właściwymi specyfikami farmakologicznymi. Biorąc pod uwagę uboczne skutki zakażenia, związane z destrukcyjnym działaniem *Pneumocystis jirovecii* na płuca noworodka należałoby się jednak zastanowić nad możliwością profilaktyki tego zakażenia np. w postaci podawania Biseptolu u sztucznie wentylowanych noworodków urodzonych z bardzo małą masą ciała. Ale to już temat na kolejny artykuł.

prof. dr hab. n. med. M. Beata Czeszyńska

MARIA PIETRZAK-NOWACKA, KRZYSZTOF SAFRANOW¹, HALINA RULKOWSKA², MAREK BRZOSKO³,
LESZEK DOMAŃSKI, GRAŻYNA DUTKIEWICZ, MAŁGORZATA ŁAWNICZAK⁴, EDYTA PŁOŃSKA⁵,
EUGENIUSZ SZMATŁOCH

RETROSPEKTYWNA ANALIZA CZYNNIKÓW RYZYKA PACJENTÓW Z CHOROBA NIEDOKRWIENNĄ SERCA HOSPITALIZOWANYCH W LATACH 1983–1992

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF THE RISK FACTORS IN PATIENTS WITH ISCHAEMIC HEART DISEASE HOSPITALIZED IN THE YEARS 1983–1992

Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Kazimierz Ciechanowski*

¹Zakład Biochemii PAM

al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Dariusz Chlubek*

²Zakład Informatyki i Biocybernetyki PAM

ul. Rybacka 1, 70-204 Szczecin

Kierownik: dr inż. *Jerzy Pastusiak*

³Klinika Reumatologii PAM

ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Irena Fiedorowicz-Fabrycy*

⁴Klinika Gastroenterologii PAM

ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Krzysztof Marlicz*

⁵Klinika Kardiologii PAM

al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin

Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Zdzisława Kornacewicz-Jach*

Summary

Purpose: The aim of this study was to perform a retrospective analysis of selected risk factors and their variability in a 10 years period of observation in patients with ischemic heart disease (IHD).

Material and methods: We reviewed 5219 questionnaires of patients hospitalized at internal wards of the Internal Medicine Institute of the Pomeranian Medical University in Szczecin. Among the participants 1709 were females with mean age 56.3 ± 7.1 and 3510 males with mean age 54.46 ± 7.96 . Multivariate logistic regression analysis of the relationship between the analysed risk factors and the hospitalization year, age and sex of patients was used.

Results: Among all risk factors, cigarette smoking appeared most frequently (43.93% of patients) followed by arterial hypertension (32.90%), lipid disturbances (25.78%), obesity (16.26%), type 2 diabetes (13.79%), family history of IHD

(8.46%), impaired glucose tolerance (5.8%), hyperuricaemia (3.62%) and type 1 diabetes (1.1%). Cigarette smoking and hyperuricaemia appeared markedly more often in men in comparison to women ($p < 0.0002$) in whom arterial hypertension and obesity significantly dominated ($p < 0.0001$).

Conclusions: During the 10-years period of observation a significant raise of arterial hypertension, dyslipidemia, hyperuricaemia, type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance was found. However, some positive changes such as a decrease in number of cigarette smokers and obesity among women were detected. In conclusion, the results of our study show that between 1983 and 1992 there was a domination of negative changes among the IHD risk factors. This was more pronounced in the studied group of females in comparison to males.

Key words: ischaemic heart disease – risk factors – polymetabolic syndrome.

Streszczenie

Wstęp: Celem pracy była retrospektywna analiza czynników ryzyka i ich zmienności w 10-letnim okresie obserwacji w dużej grupie mężczyzn i kobiet hospitalizowanych z powodu choroby niedokrwiennej serca (ChNS).

Material i metody: Poddano analizie ankiety 5219 pacjentów z ChNS: 1709 kobiet w wieku $56,3 \pm 7,1$ lat i 3510 mężczyzn w wieku $54,46 \pm 7,96$ lat hospitalizowanych w klinikach Instytutu Chorób Wewnętrznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Zastosowano metodę wieloczynnikowej regresji logistycznej, analizując zależność między czynnikami ryzyka a rokiem hospitalizacji, wiekiem i płcią pacjentów z ChNS.

Wyniki: Wśród czynników ryzyka badanej populacji z ChNS najczęściej występowało palenie papierosów (43,93%), następnie kolejno: nadciśnienie tętnicze (32,90%), dyslipidemia (25,78%), otyłość (16,26%), cukrzyca typu 2 (13,79%), rodzinne obciążenie ChNS (8,46%), upośledzona tolerancja glukozy (5,8%), hiperurykemia (3,62%), cukrzyca typu 1 (1,11%). U mężczyzn istotnie częściej niż w grupie kobiet występowało palenie papierosów ($p < 0,0001$) i hiperurykemia ($p < 0,0002$), natomiast nadciśnienie tętnicze i otyłość występowały znamienne częściej u kobiet ($p < 0,0001$).

Wnioski: W 10-letnim okresie obserwacji wykazano istotny trend narastania częstości nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii, hiperurykემii, cukrzycy typu 2 i patologicznej tolerancji glukozy. Widoczne były również korzystne zmiany: zmniejszenie częstości palenia tytoniu oraz niewielki spadek częstości występowania otyłości, istotny jedynie dla kobiet. Wyniki badań wskazują na przewagę niekorzystnych zmian w profilu czynników ryzyka pacjentów z ChNS w latach 1983–1992, które były silniej wyrażone u kobiet niż u mężczyzn.

H a s ł a: choroba niedokrwienność serca – czynniki ryzyka – zespół polimetaboliczny.

Wstęp

W etiopatogenezie choroby niedokrwiennej serca (ChNS) bierze udział wiele czynników. Wśród najważniejszych, potencjalnie odwracalnych czynników ryzyka ChNS wymienia się m.in.: nadciśnienie tętnicze, zaburzenia lipidowe, otyłość centralną i brak aktywności fizycznej. Do czynników niemodyfikowalnych zalicza się: obciążenie rodzinne, płeć, wiek, cukrzycę oraz typ osobowości.

We wcześniejszych badaniach epidemiologicznych analizowano występowanie czynników ryzyka w populacji ogólnej i wykazano utrzymującą się tendencję wzrostową zachorowalności z powodu ChNS [1, 2, 3, 4]. Większość prac dotyczyła populacji mężczyzn, którzy znacznie przeważali liczebnie wśród chorych, szczególnie młodszych [5, 6, 7].

Celem niniejszej pracy była retrospektywna analiza czynników ryzyka u mężczyzn i kobiet hospitalizowanych z powodu różnych postaci ChNS, ze szczególnym uwzględnieniem ich zmienności w 10-letnim okresie obserwacji.

Material i metody

Materiałem badawczym były ankiety opracowane przez lekarzy na podstawie historii chorób 5219 pacjentów: 1709 kobiet w wieku $56,32 \pm 7,13$ lat i 3510 mężczyzn w wieku $54,46 \pm 7,96$ lat, hospitalizowanych w klinikach Instytutu Chorób Wewnętrznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie w latach 1983–1992, z rozpoznaniem ChNS pod postacią dusznicy bolesnej stabilnej lub niestabilnej, ostrego i/lub przebytego zawału mięśnia sercowego. W ankietach uwzględniono płeć, wiek chorych oraz czynniki ryzyka ChNS: palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemię, otyłość, patologiczną tolerancję glukozy, cukrzycę typu 1, cukrzycę typu 2, hiperurikemię, obciążenie rodzinne ChNS.

Nadciśnienie tętnicze rozpoznawano przy wartości RR $\geq 140/90$ mmHg [8]. Dyslipidemię rozpoznawano zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Europejskie Towarzystwo Miażdżycowe, przy obecności hipercholesterolemii (> 200 mg/dL) lub hipertriglicerydemii (> 200 mg/dL) [9]. Otyłość rozpoznawano na podstawie wskaźnika masy ciała (*body mass indeks* – BMI) ≥ 30 kg/m² [10]. Upośledzoną tolerancję glukozy rozpoznawano przy glikemii w zakresie 140–199 mg/dL w drugiej godzinie doustnego testu tolerancji glukozy (*oral glucose tolerance test* – OGTT). Cukrzycę typu 2 rozpoznawano na podstawie glikemii na czczo ≥ 140 mg/dL lub wartości OGTT w drugiej godzinie testu > 200 mg/dL [11]. Hiperurikemię rozpoznawano, gdy stężenie kwasu moczowego w surowicy było $> 6,0$ mg/dL u kobiet lub $> 7,0$ mg/dL u mężczyzn.

W niektórych analizach wyróżniono dwie grupy wiekowe: chorych do 45. r.ż. i powyżej 45. r.ż. Liczbę czynników ryzyka obliczano dodając 1 punkt za obecność każdego z wymienionych: nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 1, cukrzycy typu 2, upośledzonej tolerancji glukozy, dyslipidemii, otyłości, hiperurykემii, obciążenia rodzinnego ChNS i palenia papierosów.

Do oceny istotności różnic w częstości występowania czynników ryzyka zależnie od płci zastosowano test chi-kwadrat. Weryfikacji hipotezy o istnieniu różnic między wartościami średnimi w porównywanych grupach dokonano za pomocą testu t-Studenta. Dla oceny związku między występowaniem dwóch czynników ryzyka, występowaniem czynnika ryzyka a wartościami zmiennej mierzalnej oraz korelacji między dwiema zmiennymi mierzalnymi obliczano wartość współczynnika korelacji rang Spearmana (RS). Wpływ wieku, płci i roku hospitalizacji na częstość występowania poszczególnych czynników ryzyka analizowano również w modelu wielokrotnej regresji logistycznej. Obliczenia wykonano przy użyciu programu Statistica 6.1 PL.

Wyniki

W badanej grupie średni wiek kobiet był wyższy niż mężczyzn o 1,86 roku ($p < 0,00001$). Liczba chorych hospitalizowanych z powodu ChNS w kolejnych latach obserwacji stopniowo zwiększała się. We wszystkich latach obserwacji liczba mężczyzn była wyższa niż kobiet, jednakże stosunek liczby mężczyzn do kobiet systematycznie malał, osiągając minimum w 1989 roku. Później zarysowała się słaba tendencja wzrostowa, lecz przewaga liczby mężczyzn nie osiągnęła już wysokich wartości z lat 1983–1986 (tab. 1). Obserwowano istotną, pozytywną ko-

relację między rokiem hospitalizacji a wiekiem wszystkich pacjentów ($p < 0,003$). Zależność ta występowała w podgrupie mężczyzn ($p < 0,04$), natomiast nie stwierdzono jej w podgrupie kobiet.

Odnotowano wzrost ilości czynników ryzyka w kolejnych latach obserwacji ($RS = +0,12$, $p < 0,00001$) – tabela 2 – zarówno w podgrupie kobiet ($RS = +0,16$), jak i mężczyzn ($RS = +0,10$). W podgrupie kobiet obserwowano istotnie szybszy wzrost ilości czynników ryzyka niż w grupie mężczyzn ($p < 0,04$ dla różnicy współczynników korelacji). Systematycznie malał odsetek pacjentów bez żadnych czynników ryzyka.

Tabela 1. Wiek i płeć pacjentów z ChNS hospitalizowanych w latach 1983–1992

Table 1. Age and sex of patients with IHD hospitalized in the years 1983–1992

Rok hospitalizacji Year of hospitalization	Kobiety Females			Mężczyźni Males			Razem All		Stosunek M/K Ratio M/F
	n	%	wiek age	n	%	wiek age	n	wiek age	
1983	104	25,6	56,42	303	74,4	53,67	407	54,37	2,91
1984	117	26,1	55,73	332	73,9	54,01	449	54,45	2,84
1985	158	30,5	56,13	360	69,5	55,10	518	55,42	2,28
1986	147	26,9	55,55	399	73,1	54,40	546	54,71	2,71
1987	147	33,6	56,53	290	66,4	54,18	437	54,97	1,97
1988	183	36,0	57,14	325	64,0	54,23	508	55,28	1,78
1989	224	38,4	56,46	360	61,6	55,11	584	55,63	1,61
1990	229	37,7	56,29	378	62,3	54,54	607	55,20	1,65
1991	192	33,4	56,61	383	66,6	54,41	575	55,16	1,99
1992	208	35,4	56,06	380	64,6	54,72	588	55,20	1,83
Razem / All	1709	32,7	56,32	3510	67,3	54,46	5219	55,07	2,05

Tabela 2. Występowanie czynników ryzyka u pacjentów z ChNS w latach 1983–1992

Table 2. The appearance of the risk factors in patients with IHD hospitalized in the years 1983–1992

Rok hospitalizacji Year of hospitalization	Bez czynników ryzyka No risk factors	Nadciśnienie Arterial hypertension	Cukrzyca typu 1 Type 1 diabetes	Cukrzyca typu 2 Type 2 diabetes	Patologiczna tolerancja glukozy Impaired glucose tolerance	Dyslipidemia Dyslipidaemia	Otyłość Obesity	Hyperurykemia Hyperuricaemia	Rodzinne obciążenie ChNS IHD family history	Palenie Cigarette smoking	Średnia liczba czynników ryzyka Mean number of risk factors
	% ogółu pacjentów / percent of all patients										n
1983	22,60	27,27	0,98	10,81	1,72	16,46	13,02	2,21	1,97	50,61	1,25
1984	23,39	25,39	1,11	12,92	2,23	20,49	16,70	1,78	5,57	44,54	1,31
1985	21,62	22,59	1,54	12,16	1,35	17,76	11,78	2,12	4,25	58,11	1,32
1986	18,68	29,12	0,73	10,62	4,58	22,34	15,02	1,10	4,03	54,76	1,42
1987	22,43	27,00	0,46	13,96	3,20	24,71	17,62	2,52	4,58	44,85	1,39
1988	15,10	39,61	1,76	16,08	14,51	31,76	21,57	5,49	10,00	36,27	1,77
1989	16,61	37,50	2,05	13,87	7,88	27,74	18,66	5,48	11,13	36,47	1,61
1990	16,14	36,90	1,65	13,67	6,59	28,50	18,12	5,93	16,64	40,53	1,69
1991	14,24	36,98	0,52	15,63	6,94	30,03	14,76	5,03	10,43	38,02	1,58
1992	13,61	40,99	0,17	17,01	6,80	33,16	14,80	3,23	11,56	39,01	1,67
Razem All	18,06*	32,90*	1,11	13,79	5,80	25,78	16,26*	3,62*	8,46	43,93*	1,52
Kobiety Females	19,72	40,78	1,40	13,46	6,09	25,92	21,65	2,22	9,48	26,92	1,48
Mężczyźni Males	17,26	29,06	0,94	13,93	5,67	25,70	13,56	4,30	7,98	52,17	1,53

* istotna różnica pomiędzy kobietami i mężczyznami / significant difference between females and males

Ilość czynników ryzyka nie zależała istotnie od grupy wiekowej dla wszystkich pacjentów ani w podgrupie kobiet. W podgrupie mężczyzn przynajmniej jeden czynnik ryzyka występował istotnie ($p < 0,03$) częściej u hospitalizowanych poniżej 45. r.ż. (87,26%) niż u pozostałych (81,95%).

W kolejnych latach obserwacji wzrastała znamienne częstość występowania nadciśnienia tętniczego ($p < 0,0001$), cukrzycy typu 2 ($p < 0,01$), patologicznej tolerancji glukozy ($p < 0,001$), dyslipidemii ($p < 0,001$), hiperurykemii ($p < 0,01$) i obciążonego wywiadu rodzinnego w kierunku ChNS ($p < 0,0001$) w połączonych grupach pacjentów, jak również w analizowanych oddzielnie grupach kobiet i mężczyzn. Częstość otyłości w połączonych grupach pacjentów z ChNS stopniowo rosła, osiągając maksimum w 1988 roku, a w kolejnych latach obserwowano jej stopniowy spadek. Trend taki był istotny w grupie kobiet, natomiast u mężczyzn nie zaobserwowano istotnych zmian częstości występowania otyłości, chociaż największy procent odnotowano również w 1988 roku. Palenie papierosów wykazywało istotny trend malejący w połączonej grupie pacjentów z ChNS; podobny trend występował w grupie kobiet i mężczyzn ($p < 0,0001$). Nie obserwowano istotnego trendu zmian częstości cukrzycy typu 1.

Nadciśnienie tętnicze i otyłość występowały znamienne częściej u kobiet niż mężczyzn ($p < 0,0001$). W grupie mężczyzn istotnie częściej niż u kobiet występowało palenie papierosów ($p < 0,0001$) i hiperurykemia ($p < 0,0002$) – ta-

bela 3. Nieco więcej kobiet niż mężczyzn nie było obciążonych żadnym czynnikiem ryzyka ($p < 0,04$). Analizując pozostałe czynniki ryzyka, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami kobiet i mężczyzn.

Wyniki analizy wpływu wieku, płci i roku hospitalizacji pacjentów, jako niezależnych zmiennych wpływających na częstość występowania poszczególnych czynników ryzyka, przedstawiono w tabeli 3. Przeprowadzono również, oddzielnie dla kobiet i mężczyzn, analizy wpływu wieku i roku hospitalizacji. Wartości ilorazów szans (OR) opisują, jak silnie płeć męska, starszy wiek i późniejszy rok hospitalizacji wpływały na zwiększenie ($OR > 1$) lub zmniejszenie ($OR < 1$) częstości poszczególnych czynników ryzyka.

Do wystąpienia nadciśnienia tętniczego predysponowała płeć żeńska, starszy wiek i późniejszy rok hospitalizacji. Wiek był istotnym czynnikiem ryzyka nadciśnienia jedynie u mężczyzn.

Do występowania cukrzycy typu 1 predysponował starszy wiek jedynie w grupie kobiet. Ryzyko cukrzycy typu 2 było nieco większe u mężczyzn i u obu płci wzrastało wraz z późniejszym rokiem hospitalizacji i z wiekiem. Częstość rozpoznawania patologicznej tolerancji glukozy nie zależała od wieku ani płci, natomiast wzrastała wraz z rokiem hospitalizacji.

Do dyslipidemii u kobiet i mężczyzn predysponowały młodszy wiek i późniejszy rok hospitalizacji. Płeć żeńska

Tabela 3. Analiza wielokrotnej regresji logistycznej zależności występowania czynników ryzyka od roku hospitalizacji, wieku i płci pacjentów z ChNS

Table 3. Multivariate logistic regression analysis of relationship between the risk factors and the hospitalization year, age and sex in patients with IHD

Czynnik ryzyka Risk factor	Iloraz szans i jego 95% przedział ufności Odds ratio and its 95% confidence interval						
	wszyscy pacjenci all patients			kobiety females		mężczyźni males	
	rok hospit. year of hosp.	wiek age	płeć M male sex	rok hospit. year of hosp.	wiek age	rok hospit. year of hosp.	wiek age
Nadciśnienie tętnicze Arterial hypertension	1,09*** 1,06–1,11	1,017*** 1,009–1,025	0,63*** 0,56–0,71	1,07*** 1,04–1,11	1,00 0,988–1,013	1,09*** 1,06–1,12	1,025*** 1,015–1,035
Cukrzyca typu 1 Type 1 diabetes	0,95 0,87–1,04	1,01 0,98–1,05	0,66 0,39–1,13	1,03 0,88–1,19	1,09* 1,01–1,18	0,90 0,8–1,02	0,98 0,94–1,02
Cukrzyca typu 2 Type 2 diabetes	1,05** 1,02–1,08	1,07*** 1,06–1,09	1,19* 1,00–1,41	1,07* 1,02–1,13	1,07*** 1,05–1,10	1,04* 1,00–1,07	1,07*** 1,06–1,09
Patolog. tolerancja glukozy Impaired glucose tolerance	1,15*** 1,10–1,20	0,99 0,98–1,00	0,97 0,76–1,23	1,17*** 1,08–1,27	0,97 0,95–1,00	1,14*** 1,08–1,20	1,00 0,98–1,02
Dyslipidemia Dyslipidaemia	1,10*** 1,08–1,13	0,97*** 0,96–0,97	0,97 0,85–1,11	1,16*** 1,11–1,21	0,98* 0,97–1,00	1,08*** 1,05–1,11	0,96 *** 0,95–0,97
Otyłość Obesity	1,01 0,98–1,04	1,01 1,00–1,01	0,58*** 0,50–0,67	1,03 0,99–1,07	1,01 1,00–1,03	1,00 0,99–1,02	1,00 0,99–1,01
Hiperurykemia Hyperuricaemia	1,14*** 1,08–1,20	1,01 0,99–1,03	2,14*** 1,49–3,07	1,19* 1,04–1,36	1,02 0,97–1,07	1,13*** 1,06–1,20	1,01 1,00–1,03
Dziedziczne obciążenie ChNS IHD family history	1,19*** 1,15–1,24	0,97*** 0,96–0,98	0,83 0,67–1,02	1,18*** 1,10–1,26	0,99 0,97–1,01	1,20*** 1,15–1,26	0,96*** 0,95–0,97
Palenie Cigarette smoking	0,93*** 0,92–0,95	0,98*** 0,97–0,98	2,80*** 2,46–3,17	0,94*** 0,90–0,97	0,98* 0,97–1,00	0,93*** 0,91–0,96	0,97*** 0,97–0,98

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – istotność wpływu zmiennych niezależnych w modelu wielokrotnej regresji logistycznej / statistical significance of independent variables in multivariate logistic regression model

była silnym czynnikiem ryzyka otyłości. Do hiperurykემii predysponowała płeć męska oraz dla obu płci – późniejszy rok hospitalizacji.

W grupie mężczyzn dziedziczne obciążenie ChNS było związane z młodszym wiekiem pacjentów i późniejszym rokiem hospitalizacji, natomiast w grupie kobiet jedynie z późniejszym rokiem hospitalizacji. Płeć męska, młodszy wiek, wcześniejszy rok hospitalizacji predysponowały do palenia papierosów.

W badanej populacji chorych z ChNS wykazano wiele istotnych korelacji występowania poszczególnych czynników ryzyka (tab. 4). Nadciśnienie tętnicze występowało z otyłością, dyslipidemią, patologiczną tolerancją glukozy, cukrzycą typu 2, hiperurykemią, paleniem papierosów oraz dodatnim wywiadem rodzinnym ChNS. Cukrzyca typu 1 i patologiczna tolerancja glukozy występowały z dyslipidemią i otyłością. Cukrzyca typu 2 występowała z otyłością i hiperurykemią. Dyslipidemia występowała z cukrzycą typu 1, patologiczną tolerancją glukozy, otyłością, hiperurykemią i dziedzicz-

nym występowaniem ChNS. Otyłość występowała z hiperurykemią, paleniem papierosów oraz dziedzicznym występowaniem ChNS.

Dyskusja

Choroby układu sercowo-naczyniowego znajdują się na pierwszym miejscu wśród przyczyn zgonów w Polsce. Nadal utrzymuje się wysoka zachorowalność, a w wielu pracach analizowane są przyczyny tego zjawiska [12, 13].

Na podstawie retrospektywnego badania przedstawionego w niniejszej pracy wykazano, że w latach 1983–1992 następował stopniowy wzrost liczby chorych hospitalizowanych w ciągu każdego roku z ChNS zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn. Hospitalizowani z ChNS mężczyźni byli młodszy niż kobiety. Płeć męska jest uznanym czynnikiem ryzyka ChNS, jednak w okresie badania stosunek liczby chorych mężczyzn do liczby kobiet malał, wskazując na rosnący udział kobiet w populacji chorych z ChNS.

Tabela 4. Korelacje czynników ryzyka u pacjentów z ChNS hospitalizowanych w latach 1983–1992

Table 4. The risk factor correlations in patients with IHD hospitalized in the years 1983–1992

Czynniki ryzyka Risk factors	Cukrzyca typu 1 Type 1 diabetes	Cukrzyca typu 2 Type 2 diabetes	Patologiczna tolerancja glukozy Impaired glucose tolerance	Dyslipide- mia Dyslipi- demia	Otyłość Obesity	Hiperuryke- mia Hyperuri- cemia	Obciążenie dziedziczne ChNS IHD family history	Palenie papierosów Smoking	Wiek Age
Nadciśnienie tętnicze Arterial hypertension	NS	** RS = +0,09 5,97%	* RS = +0,03 2,3%	** RS = +0,06 9,67%	** RS = +0,17 8,33%	** RS = +0,08 1,91%	* RS = +0,04 3,25%	** RS = -0,08 12,58%	** RS = +0,07 29,72%
Cukrzyca typu 1 Type 1 diabetes			NS	* RS = -0,03 0,13%	*** RS = +0,05 0,38%	NS	NS	NS	NS
Cukrzyca typu 2 Type 2 diabetes			** RS = +0,09 0,07%	NS	** RS = +0,10 3,5%	** RS = +0,05 0,8%	NS	* RS = -0,03 5,53%	** RS = +0,10 13,27%
Patologiczna tolerancja glukozy Impaired glucose tolerance				** RS = +0,07 2,25%	** RS = +0,06 1,43%	NS	NS	** RS = -0,05 1,99%	NS
Dyslipidemia Dyslipidaemia					** RS = +0,08 5,51%	** RS = +0,09 1,64%	** RS = +0,06 2,92%	NS	** RS = -0,07 21,44%
Otyłość Obesity						** RS = +0,10 1,28%	* RS = +0,03 1,66%	* RS = -0,03 6,53%	NS
Hiperurykemia Hyperuricaemia							NS	NS	NS
Obciążenie dziedziczne ChNS IHD family his- tory								NS	** RS = -0,06 6,77%
Palenie papierosów Cigarette smoking									** RS = -0,081 36,93%

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ – podano odsetek pacjentów obciążonych dwoma czynnikami ryzyka (określonymi w nagłówku wiersza i kolumny) oraz wartości współczynników korelacji rang Spearmana (RS) pomiędzy nimi / percent of patients with two risk factors (specified in row and column headers) and Spearman rank correlation coefficients (RS) are given

Palenie papierosów występowało istotnie częściej u mężczyzn niż u kobiet. W okresie 10 lat obserwacji częstość palenia zmniejszała się u obu płci, a ponadto pacjenci w starszym wieku palili rzadziej. Badania wykonane przez *Tomaszewskiego i wsp.* w analogicznym okresie, tj. w latach 1982–1991, na materiale 5100 mężczyzn w wieku od 14. do 65. lat wykazały, że palenie tytoniu występowało u 57,4% badanych. Autorzy stwierdzili duże nasilenie nałogu już w najmłodszej grupie wiekowej, u uczniów szkół ponadpodstawowych [13]. Według badań *Rywika i wsp.* w latach 80. ubiegłego wieku palenie papierosów stwierdzono u 63% dorosłych mężczyzn. Wśród mężczyzn w starszym wieku odsetek palaczy był mniejszy, analogicznie jak w niniejszej pracy [6]. Badania wykonane przez *Rywika i wsp.* w 1984 i 1988 r. wykazały pewną poprawę w zakresie częstości palenia papierosów przez mężczyzn. Nie obserwowano korzystnych tendencji w tym zakresie w populacji kobiet. W 1988 r. nadal 52% mężczyzn i 36% kobiet w średnim wieku pozostawało regularnymi palaczami [7]. W badaniu opisanym w niniejszej pracy, obejmującym 10 lat, korzystna tendencja w populacji kobiet była już istotna.

Nadciśnienie tętnicze występowało w podgrupie kobiet znamienne częściej niż w podgrupie mężczyzn. Z kolei w długofalowym badaniu PolMONICA standaryzowany odsetek nadciśnienia tętniczego w populacji ogólnej był istotnie wyższy u mężczyzn (35,8%) niż u kobiet (28,0%). Analiza regresji wielu zmiennych w tym badaniu wykazała w grupie kobiet istotny związek nadciśnienia tętniczego skurczowego z wiekiem i rodzinnym występowaniem nadciśnienia tętniczego [5]. W tymże badaniu nie wykazano związku nadciśnienia tętniczego z wiekiem w podgrupie kobiet z ChNS. Z kolei w podgrupie mężczyzn do nadciśnienia tętniczego predysponował starszy wiek. Rozbieżności mogą wynikać z faktu, że autorzy niniejszej pracy badali populację pacjentów z rozpoznaniem ChNS, a w cytowanej pracy analizowano czynniki ryzyka w populacji ogólnej. W kolejnych latach obserwacji wykazano istotny trend narastania częstości nadciśnienia tętniczego.

Płeć żeńska predysponowała również do otyłości, która wykazywała podobny trend narastający, tak jak nadciśnienie tętnicze; jej częstość rosła do 1988 r. w połączonej grupie mężczyzn i kobiet, jak również oddzielnie w grupie kobiet. W następnych latach, tzn. do 1992 r. obserwowano niewielką tendencję spadkową. Dane epidemiologiczne uzyskane w ramach badania PolMONICA, wskazują, że około 80% badanych osób z nadciśnieniem tętniczym ma nadwagę, a u ok. 70% mężczyzn i 60% kobiet można rozpoznać otyłość [14]. W populacji kobiet otyłość jest najczęstsza w wieku późnej dojrzałości i wczesnej starości, zwłaszcza u osób mieszkających w mieście czy wykonujących pracę obciążoną małym wydatkiem energetycznym. Z kolei u mężczyzn otyłość występuje już w okresie wczesnej dojrzałości, a zapadalność na otyłość nie wykazuje tak znacznego wzrostu w późniejszym okresie życia, jak to się dzieje u kobiet [15].

Z badań własnych wynika, że dyslipidemia występowała u jednej czwartej kobiet i mężczyzn z ChNS. Zaburzenia

lipidowe występowały częściej u młodszych kobiet i mężczyzn z ChNS, a częstość ich rozpoznawania zwiększała się w okresie 10 lat obserwacji. W badaniu PolMONICA u kobiet, wraz ze wzrostem wieku badanych obserwowano wzrost zarówno stężeń lipidów, jak również częstości występowania zaburzeń lipidowych; u mężczyzn natomiast istotnych trendów związanych z wiekiem nie stwierdzono [16]. W 1988 r., w porównaniu z danymi z 1984 r., pożądane stężenia lipidów stwierdzono zaledwie u 32% mężczyzn i 27% kobiet, natomiast zwiększył się znacznie odsetek osób z podwyższonymi wartościami aterogennych frakcji lipoprotein [7].

Hiperurykemia występowała blisko 2-krotnie częściej u mężczyzn niż kobiet. Wykazano istotny trend narastania hiperurykemii w latach 1983–1992 w badanej populacji mężczyzn i kobiet z ChNS.

Cukrzyca typu 2 występowała u 13,46% kobiet i u 13,93% mężczyzn. W analizie wieloczynnikowej płeć męska była słabym, lecz istotnym czynnikiem predysponującym do cukrzycy typu 2. Badania autorów niniejszej pracy potwierdziły istotny trend narastania częstości cukrzycy typu 2 i upośledzonej tolerancji glukozy w kolejnych latach obserwacji. Tendencji tej nie obserwowano dla cukrzycy typu 1. Istnieje tu pełna zgodność z faktami znanymi z wielu publikacji dotyczącymi epidemicznego narastania cukrzycy typu 2 w całej populacji, zwłaszcza u dorosłych po 35. r.ż. [17, 18]. Wiadomo również, że u około 25% osób ze stwierdzoną patologiczną tolerancją glukozy w przyszłości rozwinię się cukrzyca typu 2.

Dla obu płci częstość dodatniego wywiadu rodzinnego w kierunku ChNS wzrastała w kolejnych latach hospitalizacji. Być może świadczy to o tym, że lekarze zbierający dane przywiązywali coraz większą wagę do wywiadu rodzinnego.

Prawdopodobieństwo ChNS jest większe, jeśli u chorego współistnieje kilka czynników ryzyka. W kolejnych latach obserwacji wykazano wzrost ilości czynników ryzyka; w grupie kobiet był on istotnie szybszy niż w grupie mężczyzn.

U chorych z ChNS obserwowano łączne występowanie kilku czynników ryzyka. Nadciśnienie tętnicze występowało znamienne częściej u osób z otyłością, dyslipidemią, patologiczną tolerancją glukozy, cukrzycą typu 2 i hiperurykemią. Wymienione czynniki ryzyka wchodziły w skład zespołu X Reavena, obecnie częściej określanego mianem zespołu polimetabolicznego [19]. Częstość zespołu metabolicznego, oszacowanego na podstawie badania NATPOL III, obejmującego reprezentatywną grupę osób powyżej 18. r.ż. z terenu całej Polski wynosi 20,1%. Oznacza to, że co piąty Polak spełnia kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego. Przyspieszony rozwój zmian miażdżycowych w zespole polimetabolicznym wynika nie tylko z dyslipidemii, lecz jest również konsekwencją hiperurykemii, która stanowi niezależny czynnik ryzyka aterogenezy i jej następstw w układzie sercowo-naczyniowym. Proaterogenne działanie kwasu moczowego wynika z pobudzenia agregacji płytek krwi i uwalniania z nich mediatorów reakcji zapalnych

i amin biogennych uszkodzających śródbłonek naczyń. Wzrost stężenia kwasu moczowego przebiega równolegle ze zwiększeniem się masy ciała, a rozwój hiperurykემii u osoby otyłej pozostaje w związku z zaburzeniami lipidowymi, cukrzycą, nadciśnieniem tętniczym, stosowaną dietą i występowaniem dny w rodzinie [20]. Potwierdzają to wyniki niniejszej pracy, ponieważ otyłość współwystępowała z hiperurykემią.

Wnioski

1. Wzrost odsetka kobiet w populacji hospitalizowanych pacjentów z ChNS związany był z szybszym wzrostem ilości czynników ryzyka u kobiet niż u mężczyzn.

2. W 10-letnim okresie obserwacji wykazano istotny trend wzrostu częstości nadciśnienia tętniczego oraz zaburzeń metabolizmu lipidów, glukozy i kwasu moczowego wchodzących w skład zespołu metabolicznego.

3. Jako jedyne korzystne zmiany w profilu czynników ryzyka pacjentów z ChNS wykazano zmniejszenie częstości palenia papierosów u obu płci w latach 1983–1992 oraz niewielki spadek częstości występowania otyłości u kobiet w latach 1988–1992.

Piśmiennictwo

- Rywik S., Szostak W., Charzewska J. et al.: Zmiany poziomu czynników ryzyka po dwóch latach realizacji programu prewencji choroby wieńcowej w Polsce. Cz. I. Dynamika zmian w populacji generalnej. *Przegl. Lek.* 1981, 38 (11), 769–777.
- Rywik S., Szostak W., Kulesza W. et al.: Zmiany poziomu czynników ryzyka po dwóch latach realizacji programu prewencji choroby wieńcowej w Polsce. Cz. II. Dynamika zmian w grupie obciążonej wysokim ryzykiem. *Przegl. Lek.* 1981, 38 (11), 779–785.
- Tendera M., Kozakiewicz K., Bartnik M., Malecka-Tendera E.: Występowanie głównych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w grupie 41 927 osób objętych akcją prewencji pierwotnej w Polsce Południowej (Southern Poland Epidemiological Survey – SPES). *Wiad. Lek.* 2001, 54 (5/6), 292–304.
- Szczęch R., Narkiewicz K., Bieniaszewski L. et al.: Ocena związku choroby wieńcowej i nadciśnienia tętniczego wśród 310 tysięcy uczestników akcji profilaktycznej „Mierz ciśnienie raz w roku”. *Pol. Prz. Kard.* 2003, 5 (2), 163–168.
- Broda G., Rywik S., Polakowska M.: Badanie długoterminowe PolMONICA-Warszawa: rozkład ciśnienia tętniczego w populacji oraz wpływ wybranych czynników na poziom ciśnienia. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1990, 84 (4), 253–263.
- Rywik S., Kupś W., Szczęsniewska D. et al.: Ocena związku między paleniem papierosów a występowaniem objawów choroby niedokrwiennej serca. *Przegl. Lek.* 1982, 38 (11), 799–803.
- Rywik S., Polakowska M., Broda G. et al.: Czy zmienia się stopień zagrożenia populacji Polski chorobą niedokrwinną serca? *Kardiol. Pol.* 1995, 42 (3), 213–220.
- Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; The fifth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNCV). *Arch. Intern. Med.* 1993, 153, 154–183.
- Second Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation*, 1994, 89, 3, 1329–1432.
- Tatoń J.: Patogeneza i klasyfikacja otyłości dla celów prewencji i leczenia. *Med. Metab.* 2003, 7 (4), 27–38.
- WHO Study Group on Diabetes Mellitus. Technical Report Series 727, WHO. Geneva 1985.
- Rywik S., Broda G., Szostak W.B. et al.: Polscreen 2002. Ogólnopolski program prewencji choroby wieńcowej. Założenia projektu. *Kardiol. Pol.* 2003, 58 (1), 64–65.
- Tomaszewski J.J., Hanzlik J.A., Donica H. et al.: Czynniki zagrożenia chorobą niedokrwinną serca. Region środkowo-wschodni Polski. *Kardiol. Pol.* 1994, 41 (7), 35–40.
- Rywik S.: Epidemiologia nadciśnienia tętniczego. *Terapia*, 1999, 9, 3–10.
- Nilsson P.: Nadciśnienie tętnicze i hiperlipidemia. In: Nadciśnienie tętnicze i choroby współistniejące. Ed.: L. Hanson. Via Medica, Gdańsk 1998, 29–36.
- Rywik S., Broda G., Wągrowaska H. et al.: Badania długoterminowe PolMONICA-Warszawa: rozkład lipidów w populacji oraz wpływ wybranych czynników na ich poziom. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1990, 84 (4), 241–252.
- Szybiński Z.: Polskie Wieloośrodkowe Badania nad Epidemiologią Cukrzycy (PWBEC) 1998–2000. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2001, 106 (3), 751–758.
- Luźniak P., Czech A., Tatoń J. et al.: Choroba niedokrwienności serca u chorych na cukrzycę typu 2 – częstość występowania i czynniki ryzyka. *Kardiol. Pol.* 2002, 56 (5), 500–509.
- Reaven G.M.: Syndrome X: 6 years later. *J. Intern. Med. Suppl.* 1994, 736, 13–22.
- Nowicki M.: Zaburzenia przemiany zasad purynowych i pirymidynowych. In: Interna. Eds: W. Januszewicz, F. Kokot. PZWL, Warszawa 2001, 3, 1185–1193.

DANUTA KARCZEWICZ, WOJCIECH LUBIŃSKI, KAROLINA PODBORĄCZYŃSKA-JODKO, EWA SPOZ

ODWARSTWIENIE SIATKÓWKI W OCZACH PO OPERACJI ZAĆMY METODĄ FAKOEMULSYFIKACJI

PSEUDOPHAKIC RETINAL DETACHMENT AFTER CATARACT SURGERY BY PHACOEMULSIFICATION

Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Danuta Karczewicz*

Summary

Purpose: To estimate the incidence and causes of pseudophakic retinal detachment after cataract surgery by phacoemulsification.

Patients: 105 patients (51 females, 54 males, age: 18–81 yrs) treated because of pseudophakic retinal detachment at the Department of Ophthalmology, Szczecin, between 2000 and 2004.

Method: Cataract surgery by phacoemulsification and intraocular lens implantation was performed in 105 eyes. Posterior chamber intraocular lenses were implanted in 102 eyes and anterior chamber intraocular lenses in 3 eyes.

Results: During four years of follow-up, pseudophakic retinal detachment was observed in 17.3% of eyes. The most frequent cause of pseudophakic retinal detachment was high myopia (16.2% of eyes) and Nd: YAG laser capsulotomy (7.6% of eyes). Diabetes was diagnosed in 10 patients (9.5%). Cerclage with a silicon band (58.9%), scleral buckling (26.7%) and primary pars plana vitrectomy (14.4%) were the surgical techniques used to treat pseudophakic retinal detachment. Anatomical success in 88% of eyes was achieved.

Conclusion: 1. The most frequent cause of pseudophakic retinal detachment were high myopia and Nd: YAG laser capsulotomy. 2. Retinal detachment surgery had a high anatomical success rate. 3. Patients with pseudophakia should be made aware of symptoms of retinal detachment because early recognition and prompt treatment result not only in anatomical success but also in good visual recovery.

Key words: retinal detachment – pseudophakia.

Streszczenie

Wstęp: Celem pracy była ocena częstości i przyczyn występowania odwarstwienia siatkówki w oczach pseudofakijnych po operacji zaćmy metodą fakoemulsyfikacji z wszczepem sztucznej soczewki wewnątrzgałkowej.

Material i metody: Od stycznia 2000 do kwietnia 2004 r. w Klinice Okulistycznej w Szczecinie hospitalizowano 105 osób (51 kobiet i 54 mężczyzn) w wieku od 18. do 81. r.ż. z odwarstwieniem siatkówki w oczach pseudofakijnych. Operacja zaćmy u tych osób była wykonana metodą fakoemulsyfikacji z wszczepem soczewki tylnokomorowej w 102 oczach i w 3 soczewki przedniokomorowej. Odwarstwienie siatkówki w oczach pseudofakijnych stanowiło 17,3% wszystkich odwarstwień siatkówki operowanych w tym czasie. Analizie poddano różne czynniki ryzyka przed-, śród- i pooperacyjne.

Wyniki: Najczęstszą przyczyną odwarstwienia siatkówki w oczach pseudofakijnych była wysoka krótkowzroczność, którą stwierdzono u 16,2% osób oraz kapsulotomia tylna laserem YAG, po wykonaniu której odwarstwienie siatkówki wystąpiło w 7,6% oczu. U 58,9% chorych wykonano opierścienie taśmą silikonową, u 27% wszczep segmentowy, a u 14,4% pacjentów przeprowadzono witraktomię. Przyłożenie siatkówki uzyskano w 88% operowanych oczu.

Wnioski: 1. Najczęstszą przyczyną odwarstwienia siatkówki w oczach pseudofakijnych po operacji zaćmy metodą fakoemulsyfikacji była wysoka krótkowzroczność i kapsulotomia tylna laserem YAG. 2. U pacjentów z odwarstwieniem siatkówki w oczach pseudofakijnych w wysokim procencie uzyskano przyłożenie siatkówki operowanych oczu. 3. Edu-

kacja pacjentów z pseudofakią odnośnie objawów odwarstwienia siatkówki jest szczególnie ważna u osób z wysoką krótkowzrocznością, u których wykonano kapsulotomię tylną laserem YAG.

H a s ł a: odwarstwienie siatkówki – pseudofakia.

Wstęp

Odwarstwienie siatkówki (o.s.) jest najpoważniejszym powikłaniem po operacji zaćmy. Według statystyk światowych w oczach pseudofakijnych o.s. występuje 0,6–1,7% w czasie 1 roku po operacji zaćmy i jest częstsze w porównaniu do oczu nieoperowanych, w których występuje od 0,0061–0,0179% ogólnej populacji. Za ryzyko wystąpienia odwarstwienia siatkówki w oczach pseudofakijnych najprawdopodobniej odpowiedzialne są zmiany w ciele szklistym, takie jak: tylne oddzielenie ciała szklistego po zabiegu operacyjnym oraz zmiany w zawartości kwasu hialuronowego [1, 2]. Według *Rowe i wsp.* ryzyko o.s. po operacji zaćmy jest 5,5 raza większe niż u osób, które nie były operowane [3].

W niniejszej pracy oceniano częstość i przyczyny występowania odwarstwienia siatkówki w oczach po operacji zaćmy metodą fakoemulsyfikacji z wszczepem sztucznej soczewki wewnątrzgałkowej.

Material i metody

Od stycznia 2000 r. do kwietnia 2004 r. w Klinice Okulistyki w Szczecinie hospitalizowano 105 osób (51 kobiet i 54 mężczyzn) w wieku od 18. do 81. r.ż. (średnia wieku 64 lata) z odwarstwieniem siatkówki w oczach pseudofakijnych. Operacja zaćmy w 102 oczach była wykonana metodą fakoemulsyfikacji z tylnokomorowej, a w 3 oczach wszczepem soczewki przedniokomorowej. Zabieg usunięcia zaćmy w Klinice Okulistyki PAM wykonano u 63 osób. Stanowiły one 0,7% wszystkich osób, u których wykonano zabieg usunięcia zaćmy metodą fakoemulsyfikacji (8934 osób) w tym czasie, a 42 osoby miały wykonany zabieg usunięcia zaćmy w innych ośrodkach w kraju.

Wyniki

Wiek osób z odwarstwieniem siatkówki przedstawiono w tabeli 1, czas, po którym wystąpiło odwarstwienie siatkówki po operacji zaćmy – w tabeli 2, natomiast rozległość odwarstwienia siatkówki w tabeli 3.

W 17 oczach u 17 osób stwierdzono wysoką krótkowzroczność (16,2%), u 10 osób (9,5%) cukrzycę, a w 9 oczach u 9 osób (7,6%) była wykonana kapsulotomia tylna za pomocą lasera Nd YAG. Czynniki ryzyka śródoperacyjne, które mogłyby mieć wpływ na wystąpienie o.s. u tych chorych,

Tabela 1. Wiek osób z odwarstwieniem siatkówki

Table 1. Age of patients with retinal detachment

Wiek w latach Age (years)	Liczba osób Number of patients	
	n	%
< 20	2	1,9
21–30	3	2,8
31–40	1	0,9
41–50	10	9,5
51–60	18	17,1
61–70	31	29,5
71–80	37	35,2
> 80	3	2,8

Tabela 2. Czas wystąpienia odwarstwienia siatkówki po operacji zaćmy

Table 2. Time of retinal detachment occurrence after cataract surgery

Czas (lata) Time (years)	Liczba osób Number of patients	
	n	%
< 1	41	39,0
1	25	23,8
2	10	9,5
3	10	9,5
4	5	4,7
5	2	1,9
> 5	12	11,4

Tabela 3. Rozległość odwarstwienia siatkówki

Table 3. Extent of retinal detachment

kwadranty quadrants	Liczba oczu / Number of eyes	
	n	%
4	34	32,4
2	50	47,6
1	21	20,0

to nieplanowane przerwanie tylnej torebki soczewki u 7 chorych (6,7%), tylna kapsulotomia planowana u 1 chorego (0,9%) oraz upływ ciała szklistego w czasie zabiegu u 7 chorych (6,7%). Zabiegi operacyjne przyłożenia odwarstwionej siatkówki wykonano w 90 oczach, w 53 (58,9%) opasanie gałki ocznej taśmą silikonową, wszczep segmentowy w 24 oczach (27%) oraz w 13 oczach witrektomię (14,4%). Po 6 zabiegach wszczepów segmentowych siatkówka nie przyłożyła się, dlatego też w 5 oczach wykonano opasanie gałki ocznej, a w 1 oku witrektomię.

Dyskusja

Odwarstwienie siatkówki w materiale własnym wystąpiło w 0,7% oczu spośród ogólnej liczby 8934 wykonanych w tym czasie zabiegów usunięcia zaćmy metodą fakoemulsyfikacji, co jest zgodne z doniesieniami innych autorów [1, 3, 4, 5, 6, 7]. Stanowiło ono 17,3% wszystkich

odwarstwień siatkówki operowanych w tym czasie. Wśród przedoperacyjnych czynników ryzyka o.s. wymienia się: płeć, wiek, wysoką krótkowzroczność. Niektórzy autorzy uważają, że płeć nie ma wpływu na występowanie o.s., natomiast inni, że o.s. występuje częściej u mężczyzn. U osób operowanych o.s. wystąpiło 2,8% częściej u mężczyzn niż u kobiet. Częstość występowania o.s. wzrastała wraz z wiekiem. W przedziale wieku 21–30 lat wystąpiła u 1,9% operowanych chorych, natomiast w przedziale wieku 71–80 lat u 35%. Część autorów jest zdania, że o.s. w oczach pseudofakijnych występuje częściej u osób młodych, inni zaś, że częstość o.s. wzrasta wraz z wiekiem [1, 3, 7, 8]. Powszechnie wiadomo, że ryzyko o.s. w oczach krótkowzrocznych jest większe niż w oczach miarowych. Według *Claymana i wsp.* ryzyko o.s. w oczach pseudofakijnych u osób z długością gałki powyżej 25 mm wzrasta 6,5 razy w porównaniu z osobami z krótszą długością gałki ocznej [9]. W materiale własnym osoby z krótkowzrocznością wysoką stanowiły 17% wszystkich pacjentów z o.s.. Ryzyko o.s. zależy od powikłań śródoperacyjnych, między innymi od nieplanowanego przedarcia tylnej torebki soczewki, upływu ciała szklistego. Liczni autorzy podają, że przedarcie tylnej torebki soczewki w czasie zabiegu operacyjnego zwiększa ryzyko wystąpienia o.s. nawet trzykrotnie. Podobne przerwanie błony granicznej przedniej ciała szklistego wiąże się z 4-krotnym zwiększeniem ryzyka o.s. Natomiast według *Smitha i wsp.* [8] upływ ciała szklistego w czasie zabiegu nie ma wpływu na wystąpienie o.s. [1, 7]. Wśród badanych pacjentów w 6,7% zabieg operacyjny zaćmy był powikłany przerwaniem tylnej torebki soczewki i w 6,7% upływem ciała szklistego.

Głównymi czynnikami pooperacyjnymi mogącymi mieć wpływ na wystąpienie o.s. w oczach pseudofakijnych jest kapsulotomia tylna laserem YAG. Obserwacje wielu autorów wykazały, że kapsulotomia laserem YAG wiąże się nawet z 4-krotnym wzrostem ryzyka wystąpienia o.s. w oczach pseudofakijnych [1, 7, 8, 10]. W grupie badanych chorych 7,8% osób miało wykonaną kapsulotomię laserem YAG.

U 39% chorych o.s. wystąpiło w okresie pierwszego roku po zabiegu operacyjnym, co jest zgodne z doniesieniami innych autorów [1, 11]. Obraz kliniczny o.s., podobnie jak u *Dalkowskiej i wsp.* [11] oraz *Juna i wsp.* [12] nie różnił się od typowego reumatogennego o.s. Najczęściej było to odwarstwienie całkowite – 34%, w 28% dotyczyło 2 dolnych kwadrantów i w 16,2% kwadrantów górnych. W materiale *Pournarasa i Kapetianiosa* odwarstwienie siatkówki dotyczyło najczęściej kwadrantu górnostronowego [13].

W oczach pseudofakijnych z o.s. istnieją trudności ze znalezieniem otworu. Dominują otwory małe, często zlokalizowane do przodu od równika blisko rąbka zębatego. Znalezienie otworu jest utrudnione słabym rozszerzeniem źrenicy, zmianami w szklisce, zwłóknieniem przedniej i tylnej torebki soczewki, pozostałościami mas soczewkowych, aberracją spowodowaną sztuczną soczewką. W badaniach własnych nie znaleziono u 8% chorych. Najczęstszym zabie-

giem wykonywanym u tych pacjentów było opierścienienie taśmą silikonową w 58,9% oczu, następnie wszczep segmentowy u 26,7% oraz witrektomia w 14,4% oczu. Przyłożenie anatomiczne siatkówki po pierwszym zabiegu uzyskano w 82% oczu, natomiast po drugim w 88% oczu. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy; *Dalkowska i wsp.* [11] uzyskali wynik w 83%, pomimo obecności proliferacji szklisko-siatkówkowych u wszystkich chorych, *Jun i wsp.* [12] w 95% w oczach pseudofakijnych i 88% afakijnych, *Pournararas i Kapetianos* u 92% chorych, podobnie *Wu i wsp.* [14] u 92% oraz *Ranta i Kivelä* [10] u 91% operowanych chorych [2, 6, 9, 10, 12].

Analizując czynniki ryzyka o.s. w oczach pseudofakijnych, autorzy wcześniejszych badań stwierdzili, że najczęstszą przyczyną przedoperacyjną o.s. była wysoka krótkowzroczność, śródoperacyjną – przerwanie tylnej torebki soczewki i upływ ciała szklistego. Natomiast najczęstszym pooperacyjnym czynnikiem ryzyka była kapsulotomia tylna laserem YAG. Liczba o.s. wzrastała wraz z wiekiem operowanych chorych.

Wnioski

1. Najczęstszą przyczyną odwarstwienia siatkówki w oczach pseudofakijnych po operacji zaćmy metodą fakoemulsyfikacji była wysoka krótkowzroczność oraz kapsulotomia tylna laserem YAG.

2. U pacjentów z o.s. w oczach pseudofakijnych uzyskano przyłożenie siatkówki w wysokim procencie operowanych oczu.

3. Edukacja pacjentów z pseudofakią odnośnie objawów o.s. jest szczególnie ważna u osób z wysoką krótkowzrocznością, u których wykonano kapsulotomię tylną laserem YAG.

Piśmiennictwo

1. *Lois N., Wong D.*: Pseudophakic retinal detachment. *Surv. Ophthalmol.* 2003, 48, 467–487.
2. *Sharma M.C., Chan P., Kim R.U., Benson W.E.*: Rhegmatogenous retinal detachment in the fellow phakic eyes of patients with pseudophakic rhegmatogenous retinal detachment. *Retina*, 2003, 23, 37–40.
3. *Rowe J.A., Erie J.C., Baratz K.H. et al.*: Retinal detachment in Olmsted County, Minnesota, 1976 through 1995. *Ophthalmology*, 1999, 106, 154–159.
4. *Clayman H.M., Jaffe N.S., Light D.S.*: Intraocular lenses avial length and retinal detachment. *Am. J. Ophthalmol.* 1981, 92, 778–780.
5. *Jaffe N.S., Clayman H.M., Jaffe M.S.*: Retinal detachment in myopic eyes after intracapsular and extracapsular cataract extraction. *Am. J. Ophthalmol.* 1984, 97, 48–52.
6. *Javitt J.C., Vitale S., Canner J., Krakauer H., Mc Bean M., Sommer A.*: National outcomes of cataract extraction. Retinal detachment after inpatient surgery. *Ophthalmology*, 1991, 98, 895–902.
7. *Javitt J.C., Vitale S., Canner J.K.*: National outcomes of cataract extraction, increased risk of retinal complications associated with Nd – YAG. Laser capsulotomy. The cataract patient outcomes research team. *Ophthalmology*, 1992, 99, 1487–1498.

8. *Smith P.W., Stark W.J., Maumenee A.E., Enger C.L., Michels R.G., Gleser B.M.*: Retinal detachment after extracapsular cataract extraction with posterior chamber intraocular lens. *Ophthalmology*, 1987, 94, 495–504.
9. *Karczewicz D., Andrzejewska W., Turczynowska T.*: Wyniki leczenia odwarstwienia siatkówki w oczach afakijnych i pseudofakijnych. *Klin. Ocz.* 1999, 101, 91–101.
10. *Ranta P., Kivelä T.*: Functional and anatomic outcome of retinal detachment surgery in pseudophakic eyes. *Ophthalmology*, 2002, 109, 1432–1439.
11. *Dalkowska A., Pecold K., Cieślińska K.*: Odwarstwienie siatkówki w pseudofakii. *Klin. Ocz.* 1993, 95, 380–383.
12. *Jun B.Y., Shin J.P., Kim S.Y.*: Clinical characteristics and surgical outcomes of pseudophakic and aphakic retinal detachments. *Korean J. Ophthalmol.* 2004, 18, 58–64.
13. *Pournaras J., Kapetanios A.D.*: Primary vitrectomy for pseudophakic retinal detachment: a prospective non-randomized study. *Eur. J. Ophthalmol.* 2003, 3, 298–306.
14. *Wu W.Ch., Chen M.T., Hsu S.Y., Chang Ch.W.*: Management of pseudophakic retinal detachment with undetectable retinal breaks. *Ophthalmic Surg. Lasers*, 2002, 33, 314–318.

Komentarz

Praca porusza bardzo ważny problem, jakim jest odwarstwienie siatkówki powstające w różnym czasie od przebytej operacji usunięcia zaćmy. Odwarstwienie siatkówki to jedno z najcięższych schorzeń oka. Występuje ono na szczęście dosyć rzadko, dotykając od 0,006% do 0,0179% ogólnej populacji ludzi. Istnieje jednak szereg czynników sprzy-

jających powstawaniu odwarstwienia siatkówki i za jeden z nich uważana jest operacja usunięcia zaćmy. W miarę udoskonalania technik operacyjnego usuwania zmętniałej soczewki spodziewać się można było, że odwarstwienie siatkówki, występujące jako późne następstwo zabiegu, zostanie całkowicie wyeliminowane.

Z roku na rok wzrasta liczba osób operowanych z powodu zaćmy. O ile doskonaląc stale technikę operacyjną można mieć nadzieję, że zmniejszy się wpływ samej operacji na częstość powstawania odwarstwień siatkówki, to jednak na główne obciążenie prognostyczne tego stanu, jakim jest wysoka krótkowzroczność, współczesna medycyna nadal nie ma wpływu. Pocieszeniem może być fakt, że chirurgia odwarstwień, dzięki zastosowaniu nowych materiałów, jak i technik operacyjnych, pozwala uzyskać coraz lepsze wyniki. Prawie 90% operowanym z powodu odwarstwienia siatkówki chorym udaje się przywrócić zadowalającą lub przynajmniej wystarczającą ostrość wzroku. Za bardzo ważne uważam, zgodnie z autorami pracy, instruowanie pacjentów zagrożonych odwarstwieniem o konieczności prowadzenia oszczędzającego trybu życia (nie dźwiganie ciężarów, nie pochylanie się, nie zeskakiwanie ze schodów) oraz natychmiastowe zgłoszenie się do okulisty w momencie zauważenia np. błysków przed okiem, uporczywie krążących przed okiem ciemnych punktów, ewentualnie pojawienia się zasłony nasuwającej na pole widzenia.

prof. dr hab. n. med. *Wanda Andrzejewska*

MONIKA MODRZEJEWSKA

ZASTOSOWANIE TECHNIK ULTRASONOGRAFICZNYCH W DIAGNOSTYCE RETINOPATII WCZEŚNIACZEJ

THE USE OF ULTRASONOGRAPHIC TECHNIQUES FOR THE DIAGNOSIS OF RETINOPATHY OF PREMATURITY

Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Danuta Karczewicz*

Summary

Introduction: Ultrasonographic techniques are commonly used for the imaging of various tissue structures and organs, including the eyeball and orbit. The non-invasive ultrasound imaging is safe for the patient and may be repeated after a short time unlike in the case of other radiological techniques. In pediatric ophthalmology, ultrasonography plays a major role as an auxiliary examination for the diagnosis of various intraocular diseases, pathologies of the retina and choroid, and retrolbulbar conditions. Ultrasonography is of major importance in diagnosing eye disorders associated with opacity preventing visual inspection of the posterior eye segment.

Methods: Among ultrasonographic techniques in pediatric ophthalmology the most frequently used are B-scan, A-scan, and Doppler ultrasonography. Because of the resolution of ultrasonographic methods in comparison to radiological techniques, they play an important role in monitoring the dynamics of pathological processes in retinopathy of prematurity (ROP). Other radiological methods such as CT, MRI or subtractive angiography do not offer a detailed view of retinal attachment or vitreo-retinal proliferation.

Conclusion: Ultrasonography as an auxiliary examination at subsequent stages of ROP helps to document the changes and in case of corneal opacity connected with progression of vitreo-retinal abnormalities is the basis for the diagnosis.

Key words: retinopathy of prematurity – A and B scan ultrasonography – Doppler ultrasonography – use of ultrasonographic method in pediatric ophthalmology.

Streszczenie

Wstęp: Techniki ultrasonograficzne są powszechnie używanymi metodami obrazowania struktur wielu tkanek i narządów, w tym gałki ocznej i oczodołu. Metody te są nieinwazyjne, bezpieczne dla pacjenta i powtarzalne w krótkim czasie w porównaniu do innych technik radiologicznych. W okulistyce dziecięcej ultrasonografia w czasie rzeczywistym odgrywa istotną rolę jako badanie pomocnicze w diagnozowaniu schorzeń siatkówki, błony naczyniowej i oczodołu.

Celem pracy było przedstawienie użycia wybranych technik ultrasonograficznych w okulistyce dziecięcej, głównie w retinopatii wcześniaczej.

Metody: Wśród technik wykorzystujących fale ultradźwiękowe w okulistyce dziecięcej najszersze zastosowanie znajdują: ultrasonografia w projekcji B i A oraz ultrasonografia dopplerowska. Metody ultrasonograficzne, ze względu na uzyskiwaną rozdzielczość obrazu niespotykaną w innych technikach radiologicznych, mają duże znaczenie w monitorowaniu dynamiki zmian chorobowych w przebiegu retinopatii wcześniaczej. Inne badania radiologiczne, takie jak tomografia magnetycznego rezonansu, tomografia komputerowa oraz angiografia subtrakcyjna, nie pozwalają na szczegółowe obrazowanie przyłożenia siatkówki ani też ocenę szklistkowo-siatkówkowych zmian proliferacyjnych.

Wnioski: W kolejnych stadiach retinopatii wcześniaczej ultrasonografia, jako badanie dodatkowe, pozwala na archiwizację zmian chorobowych, a w przypadku nieprzeziernych ośrodków optycznych umożliwia potwierdzenie właściwego rozpoznania. Ze względu na zalety tego badania,

jakim są dostępność, łatwość wykonania oraz bezpieczeństwo stosowania, ultrasonografia w projekcji B pozostaje nadal pierwszym w kolejności badaniem diagnostycznym w okulistyce dziecięcej.

H a s ł a: retinopatia wcześniaków – ultrasonografia w projekcji A i B – ultrasonografia dopplerowska – stosowanie metod ultradźwiękowych w okulistyce dziecięcej.

Wstęp

Ultrasonografia jest techniką obrazowania struktur tkankowych za pomocą fal ultradźwiękowych o częstotliwości powyżej 1600 Hz. W ośrodkach ciała ludzkiego, podczas przechodzenia ultradźwięków przez tkankowe struktury stałe i płynne, wykorzystywane są różne zjawiska fizyczne, które powodują stopniowe zmniejszanie energii fali w celu uzyskania obrazu danego narządu. W ośrodkach tkankowych ultradźwięki ulegają odbiciu, rozproszeniu, zagięciu i pochłonięciu, uzyskując końcową prędkość w środowisku cieczy wodnistej i w ciele szklistym oka 1532 m/s, w soczewce 1641 m/s, w twardówce 1630 m/s, a w tkance tłuszczowej 1450 m/s. Po odbiciu ultradźwięków od struktur oka dochodzi do zmniejszenia mocy wyemitowanej wiązki ultradźwiękowej, która przemieszczając się w kierunku oczodołu, stopniowo zanika. Obraz tkanki lub narządu otrzymany na ekranie monitora jest obrazem rzeczywistym, w różnych odcieniach szarości. Do oceny przepływu krwi w naczyniach krwionośnych oka i oczodołu wykorzystuje się metody ultrasonografii dopplerowskiej. W badaniu tym wykorzystuje się zmianę częstotliwości fali ultradźwiękowej odbitej od poruszających się krwinek czerwonych. Obraz przepływu naczyniowego, który powstaje, jest przedstawiany w czasie rzeczywistym, w skali szarości lub w skali barwnej, jeśli badanie jest wykonywane w opcji koloru [1, 2].

W medycynie okulistycznej zastosowanie ultradźwięków datuje się na rok 1956 i 1958, kiedy to po raz pierwszy Mundt i Hages wykorzystali prezentację A do badania gałki ocznej, a Bum i Greenwood prezentację B do obrazowania struktur oka [2]. W okulistyce wykorzystuje się badanie ultradźwiękowe w projekcji A, w projekcji B oraz technikę badań dopplerowskich. Ultrasonografię typu A stosuje się do obrazowania echa struktur znajdujących się wzdłuż jednej prostej, prezentacja B obrazuje echa odbite od struktur leżących wzdłuż jednej płaszczyzny, a badanie dopplerowskie służy ocenie echa odbitego od powierzchni erytrocytów przepływających we krwi. Zdecydowanie rzadziej w diagnostyce okulistycznej używana jest metoda ultrasonograficzna Power Doppler, w której wykorzystywane są echa z energii odbitej od powierzchni krwinek czerwonych. Być może w przyszłości zastosowanie znajdzie ultrasonografia typu C, w której echa uzyskuje się ze skanowania wiązki ultradźwiękowej z całej powierzchni badanego narządu. Różne wymagania związane z klinicznym zastosowaniem ultradźwięków spo-

wodowały konieczność stosowania różnego rodzaju i różnej częstotliwości głowic. Stąd też w badaniach okulistycznych do obrazowania tkanek oka i oczodołu najczęściej stosuje się głowice sektorowe lub liniowe o częstotliwości od 7,0 do 10,0 MHz, natomiast wyższe częstotliwości głowic od 15–50 MHz używa się do badania odcinka przedniego oka zgodnie z zasadą: im wyższa częstotliwość tym mniejsza penetracja wiązki ultradźwiękowej. Zgodnie z normami bezpieczeństwa zalecanymi przez Brytyjskie Towarzystwo Ultrasonografii Medycznej i Amerykański Instytut Ultrasonografii w medycynie moc akustyczna głowicy nie powinna przekraczać 10^5 W/m³. Używanie tej częstotliwości głowic pozwala uniknąć późnych powikłań ubocznych działania wysokich dawek ultradźwięków na tkanki oka. Wysokie częstotliwości głowic znajdują zastosowanie do diagnostyki klinicznej schorzeń rogówki, komory przedniej oka, tęczówki, ciała rzęskowego, soczewki oraz kąta przesączania z kanałem Schlemma [1, 2, 3].

Zastosowanie technik ultrasonograficznych w okulistyce dziecięcej

Ultrasonografia typu B (*B scan-ultrasonography* – USG-B) jest często używaną dodatkową metodą diagnostyczną, stosowaną do oceny tylnego odcinka oka u dzieci i noworodków, szczególnie w przypadkach zmętniałych ośrodków optycznych, które uniemożliwiają wgląd na dno oka. Metoda ta jest wykorzystywana do wykrywania mas pozasoczewkowych, patologii guzowych, wylewów krwi w tylnym odcinku oka lub pozostałości naczyniowych w ciele szklistym. W przypadku zmian pourazowych jest to metoda pomocna w rozpoznawaniu ciał obcych zlokalizowanych wewnątrzgałkowo oraz w ścianie gałki ocznej. Inne zastosowanie badania ultrasonograficznego w projekcji B w okulistyce dziecięcej to: ocena zmian siatkówkowych przyłożenia siatkówki (rozwarstwienie i odwarstwienie siatkówki), ocena zmian wewnątrzgałkowych i obserwacja dynamiki tych zmian, obrazowanie wad rozwojowych tarczy nerwu wzrokowego (szczelina tarczy n II, druzdy tarczy pierwotnego II), wykrywanie zmian w ciele szklistym (przetrwałe pierwotne hyperplastyczne ciało szkliste, choroba Coatsa oraz rejestracja zmian chorobowych w przebiegu toksokarozy ocznej). Obrazowanie niektórych wad rozwojowych oka jest możliwe jedynie dzięki rozdzielczości otrzymanej w obrazie USG. Inne badania radiologiczne, takie jak tomografia magnetycznego rezonansu, tomografia komputerowa oraz angiografia subtrakcyjna nie pozwalają na szczegółowe obrazowanie przyłożenia siatkówki ani też na ocenę szklistkowo-siatkówkowych zmian proliferacyjnych [4, 5]. W przypadku dzieci urodzonych przedwcześnie w diagnostyce zmian okulistycznych u wcześniaka znajdują zastosowanie wszystkie opisane techniki ultrasonograficzne. W przebiegu retinopatii wcześniaczej najczęściej wykorzystuje się ultrasonografię typu B. Badanie to ma znaczenie w wykrywaniu, monitorowaniu przebiegu i dokumentowa-

niu zmian siatkówkowych i szkliskowych. Ultrasonografia typu A znajduje najczęściej zastosowanie do wykonywania biometrii gałki ocznej, co ma istotne znaczenie do określenia długości gałki w trakcie dojrzewania dziecka lub określenia braku wzrostu gałki w przypadku wad rozwojowych (małocze) bądź zatrzymania rozwoju gałki w przypadku zmniejszenia jej objętości, np. po operacjach chirurgicznych czy w stanach pourazowych oka. Czasami ultrasonografię w projekcji A wykorzystuje się jako metodę pomocniczą dla badania w projekcji B, szczególnie do różnicowania zmian guzowych wewnątrzgałkowych oraz zmian o wzmożonej echogeniczności wypełniających szkliskę. W tych przypadkach ultrasonografia w projekcji A uzupełnia badanie ultrasonograficzne B [3, 5, 6]. Badanie dopplerowskie wykonywane w schorzeniach okulistycznych dziecięcych jest uzupełnieniem badania ultrasonograficznego typu A i B, a w przypadkach wątpliwych diagnostycznie pozwala na bardziej szczegółową diagnostykę wad rozwojowych, guzów naczyniowych, krwotocznych i zmian torbielowatych gałki ocznej i oczodołu [7, 8, 9, 10]. Innym zastosowaniem ultrasonografii dopplerowskiej jest ocena przepływu krwi w naczyniach krwionośnych gałki ocznej w różnych schorzeniach okulistycznych o podłożu naczyniowym, w tym również w retinopatii wcześniaczej. Istnieją różne teorie co do zachowania się krążenia gałkowego w naczyniach oka, w przebiegu tego schorzenia jednak nie są one jednoznaczne. W piśmiennictwie, według niektórych autorów, ocenia się wzrost przepływu krwi w tętnicy środkowej siatkówki w przebiegu retinopatii wcześniaczej (ROP), a według innych przepływ ten pozostaje niezmienny mimo progresji zmian chorobowych. Nie obserwuje się również zmian w oporze obwodowym w tej tętnicy mimo oceny przepływu w różnych fazach czynnych rozwoju tej choroby [10, 11].

Metoda wykonywania badania ultrasonograficznego

Badanie ultrasonograficzne typu B jest metodą nieinwazyjną, bezpieczną dla małego pacjenta, a możliwość wielokrotnego powtarzania pozwala na dokładną diagnostykę schorzeń oka i ich monitorowania. Ma to szczególne znaczenie w badaniu retinopatii wcześniaczej. Badanie ultrasonograficzne u wcześniaków powinno być wykonywane po uprzednim uzyskaniu zgody od rodziców badanych dzieci. Do jego wykonania nie jest wymagane specjalne przygotowanie dziecka. Nie jest potrzebne rozszerzenie źrenic środkami mydriatycznymi ani też zastosowanie znieczulenia ogólnego czy miejscowego. Podczas badania dziecko jest ułożone w pozycji leżącej i pozostaje pod opieką pielęgniarki oraz rodziców. Głowicę ultradźwiękową o częstotliwości 10 MHz przykładana się poprzez warstwę żelu metylcelulozowego przeznaczonego do badań USG na gałce ocznej dziecka, przy zamkniętej powiece, nie wywierając na nią ucisku. Podczas badania oceniana jest siatkówka w części nosowej oraz skroniowej górnej i dolnej, okolica bieguna

tylnego, tarcza nerwu wzrokowego, komora ciała szklistego, a także odcinek pozagałkowy. Otrzymane obrazy ultrasonograficzne rejestrowane są w czasie rzeczywistym i przedstawiane w postaci zdjęć czarno-białych lub w kolorze [3, 10, 12].

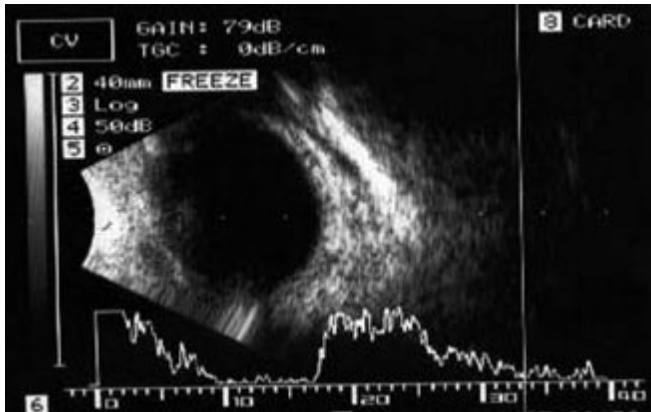
Zastosowanie badań ultrasonograficznych w diagnostyce ROP

Pierwsze doniesienie o zastosowaniu techniki ultrasonograficznej w okulistyce dziecięcej w diagnostyce tego schorzenia ukazało się w 1974 r. [2]. Pierwotnie dotyczyło ono wykonywania ultrasonografii w 4. i 5. stadium retinopatii wcześniaczej. Od kilkudziesięciu lat rozwój technik ultrasonograficznych i wzrost częstości występowania zmian chorobowych w retinopatii wcześniaczej w populacji dzieci przedwcześnie urodzonych spowodował większe zainteresowanie tą techniką badawczą. Na świecie metoda ta jest powszechnie stosowana w okulistyce dziecięcej. Znaczenie tej techniki w diagnostyce okulistycznej jest istotne ze względu na brak dostępności do innych nieinwazyjnych metod diagnostycznych w ośrodkach badających dzieci wcześniacze. Podstawowym badaniem w rozpoznawaniu retinopatii wcześniaczej pozostaje nadal badanie oftalmoskopowe za pomocą pośredniego badania dna oka wziernikiem Fisona. Badanie ultrasonografii typu B jest uzupełnieniem badania pośredniego w wykrywaniu bądź potwierdzaniu zmian chorobowych oraz w określaniu dynamiki rozpoznanych zmian siatkówkowo-naczyniowych. Szczególnie istotne jest znaczenie tego badania w ocenie tylnego odcinka oka w przypadku nieprzeziernych ośrodków optycznych u dziecka spowodowanych zmętnieniem rogówki, soczewki czy wylewem krwi w tylnym odcinku oka. W niektórych ośrodkach okulistycznych do oceny i obrazowania siatkówki dostępne są nowoczesne techniki komputerowe typu Ret-Cam120, jednak ze względu na wysoką cenę nie znalazły zastosowania w codziennej praktyce [13].

Zastosowanie ultrasonografii B w ocenie dynamiki zmian w retinopatii wcześniaczej jest możliwe już od pierwszych dni po urodzeniu dziecka. Zgodnie z wytycznymi Ministerstwa Zdrowia pierwsze badanie okulistyczne u dzieci urodzonych przedwcześnie wykonuje się w 4. tygodniu życia i w tym okresie życia dziecka można już wykonać badanie ultrasonograficzne. Kolejne badania ultrasonograficzne mogą być wykonywane w 8. i 12. tygodniu życia dziecka razem z badaniem oftalmoskopowym dna oka.

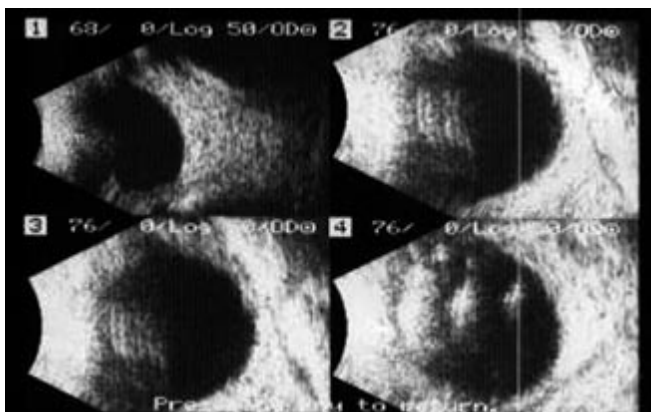
W retinopatii wcześniaczej, zgodnie z międzynarodową klasyfikacją klinicznych zmian tej choroby, wyróżnia się dwie fazy: czynną i regresji. W fazie czynnej wyróżnia się pięć stopni zmian chorobowych następujących kolejno po sobie. Stopień 1 określa obecność tak zwanej linii demarkacyjnej. Jest to szara, płaska linia widoczna na granicy między unaczynioną i nieunaczynioną siatkówką. Do linii tej dochodzą miotłkowato rozszerzone i kręte naczynia siatkówki, które rozpoczynają się na tarczy nerwu wzroko-

wego. W tym stadium ROP w badaniu ultrasonograficznym najczęściej nie obserwuje się zmian w obrazie struktur tkanekowych oka. Siatkówka jest przyłożona, a w ciele szklistym nie stwierdza się zmian chorobowych lub rzadko obserwuje się pojedyncze męty [3, 5, 6, 12, 14, 15].



Ryc. 1. ROP 1 w obrazie USG-B. Siatkówka przyłożona
Fig. 1. Stage 1 of ROP in B scan ultrasound. Attached retina

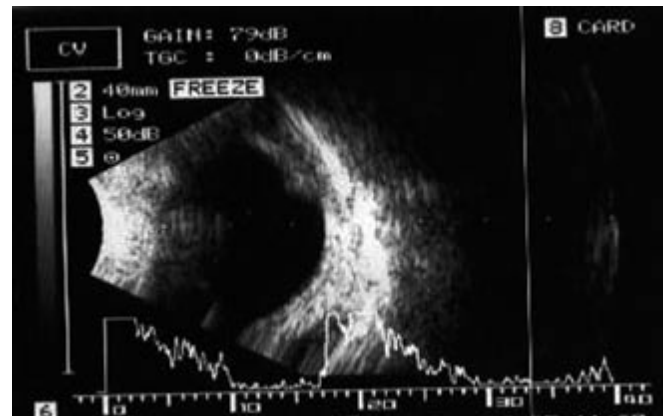
W stadium 2 ROP dochodzi do tworzenia w obwodowej siatkówce nieunaczynionej szerokiej strefy w postaci jej niewielkiego uniesienia ponad poziom siatkówki. Jest to tzw. wał siatkówki. W tym stadium w obrazie ultrasonograficznym najczęściej nie obserwuje się zmian siatkówkowych i szkliskowych, czasami jednak można zaobserwować obrzęk obwodowej siatkówki widoczny w postaci jej zgrubienia, odpowiadający ocenie klinicznej. Jest to zgodne z obserwacjami innych autorów [3, 5, 6, 12, 14, 15].



Ryc. 2. Drugie stadium ROP w obrazie USG-B. Niewielkiego stopnia uniesienie obwodowej części siatkówki widoczne w postaci jej pogrubienia ze wzmocnieniem akustycznego echa
Fig. 2. Stage 2 of ROP in B scan ultrasound. Slight elevation of peripheral part of retina visible as its thickening associated with increased echo

Stadium 3 ROP to dalsze unoszenie wału obwodowej siatkówki, któremu może towarzyszyć rozrost włóknisto-naczyniowych proliferacji (stadium 3A bez proliferacji i 3B z proliferacjami). W badaniu ultrasonograficznym w projekcji B zmiany siatkówkowe widoczne są w postaci znacznego pogrubienia i uniesienia siatkówki w miejscu wału na obwodzie dna oka. W szklistce mogą pojawić się

zmiany proliferacyjne w postaci pojedynczych lub mnogich ciągów szkliskowo-siatkówkowych oraz zmętnienia tylnej szklistki najczęściej w wyniku wylewów przedsiatkówkowych i podsiatkówkowych w przebiegu aktywnej postaci choroby (obecność objawu plus). Czasami w stadium 3B ROP mogą być widoczne w obrazie ultrasonograficznym zmiany zapalne w tylnej szklistce w postaci zwiększenia echogeniczności w tylnej części ciała szklistego, odłączenia tylnej szklistki i pojawienia się mętów o różnym kształcie. Wylew krwi do szklistki widoczny jest w postaci ograniczonych lub rozproszonych mas o zwiększonej echogeniczności, najczęściej ruchomych, zmieniających położenie w zależności od zmiany kierunku ustawienia gałki ocznej [3, 5, 6, 12, 14, 15].



Ryc. 3. Trzecie stadium ROP w obrazie USG-B. Widoczny wyraźny wał uniesionej siatkówki, pojedyncze ciągi proliferacyjne i zmiany zapalne w tylnej szklistce

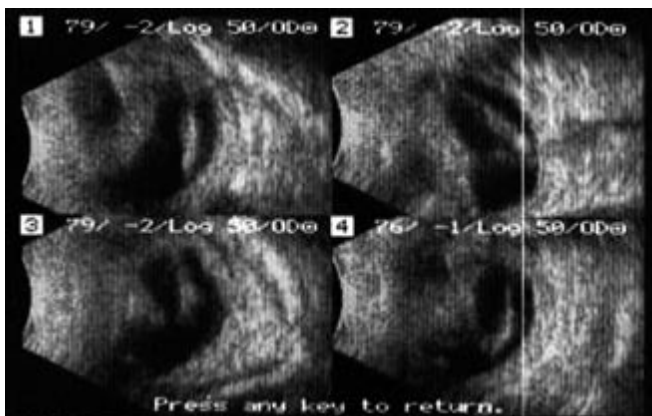
Fig. 3. Stage 3 of ROP in B scan ultrasound. Rim of elevated retina clearly visible with scattered proliferative changes and posterior vitritis

Stadium 4 ROP to niecałkowite odwarstwienie siatkówki, w którym wyróżnia się stadium 4A ROP – odwarstwienie siatkówki bez zajęcia plamki i 4B ROP – obejmujące plamkę. W obrazie ultrasonograficznym widoczne są w tym stadium obecne masy pozasoczewkowe, typowe dla aktywnej postaci choroby wypełniające szklistkę, częściowe odklejenie siatkówki z licznymi ciągami proliferacyjnymi w szklistce,



Ryc. 4. Czwarte stadium ROP w obrazie USG-B. Niecałkowite odklejenie siatkówki. Proliferacje naczyniowo-siatkówkowe

Fig. 4. Stage 4 of ROP in B scan-USG examination. Not entire retinal detachment. Vitreo-retinal fibrovascular proliferation



Ryc. 5. Piąte stadium ROP w obrazie USG-B. Całkowite odwarstwienie siatkówki. Masy pozasoczewkowe o wysokiej echogeniczności widoczne w komorze ciała szklistego

Fig. 5. Stage 5 of ROP in B scan ultrasound. Complete detachment of retina. Retrolenticular masses of high echogenicity visible in the posterior chamber

ciągami proliferacyjnymi siatkówkowo-szklistkowymi oraz towarzyszące tym zamianom wylewy krwi w szklistce [3, 5, 6, 12, 14, 15].

Stadium 5 ROP to całkowite odklejenie siatkówki, które w zależności od konfiguracji widocznej w badaniu ultrasonograficznym może mieć postać lejka otwartego, częściowo zamkniętego lub całkowicie zamkniętego. W obrazie ultrasonograficznym zmiany te przedstawiają się jako całkowite odklejenie siatkówki o różnej wysokości jej uniesienia i różnym kształcie odklejenia. Towarzyszą mu masy pozasoczewkowe w ciele szklistym, które w badaniu ultrasonograficznym mają charakter gęstej masy o zwiększonej echogeniczności wypełniającej czasami całą szklistkę. Dodatkowo w przypadku trwania fazy czynnej w obrazie ultrasonograficznym mogą być obecne liczne ciągi proliferacyjne szklistkowo-siatkówkowe oraz zmiany o zwiększonej echogeniczności odpowiadające wylewom krwi do szklistki [3, 5, 6, 12, 14, 15]. W tym stadium zaawansowania zmian pomocna w różnicowaniu z innymi jednostkami chorobowymi jest ultrasonografia dopplerowska kodowana kolorem. Badanie to pozwala na dokładne zobrazowanie unaczynienia z tętnicy środkowej siatkówki obecnej w odwarstwionej części siatkówki [9]. Pomiędzy odklejoną i przyłożoną siatkówką w obrazie USG widoczna jest hypoechogeniczna przestrzeń. Brak unaczynienia w rzucie mas pozasoczewkowych pozwala na różnicowanie ich ze zmianami nowotworowymi o różnym charakterze [10, 11].

Wnioski

Badanie ultrasonograficzne jest badaniem dodatkowym w ocenie struktur oka u dzieci, ale w przypadku nieprzeziernych ośrodków optycznych jest badaniem, które w zaawansowanych stadiach 4. i 5. retinopatii wcześniaczej może być jedynym badaniem oceniającym stan odcinka tylnego oka i potwierdzającym rozpoznanie kliniczne. Obrazowanie

zmian w przebiegu ROP umożliwia prowadzenie archiwizacji i dokumentacji wyników badań, co ma istotne znaczenie zwłaszcza w obrazowaniu dynamiki zmian siatkówkowych w przebiegu czynnej postaci ROP. Według wielu autorów istnieje statystycznie istotna zależność pomiędzy rozpoznaniem klinicznym zaawansowania ROP a obrazem siatkówki w badaniu USG-B [12]. Przydatność tego badania jest widoczna zwłaszcza w trakcie monitorowania zmian siatkówkowych ROP w przebiegu leczenia panfotokoagulacją laserową, kriokoagulacją lub leczeniem chirurgicznym [16, 17]. Ze względu na zalety tego badania, jakimi są dostępność, łatwość wykonania oraz bezpieczeństwo stosowania, ultrasonografia w projekcji B pozostaje nadal pierwszym w kolejności badaniem diagnostycznym w okulistyce dziecięcej, zwłaszcza w monitorowaniu retinopatii wcześniaczej.

Piśmiennictwo

1. Malek G.: Ultrasonografia dopplerowska. Zastosowania kliniczne. Tom Medipage, Warszawa 2003.
2. Lewandowski P.: Diagnostyka ultrasonograficzna w okulistyce. In: Metody obrazowania w okulistyce. Eds: T. Kęćik, P. Lewandowski, D. Kęćik. ALCOM, Warszawa 2001, 9–34.
3. Isenberg S.J., Fishman M.: B-scan ocular ultrasonography in preterm and term infants. J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus, 1996, 33, 314–318.
4. Ciszewska J., Kęćik T., Chojnowski A., Maciejewicz P., Pauk M., Lewandowski P.: Przydatność badań rezonansu magnetycznego z zastosowaniem paramagnetycznych środków kontrastowych w obrazowaniu struktur narządu wzroku. Nowa Med. 1997, 3, 43–46.
5. Modrzejewska M., Formicka M., Puchalska-Niedbał L., Tokarz-Sawińska E.: Zastosowanie badania ultrasonograficznego w prezentacji B w retinopatii wcześniaków. Post. Neonatol. 2002, 2 (IV), 89–93.
6. Stefańczyk L., Orawiec B., Niwald A., Gralek M.: Diagnostyka różnicowa retinopatii wcześniaczej w badaniu ultrasonograficznym. Nowa Med. 1997, 4, 15–17.
7. Berrocal T., de Orbe A., Prrrrieto C., al-Assir I., Izquierdo C., Pastor I., Abelairas J.: Us and Color Doppler imaging of ocular and orbital disease in the pediatric age group. Eye Diseases Ultrasonography. Radiographics, 1996, 16, 251–272.
8. Stefańczyk L., Orawiec B., Czajkowski J.: Obraz ultrasonograficzny guzów nowotworowych gałki ocznej i oczodołu – zastosowanie techniki „Color Doppler i Power Doppler”. Ultrasonografia Pol. 1996, 6, 66–75.
9. Stefańczyk L., Orawiec B., Gralek M., Majka R., Niwald A.: Przydatność kolorowej ultrasonografii dopplerowskiej w rozpoznawaniu odwarstwienia siatkówki. Klin. Oczna, 1996, 98, 287–290.
10. Modrzejewska M.: Zastosowanie ultrasonografii dopplerowskiej w okulistyce. In: Metody obrazowania w okulistyce. Eds: T. Kęćik, P. Lewandowski, D. Kęćik. ALCOM, Warszawa 2001, 81–100.
11. Holland D.R., Saunders R.A., Kageman L.E., Bluestein E.C., Hutchinson A.K., Corson W. et al.: Color Doppler imaging of the central retinal artery in premature infants undergoing examination for retinopathy of prematurity. J. AAPOS, 1999, 3, 194–198.
12. Kauffmann Jol D.H., Silverman R.H., Sprinter A.D., Towers H., Kane S., Lopez R. et al.: Comparison of ultrasonic and ophthalmoscopic evaluation of retinopathy of prematurity. J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus, 2004, 41, 345–349.
13. Seiberth V., Woldt C.: Wide angle fundus documentation in retinopathy of prematurity. Ophthalmology, 2001, 98, 960–963.
14. Gralek M., Niwald A., Orawiec B., Czajkowski J., Stefańczyk L.: Zmiany w narządzie wzroku u dzieci przedwcześnie urodzonych. Nowa Med. 1997, 4, 24–27.

15. *Mazzeo V., Perri P.*: Echographic findings in infants with ROP. *Documenta Ophthalmol.* 1990, 74, 235–244.
16. *Hautz W., Gralek M., Kepa B.*: Problems with laser photocoagulation therapy in retinopathy of prematurity. *Mag. Okul.* 2005, 4, 285–289.
17. *Laws F., Laws D., Clark D.*: Cryotherapy and laser treatment for acute retinopathy of prematurity: refractive outcomes, a longitudinal study. *Br. J. Ophthalmol.* 1997, 81, 12–15.

Komentarz

Retinopatia u wcześniaków stanowi nadal, mimo ogromnego postępu w metodach diagnostycznych i leczniczych, bardzo poważny problem spotykany w codziennej praktyce lekarskiej. Prawidłowe wczesne rozpoznanie i zastosowanie odpowiedniego leczenia nie tylko decyduje o skuteczności terapii, ale ma istotny wpływ na dalsze losy małego pacjenta.

U dzieci przedwcześnie urodzonych z niską wagą urodzeniową spotykamy wady w ośrodkowym układzie nerwowym, w układzie oddechowym, w układzie krążenia i w narządzie wzroku. W Polsce rodzi się rocznie około 60 tysięcy wcześniaków, z czego u około 20% rozwija retinopatia wcześniacza (Prost), która w części przypadków, wg. niektórych autorów ok. 5%, kończy się ślepotą. Powikłania retinopatii wcześniaczej pojawiają się w fazie czynnej choroby, jak również w fazie regresji, dodatkowo zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym wcześniaków, opóźnienia rozwoju umysłowego, zaburzenia emocjonalne mogą wpływać na utrudnienie leczenia, rehabilitację i na zaburzenia wzroku.

Nowoczesne techniki obrazowe: ultrasonografia, tomografia komputerowa, tomografia rezonansu magnetycznego stwarzają rozległe możliwości diagnozowania chorób gałki ocznej i oczodołu, szczególnie w badaniach biometrycznych, ocenie ciała szklanego, siatkówki, jak również wewnątrzstożkowego odcinka nerwu wzrokowego. W zależności od objawów klinicznych stosowane są odpowiednie techniki obrazowania.

W Polsce badaniem obrazowym z wyboru do oceny oczu w retinopatii wcześniaczej jest ultrasonografia, szczególnie w ocenie zmian zaawansowanych. Jej dynamiczny rozwój (głowice o coraz większej rozdzielczości, możliwość badania ilościowego i jakościowego przepływu krwi w nerwie wzrokowym i naczyniach siatkówki metodą Color Doppler i Power Doppler) stwarzają nowe możliwości obrazowania patologii u wcześniaków, w tym diagnostyki różnicowej retinopatii z innymi wadami rozwojowymi i chorobami oczu spotykanymi u noworodków (przetrwałe hyperplastyczne ciało szkliste, przetrwała tętnica ciała szklanego, zmiany zapalne, krwawienia do ciała szklanego, nowotwory).

Przydatność ultrasonografii w rozpoznawaniu retinopatii wcześniaczej w piśmiennictwie jest opisywana i dobrze udokumentowana. Badania wielu autorów w licznych publikacjach podkreślają wagę problemu. Należy jednak zwrócić uwagę na to, że badanie USG tak małych pacjentów wymaga bardzo dużego doświadczenia, rzetelności i cierpliwości.

dr hab. n. med. *Anna Walecka*

BARBARA STAWSKA

STOMATOLOGIA GERIATRYCZNA – POTRZEBY, PROBLEMY I OCZEKIWANIA STOMATOLOGICZNE PENSJONARIUSZY DOMÓW POMOCY SPOŁECZNEJ*

GERIATRIC DENTISTRY: DENTAL NEEDS, PROBLEMS, AND EXPECTATIONS OF RESIDENTS OF CARE HOMES*

Studium Doktoranckie Pomorskiej Akademii Medycznej
Zakład Protetyki Stomatologicznej Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: dr hab. n. med., prof. PAM *Bogumila Frączak*

Summary

Purpose: Elderly people deserve respect and the right to receive appropriate medical assistance. This work was undertaken to determine the stomatognathic status of residents of Care Homes, condition of their dental prostheses, their main dental problems, expectations and needs, with emphasis on aspects of prosthetic treatment and psychosocial status.

Material and methods: Altogether, 135 residents of the Care Homes were studied. It was found that the stomatognathic status of the residents was disappointing. The residents had problems with hygiene, their prosthetic appliances were in a poor condition, and they also experienced problems when using the prostheses. Prosthetic problems were noted in almost every resident of Care Homes.

Results: Expectations as to dental care cannot be fulfilled without changing the national health care system. A relationship between satisfaction in life and extent of prosthetic needs, condition of prosthetic appliances, and problems with their use was found. A positive life history plays an important role in past dental care.

Conclusion: The psychosocial status of residents of Care Homes was poor.

Key words: geriatric dentistry – Care Home – psychosocial status.

Streszczenie

Wstęp: Celem niniejszej pracy było zbadanie stanu układu stomatognatycznego mieszkańców Domów Pomocy Społecznej oraz stanu użytkowanych uzupełnień protetycznych. Zamiarem autora było określenie głównych problemów, oczekiwań i potrzeb stomatologicznych pensjonariuszy, ze szczególnym uwzględnieniem aspektów protetycznych. Ważnym aspektem tego oglądu była ocena stanu psychospołecznego.

Material i metody: Badaniem objęto 135 mieszkańców Domów Pomocy Społecznej. W tej grupie obserwowano niezadowolający stan układu stomatognatycznego, problemy higieniczne, zły stan użytkowanych uzupełnień oraz kłopoty z ich użytkowaniem. Potrzeby protetyczne stwierdzono u prawie wszystkich zbadanych.

Wyniki: Oczekiwań stomatologicznych nie można zaspokoić bez zmiany całego systemu ochrony zdrowia. Istnieje związek pomiędzy zadowoleniem z życia i występowaniem oraz zakresem potrzeb protetycznych, stanem użytkowanych uzupełnień, a także problemami podczas ich użytkowania. Pozytywny bilans życiowy odgrywa znamienne rolę w ocenie dotychczasowego leczenia stomatologicznego.

Wniosek: Na podstawie przeprowadzonych badań i ankiet stwierdzono zły stan psychospołeczny większości pensjonariuszy Domów Pomocy Społecznej.

* Zwięzła wersja rozprawy doktorskiej przyjętej przez Radę Wydziału Stomatologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Promotor: dr hab. n. med., prof. PAM *Bogumila Frączak*. Oryginalny maszynopis obejmuje: 143 strony, 49 rycin, 50 tabel, 166 pozycji piśmiennictwa.

* Concise version of doctoral thesis approved by the Council of the Faculty of Dentistry, Pomeranian Medical University in Szczecin. Promotor: Prof. *Bogumila Frączak* M.D., D.M.Sc. Habil. Original typescript comprises: 143 pages, 49 figures, 50 tables, 166 references.

H a s ł o: stomatologia geriatryczna – Dom Pomocy Społecznej – stan psychospołeczny.

Wstęp

Ludzie w podeszłym wieku stanowią szczególną grupę osób i wymagają również szczególnego traktowania. W świecie zdehumanizowanym, pełnym stresów i pośpiechu zapomina się o starości. Starość i śmierć są zjawiskami nieuniknionymi, a stary człowiek ma prawo do leczenia i powinien być otoczony szacunkiem i opieką.

Stomatolog coraz częściej leczy pacjentów w podeszłym wieku, którzy są obciążeni licznymi problemami zdrowotnymi. W związku ze wzrostem udziału liczby osób starszych w populacji nie należy oczekiwać, że tendencja ta ulegnie zmianie w najbliższym czasie [1].

Leczenie stomatologiczne starszych osób wiąże się z wieloma trudnościami, nie tylko diagnostycznymi, ale często wynikającymi także z utrudnionego kontaktu. Pomimo tego należy dążyć do jak najdokładniejszego zrozumienia problemów z jakimi boryka się starsza osoba i jej oczekiwań w odniesieniu do prowadzonego leczenia. Tylko wówczas niesiona pomoc może być pełna i skuteczna, a wyniki leczenia satysfakcjonujące zarówno lekarza, jak i pacjenta [2].

Celem niniejszej pracy było: 1. Zbadanie stanu układu stomatognatycznego pensjonariuszy Domów Pomocy Społecznej (DPS). 2. Określenie stanu użytkowanych przez nich, uzupełnień protetycznych. 3. Określenie potrzeb i oczekiwań stomatologicznych badanych osób, ze szczególnym uwzględnieniem aspektów protetycznych. 4. Ustalenie głównych problemów stomatologicznych, z którymi borykają się ludzie w podeszłym wieku w badanej grupie. 5. Określenie stanu psychospołecznego pensjonariuszy DPS.

Material i metody

Zbadano 135 pensjonariuszy DPS ze Szczecina i okolicznych miejscowości. Do badań zakwalifikowano osoby w wieku powyżej 65 lat, których stan umożliwiał uzyskanie pełnej odpowiedzi na przedstawione pytania. Badanie składało się z wywiadu ogólnego, stomatologicznego i wywiadu wewnętrznego i badania uzupełnień protetycznych.

Pytania dotyczące głównych zagadnień niniejszej pracy zawarto w ankiecie składającej się z karty badania ogólnego (wiek, płeć, wykształcenie, praca zawodowa, choroby, stosowane leki i używki) i karty badania szczegółowego (układ stomatognatyczny, użytkowane uzupełnienia, problemy i oczekiwania stomatologiczne, ankieta dotycząca stanu psychospołecznego). Układ stomatognatyczny badano na podstawie wskaźników: wskaźnika intensywności próchnicy (*decayed missed filled* – DMF), wskaźnika leczenia próchnicy (*dental treatment index* – DTI), wskaźnika ruchomości zębów według Entina, wskaźnika starcia zębów według Martina, wskaźnika

higieny jamy ustnej (*oral hygiene index* – OHI), wskaźnika dziąsłowego (*gingival index* – GI), wskaźnika krwawienia ze szczeliny dziąsłowej (*gingival sulcus bleeding index* – GSBI), wskaźnika dysfunkcji stawu skroniowo-żuchwowego Helkimo. Stan uzupełnień protetycznych oceniano na podstawie badania oraz wywiadu dotyczącego ich użytkowania, a klasyfikowano według skali Malejewskiej i Graf.

Oczekiwania i problemy stomatologiczne zawarto w formie ankiety. Stan psychospołeczny zbadano, zakładając istnienie związku pomiędzy istnieniem potrzeb protetycznych i zadowoleniem z opieki stomatologicznej a stanem psychospołecznym. Ankieta zawierała pytania, które oceniały wsparcie emocjonalne, stopień aktywności fizycznej i psychicznej oraz stosunek do przyszłości mieszkańców DPS.

Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o test niezależności chi kwadrat oraz test dokładny Fishera w grupach o liczebnościach mniejszych lub równych 50 osób. Istotność statystyczną wyników oceniono, przyjmując że $p < 0,05$ to różnica istotna statystycznie, $p < 0,01$ to różnica bardzo istotna statystycznie, a $p < 0,001$ to różnica istotna statystycznie.

Wartości DMF i DTI przekodowano na zmienną kategoryzowaną, aby można je było poddać analizie statystycznej. Uzyskano w ten sposób 3 podgrupy dla każdego wskaźnika. Wskaźnik DMF – wartości niskie: DMF < 25; średnie: DMF = 25–27; wysokie: DMF > 27. Wskaźnik DTI – wartości niskie: DTI < 0,4; średnie: DTI = 0,4–0,5; wysokie: DTI > 0,5.

Wyniki

Zbadano 135 osób: najmłodsza miała 66 lat, a najstarsza 87; średnia wieku wynosiła 76 lat. 80% badanych stanowiły osoby posiadające uzębienie. Braki całkowite wystąpiły u 20% badanych (w 31,11% przypadków w szczęcie i 28,15% w żuchwie). Przeważały rozległe braki zębowe. Klasę IV w szczęcie spotkano u 44,44% badanych, a w żuchwie u 40,74% badanych osób. Najrzadziej występowały braki jakościowe (1,48%). Braki międzyzębowe zaobserwowano u 6,67% badanych w szczęcie i u 3,7% w żuchwie. Braki skrzydłowe wystąpiły w szczęcie u 17,78% badanych i 25,93% w żuchwie.

Próchnica zębów wystąpiła u 74,81% osób. Dominowała próchnica typu III (68,52%). Próchnica typu IV wystąpiła u 60,18% badanych, typu II u 28,7%, a typu I u 16,67% badanych osób. Wskaźnik DMF kształtował się w granicach od 12 (0,74% badanych) do 28 (35,56%), natomiast średnia wynosiła 25,56. Najwyższe wartości wskaźnika posiadało 35,56% osób, 34,07% średnie, a 30,37% niskie. Wskaźnik leczenia DTI przyjmował wartości od 0,00 (8,15% osób) do 1,00 (4,44% osób). Średnia wynosiła 0,49. Najczęściej przyjmował on wartości wysokie (41,67% pacjentów). Wartości niskie wystąpiły u 30,56% badanych, a średnie u 27,78%.

Wskaźnik OHI był pomocny w ocenie higieny jamy ustnej. Najczęściej u 64,81% osób, odnotowano 2. stopień. Stopień 1. wskaźnika zaobserwowano u 23,15%, a 3 u 12,04%

badanych. W żadnym przypadku nie wystąpił stopień 0. Wskaźnik CPITN służył do oceny stanu przyzębia i określenia potrzeb leczniczych w aspekcie periodontologicznym. Badani o kodzie objawów CPI = 2 stanowili 54,63%. Stopień 3. odnotowano u 34,36% badanych. W tych grupach konieczne było przeprowadzenie instruktażu w zakresie higieny jamy ustnej, a także wykonania profilaktyki i leczenia w postaci skalingu (TN = II). Przyzębie brzeżne u 4,63% badanych nie wykazywało cech zapalnych. Wymagali oni instruktażu higieny jamy ustnej (TN = I).

W ocenie stawów skroniowo-żuchwowych posłużono się wskaźnikiem dysfunkcji Helkimo: 36,30% osób zgłaszało trzaski lub trzeszczenia podczas ruchów żuchwy (stopień 2.). Silne dolegliwości (szczękoscisk, zwichnięcie stawów lub ból w czasie ruchu) miało 2,96% badanych, natomiast 60,74% badanych nie zgłaszało żadnych dolegliwości.

Wśród ludzi bezzębnych zbadano typ podłoża protezy, posługując się klasyfikacją Supple. Nie było ani jednej osoby o podłożu idealnym lub zanikłym rozwiązłym. Występowały jedynie podłoża zanikłe twarde (74,51%) oraz zanikłe miękkie (25,49%).

Większość badanych użytkowała ruchome uzupełnienia protetyczne. Uzupełnienia stałe stanowiły niewielki odsetek i te w pracy nie zostały uwzględnione. Przeważały uzupełnienia częściowe (szczeka – 66,4%, żuchwa – 67,23%). W dalszej kolejności użytkowano protezy całkowite (szczeka – 31,2%, żuchwa – 29,41%). Najrzadziej użytkowano protezy szkieletowe (szczeka – 2,4%, żuchwa – 3,36%).

Okres użytkowania ruchomych uzupełnień protetycznych podano w trzech kategoriach czasowych. Bardzo licznie reprezentowana była grupa osób użytkujących uzupełnienia protetyczne dłużej niż 10 lat (szczeka 25,6%, żuchwa 26,05%). Najczęściej uzupełnienia szczęki użytkowano przez 6–10 lat (37,6%), a żuchwy do 5 lat (38,65%).

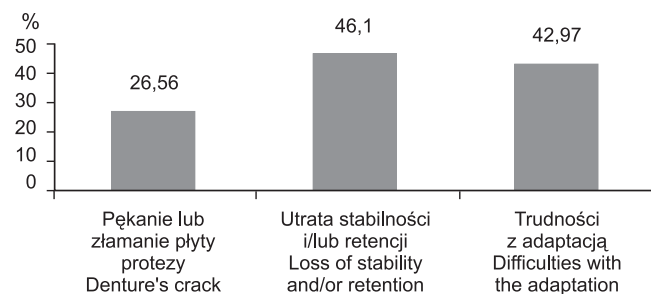
Stan i przydatność uzupełnień protetycznych oceniono, stosując skalę Malejewskiej i Graf. Dominował stopień 4. – zły (dla uzupełnień górnych 47,2%, dla dolnych 48,74%), natomiast 16,8% uzupełnień oceniono jako bardzo dobre (dla protez górnych i dolnych). Stopień dobry wystąpił w przypadku 19,2% uzupełnień w szczęce i 19,32% w żuchwie. Dostatecznie oceniono 16,8% uzupełnień w szczęce i 15,13% w żuchwie (tab. 1).

Tabela 1. Ocena stanu i przydatności uzupełnienia protetycznego

Table 1. Condition and usefulness of dental prostheses

Parametry Parameters	Stan bardzo dobry Very good state		Stan dobry Good state		Stan dostateczny Adequate state		Stan zły Poor state	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Szczeka Upper jaw (n = 125)	21	16,80	24	19,20	21	16,80	59	47,20
Żuchwa Lower jaw (n = 119)	20	16,80	23	19,32	18	15,13	58	48,74

Problemy z użytkowaniem ruchomych uzupełnień protetycznych miało 85,94% badanych. Najpowszechniejsze (46,1%) były trudności związane z utratą stabilności i/lub retencji uzupełnienia. W dalszej kolejności występowały trudności z adaptacją do uzupełnienia (42,97%). Problemy z pękaniem lub złamaniem płyty protezy miało 26,56% badanych (ryc. 1).



Ryc. 1. Rodzaj problemów z użytkowaniem uzupełnień

Fig. 1. Problems with prostheses

Bardzo często występowały problemy higieniczne, zarówno w odniesieniu do higieny jamy ustnej, jak i uzupełnień protetycznych. Ani jedna osoba nie czyściła zębów po każdym posiłku. Większość badanych myła zęby dwa razy dziennie (44,44%) albo raz dziennie (42,6%), natomiast 12,96% badanych nie myła zębów w ogóle. Niektórzy z badanych pod pojęciem czyszczenia zębów rozumieli ich płukanie. Załedwie jedna osoba czyściła uzupełnienia protetyczne po każdym posiłku. Najwięcej było tych, którzy myli protezy raz dziennie (50,4%), a 12,6% badanych nie myła ich wcale (tab. 2). Wśród środków higieny protez dominowały pasta i szczoteczka do zębów. Pastę stosowało 86,92% osób posiadających uzupełnienia protetyczne, natomiast pozostali (13,08%) używali do czyszczenia mydła. Szczoteczkę do zębów stosowało 85,32% badanych, a szczoteczkę do dłoni do mycia protez używało 14,68%. Nikt nie stosował specjalnej szczoteczki do protez.

Dla stanu błony śluzowej jamy ustnej, jak i dla stanu uzupełnienia protetycznego niezmiernie ważna jest przerwa w użytkowaniu uzupełnienia. Powinna być to przerwa nocna, a 38,4% osób nie stosowało jej w ogóle. Pozostali przechowywali uzupełnienia protetyczne w wodzie (44%), w roztworze przeciwzapalnym (4%) lub utrzymywali je w suchości (13,6%). Jedynie ostatni z wymienionych sposobów przechowywania jest zgodny z obowiązującymi zaleceniami higienicznymi.

Bardzo często w grupie badanych osób, które użytkują protezy ruchome występował problem stomatopatii protetycznych. Najczęściej (39,64%) występowały zmiany ograniczone, które nie obejmowały całego pola protetycznego. Stomatopatie 0° wystąpiły u 32,43% badanych, a II° u 27,93%.

Na podstawie analizy stanu uzębienia, oceny klinicznej użytkowanych uzupełnień oraz czasu ich użytkowania ustalono potrzeby protetyczne seniorów. Miała je większość zbadanych. Konieczne było wykonanie nowych lub wymiana starych uzupełnień ruchomych: w przypadku

Tabela 2. Higiena zębów i protez
Table 2. Teeth and denture hygiene

Parametry Parameters	Mycie 2 × dziennie Brushing 2 times a day		Mycie 1 × dziennie Brushing once a day		Brak mycia No brushing	
	n	%	n	%	n	%
Higiena zębów Teeth hygiene (n = 108)	48	44,44	46	42,60	14	12,96
Higiena protez Denture hygiene (n = 127)	47	37,00	64	50,40	16	12,60

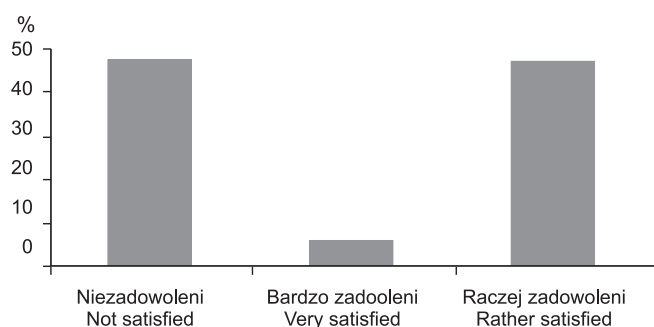
Tabela 3. Rodzaj potrzeb protetycznych
Table 3. Prosthodontic needs

Parametry Parameters	Proteza częściowa Partial denture		Proteza całkowita Complete denture		Proteza szkieletowa Framed denture		Brak potrzeb No needs	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Szczęka Upper jaw (n = 135)	48	35,55	36	26,67	14	10,37	37	27,40
Żuchwa Lower jaw (n = 135)	47	34,81	31	22,96	21	15,55	36	26,67

Tabela 4. Zależność pomiędzy zadowoleniem z życia
a zadowoleniem z dotychczasowej opieki stomatologicznej
(p = 0,00005)

Table 4. Correlation between satisfaction with life and satisfaction
with past dental care (p = 0,00005)

Zadowolenie z dotychczasowej opieki stomatolo- gicznej Satisfaction with past dental care	Zadowolenie z życia / Satisfaction with life					
	Zadowolony Satisfied (n = 8)		Raczej zado- wolony Rather satisfied (n = 63)		Niezadowo- lony Not satisfied (n = 64)	
	n	%	n	%	n	%
Zadowolony Satisfied (n = 89)	6	75,00	53	84,13	30	46,88
Niezadowolony Not satisfied (n = 46)	2	25,00	10	15,87	34	53,13



Ryc. 2. Ocena jakości życia
Fig. 2. Assessment of life quality

szczęki u 72,59%, a w przypadku żuchwy u 73,33% osób. Największe zapotrzebowanie istniało na protezy częściowe (35,55% dla szczęki i 34,81% dla żuchwy) oraz protezy całkowite (26,67% dla szczęki i 22,96% dla żuchwy). Protezy szkieletowe powinny zostać wykonane w przypadku 10,37% badanych w szczęcie i 15,55% w żuchwie (tab. 3).

Prawie dwukrotnie więcej było osób zadowolonych z dotychczasowej opieki stomatologicznej (65,93%) niż osób niezadowolonych (34,07%). Powodem zadowolenia było zaangażowanie personelu medycznego (65,93%) oraz fachowość wykonywanych zabiegów (58,52%). W pojęciu zaangażowania mieścił się stosunek osób leczących do pacjenta, okazywane zainteresowanie i troska nie tylko o uzębienie, ale i o osobę. Główną przyczyną negatywnej oceny dotychczasowego leczenia stomatologicznego była utrudniona dostępność do lekarza (71,11%) oraz ubogi zakres bezpłatnych usług świadczonych w ramach podstawowej opieki stomatologicznej (67,41%).

Większość badanych stwierdziła, że ich życie nie było udane (47,41%) lub nie we wszystkich jego aspektach (46,67%). Tylko 5,92% badanych oceniło swoje życie pozytywnie (ryc. 2). Z badanej grupy seniorów 72,95% czasami wychodziło na spacer, ale zdecydowanymi zwolennikami długich spacerów było jedynie 13,12% osób. Natomiast 37,5% badanych, którzy byli zadowoleni z życia, spacerowali bardzo często, a 62,5% tylko czasami. Nie było przy tym osób, które pozostawały w domu i były zadowolone ze swojego dotychczasowego życia. Zależność ta była istotna statystycznie, przy $p < 0,05$.

Kółka zainteresowań nie cieszyły się popularnością: 73,13% badanych odpowiedziało, że albo wolało samotność lub nie lubiło takich zajęć. Tylko 3,73% badanych osób systematycznie uczestniczyło w zajęciach grupowych. Do starzały im one wiele radości i satysfakcji. Udział w życiu towarzyskim wiązał się z pozytywną oceną dotychczasowego życia. Zależność pomiędzy nimi była istotna statystycznie, przy $p < 0,05$. Aż 85,71% osób niezadowolonych z życia izolowało się od innych ludzi i nie wyrażało chęci uczestnictwa w kółkach zainteresowań.

Wysoce istotny statystycznie okazał się związek pomiędzy poczuciem znudzenia a zadowoleniem z życia: 62,5% osób zadowolonych z życia twierdziło, że nie nudzi się nigdy, a 37,5% osób z reguły nie odczuwa nudy. Jednocześnie 37,5% badanych niezadowolonych ze swego dotychczasowego życia deklarowało, że nudzi się nieustannie, a 35,94%, że nudzi się czasami.

W badaniu założono, że pensjonariuszom DPS towarzyszy poczucie bezradności. W badanej grupie 8,15% zaprzeczyło zdecydowanie temu twierdzeniu, a 50,37% uważało, że nigdy nie potrzebowali niczyjej pomocy. Jedynie 28,15% badanych przyznało, że nie potrafi radzić sobie z przeciwnościami losu. Zupełną bezradność potwierdziło 13,33% osób. Wyniki te były zaskoczeniem. Jednak okazało się, że osoby zadowolone z życia nie czuły się bezradne. Zależność ta była wysoce istotna statystycznie ($p < 0,0001$). W grupie badanych osób 23,44% niezadowolonych z życia

deklarowało kompletną bezradność, a 26,69% przyznało, że ma trudności w sprostaniu codziennym wyzwaniom.

Zadowolenie z życia miało wpływ na zadowolenie z opieki stomatologa. Związek był wysoce istotny statystycznie, a $p < 0,0001$. Badani zadowoleni ze swego życia i opieki stomatologa stanowili 75% osób. Negatywna ocena życia wiązała się z niezadowoleniem z leczenia. W tej grupie zadowolenie z opieki stomatologicznej deklarowało 46,88% osób, a 53,13% było nią nieusatysfakcjonowanych (tab. 4).

Stan psychospołeczny miał wpływ na potrzeby proteptyczne seniorów. Związek był wysoce istotny statystycznie, a $p < 0,00001$. Potrzeb proteptycznych w zakresie uzupełnień górnych nie posiadało 62,5% badanych zadowolonych ze swego życia i 12,5% niezadowolonych. Spośród badanych osób pozytywnie nastawionych do życia 25% potrzebowało uzupełnień częściowych, a całkowitych 12,5%. Zapotrzebowanie na uzupełnienia częściowe i całkowite wśród osób niezadowolonych wzrosło do 39,06%. Zależność była bardzo istotna statystycznie, a $p < 0,01$. W przypadku uzupełnień dolnych wystąpiły podobne zależności: 62,5% badanych zadowolonych z życia nie miało potrzeb proteptycznych, a 87,5% niezadowolonych potrzeby takie posiadało. Związek był bardzo istotny statystycznie, przy $p < 0,001$. Wysoce istotny statystycznie ($p < 0,001$) okazał się związek pomiędzy rodzajem braków zębowych a zadowoleniem z życia. Wśród całej grupy 50% badanych zadowolonych posiadało braki różnorodne (IV klasa). Braki najrozleglejsze (V klasa) i najmniej rozległe (II klasa) posiadało po 25% badanych. Wśród niezadowolonych z życia dominowali seniorzy z brakami całkowitymi – 54,69%, a 42,19% posiadało braki mieszane. Nie było wśród nich osób z brakami najmniej rozległymi.

Wyniki

Jakość życia i zdrowia pacjentów w podeszłym wieku w dużym stopniu jest zależna od stanu zdrowia jamy ustnej. Zaniedbania stanu układu stomatognatycznego prowadzą do wystąpienia zaburzeń w funkcjonowaniu przewodu pokarmowego i trudności w artykulacji mowy. W połączeniu z pogarszającym się wyglądem zewnętrznym czynniki te wywierają niekorzystny wpływ na psychikę. Mogą doprowadzić do poczucia wyobcowania ze środowiska, do problemów w nawiązywaniu i utrzymywaniu kontaktów międzyludzkich oraz wystąpienia różnorodnych kompleksów [3].

Stan psychiczny pacjentów jest szczególnie ważny w leczeniu proteptycznym. W wieku starszym często pojawiają się reakcje lękowe związane z leczeniem proteptycznym. Lekarz, który nie docenia roli czynnika psychicznego staje się, mimo swoich najlepszych chęci, sprawcą psychicznych urazów jatrogennych [4].

W badaniach *Malejewskiej i wsp.* [5] u pensjonariuszy DPS najczęściej występowały braki całkowite (69,3%). Tak wysoki odsetek osób, u których występowały braki całko-

wite wynika stąd, że badania te prowadzone były w latach 80. ubiegłego wieku. Obecnie obserwuje się większą świadomość potrzeby leczenia proteptycznego. Spostrzeżenia własne wskazują na największy udział procentowy rozległych braków zębowych, przy czym najczęściej występującymi były braki mieszane. Wraz ze zmniejszającą się liczbą zębów w jamie ustnej wzrasta niezadowolenie z ruchomych protez osiadających [6].

W badanej grupie pacjentów stwierdzono znaczne zaawansowanie próchnicy. Według *Ilewicz i Kowol-Damboń* [7] próchnica dotyczyła 51% badanych pensjonariuszy DPS w Zabrzu. W podeszłym wieku najczęściej występuje próchnica powierzchni gładkich oraz próchnica cementu korzeniowego. Potwierdzono to w badaniach własnych – najczęściej występował typ III i typ IV próchnicy. Próchnica korzenia występuje między innymi w wyniku obniżenia samowystarczalności ludzi starszych [8].

Pasternak [9] podaje, że średnie liczby DMF wzrastają z wiekiem i wynoszą 29,93 w przedziale 65–74 lat i 31,59 powyżej 75 lat. W badaniach własnych uzyskano podobne wyniki. Średnia liczba DMF wyniosła 25,56 powyżej 65 r.ż. Są to wartości zbliżone do wyników w krajach o dużej zapadalności na próchnicę. Wysokie miano wskaźnika oznacza niewystarczającą opiekę stomatologiczną ludzi w podeszłym wieku. Wartość wskaźnika DTI w ocenie efektywności opieki stomatologicznej dla populacji makroregionu północno-wschodniego wyniosła 0,16 i 0,15 dla populacji uzębionych [10]. W badaniach własnych średnia wartość DTI dla ludzi powyżej 65 r.ż. wyniosła 0,49. Wskaźnik ten przyjmował wartości poniżej 0,5 w 58,34%. Świadczy to o małym udziale leczenia zachowawczego u ludzi w podeszłym wieku.

Zapadalność na choroby przyzębia jest wysoka i wynosi 93,62%. *Pellowska-Piontek i wsp.* [11] zakwalifikowali do II kategorii potrzeb leczniczych dużo mniejszą grupę osób (39,5%) w porównaniu z badaniami własnymi (88,99%). Więcej było osób wymagających leczenia kompleksowego, w tym interwencji chirurgicznej. Najpowszechniej występowała II kategoria potrzeb leczniczych, która może być z powodzeniem zaspokojona w lecznictwie podstawowym. Osoby starsze wymagają opieki stomatologicznej, która nie musi wiązać się z wysokimi nakładami finansowymi.

Występowanie zaburzeń ze strony stawu skroniowo-żuchwowego było przedmiotem prac niewielu autorów. W niniejszej pracy stwierdzono występowanie dysfunkcji u 39,26% osób, spośród których 2,96% badanych zgłaszało dolegliwości silne. Objawy zaburzeń czynnościowych ze strony stawu pojawiają się zarówno u osób z brakami częściowymi, jak i całkowitymi. Trzaski, szmery, przeskakiwania występowały częściej u osób bezzębnych (34,3%), ale ograniczenie ruchomości i bolesność częściej dotyczyła badanych z brakami częściowymi [5]. *Frączak i wsp.* [12] częściej obserwowali występowanie zaburzeń w obrębie stawu skroniowo-żuchwowego u osób użytkujących uzupełnienia proteptyczne osiadające. Badając typ podłoża proteptycznego w bezzębiu nie stwierdzono obecności typu I ani IV. Dominowało podłożo

zanikłe twarde, najtrudniejsze do protezowania. Warunki podłoża protetycznego są jednym z elementów uzyskania sukcesu rehabilitacji protetycznej [13].

Uzupełnienia protetyczne użytkowane przez pensjonariuszy DPS w Gdańsku w 100% to ruchome protezy słuzówkowe [14]. Częściej występowały uzupełnienia częściowe, co potwierdzono w badaniach własnych. Czas użytkowania protez opisano w odstępach pięcioletnich. *Bereznowski i wsp.* [14] zauważyli, że 71,5% uzupełnień protetycznych było używane ponad 5 lat, a w grupie tej aż 48% ponad 10 lat. W badaniach własnych stwierdzono również wysoki odsetek protez użytkowanych dłużej niż 10 lat (25,6% górnych i 26,05% dolnych). Uzupełnienia te nie powinny być w ogóle używane ze względu na stopień swego zniszczenia. Bardzo długi czas korzystania z uzupełnień jest przyczyną wzrostu niezadowolenia z protez [6].

Długi czas noszenia uzupełnień, bez ich wymiany, wpływa na pogorszenie stanu ich przydatności. Do oceny stanu i przydatności uzupełnień protetycznych posłużono się skalą według *Malejewskiej i Graf* [15]. Stwierdzono częstsze występowanie protez ocenionych jako bardzo dobre i dobre (36% górnych i 36,12% dolnych) w porównaniu z wynikami badań wymienionych autorek (30,6%). Niższy był również odsetek uzupełnień określonych jako dostateczne i złe. W badaniach własnych obserwowano najczęściej uzupełnienia protetyczne zakwalifikowane do grupy czwartej – złej.

Znaczna część użytkowanych uzupełnień została zakwalifikowana do wymiany. Znajduje to potwierdzenie w pracach innych autorów [16]. *Ilewicz i wsp.* [17] stwierdzili konieczność wymiany 89,5% przebadanych uzupełnień użytkowanych przez pacjentów mieszkających w okręgu przemysłowym i 92,2% protez użytkowanych przez osoby mieszkające w okręgu rolniczym.

Większość badanych miała problemy z użytkowaniem uzupełnień protetycznych. Przeważnie dotyczyły one utraty stabilności i/lub retencji oraz trudności adaptacyjnych. W badaniach innych autorów [18] pojawiają się one również najczęściej. Zmniejszenie zdolności adaptacyjnych jest charakterystyczne dla starszego wieku [2].

Pensjonariusze DPS niezwykle często mieli problemy z utrzymaniem właściwej higieny zarówno zębów, jak i użytkowanych uzupełnień protetycznych. W podeszłym wieku pogarszają się warunki higieniczne [19]. Oprócz utrudnień obiektywnych problemy higieniczne wynikają z niewiedzy o rodzajach dostępnych środków higienicznych, sposobach dbania o uzębienie, a także z powodu niewłaściwych nawyków oraz niewystarczającej motywacji do utrzymywania poprawnej higieny. Uzupełnienia protetyczne były czyszczone zbyt rzadko i niedbale. *Juszczak-Popowska i wsp.* [20] stwierdzili gorszy stan higieniczny protez u osób żyjących samotnie, mających trudności w poruszaniu się i u pensjonariuszy DPS.

Niezmiernie istotne jest omówienie i ustalenie z pacjentem zakresu jego oczekiwań związanych z estetyką i funkcjonalnością uzupełnień protetycznych [13]. *Sierpiń-*

ska i wsp. [6] zwracają uwagę, że stomatolog, a zwłaszcza protetyk, musi uwzględnić także psychologiczny aspekt wizyt oraz oczekiwania starszych pacjentów, jeśli chce uzyskać pozytywny wynik leczenia. Pacjent powinien czuć się współodpowiedzialny za otrzymane uzupełnienia, musi także zdawać sobie sprawę z wagi reżimu higienicznego i być świadomym konsekwencji ewentualnych zaniedbań w tej dziedzinie [21]. Pacjenci w podeszłym wieku wymagają szczególnego traktowania i szczególnej motywacji higienicznej. Jednorazowe przekazanie informacji w zakresie sposobów utrzymywania odpowiedniej higieny jest niewystarczające. *Malejewska i Graf* [15] stwierdziły, że tylko 5 osób (na 84 osoby, które miały uzupełnienia ruchome) potwierdziło, że stomatolog udzielił im instruktażu higieny protez oraz uświadomił jej istotę w dalszym użytkowaniu uzupełnienia. Od 37 do 60% spośród wszystkich wskazówek udzielonych przez lekarza jest przez pacjentów zapominane, a od 35 do 87% dla nich niezrozumiałe. Im informacje higieniczne są udzielane prościej i konkretniej, tym większa będzie gotowość do ich przestrzegania. W przeprowadzonych badaniach przez autora niniejszej pracy potwierdziły się powyższe doniesienia. Najczęściej seniorzy kierowali się wskazówkami higienicznymi udzielonymi im przez znajomych i przeważnie nie przypominali sobie, aby kiedykolwiek otrzymali od lekarza instruktaż higieny. *Rantanen i wsp.* [22] wykazali większą skuteczność instrukcji ustnych podanych przez lekarza i powtarzanych podczas wizyt kontrolnych niż instruktażu udzielonego w formie pisemnej, co jedynie podkreśla wagę przekazu werbalnego w utrzymaniu właściwej higieny jamy ustnej i użytkowanych uzupełnień, a także w wyrobieniu poprawnych nawyków higienicznych.

W toku badań stwierdzono, że nawyki higieniczne są nieprawidłowe. Oprócz wspomnianych wcześniej zaniedbań w kwestii czyszczenia protez błędy dotyczyły stosowania nieodpowiednich środków higieny, całodobowego użytkowania uzupełnień protetycznych i sposobu przechowywania protez podczas przerwy w ich użytkowaniu. Konieczność stosowania przerwy w użytkowaniu uzupełnień ruchomych jest bezsprzeczna – na akrylowej płytce protez ruchomych istnieją korzystne warunki do odkładania się płytki bakteryjnej, co sprzyja zaostrzeniu procesu zapalnego [23]. W badaniach własnych stwierdzono, że większość osób nie stosowała przerwy nocnej w użytkowaniu protez (61,6%). Wielu badanych przechowywało protezy w wodzie (44%).

Niezmiernie częstym schorzeniem osób użytkujących ruchome uzupełnienia protetyczne jest stomatopatia protetyczna. Przyczyny stomatopatii są różnorodne i rzadko jeden czynnik może stać się ich samodzielną przyczyną. Główną rolę w powstawaniu stomatopatii odgrywają: uraz mechaniczny, infekcja grzybicza, płytka protez, nieprawidłowe nawyki. *Wojciechowska i wsp.* [24], badając stan błony śluzowej jamy ustnej użytkowników ruchomych uzupełnień protetycznych stwierdzili stomatopatię protetyczną 0° u 28,6% badanych, I° u 40,0%, II° u 31,4%, a stomatopatii III° nie zaobserwowano w ogóle. W badaniach własnych

uzyskano podobne wyniki. Największe różnice dotyczyły stomatopatii 0° (32,43%), jednak ze względu na subiektywny charakter objawów tej klasy nie można stwierdzić dużych rozbieżności w wynikach badań.

Istnieje ogromne zapotrzebowanie na leczenie protetyczne. Według *Bereznowskiego i wsp.* [14], aż 97,1% badanych wymaga wykonania nowych uzupełnień protetycznych, głównie ruchomych protez osiadających częściowych lub całkowitych. W badaniach własnych zaobserwowano niższe potrzeby protetyczne – 72,59% dla szczęki i 73,33% dla żuchwy. Zakres potrzeb wskazuje na zaniedbania w odniesieniu do profilaktyki i leczenia osób młodszych, co odzwierciedla się dramatycznym stanem jamy ustnej u osób w starszym wieku.

Jak wynika z badań własnych większość badanych osób wyraża zadowolenie z dotychczasowej opieki stomatologicznej. Sposób, w jaki lekarz zwraca się do pacjenta ma wielki wpływ na jego postawę. Do braku współpracy przyczyniają się między innymi dystans i chłodne zachowanie lekarza, rutyna w zbieraniu wywiadu, zachowanie autoritatywne i lakoniczne udzielanie wskazówek [25]. Osoby o pozytywnym stosunku do leczenia stomatologicznego miały wyższe wartości wskaźnika leczenia DTI niż badani o stosunku negatywnym [10]. Na pierwszym miejscu spośród przyczyn zadowolenia z dotychczasowej opieki stomatologicznej badani wymieniali zaangażowanie personelu medycznego. Pacjenci w podeszłym wieku oczekują nie tylko profesjonalnej pomocy, ale niejednokrotnie życzliwej rozmowy, zrozumienia i cierpliwości. Rozmowa z lekarzem stomatologiem ma ogromną wartość nie tylko diagnostyczną, ale także terapeutyczną. Ważna jest organizacja systemu leczniczego, począwszy od rejestracji, poprzez personel pielęgniarski do lekarza włącznie. Dotyczy ona rzetelnej i uprzejmej informacji oraz zachowania intymności podczas wizyty stomatologicznej i pełnego zaangażowania się w sprawę chorego [26].

W badaniach *Sierpińskiej i wsp.* [6] stwierdzono wysokie niezadowolenie z użytkowanych uzupełnień protetycznych. Wzrastało ono w miarę upływu czasu użytkowania uzupełnienia i miało na nie wpływ wiek badanych (najwyższy odsetek niezadowolonych osób wystąpił w najstarszej grupie wiekowej). Więcej osób ze złą higieną protez występuje wśród badanych o negatywnym oraz obojętnym stosunku do leczenia stomatologicznego. W badaniach własnych stwierdzono niemal dwukrotnie mniej osób niezadowolonych niż zadowolonych. Najczęstszym uczuciem wśród osób niezadowolonych z uzupełnień protetycznych była samotność, bezradność, rozdrażnienie i złość. Natomiast u pacjentów zadowolonych z protez dominował przede wszystkim spokój i radość [27]. Wśród przyczyn niezadowolenia podawano najczęściej utrudniony dostęp do stomatologa oraz ubogi wachlarz usług dostępnych w ramach bezpłatnej podstawowej opieki stomatologicznej. Publiczna służba zdrowia nie zapewnia pensjonariuszom DPS właściwej opieki stomatologicznej, a tym bardziej protetycznej. W związku z limitami narzuconymi przez Narodowy Fundusz Zdrowia na wykonanie bezpłatnych uzupełnień protetycznych czeka się bardzo

długo. W ramach podstawowej opieki zdrowotnej możliwie jest wykonanie jedynie uzupełnień osiadających, o znacznym oddziaływaniu traumatyzującym wywieranym na tkanki jamy ustnej. Uzupełnienia podparte i stałe są traktowane jako świadczenia ponadstandardowe, co oznacza, że pacjent sam musi za nie zapłacić. Leczenie stomatologiczne osób w wieku podeszłym powinno być kompleksowe i obejmować różne specjalistyczne świadczenia stomatologiczne, tymczasem dostępność opieki stomatologicznej jest niewielka, nie wspominając o leczeniu specjalistycznym.

Pozytywna ocena życia jest wyznacznikiem dobrej i pomysłnej starości [28]. W badaniach własnych wykazano, że większość pensjonariuszy DPS nie była zadowolona ze swojego dotychczasowego życia i oceniała je negatywnie. Spokój i wysoka aktywność ruchowa sprzyjają adaptacji do protez [6]. W badaniach własnych stwierdzono, że stopień aktywności fizycznej (częstotliwość wyjść z DPS oraz działalność w kółkach zainteresowań) wiązał się z poczuciem udanego życia. Wśród zadowolonych pacjentów przeważały osoby charakteryzujące się dużą aktywnością. Osoby niezadowolone izolowały się od współmieszkańców i wołały przebywać w osamotnieniu.

Poczucie nudy miało wpływ na zadowolenie ze swojego dotychczasowego życia. Ludzie zadowoleni z życia deklaruwali, że obce jest im uczucie znudzenia. Wyniki te zostały potwierdzone w badaniach innych autorów [20]. Uczucie nudy występuje najrzadziej w gronie osób najmłodszych i zwiększa się wraz z wiekiem.

Większość badanych nie uważała siebie za osoby bezradne. Bezradność okazała się odczuciem o znacznym ładunku negatywnym, trudnym do zaakceptowania. Podstawą spokojnej i radosnej egzystencji było poczucie bycia ważnym i przydatnym. W analizie statystycznej stwierdzono, że bezradność jest ściśle związana z niezadowoleniem z życia i pogłębia się u osób niezadowolonych. Z badań *Gołębiewskiej i wsp.* [27] wynika, że w najmłodszej, badanej przez nich grupie (osoby w wieku 60–69 lat) wystąpił najniższy odsetek osób bezradnych (12,1%) i najwyższy odsetek radości (65,1%).

Większość badanych posiadała bliską rodzinę w postaci dzieci lub wnuków. Fakt posiadania bliskich nie wpływa w znaczącym stopniu na poprawę nastroju starszej osoby przebywającej w DPS. Odrzucenie przez rodzinę może prowadzić do utraty motywacji do utrzymywania higieny uzupełnień protetycznych [29].

Zadowolenie z życia i zadowolenie z opieki stomatologicznej pozostają w ścisłej zależności. Pacjenci z niską samooceną częściej wykazują niezadowolenie z uzupełnień protetycznych [6]. Pozytywny stosunek do życia poprawia współpracę z lekarzem i jest jednym z głównych czynników warunkujących udany proces leczenia, szczególnie protetycznego. Stan psychospołeczny wpływa na istnienie i zakres potrzeb dotyczących leczenia protetycznego. Im lepszy jest ten stan, tym mniejsze są potrzeby i mniejszy jest zakres wykonywanych uzupełnień. Większe braki zębowe występowały u osób negatywnie oceniających życie.

Wnioski

1. Stan układu stomatognatycznego pensjonariuszy Domów Pomocy Społecznej jest niezadowolający.

2. U pensjonariuszy Domów Pomocy Społecznej istnieją bardzo duże potrzeby leczenia protetycznego. Zakres istniejących potrzeb wskazuje na zaniedbania w odniesieniu do profilaktyki i leczenia osób młodszych.

3. Uzupelnienia protetyczne użytkowane są zbyt długo, wykazują brak retencji, obniżoną wysokość zwarcia, a także są niestabilne.

4. Potrzeby stomatologiczne są ogromne i dotyczą działań nie tylko leczniczych, ale głównie oświatowych i profilaktycznych. Pacjenci w podeszłym wieku wymagają szczególnej motywacji higienicznej.

5. Powszechnym i ogromnie uciążliwym problemem stomatologicznym są dolegliwości związane z suchością jamy ustnej, które w znacznym stopniu utrudniają użytkowanie uzupełnień protetycznych.

6. Pacjentów geriatrycznych często dotyczy problem stomatopatii protetycznych.

7. Bez zmiany całego systemu ochrony zdrowia oczekiwania pensjonariuszy Domów Pomocy Społecznej w odniesieniu do leczenia stomatologicznego nie mogą być zaspokojone.

8. Stan psychospołeczny wpływa na istnienie oraz zakres potrzeb stomatologicznych. Im jest gorszy, tym częściej występują potrzeby protetyczne i są one rozleglejsze.

Piśmiennictwo

- Rahnama M., Wysokińska-Miszczuk J., Świątkowski W.: Pacjent w starszym wieku w gabinecie stomatologicznym. *Gerontol. Pol.* 2001, 9, 12–14.
- Tarłowska W., Górka R.: Wybrane problemy gerontologii. *Mag. Stom.* 1991, 1, 8–9.
- Podstawowe problemy psychologiczne człowieka starszego. In: *Gerontologia dla pracowników socjalnych*. Ed. K. Wiśniewska-Roszkowska. PZWL, Warszawa 1987, 126–138.
- Ey-Chmielewska H., Frączak B., Grocholewicz K., Gorzkowski G., Czajkowska E.: Znaczenie stanu psychicznego pacjentów w leczeniu protetycznym. *Protet. Stom.* 1993, 43, 207–211.
- Malejewska D., Graf A., Podgórný J.: Ocena stanu narządu żucia u mieszkańców Domów Rencisty w Szczecinie. *Protet. Stom.* 1987, 37, 240–247.
- Sierpińska T., Namiot D., Gołębiwska M., Kobierska A.: Analiza przyczyn niezadowolonych z protez ruchomych osiadających u pacjentów w podeszłym wieku. *Protet. Stom.* 1996, 46, 281–284.
- Ilewicz L., Kowol-Damboń K.: Stan uzębienia u mieszkańców Domów Opieki Społecznej Zabrze i Opola. *Czas. Stomatol.* 1995, 48, 104–110.
- Beck J., Kohout F., Heckert D.: Root caries: physical, medical psychosocial correlates in an elderly population. *Gerodontics*, 1987, 3, 242–247.
- Pasternak M.: Ocena uzębienia za pomocą wskaźnika PUW u ludzi w podeszłym wieku. *Czas. Stomatol.* 1997, 50, 310–313.
- Tokajuk G., Szyszko T., Miksza-Żyłkiewicz R., Guckler A.: Zapotrzebowanie protetyczne osób w wieku powyżej 55 lat w makroregionie północno-wschodnim Polski. *Czas. Stomatol.* 1995, 48, 35–38.
- Pellowska-Piontek M., Witek E., Nowalska-Kwapisz H., Góra B., Romankiewicz-Woźniczko G.: Ocena stanu przyzębia u mieszkańców wsi

- województwa gdańskiego w wieku 35–44 lat oraz 60 lat i powyżej. *Czas. Stomatol.* 1996, 49, 613–618.
- Frączak B., Piskorski P., Lewandowska M., Polak M., Budziszewski A.: Stan przyzębia u pacjentów posługujących się protezami częściowymi ruchomymi. *Protet. Stom.* 1988, 38, 253–257.
- Kostyra J., Machnikowski I., Szczyrek P., Gładkowski J., Owczarczak D.: Badanie zależności pomiędzy jakością protez całkowitych a satysfakcją i dolegliwościami związanymi z ich użytkowaniem – doniesienia wstępne. *Protet. Stom.* 2000, 50, 12–18.
- Bereznowski Z., Prośba-Mackiewicz M., Lasecka A., Chlebus I., Jasiel J., Płończak E.: Ocena stanu uzębienia i użytkowanych uzupełnień protetycznych oraz potrzeby leczenia protetycznego ludzi w wieku starszym. *Protet. Stom.* 2001, 51, 191–196.
- Malejewska D., Graf A.: Stan uzupełnień protetycznych oraz potrzeby leczenia protetycznego u wybranej grupy osób w zaawansowanym wieku. *Protet. Stom.* 1987, 37, 229–233.
- Mierzwińska-Nastalska E., Rusiniak-Kubik K., Gontek R., Adamczyk E.: Udział czasu użytkowania uzupełnień protetycznych w etiopatogenezie zakażeń grzybiczych jamy ustnej. *Protet. Stom.* 2002, 52, 85–90.
- Ilewicz L., Kowol-Damboń K., Książek-Bąk H.: Ocena uzupełnień protetycznych i potrzeby w zakresie leczenia stomatologicznego u mieszkańców Domów Opieki Społecznej Zabrze i Opola. *Czas. Stomatol.* 1995, 48, 174–179.
- Kraszewska K., Gołębiwska M.: Ocena protez całkowitych użytkowanych przez pacjentów. *Protet. Stom.* 1996, 46, 33–35.
- Pawlička H., Arabska-Przedpelska B.: Niektóre problemy podeszłego wieku związane z leczeniem zachowawczym. Część I. *Mag. Stom.* 1993, 28, 6–8.
- Juszczak-Popowska B., Chruściel B., Chrupek B., Chomicki P., Grabowska K., Guckler A.: Stan uzupełnień protetycznych oraz potrzeby w tym zakresie u osób w wieku 55 lat i więcej u mieszkańców regionu warszawskiego. *Czas. Stomatol.* 1994, 47, 193–196.
- Wiśniewska-Roszkowska K.: Starość jako zadanie. Pax, Warszawa 1989.
- Rantanen T., Sürila H., Leivila P.: Effect of instruction and motivation on dental knowledge and behaviour among wearers of partial dentures. *Acta Odontol. Scand.* 1980, 38, 9–11.
- Michalik K., Bort A.: Etiologia i leczenie stomatitis prothetica mycotica. *Mag. Stom.* 1999, 8, 32–35.
- Wojciechowska E., Kamińska A., Karasiński A.: Higiena protez i rodzaj diety pacjentów użytkujących protezy całkowite. *Mag. Stom.* 2001, 11, 48–51.
- Grocholewicz K., Piskorski P.: Psychologiczne aspekty współpracy lekarza z pacjentem w profilaktyce i leczeniu stomatologicznym. *Czas. Stomatol.* 1993, 46, 491–494.
- Ośmiałowska M.: Postępowanie psychologiczne w leczeniu stomatologicznym dorosłych pacjentów. *Protet. Stom.* 1983, 33, 291–296.
- Gołębiwska M., Sierpińska T., Namiot D.: Akceptacja protez u pacjentów w podeszłym wieku a stany emocjonalne. *Protet. Stom.* 1997, 47, 334–339.
- Szwarc H., Szyszko-Wydra B.: Ocena własnego życia a aktualna sytuacja psychospołeczna badanych osób starszych. *Gerontol. Pol.* 1999, 7, 33–37.
- Tokajuk G., Szyszko T., Szczesiul E., Miksza-Żyłkiewicz E., Guckler A.: Stan higieny ruchomych uzupełnień protetycznych u osób w wieku powyżej 55 lat w makroregionie północno-wschodnim Polski. *Czas. Somatol.* 1995, 48, 111–114.

Komentarz

Stomatologia geriatryczna postawiła sobie za cel zainteresowanie nie tylko chorobami jamy ustnej, ale także ich zapobieganiem, leczeniem i rehabilitacją u osób w podeszłym wieku. Wciąż za mało wiemy na ten temat. Jak bardzo

doceniono to zagadnienie niech świadczy fakt włączenia go jako wydzielonego przedmiotu do programu nauczania studentów stomatologii.

Prezentowana praca swą tematyką idealnie trafiła w potrzeby chwili. Choć prowadzi się w Polsce monitorowanie stanu zdrowia jamy ustnej osób dorosłych, mieszkańcy Domów Pomocy Społecznej stanowią ich szczególną grupę. Autorka przedstawiła nie tylko wątki humanistyczne wieku podeszłego, ale przede wszystkim określiła u tych osób jakość układu stomatognatycznego i użytkowanych uzupełnień protetycznych. U pensjonariuszy Domów Pomocy Społecznej Szczecina i okolic zaobserwowała zaniedbania w zakresie całego narządu żucia i uzupełnień protetycznych oraz szczególną uwagę zwróciła na wpływ ich stanu psychospołecznego na po-

trzeby stomatologiczne, które zostały określone szczegółowo i kompleksowo, i dobrze by się stało, gdyby zostały dostrzeżone przez organizatorów opieki stomatologicznej dla tej grupy wiekowej.

Szczególną wartością prezentowanych wyników jest powiązanie ich z prostą prawdą, że problemy stomatologiczne osób w podeszłym wieku są następstwem wielu zaniedbań w wieku młodszym. Nie można nie zauważyć, że staranna profilaktyka stomatologiczna powinna być jak najwcześniejszym procesem ciągłym. Ekonomia ukazuje jej zasadność. I tak łączą się interesy gerontostomatologii z pedodontją. Jeśli te fakty powiążemy, mądrzej będziemy rozwiązywać narastające z wiekiem trudności.

dr hab. n. med. *Krystyna Lisiecka*

ELIZA GÓRNIAK

RESORPCJA CEMENTU KORZENIOWEGO W POMIARACH WSKAŹNIKÓW RESORPCJI*

RESORPTION OF ROOT CEMENT STUDIED WITH RESORPTION INDICES*

Katedra i Zakład Ortodoncji Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Maria Syryńska*

Summary

Purpose: The aim of this work was to assess the influence of orthodontic treatment with fixed thin wire appliances on hard tissues of the tooth.

Material and methods: The effect of mechanical forces from the fixed appliance on root cement was studied during and after orthodontic treatment. Root cement was examined microscopically following extraction of the affected tooth.

Results: The study group comprised 35 patients who underwent pantomography because of possible root resorption during orthopedic treatment. Reduced root length was noted in 30 patients (85.7%). In most cases, apical resorption was noticed in upper (84.3%) and lower central incisors (61.4%).

Conclusions: The results of the it can be seen on photographs from the optical microscope that root cement reacted differently to forces of traumatic occlusion. Resorptive loss reached as far as the dentine border.

K e y w o r d s: root resorption – orthodontic treatment.

Streszczenie

Wstęp: Celem pracy było określenie wpływu leczenia ortodontycznego aparatami stałymi cienkołukowymi na twarde tkanki zębów.

Material i metody: Oceniono wpływ sił mechanicznych aparatu stałego cienkołukowego na zachowanie cementu korzeniowego podczas i po leczeniu ortodontycznym oraz obraz mikroskopowy cementu korzeniowego po usunięciu zębów z resorpcją.

Wyniki: Spośród zbadanych 35 pacjentów w kierunku resorpcji wierzchołkowej na podstawie zdjęć pantomograficznych utratę długości korzeni zębów zanotowano u 30 pacjentów (85,7%) poddanych terapii ortodontycznej. Najczęściej resorpcję wierzchołkową odnotowano w siekaczach przyśrodkowych szczęki (84,3%), a następnie w siekaczach przyśrodkowych żuchwy (61,4%).

Wnioski: Na podstawie wyników z części badań przedstawionej w dokumentacji fotograficznej z mikroskopu optycznego wykazano, że cement korzeniowy wykazał różne reakcje na działające siły zgryzu urazowego. Obserwowano resorpcyjne ubytki sięgające do granicy z zębina.

H a s ł a: resorpcja korzeni – leczenie ortodontyczne.

Wstęp

Resorpcja korzeni w trakcie leczenia ortodontycznego jest relatywnie częstym, niepożądanym zjawiskiem patologicznym. Resorpcja patologiczna, dotycząca zewnętrznej powierzchni korzeni zębów, określana jest mianem resorpcji zewnętrznej natomiast występująca w komorze i kanale zęba nazywana jest resorpcją wewnętrzną [1].

* Zwięzła wersja rozprawy doktorskiej przyjętej przez Radę Wydziału Stomatologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Promotor: prof. dr hab. n. med. *Maria Syryńska*. Oryginalny maszynopis obejmuje: 95 stron, 33 tabele, 14 rycin, 14 fotografii, 117 pozycji piśmiennictwa.

* Concise version of doctoral thesis approved by the Council of the Faculty of Dentistry, Pomeranian Medical University in Szczecin. Promotor: Prof. *Maria Syryńska* M.D., D.M.Sc.Habil. Original typescript comprises: 95 pages, 33 tables, 14 figures, 14 photographs, 117 references.

Reitan [2] dokonał podziału resorpcji korzenia zęba w zależności od jej umiejscowienia:

1. Resorpcja zewnętrzna – dotyczy cementu lub cementu i zębiny:

a) resorpcja wierzchołkowa – obejmuje szczyt korzenia, najczęściej występuje w przypadku intrudowania lub ekstrudowania zęba [2, 3, 4];

b) resorpcja okołowierzchołkowa – obejmuje 1/3 przywierzchołkowej długości korzenia, najczęściej jest spotykana w przypadkach przechylenia lub wychylenia zębów (*tipping*) oraz intrudowania [2, 5];

c) resorpcja środkowa – obejmuje 1/3 środkowej części korzenia, najczęściej występuje podczas osiowego przemieszczania zęba (*bodily movement*) [2];

d) resorpcja brzeżna – obejmuje 1/3 przyszyjkowej długości korzenia, najczęściej występuje w przypadkach wychylenia i przechylenia zęba na powierzchni korzenia po stronie przeciwnej resorpcji przywierzchołkowej oraz w przypadkach, gdy ząb jest rotowany [2].

2. Resorpcja wewnętrzna – dotyczy zębiny. Występuje na powierzchni ściany kanału korzenia zęba w okolicy otworu szczytowego w przypadkach, gdy siły ortodontyczne powodują ucisk włókien ozębnej w okolicy wierzchołka korzenia [2, 4].

Następstwem leczenia ortodontycznego jest najczęściej resorpcja zewnętrzna wierzchołkowa i okołowierzchołkowa [2, 4, 5].

Czynnikami etiologicznymi, determinującymi proces resorpcji korzeni zębów, są:

– czynniki mechaniczne, które są bezpośrednio związane z mechanoterapią ortodontyczną, tj. rodzajem aparatu, wielkością i rodzajem siły ortodontycznej oraz sposobem przemieszczania zębów;

– czynniki biologiczne, do których zalicza się zaburzenia ogólnoustrojowe, takie jak: endokrynopatie, zaburzenia metaboliczne i genetyczne, procesy zapalne okołozębowe oraz inne czynniki nie związane z mechanoterapią ortodontyczną;

– czynniki biologiczno-mechaniczne, np. czas trwania leczenia [2, 6, 7, 8, 9].

W prawidłowych warunkach korzeń zęba ma bezkomórkową, organiczną warstwę podstawową, zwaną cementoidem, która od zewnątrz pokrywa powierzchnię cementu komórkowego [2, 8]. W wyniku działania na ząb siły ortodontycznej, ochronna warstwa cementu może zostać perforowana, a jego odsłonięta powierzchnia ulec resorpcji. W momencie wygaśnięcia siły powstałe miejsca resorpcji zostają zwykle pokryte cementoblastami, które mają zdolność odbudowy utraconych tkanek poprzez wytworzenie cementu komórkowego, a powstała warstwa cementoidu zapobiega dalszej resorpcji korzenia zęba [4]. W literaturze określono ten proces mianem resorpcji przejściowej (*transient root resorption*). Na podstawie badań wykazano, że większość zębów poddanych terapii ortodontycznej dotkniętych jest resorpcją korzeni. W przypadku, gdy istnieją czynniki stymulujące odontoblasty do aktywnej

resorpcji, mamy do czynienia z resorpcją progresywną [8, 9, 10, 11, 12].

Jeśli siła ortodontyczna działa przez dłuższy czas lub jest zbyt duża, dochodzi do zniszczenia cementoidu i resorpcji cementu, czego konsekwencją może być resorpcja zębiny. Jest to proces nieodwracalny, w którym cementoblasty tylko w części odbudowują utracone tkanki poprzez wytworzenie warstwy cementu komórkowego [2, 4]. Radiologicznie na powierzchni korzenia można stwierdzić nieckowate wklęsnięcia o różnej wielkości [8].

W sytuacji, gdy włókna ozębnej w okolicy otworu szczytowego korzenia ulegną uciskowi, np. podczas intrudowania zęba, może dojść do uszkodzenia niezmineralizowanej warstwy podstawowej zębiny (prazębiny, która wyściela ścianę kanału) i w konsekwencji do resorpcji głębszych warstw zębiny od strony jamy zęba [2].

Resorpcję wierzchołkową korzenia i jej rozmiar można wykryć radiologicznie na zdjęciu panoramicznym i na zdjęciu zębowym [13]. Warunkiem ilościowej oceny resorpcji korzeni są powtarzalne zdjęcia porównywane ze stanem wyjściowym [14]. Minimalne zmiany kształtu korzeni mogą być spowodowane z jednej strony przez resorpcję, z drugiej zaś przez ortodontyczną zmianę pozycji zębów w wyrostku zębodołowym [13]. Interpretacja konwencjonalnych pantomogramów, dotycząca skrócenia wierzchołków korzenia lub zaawansowanej resorpcji mezialnych czy dystalnych powierzchni korzenia, jest utrudniona wskutek przesunięcia zarysów anatomicznych struktur korzeni zębów na płaszczyźnie zdjęcia. Lokalizacja i ocena przedsińkowych i podniebiennych/językowych okolic resorpcji jest niemożliwa na podstawie zwykłych zdjęć rentgenowskich.

W niniejszej pracy postanowiono prześledzić działanie wybranego, najczęściej stosowanego w Zakładzie Ortodoncji Pomorskiej Akademii Medycznej aparatu ortodontycznego stałego cienkołukowego. Celem pracy była ocena wpływu sił mechanicznych na zachowanie cementu korzeniowego podczas i po leczeniu ortodontycznym na podstawie zdjęć panoramicznych i zębowych.

Material i metody

Wpływ sił mechanicznych na cement korzeniowy oceniano na pantomogramach 35 osób (22 kobiet i 13 mężczyzn) leczonych aparatami stałymi cienkołukowymi obuszczeniowo.

Resorpcję zewnętrzną korzeni oceniano za pomocą 3 wskaźników:

- 1) pięciostopniowej skali zaproponowanej przez Levandera i Malmgrena [15];
- 2) jedenastopniowej skali Goldsona i Henriksona [16];
- 3) czterostopniowej skali Phillippsa [17].

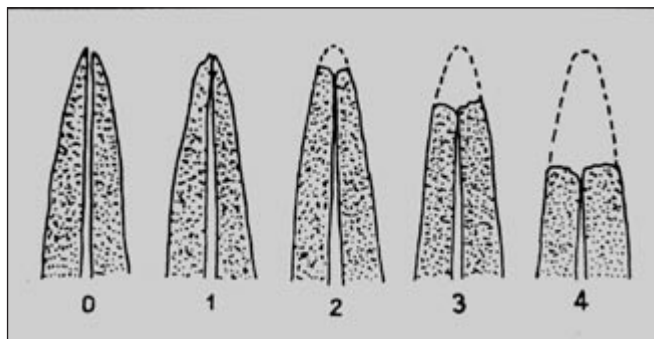
Skala Levandera i Malmgrena:

- 0 – prawidłowy zarys wierzchołka korzenia zęba, długość korzenia niezmienną,

- 1 – nieregularny zarys wierzchołka korzenia zęba, długość korzenia niezmienniona,
- 2 – resorpcja wierzchołka korzenia nieprzekraczająca 2 mm,
- 3 – resorpcja wierzchołka przekracza 2 mm, jednak nie więcej niż 1/3 długości korzenia,
- 4 – resorpcja wierzchołka przekraczająca 1/3 długość korzenia zęba [15].

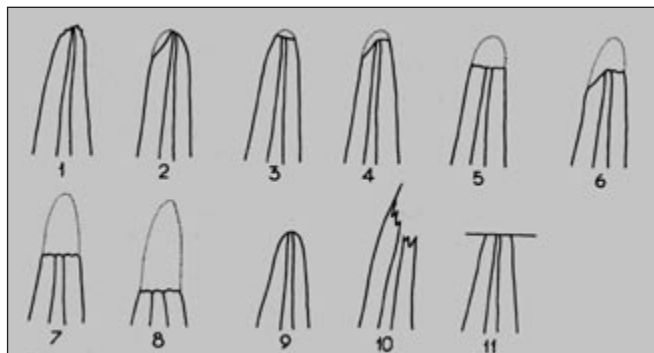
Goldson i Henrikson stworzyli jedenastopniową skalę do opisu resorpcji na podstawie zewnątrzustnych zdjęć radiologicznych:

- 1 – nieregularny zarys wierzchołka prawdopodobnie spowodowany resorpcją,
- 2 – skośna resorpcja przywierzchołkowa, nieprzekraczająca linii pośrodkowej korzenia,
- 3 – wierzchołkowa resorpcja korzenia nieprzekraczająca 2 mm; powierzchnia resorpcji przecina linię pośrodkową korzenia,
- 4 – wierzchołkowa resorpcja nieprzekraczająca 2 mm w połączeniu ze skośną resorpcją nieprzekraczającą linii pośrodkowej korzenia (kombinacja stopnia 2 i 3),
- 5 – resorpcja wierzchołkowa korzenia równa 2 mm,
- 6 – resorpcja wierzchołkowa równa 2 mm w połączeniu ze skośną resorpcją nieprzekraczającą linii pośrodkowej,
- 7 – resorpcja równa 2/3 utraty długości korzenia,
- 8 – resorpcja korzenia większa niż 2/3 długości korzenia,
- 9 – krótki korzeń, zaokrąglony wierzchołek,



Ryc. 1. Schemat resorpcji wierzchołków korzeni zębów wg skali Levandera i Malmgrena

Fig. 1. Levander and Malmgren root resorption index



Ryc. 2. Schemat resorpcji wierzchołków korzeni zębów wg skali Goldsona i Henriksona

Fig. 2. Goldson and Henrikson root resorption index

- 10 – widoczna resorpcja korzenia, ale niemierzalna z powodu złej projekcji zdjęcia,
- 11 – zdjęcie bezwartościowe [16].

Phillips, w badaniach własnych, opracował czterostopniową skalę utraty długości korzenia:

- mała – minimalne zaokrąglenie wierzchołka korzenia
- umiarkowana – utrata długości nieprzekraczająca 1/4 długości korzenia
- nadmierna – utrata długości przekraczająca 1/4 długości korzenia
- niemierzalna – z powodu złej jakości zdjęcia [17].

Wyniki

W tabeli 1 przedstawiono stopień resorpcji wierzchołkowej zębów szczęki po zakończonym leczeniu ortodontycznym wg skali Levandera i Malmgrena, oceniany na zdjęciach pantomograficznych. Najwyższy odsetek resorpcji wierzchołkowej odnotowano w siekaczach przyśrodkowych (84,3%), następnie w siekaczach bocznych (62,9%), w kłach (34,3%), w przedtrzonowcach (23,3%) i w trzonowcach (11,4%).

W tabeli 2 przedstawiono stopień resorpcji wierzchołkowej zębów żuchwy po zakończonym leczeniu ortodontycznym wg skali Levandera i Malmgrena, oceniany na zdjęciach pantomograficznych. Najwyższy odsetek resorpcji wierzchołkowej odnotowano w siekaczach przyśrodkowych (61,4%), następnie w siekaczach bocznych (42,9%), w przedtrzonowcach (22%), w kłach (21,4%) i w trzonowcach (19,1%).

W tabeli 3 przedstawiono stopień resorpcji wierzchołkowej zębów szczęki i żuchwy po zakończonym leczeniu ortodontycznym wg skali Goldsona i Henriksona. Resorpcję wierzchołkową odnotowano w 44,3% zębach szczęki i 31,7% zębach żuchwy.

W tabeli 4 przedstawiono stopień resorpcji wierzchołkowej zębów szczęki po zakończonym leczeniu ortodontycznym wg skali Phillipsa. Resorpcję wierzchołkową odnotowano w 40,8%, w tym – małą w 15,3%, umiarkowaną w 23,9%, nadmierną w 0,75%. W przypadku 0,75% niemożliwe było określenie stopnia resorpcji z powodu złej jakości zdjęć.

W tabeli 5 przedstawiono stopień resorpcji wierzchołkowej zębów żuchwy po zakończonym leczeniu ortodontycznym wg skali Phillipsa. Resorpcję wierzchołkową odnotowano w 32,1%, w tym – małą w 21,7%, umiarkowaną w 9,3%, nadmierną w 0,5%. W przypadku 0,5% niemożliwe było określenie stopnia resorpcji z powodu złej jakości zdjęć.

Z podsumowania wyników badań wynika, że spośród zbadanych 35 pacjentów w kierunku resorpcji wierzchołkowej, na podstawie zdjęć pantomograficznych utratę długości korzeni zębów zanotowano u 30 pacjentów (85,7%) poddanych terapii ortodontycznej. Najczęściej resorpcję wierzchołkową odnotowano w siekaczach przyśrodkowych szczęki (84,3%), następnie siekaczach przyśrodkowych żuchwy (61,4%).

Dyskusja

Resorpcja korzeni po zakończonym leczeniu ortodontycznym jest relatywnie częstym, niepożądanym zjawiskiem. W piśmiennictwie problem ten został podjęty już w drugiej połowie XIX wieku przez Batesa. *Ketcham* [18] zauważył resorpcję u 21% spośród 500 pacjentów oraz że dwa razy częściej resorpcja dotyczyła zębów szczęki w porównaniu do zębów żuchwy. W swoich badaniach *Massler* i *Malone* [19] stwierdzili resorpcję wierzchołkową korzeni na wszystkich analizowanych zdjęciach, jednego lub więcej

zębów po leczeniu ortodontycznym 708 pacjentów. *Philips* [17], na podstawie wykonanych przed i po leczeniu zdjęć wewnątrzustnych 1745 zębów, zanotował resorpcję wynoszącą 31,3%. Autorzy posłużyli się czterostopniową skalą resorpcji. Z wszystkich zbadanych zębów 1067 (61%) było wolnych od resorpcji, 130 zębów (7,4%) zostało zdyskwalifikowanych z powodu złej jakości zdjęć, 466 zębów (26,7%) miało rozpoznaną resorpcję małego stopnia, resorpcję umiarkowaną zanotowano w przypadku 77 zębów (4,3%), a tylko 5 zębów (0,3%) wykazało nadmierną resorpcję. Zauważono, podobnie jak *Ketcham*, że siekacze

Tabela 1. Stopień resorpcji wierzchołkowej zębów szczęki po zakończeniu leczenia ortodontycznego wg skali Levandera i Malmgrena
Table 1. Distribution of root resorption scores for maxillary teeth at the end of active orthodontic treatment according to the Levander and Malmgren root resorption index

Stopień resorpcji Resorption score	Zęby szczęki / Maxillary teeth										Razem Total	
	1 + 1		2 + 2		3 + 3		5, 4 + 4, 5		6 + 6			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	7	10,0	18	25,7	19	28,3	26	37,1	5	7,1	75	42,6
2	39	55,7	16	22,9	4	6,0	12	17,1	3	4,3	74	42,0
3	13	18,6	8	11,4	0	0,0	3	2,5	0	0,0	24	13,7
4	0	0,0	2	2,9	0	0,0	1	0,8	0	0,0	3	1,7
Razem / Total	59	84,3	44	62,9	23	34,3	42	57,5	8	11,4	176	44,3
Bez resorpcji Normal apical contour	11	15,7	26	37,1	44	65,7	92	76,7	62	88,6	221	55,7

Tabela 2. Stopień resorpcji wierzchołkowej zębów żuchwy po zakończonym leczeniu ortodontycznym wg skali Levandera i Malmgrena
Table 2. Distribution of root resorption scores for mandibular teeth at the end of active orthodontic treatment according to the Levander and Malmgren root resorption index

Stopień resorpcji Resorption score	Zęby żuchwy / Mandibular teeth										Razem Total	
	1 - 1		2 - 2		3 - 2		5, 4 - 4, 5		6 - 6			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	21	30	24	34,3	11	15,7	19	16,1	11	16,1	86	67,7
2	21	30	6	8,6	4	5,7	6	5,1	1	1,5	38	29,9
3	1	1,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,0	0,0	1	0,8
4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,8	1	1,5	2	1,6
Razem Total	43	61,4	30	42,9	15	21,4	26	22,0	13	19,1	127	31,7
Bez resorpcji Normal apical contour	27	38,6	40	57,1	55	78,6	92	78,0	55	80,9	273	68,3

Tabela 3. Stopień resorpcji wierzchołkowej zębów szczęki i żuchwy po zakończeniu leczenia ortodontycznego wg skali Goldsona i Henriksona

Table 3. Distribution of root resorption scores for maxillary and mandibular teeth at the end of active orthodontic treatment according to the Goldson and Henrikson root resorption index

Parametry Parameters		Stopień resorpcji / Resorption score											Razem Total	Bez resorpcji Normal apical contour
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Szczeka Maxilla 6 + 6	n	64	15	75	8	1	2	1	0,0	3	4	3	176	221
	%	36,4	8,5	42,6	4,5	0,6	1,1	0,6	0,0	1,7	2,3	1,7	100	55,7
% (Maxilla)		16,1	3,8	18,9	2,0	0,3	0,5	0,3	0,0	0,8	1,0	0,8	44,5	
Żuchwa Mandible 6 - 6	n	76	11	31	1	0,0	0,0	2	0,0	2	2	2	127	273
	%	59,8	8,7	24,4	0,8	0,0	0,0	1,6	0,0	1,6	1,6	1,5	100	68,3
% (Mandible)		19,0	2,7	7,8	0,2	0,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,5	0,5	31,7	

Tabela 4. Stopień resorpcji wierzchołkowej zębów szczęki po zakończeniu leczenia ortodontycznego wg skali Phillipsa

Table 4. Distribution of root resorption scores for maxillary teeth at the end of active orthodontic treatment according to the Phillips root resorption index

Stopień resorpcji Resorption score	Zęby szczęki Maxillary teeth										Razem Total	
	1 + 1		2 + 2		3 + 3		5, 4 + 4, 5		6 + 6			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Mała Minor	7	10	18	25,7	19	28,3	12	10,0	5	7,1	61	15,3
Umiarkowana Moderate	50	71,4	23	32,8	4	6,0	15	12,5	3	4,3	95	23,9
Nadmierna Excessive	0	0,0	2	2,9	0	0,0	1	0,8	0	0,0	3	0,75
Niemierzalna Not measurable	2	2,9	1	1,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	0,75
Razem Total	59	84,3	44	62,8	23	34,3	28	23,3	8	11,4	162	40,7
Brak resorpcji Normal apical contour	11	15,7	26	37,1	44	65,7	92	76,7	62	88,6	235	59,2

Tabela 5. Stopień resorpcji wierzchołkowej zębów żuchwy po zakończonym leczeniu ortodontycznym wg skali Phillipsa

Table 5. Distribution of root resorption scores for mandibular teeth at the end of active orthodontic treatment according to the Phillips root resorption index

Stopień resorpcji Resorption score	Zęby żuchwy Mandibular teeth										Razem Total	
	1 - 1		2 - 2		3 - 3		5, 4 - 4, 5		6 - 6			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Mała Minor	21	30,0	24	34,2	11	15,7	19	16,1	11	16,1	86	21,7
Umiarkowana Moderate	21	30,0	5	7,1	4	5,7	6	5,1	1	1,5	37	9,3
Nadmierna Excessive	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,8	1	1,5	2	0,5
Niemierzalna Not measurable	1	1,4	1	1,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	0,5
Razem Total	43	61,4	30	42,7	15	21,4	26	22,0	13	19,1	127	32,0
Brak resorpcji Normal apical contour	27	38,6	40	57,1	55	78,6	92	78,0	55	80,9	269	67,9

górne są najczęściej dotykane przez proces resorpcji. Nie stwierdzono różnicy wystąpienia zjawiska skrócenia korzeni po leczeniu ortodontycznym u obojga płci.

W badaniach własnych przeanalizowano zdjęcia pantomograficzne przed i po leczeniu 397 zębów szczęki i 400 zębów żuchwy. Odnotowano resorpcję 162 zębów szczęki (40,8%), zaś 127 zębów żuchwy (32,1%). Zębów wolnych od resorpcji wierzchołkowej w górnym łuku zębowym zanotowano 235 (59,2%), a w łuku dolnym 269 (67,9%). Z powodu złej jakości zdjęć nie brano pod uwagę 3 zębów szczęki (0,75%) i 2 zębów żuchwy (0,5%). Niższy odsetek zdjęć, odrzuconych w badaniach własnych z powodu złej jakości, wynika z faktu, że pantomogramy do pracy zostały wyselekcjonowane. Resorpcję małego stopnia zaobserwowano w 86 zębach szczęki (15,3%) i 61 zębach żuchwy (21,7%), resorpcję umiarkowaną zanotowano w przypadku 95 zębów (23,9%) i 37 zębów żuchwy (9,3%), a resorpcję

nadmierną wykazały podobnie, jak w badaniach *Phillipsa*, 3 zęby górne (0,75%) i 2 zęby dolne (0,5%).

Goldson i *Henrikson* [16] dla oceny resorpcji wierzchołkowej stworzyli własną skalę, za pomocą której ocenili 924 zęby. W kierunku resorpcji wierzchołkowej w badaniach własnych oceniono za pomocą wskaźnika Goldsona i Henriksona 397 zębów szczęki i 400 zębów żuchwy. Ponad połowa zębów szczęki (55,7%) oraz żuchwy (68,3%) nie wykazała resorpcji wierzchołkowej. Nieregularny zarys wierzchołka, 1 stopień resorpcji, odnotowano w większej liczbie w zębach żuchwy (19,0%) w porównaniu do zębów szczęki 16,1%. W pozostałych przypadkach zęby szczęki wykazywały procentowo większy odsetek resorpcji. Stopień 2, cechujący się skośną resorpcją wierzchołkową, nieprzekraczającą linii pośrodkowej korzenia, odnotowano w 3,8% zębów szczęki i w 2,7% zębów żuchwy. Stopień 3, wierzchołkowa resorpcja nieprzekraczająca 2 mm, stwier-

dono w przypadku 75 zębów szczęki i 31 zębów żuchwy, odpowiednio 18,9% i 7,75%. Stopień 4, wierzchołkowa resorpcja nieprzekraczająca 2 mm w połączeniu ze skośną resorpcją nieprzekraczającą linii pośrodkowej korzenia, zauważono w 2,0% zębów szczęki i 0,2% zębów żuchwy. Stopień 5, 6, 7 i 8 odnotowano w niewielkim procencie zarówno w zębach szczęki, jak i żuchwy. Stopień 9, krótki korzeń z zaokrąglonym wierzchołkiem, stwierdzono w 3 przypadkach (0,8%) zębów szczęki oraz w 2 przypadkach (0,5%) zębów żuchwy. Z powodu złej projekcji lub zdjęcia nieczytelnego badanie w kierunku resorpcji wierzchołkowej nie objęło 11 zębów, co stanowiło 1,4% wszystkich zębów.

Zastosowanie tego wskaźnika w przypadku oceny zdjęć pantomograficznych jest trudne ze względu na nakładanie się na siebie struktur promieniochłonnych. Sami autorzy stwierdzili, że wskaźnik jest zbyt szczegółowy i ocena tych samych zdjęć przez dwóch niezależnych badaczy daje różne wyniki. W badaniach własnych zauważono, że zastosowanie tego wskaźnika było trudne, zwłaszcza przy ocenie resorpcji skośnych; stopień 2, 4, 6.

Levander i Malmgren [15] zauważyli resorpcję korzeni wynoszącą 34% i 65% zębów zbadanych, odpowiednio po 6–9 oraz 19 miesiącach aktywnego leczenia. Ponadto stwierdzili, że korzenie cienkie, długie i ostro zakończone wykazują większą predyspozycję do resorpcji zewnętrznej podczas leczenia.

Harris i wsp. [10] prowadzili badania na grupie 206 dzieci, tj. 103 par rodzeństwa, chcąc dowiedzieć, że proces resorpcji może mieć podłoże genetyczne. Stwierdzili, że resorpcja u rodzeństwa ma podobny przebieg kliniczny w odpowiedzi na leczenie ortodontyczne i istnieje istotny czynnik genetyczny mający wpływ na wystąpienie tego zjawiska. Autorzy wykazali, że proces resorpcji najslabiej jest nasilony w siekaczach dolnych, gdzie skrócenie długości korzeni nastąpiło średnio o 1,5 mm, a najmocniej w siekaczach górnych, gdzie doszło do skrócenia długości korzeni średnio o 2,3 mm. Podobne wyniki badań uzyskali *Remington i wsp.* [20]. Ocenili oni zdjęcia przed i po leczeniu u 100 pacjentów wg skali Malmgrena i Levandera; 52% wykazywało stopień od 0 do 1, 40% stopień 2, 7% stopień 3, a tylko 1% stopień najwyższy – 4. Z tych badań wynika, że resorpcja korzeni jest najmocniej nasiloną w przednich zębach szczęki i wynosi średnio 1,9 mm w porównaniu do siekaczy dolnych (średnia 1,3 mm). Ponadto dowiedziono, że zęby leczone endodontycznie są mniej podatne na proces resorpcji podczas leczenia ortodontycznego. W badaniach własnych nie stwierdzono resorpcji zębów leczonych endodontycznie.

W badaniach własnych, przy zastosowaniu tego samego wskaźnika stwierdzono, że spośród zbadanych 35 pacjentów utratę długości korzeni zębów zanotowano u 85,7% poddanych terapii ortodontycznej. Najczęściej resorpcję wierzchołkową odnotowano w siekaczach przyśrodkowych szczęki (84,3%), następnie żuchwy (61,4%) ze wskazaniem na stronę lewą w obu łukach zębowych. Stopień 1 resorpcji,

czyli nieregularny zarys wierzchołka i niezmieniona długość korzenia, zanotowano w 75 zębach szczęki (18,8%) i 86 zębach żuchwy (21,5%). Resorpcję korzenia mniejszą od 2 mm, stopień 2 zanotowano w przypadku 74 zębów szczęki (18,6%) i 38 zębów żuchwy (9,5%). Skrócenie korzenia większe niż 2 mm i mniejsze niż 1/3 długości korzenia stwierdzono w 24 zębach szczęki (6,05%) i tylko w 1 zębie żuchwy (0,25%). Stopień 4, najwyższy, stwierdzono w przypadku 5 zębów; dwóch siekaczy bocznych prawych szczęki, pierwszego przedtrzonowca lewego szczęki, pierwszego przedtrzonowca dolnego lewego, pierwszego trzonowca dolnego lewego. Resorpcja 4 stopnia siekaczy bocznych prawych była spowodowana przez podniebiennie zatrzymane kły. Duża utrata długości korzenia pierwszego przedtrzonowca szczęki, pierwszego przedtrzonowca i pierwszego trzonowca żuchwy była spowodowana stosowaniem dużych sił i długim czasem leczenia, co było zdeterminowane nasileniem wady. U tych pacjentów, u których wystąpiła resorpcja większa niż 1/3 długości korzenia, nie stwierdzono patologicznej ruchomości, a pacjenci nie zgłaszali dolegliwości bólowych.

Harris i Butler [5], posługując się wskaźnikiem Malmgrena i Levandera, ocenili resorpcję korzeni w grupie pacjentów ze zgryzem otwartym i ze zgryzem głębokim. Analizując zdjęcia przed leczeniem, stwierdzili, że u chcących rozpocząć terapię ortodontyczną z rozpoznaniem zgryzem otwartym skrócenie długości korzeni siekaczy było częstsze w porównaniu do osób z rozpoznaniem zgryzem głębokim. Fakt ten tłumaczony jest występowaniem u tych pierwszych parafunkcji, a w szczególności obgryzania paznokci. Nawyk obgryzania paznokci, w swojej pracy, w aspekcie leczenia ortodontycznego i resorpcji korzeni, szeroko opisują *Odenrick i Brattström* [21], a także *Beck i Harris* [6] oraz *Linge i Linge* [22].

Tokarska i wsp. [23] opisały w swoich badaniach występowanie i częstość procesu resorpcji w przypadku zatrzymanych kłów górnych. Stwierdziły, że niedochodzenie do płaszczyzny zgryzu siekacza bocznego, sąsiadującego z zatrzymaną trójką górną, może sugerować zaawansowaną resorpcję jego korzenia. Z piśmiennictwa wynika, że resorpcja siekaczy górnych, spowodowana przez zatrzymane kły, występuje u 12,5% i dotyczy częściej dziewcząt niż chłopców. Według *Ericsona i Kurola* [24], ze względu na bezpośrednie sąsiedztwo z kłami, resorpcja siekaczy bocznych występuje czterokrotnie częściej niż siekaczy przyśrodkowych. W badaniach własnych, spośród 35 przeanalizowanych zdjęć w kierunku resorpcji wierzchołkowej, u 3 pacjentów (2 dziewcząt i 1 chłopca) zanotowano resorpcję korzenia spowodowaną zatrzymanym podniebiennym kłem. U 2 pacjentów stopień resorpcji korzenia siekacza bocznego, wg wszystkich zastosowanych skal, był najwyższy. Pacjenci ci nie zgłaszali żadnych dolegliwości bólowych, a także w badaniu palpacyjnym nie stwierdzono ruchomości patologicznej. W swojej pracy *Tokarska i wsp.* tłumaczą to faktem, że najczęściej resorpcja korzenia przebiega skośnie w kierunku podniebiennie-wargowym albo dystalno-me-

zjalnym. Zachowanie po jednej stronie większej długości korzenia powoduje, że w badaniu klinicznym zęb przez dłuższy czas nie wykazuje nadmiernej ruchomości [23].

Wielu autorów uważa, że częstość występowania resorpcji korzeni jest różna w poszczególnych grupach zębowych. Z większości badań wynika, że zęby szczęki są bardziej podatne na proces resorpcji niż zęby żuchwy [17, 25]. Największy odsetek dotyczy górnych siekaczy [11, 12, 26, 27, 28]. Może to wynikać z faktu, że zęby te są częściej objęte dokumentacją rentgenowską. Inni odkryli większą podatność korzeni dolnych siekaczy na proces resorpcji [28]. W badaniach własnych potwierdzono to, bowiem największy odsetek resorpcji wg skali Levandera i Malmgrena stwierdzono w siekaczach górnych przyśrodkowych (84,3%), a następnie w siekaczach górnych bocznych (62,9%). W siekaczach przyśrodkowych żuchwy stopień resorpcji wierzchołkowej odnotowano w 34 zębach, co stanowiło 61,4%. W świetle badań uważa się, że jeśli nie wykryto śladów resorpcji w obszarze korzeni górnych siekaczy lub dolnych to istnieje małe prawdopodobieństwo, że wystąpi ona w innych zębach u tego samego pacjenta [16, 25, 28].

Wnioski

1. Aparat stały może być przyczyną powstawania resorpcji cementu korzeniowego, która nie zawsze jest widoczna na zdjęciach rentgenowskich.

2. Resorpcja cementu wierzchołka korzenia nie była przyczyną utraty zębów.

3. Najwyższy stopień resorpcji zauważono przy długiej fazie leczenia aktywnego, a także w okolicy zębów zatrzymanych.

Piśmiennictwo

1. *DeShields R.W.*: A study of root resorption in treated class II, division I malocclusions. *Angle Orthod.* 1969, 39, 231–245.
2. *Reitan K.*: Initial tissue during apical root resorption. *Angle Orthod.* 1974, 44, 68–82.
3. *Baumrind S., Korn E.L., Boyd R.L.*: Apical root resorption in orthodontically treated adults. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1996, 110, 311–320.
4. *Storey E.*: The nature of tooth movement. *Am. J. Orthod.* 1973, 63, 292–314.
5. *Harris E.F., Butler M.L.*: Patterns of incisor root resorption before and after orthodontic correction in cases with anterior open bites. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1992, 101, 112–119.
6. *Beck B.W., Harris E.F.*: Apical root resorption in orthodontically treated subjects: Analysis of edgewise and light wire mechanics. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1994, 105, 350–361.
7. *Bielaczyc A.*: Resorpcja korzeni zębów po ortodontycznym przemieszczeniu w przypadku niedoboru wapnia na podstawie piśmiennictwa. *Czas. Stomatol.* 1996, 49, 9, 648–653.
8. *Bielaczyc A., Herud B., Szafrńska A.*: Patogeneza resorpcji korzeni zębów w leczeniu ortodontycznym na podstawie piśmiennictwa. *Czas. Stomatol.* 1996, 49, 3, 200–205.
9. *Brezniak N., Wasserstein A.*: Root resorption after orthodontic treatment: Part 1. Literature review. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1993, 103, 62–66.
10. *Harris E.F., Kineret S.E., Tolley E.A.*: A heritable component for external apical root resorption in patients treated orthodontically. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1997, 111, 301–309.
11. *Kvam E.*: Scanning electron microscopy of tissue changes on the pressure surface of human premolars following tooth movement. *Scand. J. Dent. Res.* 1972, 80, 357–368.
12. *McFadden W.M., Engstrom C., Engstrom H., Anholm J.M.*: A study of the relationship between incisor intrusion and root shortening. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1989, 96, 390–396.
13. *Graber T.M.*: Panoramic radiography. *Angle Orthod.* 1966, 36, 293–299.
14. *Rushon V.E., Horner K.*: The use of radiology in dental practice. *J. Dent.* 1996, 24, 185–191.
15. *Levander E., Malmgren O.*: Evaluation of the risk of root resorption during orthodontic treatment: a study of upper incisor. *Eur. J. Orthod.* 1988, 10, 30–38.
16. *Goldson L., Henrikson C.O.*: Root resorption during Begg treatment: A longitudinal roentgenologic study. *Am. J. Orthod.* 1975, 68, 55–66.
17. *Phillips J.R.*: Apical root resorption under orthodontic therapy. *Angle Orthod.* 1955, 25, 1–22.
18. *Ketcham A.H.*: A progress report of an investigation of apical root resorption of vital permanent teeth. *Int. J. Orthod.* 1929, 15, 310–328.
19. *Massler M., Malone J.*: Root resorption in human permanent teeth. *Am. J. Orthod.* 1954, 40, 619–633.
20. *Remington D.N., Joondeph D.R., Årtun J., Riedel R.A., Chapko M.K.*: Long-term evaluation of root resorption occurring during orthodontic treatment. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1989, 96, 43–46, 57, 370–385.
21. *Odenrick L., Brattström V.*: Nailbiting: Frequency and association with root resorption during orthodontic treatment. *Br. J. Orthod.* 1985, 12, 78–81.
22. *Linge L., Linge B.O.*: Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1991, 99, 35–43.
23. *Tokarska E., Krochmalska E., Komorowska A.*: Nasiloną resorpcją korzeni siekaczy górnych spowodowana przez zatrzymane kły. *Opis przypadków. Ortod. Współcz.* 2001, 3, 4, 101–107.
24. *Ericson S., Kurol J.*: Resorption of maxillary lateral incisor caused by ectopic eruption of canines: a clinical and radiographic analysis of predisposing factors. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1988, 94, 503–513.
25. *Brezniak N., Wasserstein A.*: Root resorption after orthodontic treatment: Part 2. Literature review. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1993, 103, 138–146.
26. *Kennedy D.B., Joondeph D.R., Osterberg S.K., Little R.M.*: The effect of extraction and orthodontic treatment on dentoalveolar support. *Am. J. Orthod.* 1983, 84, 183–190.
27. *Sharpe W., Reed B., Subtelny J.D., Polson A.*: Orthodontic relapse, apical root resorption, and crestal alveolar bone levels. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* 1987, 91, 252–258.
28. *Dolkowska K., Kamprowska B.*: Współczesne poglądy na temat resorpcji zębów. *Pozn. Stom.* 1998, 83–87.

ALEKSANDRA GAWLIKOWSKA-SROKA

**ANALIZA SYMETRII I KIERUNKU ZMIAN W BUDOWIE CZASZEK
WYBRANYCH POPULACJI DZIEJOWYCH NA PODSTAWIE BADAŃ
RADIOLOGICZNYCH I ANTROPOMETRYCZNYCH***

**RADIOLOGICAL AND ANTHROPOMETRIC ANALYSIS OF THE SYMMETRY
AND DIRECTION OF EVOLUTION OF SKULLS FROM SOME HISTORIC
POPULATIONS***

Katedra i Zakład Anatomii Prawidłowej Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Florian Czerwiński*

Summary

Introduction: Asymmetry is a common phenomenon in nature. It is typical for the human body and for the skull as its part. Knowledge of asymmetry and normal anatomy, especially of variability which does not represent pathology but distinguishes individuals is the basis for correct interpretation of radiological findings concerning the skull both in research and diagnostic examinations widely performed in surgery, neurology, neurosurgery, internal medicine, or pediatrics. Analysis of fluctuating asymmetry reveals the influence of stress factors on human development and the ability of the organism to defend itself against stress. The aim of this work was to analyse the asymmetry of skulls from some historic populations and to describe changes in their anatomy over the ages.

Material and methods: The material consisted of three skull groups: one contemporary with 82 skulls and two mediaeval (52 skulls from Cedyňa and 77 skulls from Gródek on Bug). Direct measurements were done and the skull was X-rayed in the Posterior–Anterior and skull-base projections. Images were scanned and calibrated with MicroStation 95 Academic Edition software. Helmert's transformation with first-order polynomial was done to attain a suitable geometry. Vectorisation of axes and areas was performed on reference

material. Using tools for measurement of vector elements, the distance between bilateral points of both sides of the skull were obtained. Data were analysed statistically.

Results: The results of measurements were used to study the directional and fluctuating asymmetry. It was found that asymmetry of the skull was present in both historic populations. The following conclusions were drawn: changes in the distribution of directional and fluctuating asymmetry for individual dimensions have taken place over the ages. A high level of directional asymmetry in the facial part and fluctuating asymmetry in the calvaria is typical for contemporary skulls. The reverse is true for relations in the case of mediaeval skulls. A greater level of fluctuating asymmetry in contemporary skulls reveals greater influence of the developmental stress on the contemporary population and its weaker ability for compensation.

Key words: directional asymmetry – fluctuating asymmetry – human skull.

Streszczenie

Wstęp: Asymetria jest w przyrodzie zjawiskiem bardzo częstym. Charakteryzuje również budowę ciała czło-

* Zwięzła wersja rozprawy doktorskiej przyjętej przez Radę Wydziału Lekarskiego Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Promotor: prof. dr hab. n. med. *Florian Czerwiński*. Oryginalny maszynopis obejmuje: 131 stron, 29 rycin, 37 zdjęć, 20 tabel, 187 pozycji piśmiennictwa. Praca zrealizowana w ramach projektu badawczego nr 3 PO 5A 110 22 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych.

* Concise version of doctoral thesis approved by the Council of the Faculty of Medicine, Pomeranian Medical University in Szczecin. Promotor: Prof. *Florian Czerwiński* M.D., D.M.Sc. Habil. Oryginal typescript comprises: 131 pages, 29 figures, 37 photos, 20 tables, 187 references. Supported by a grant No 3 PO 5A 110 22 from the State Committee for Scientific Research, Poland.

wieka, w tym czaszkę. Świadomość asymetrii, znajomość prawidłowej budowy, a w szczególności zakresu zmienności niebędącej jeszcze patologią, a jedynie osobniczą zmiennością, są podstawą właściwej interpretacji wyników badań radiologicznych czaszki, zarówno wykonywanych w ramach pracy badawczej, jak i przede wszystkim badań diagnostycznych, stosowanych bardzo szeroko w chirurgii, neurologii, neurochirurgii, internie czy pediatrii. Ocena asymetrii fluktuacyjnej pozwala oszacować wielkość wpływu czynników stresogennych na rozwój człowieka i możliwości buforowania ich przez organizm.

Celem pracy była ocena symetrii czaszek wybranych populacji dziejowych i analiza zmian zachodzących w ich budowie na przestrzeni wieków.

Materiał i metody: Materiał badawczy stanowiły trzy populacje czaszek: współczesna złożona z 82 czaszek oraz dwie średniowieczne – 52 czaszki z Cedyni i 77 z Gródka nad Bugiem. Wykonano pomiary bezpośrednie na czaszkach, a następnie zdjęcia radiologiczne w rzucie Posterior–Anterior (P–A) i na podstawie. Zdjęcia zostały zeskanowane, a następnie poddane procesowi kalibracji w komputerowym oprogramowaniu MicroStation 95 Academic Edition. Do nadania właściwej geometrii wykonano transformację wielomianem I stopnia (Helmerta). Na tak przygotowanym materiale referencyjnym dokonano wektoryzacji osi oraz granic pól. Przy zastosowaniu narzędzi do pomiaru elementów wektorowych zmierzono odległości wybranych bilateralnych punktów po obu stronach czaszki. Dane zostały poddane analizie statystycznej.

Wyniki: Na podstawie zdjętych pomiarów oszacowano asymetrię kierunkową i fluktuacyjną. Poprzez analizę stwierdzono, że asymetria jest zjawiskiem występującym w czaszkach obu populacji dziejowych. Wyciągnięto następujące wnioski: na przestrzeni wieków wystąpiły zmiany w rozkładzie asymetrii kierunkowej i fluktuacyjnej dla poszczególnych pomiarów. Czaszki współczesne cechują wysokie wartości asymetrii kierunkowej w części twarzowej i asymetrii fluktuacyjnej w obrębie sklepienia czaszki. W czaszkach populacji średniowiecznych panują stosunki odwrotne. Wyższy poziom wartości wskaźników asymetrii fluktuacyjnej w czaszkach współczesnych świadczy o większym nasileniu działania stresu rozwojowego w tej populacji dziejowej i o jej słabszych możliwościach kompensacyjnych.

H a s ł a: asymetria kierunkowa – asymetria fluktuacyjna – czaszka ludzka.

Wstęp

Symetria i asymetria w świecie jest tematem intrygującym badaczy od wielu wieków. Problem symetrii czy jej braku pojawia się nie tylko w medycynie, ale również w sztuce, architekturze, matematyce, chemii i wielu innych dziedzinach życia. Naukowcy wyróżniają wiele rodzajów

asymetrii bilateralnej w zależności od jej nasilenia, od budowy, struktury czy funkcji badanej części ciała. W niniejszej pracy badana była asymetria kierunkowa i fluktuacyjna.

Asymetria kierunkowa (DA) – występuje, gdy różnice pomiędzy cechą po prawej i lewej stronie ciała wykazują stały kierunek, a ich rozkład w populacji charakteryzuje się skośnością. Zauważalna jest w średnich wartościach pomiarów po obu stronach ciała [1, 2, 3]. *Van Valen* [4] opisywał to zjawisko jako większy wzrost jednej połowy ciała. W przypadku asymetrii kierunkowej można łatwo przewidzieć, która strona będzie większa. Ten rodzaj asymetrii jest najsilniej uwarunkowany genetycznie, gdyż kształt parzystych organów determinowany jest przez te same geny, które decydują również o dominacji prawego czy lewego pomiaru [5].

Asymetria fluktuacyjna (FA) – charakteryzuje się niewielkimi różnicami pomiędzy pomiarami prawej i lewej strony. Statystycznie średnie pomiarów nie różnią się od zera. Asymetria ta zależy od wpływu zewnętrznych, niegenetycznych czynników na rozwijający się organizm. Badania kliniczne i laboratoryjne potwierdziły wpływ na jej poziom, między innymi takich czynników, jak: hałas, niedożywienie, czynnik termiczny, środki chemiczne – wysokie stężenie miedzi, arsenu czy toluenu [1]. Do powstawania tej postaci asymetrii mogą się przyczyniać: otyłość, przechodzone infekcje, spożywanie alkoholu i palenie papierosów przez kobiety ciężarne [3, 6]. Wiele badań potwierdza związek pomiędzy wielkością asymetrii fluktuacyjnej a zaburzeniami rozwojowymi, między innymi zespołem Downa, wcześniactwem, rozszczepem podniebienia oraz innymi chorobami, na przykład schizofrenią [6, 7, 8, 9]. Podwyższony poziom asymetrii zależy nie tylko od rodzaju, nasilenia i czasu trwania czynnika stresogennego, lecz także od indywidualnych zdolności osobnika do stabilizacji rozwoju w niekorzystnych dla niego warunkach [1, 4, 10, 11]. Asymetria fluktuacyjna jest więc traktowana jako miernik homeostazy rozwojowej organizmu. Niski jej poziom świadczy o stabilności organizmu. Na podstawie asymetrii można oszacować rozwojową stabilność wewnątrz populacji i między populacjami. Obecnie monitorowanie poziomu asymetrii często służy do oceny stresogennego wpływu środowiska na organizm. W przypadku dzieci z defektami genetycznymi jest to najmniej inwazyjna metoda do oszacowania ich stopnia destabilizacji [3].

Analizując kształt, wielkość, a także asymetrię głowy i czaszki, badacze posługiwali się różnymi metodami. Najstarsza polegała na analizie pomiarów zdjętych za pomocą typowych przyrządów antropologicznych na głowie pacjenta czy bezpośrednio na wymacerowanej czaszce. Na początku XX wieku do oceny czaszki zaczęto wykorzystywać zdjęcia radiologiczne. Metoda ta bardzo szybko znalazła uznanie zarówno wśród lekarzy dysponujących od tej chwili dodatkowym badaniem pomocnym w określeniu stanu pacjenta, jak i wśród paleopatologów.

Badania greckich rzeźb, między innymi *Wenus z Milo*, wykazały występowanie różnego stopnia asymetrii głów po-

stumentów. Oznacza to, że na asymetrię budowy zwrócono już uwagę w czasach starożytnych. Najobszerniejsze i najbardziej precyzyjne studium asymetrii czaszki człowieka wykonał *Woo* [12]. Pomimo jego wniosków, wyciągniętych na podstawie analizy materiału około 800 czaszek egipskich, pojawiały się zdania, że czaszka ludzka jest symetryczna, a wszystkie odchylenia od symetrii nie są istotne statystycznie. W swoich badaniach większość autorów stwierdza jednak istnienie asymetrii. Częściej występuje dominacja lewostronna [13, 14, 15, 16, 17].

Obecnie badania nad asymetrią czaszki prowadzone są w dwóch kierunkach. Pierwszy wynika z niekwestionowanej już roli oceny asymetrii fluktuacyjnej jako miernika homeostazy rozwojowej organizmu. Drugi kierunek wynika z postępów medycyny w zakresie diagnozowania i leczenia. Dzięki nowoczesnym technikom możliwe jest dojście do zakamarków ciała ludzkiego wcześniej niedostępnych badaniom i korekcy. Wiedza anatomiczna zawarta w klasycznych podręcznikach, choć ciągle stanowiąca podstawę wiedzy lekarza, staje się czasami niewystarczająca. Stąd też znajomość anatomii i symetrii czaszki jest ciągle badana i poszerzana. Informacje te wykorzystywane są przez lekarzy różnych specjalności. W laryngologii istotne były badania *Piaseckiego i wsp.* [18], dotyczące położenia otworu żyły wypustowej sutkowej. Przy nieznaności jego zmienności może nastąpić uszkodzenie wypustu żylnego sutkowego podczas operacji otolaryngologicznej wszczepiania implantów ślimakowych do ucha środkowego lub wewnętrznego. Wiele prac dotyczących symetrii czaszki, a zwłaszcza elementów twarzy [19, 20, 21], żuchwy [22, 23], zębów [24, 25, 26] czy stawu skroniowo-żuchwowego [16, 27], przeprowadzono w stomatologii. Wykonanie dokładnych pomiarów, dotyczących symetrii struktur twarzoczaszki, zaleca się obecnie w związku z diagnozowaniem i planowaniem leczenia w ortodoncji. *Björk i Björk* [19] zwrócili uwagę, że rozmiar i kształt podstawy czaszki wpływają na szczękę i żuchwę, a tym samym na warunki zgryzowe. Anatomia podstawy mózgu jest niezwykle ważna dla neurologów, radiologów i neurochirurgów. Znajomość różnorodności ukształtowania podstawy czaszki jest ważna nie tylko dla zrozumienia anatomii struktur nerwowo-mięśniowych, ale również dla umiejętności odróżnienia normalnej od potencjalnie patologicznej struktury.

W piśmiennictwie dotyczącym zagadnienia asymetrii niewielu autorów dokonuje porównania czaszek z różnych populacji dziejowych. *Doyle i Johnson* [25] badali asymetrię fluktuacyjną zębów Eskimosów z Alaski, Indian z Arizony i współczesnych białych z Ohio. Stwierdzili, że poziom asymetrii fluktuacyjnej jest najmniejszy u współczesnych białych. *Perzigian* [26] przeprowadził analizę trzech populacji szkieletowych z różnych warunków socjoekonomicznych i żywieniowych – dwóch plemion prehistorycznych oraz współczesnych zmarłych z okolicy Cleveland. Wykazał brak asymetrii kierunkowej we wszystkich grupach. Grupy te różniły się poziomem asymetrii fluktuacyjnej. Prace te potwierdzają hipotezę, że asymetria

fluktuacyjna jest dobrym wskaźnikiem do oszacowania rozwojowej stabilności wewnątrz i pomiędzy populacjami. Nie ma, niestety, podobnych opracowań dotyczących polskiego materiału kostnego z różnych okresów dziejowych. Brakuje również analiz asymetrii czaszki opracowanych na podstawie obu rzutów – Posterior–Anterior (P–A) i na podstawie, co jest niezbędne do pełnej interpretacji zmian występujących w czaszce. Podstawa czaszki znacząco wpływa bowiem na twarzoczaszkę i odwrotnie. Temat niniejszej rozprawy wynikał z konieczności pogłębiania wiedzy na temat anatomii czaszki człowieka i ewaluacji zmian w jej budowie na przestrzeni wieków. Ocena asymetrii fluktuacyjnej pozwoliła oszacować wielkość wpływu czynników stresogennych na rozwój człowieka i możliwości buforowania ich w okresie średniowiecza i współcześnie.

Celem pracy była ocena symetrii czaszek współczesnych i średniowiecznych oraz analiza porównawcza asymetrii czaszek średniowiecznych z różnych stanowisk archeologicznych oraz czaszek współczesnych.

Material i metody

Materiał badawczy stanowiły trzy populacje czaszek:

- 77 czaszek średniowiecznych z Gródka nad Bugiem, pochodzących ze zbioru Katedry Antropologii Uniwersytetu Wrocławskiego,

- 52 średniowieczne czaszki z Cedyni, ze zbiorów Katedry Antropologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu,

- 82 czaszki współczesne z początku XX wieku ze zbiorów muzealnych Katedry Anatomii Prawidłowej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie.

Wszystkie czaszki pochodziły od osobników płci męskiej. Stan zachowania określono jako *cranium* i *calvarium*. Wiek mężczyzn w chwili śmierci, oszacowany na podstawie stopnia zarośnięcia szwów czaszki, oceniono jako *adultus* i *maturus*.

W pierwszym etapie pracy badawczej zdjęto bezpośrednie pomiary na czaszkach ustawionych w kranioście, w płaszczyźnie frankfurckiej, według standardowych metod Martina. Na podstawie otrzymanych danych wyliczono wskaźniki proporcji czaszki.

W drugim etapie wykonano zdjęcia radiologiczne wszystkich czaszek w zmodyfikowanym, przeglądowym rzucie uniwersalnym tylnoprzodnym zaproponowanym przez *Caldwella* [28] oraz w rzucie na podstawę – klinicznie zdjęcie osiowe ciemieniowo-podbródkowe. Dla zapewnienia porównywalności wyników dotyczących pomiarów czaszki zdjęcia były wykonywane w stałej odległości ognisko–film. Zgodnie z zaleceniami *Zborowskiego i Piontek* [29], odległość ta wynosiła 100 cm. Celem uzyskania jak najlepszej jakości zdjęcia wykonano bez klatki rozproszeniowej i folii wzmacniającej. Zdjęcia zostały zeskanowane przy użyciu skanera, a następnie poddane

procesowi kalibracji w oprogramowaniu komputerowym MicroStation 95 Academic Edition.

Do nadania właściwej geometrii wykonano transformację wielomianem I stopnia (Helmerta). Na tak przygotowanym materiale referencyjnym dokonano wektoryzacji osi oraz granic pól. Przy zastosowaniu narzędzi do pomiaru elementów wektorowych zmierzono odległości wybranych bilateralnych punktów po obu stronach czaszki. Mierzona była odległość punktów badanych w stosunku do linii pośrodkowej oraz do drugiego punktu odniesienia, znajdującego się na linii pośrodkowej.

Na zdjęciach w rzucie P–A zmierzono następujące odległości:

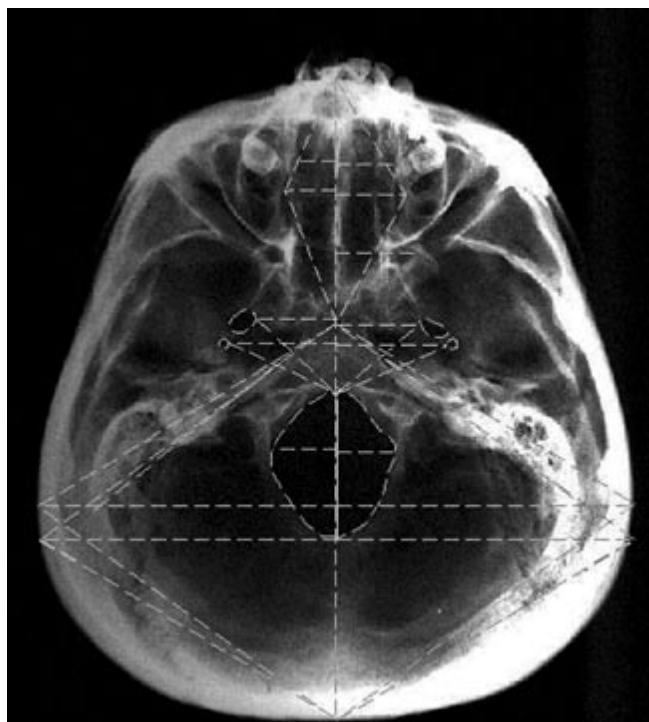
- vertex–euryon = v–eu,
- euryon–linia pośrodkowa = eu–lp,
- vertex–frontomolare temporale = v–fmt,
- frontomolare temporale–linia pośrodkowa = fmt–lp,
- frontomolare temporale–prosthion = fmt–pr,
- nasion–aperthion = n–apt,
- aperthion–linia pośrodkowa = apt–lp,
- nasion–maxillofrontale = n–mf,
- maxillofrontale–linia pośrodkowa = mf–lp,
- maxillofrontale–ektokonchion = mf–ek,
- suprakonchion–subkonchion = spa–sbk,
- pole powierzchni oczodołu = p. oczod.

Na zdjęciach w rzucie na podstawę wykonano następujące pomiary po każdej ze stron (ryc. 1):

- opisthokranion–euryon = op–eu,
- euryon–linia pośrodkowa = eu–lp,
- opisthokranion–asterion w modyfikacji = op–ast m – punkt położony na brzegu czaszki, na wysokość asterionu,
- asterion modyfikowany–linia pośrodkowa = ast m–lp,
- asterion modyfikowany–sphenobasion = ast m–sphba,
- sphenobasion–palatinolaterale = sphba–spal,
- palatinolaterale–linia pośrodkowa = spal–lp,
- palatinolaterale–orale = spal–ol,
- foraminolaterale–linia pośrodkowa = fol–lp,
- pole powierzchni połowy foramen magnum = $\frac{1}{2}$ p.f.mag,
- basion–foramen ovale = ba–f.o,
- basion–foramen spinosum = ba–f.s,
- linia pośrodkowa–foramen ovale = lp–f.o,
- linia pośrodkowa–foramen spinosum = lp–f.s,
- pole powierzchni foramen ovale = p.f.o,
- pole powierzchni foramen spinosum = p.f.s,
- długość piramidy kości skroniowej = dł. pir,
- kąt pomiędzy osią długą piramidy a linią pośrodkową = < pir.

Łącznie dla każdej czaszki na zdjęciach radiologicznych zmierzono 60 wymiarów. Dwanaście pomiarów bilateralnych na zdjęciach w projekcji P–A, osiemnaście pomiarów bilateralnych na zdjęciach w rzucie na podstawę. Siedem wymiarów charakteryzowało sklepienie czaszki, dziewięć twarzoczaszkę, a czternaście podstawę czaszki.

W celu oznaczenia asymetrii kierunkowej w badanych czaszkach porównano średnie pomiarów po prawej i lewej



Ryc. 1. Osie wektorowe na zdjęciu radiologicznym w projekcji na podstawę czaszki

Fig. 1. Vector axes of the radiologic image drawn on the skull base projection

stronie za pomocą testu t-Studenta dla zmiennych zależnych i jego nieparametrycznego odpowiednika testu kolejności par Wilcoxon. Asymetria fluktuacyjna badana była za pomocą trzech metod rekomendowanych przez *Palmera* i *Strobecka* [30]:

1. Wskaźnik FA1 obliczono według wzoru $FA1 = P - L/0,5 P + L$, gdzie P oznacza pomiar po stronie prawej, L – pomiar po stronie lewej [10].

2. Wskaźnik FA2 obliczono według wzoru zaproponowanego przez *Van Valena* [4] $1 - r^2$, gdzie r oznacza współczynnik korelacji pomiędzy stroną prawą i lewą.

3. Wskaźnik FAj uzyskano według wzoru $FAj = |(XiP - XiL)/0,5 (XiP + XiL)| - 1/n$ [10].

Od wielkości badanych wymiarów zależą wskaźniki FA1 i FA2. Trzeci z porównywanych wskaźników, asymetrii fluktuacyjnej – FAj – jest niezależny od wielkości badanego obiektu.

Analiza statystyczna

W analizie opisowej danych obliczono średnią arytmetyczną, medianę, minimum, maksimum oraz odchylenie standardowe. Normalność rozkładu zmiennych sprawdzono testem W Shapiro–Wilka, a jednorodność wariancji – testem F Fishera.

Przy spełnieniu warunków normalności rozkładu i jednorodności wariancji, w porównaniu międzygrupowym cech stosowano test t-Studenta dla zmiennych niezależnych, w pozostałych przypadkach test U Manna–Whitneya.

W porównaniu wewnątrzgrupowym wymiarów prawych i lewych użyto testu t-Studenta dla zmiennych zależnych i jego nieparametryczny odpowiednik – test kolejności par Wilcozona, a dla danych FAJ – test ANOVA rang Kruskala-Wallis.

Określając zależności wewnątrzgrupowe między zmiennymi mierzalnymi o rozkładzie normalnym, wyliczono współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r) oraz stosowano test jego istotności, a w pozostałych przypadkach współczynnik R Spearmana z testem jego istotności [31]. Dla oceny istotności statystycznej za błąd pierwszego rodzaju przyjęto $p < 0,05$.

Wyniki

Czaszki współczesne

W celu oszacowania asymetrii kierunkowej, wyliczono średnie i różnice pomiędzy stronami (tab. 1). Znak minus przy wartości oznacza dominację strony lewej. Istotne



Ryc. 2. Czaszka współczesna nr 8 – asymetria wielkości i położenia wejścia do oczodołu; rzut P–A

Fig. 2. Contemporary skull № 8: asymmetry of the size and location of orbit base (P–A projection)

różnice wykazano w zakresie siedmiu cech, w tym dwie cechy dotyczyły sklepienia czaszki, jedna podstawy czaszki i cztery twarzoczaszki, a ściśle oczodołów i ich ustawienia w stosunku do linii pośrodkowej (ryc. 2). Jedna cecha – rozkład średniej odległości mf–lp – dotyczy strony lewej. Pozostałe dominują po stronie prawej.

Tabela 1. Wartości asymetrii kierunkowej w czaszkach współczesnych

Table 1. Directional asymmetry values for contemporary skulls

Pomiar / Dimension Jednostka pomiaru / Unit	Liczebność Quantity	Średnia różnica P - L Mean R - L difference	SD	p
op–eu (mm)	76	0,8592	8,809	0,3979*
eu–lp (mm)	76	0,7934	11,420	0,5446**
op–ast m (mm)	76	0,1000	8,329	0,9726**
ast m–lp (mm)	76	0,5026	11,160	0,7403**
ast m–sphba (mm)	76	1,1000	11,650	0,4133*
sphba–spal (mm)	76	0,4118	2,526	0,1594*
spal–lp (mm)	76	0,3921	3,613	0,3472*
spal–ol (mm)	76	0,1697	1,462	0,3150*
fol–lp (mm)	76	-0,0035	2,759	0,9900*
½ p.f.mag (mm ²)	76	-15,6100	96,110	0,2558**
ba–f.o (mm)	72	-0,1678	3,995	0,7380*
ba–f.s (mm)	64	0,1596	3,980	0,7531*
lp–f.o (mm)	62	0,5476	4,522	0,3325*
lp–f.s (mm)	43	0,9333	4,464	0,1021*
p.f.o (mm ²)	65	3,0410	8,826	0,0058**
p.f.s (mm ²)	63	-0,4746	1,991	0,1130**
dł. pir. (mm)	42	1,1460	9,328	0,4885**
< pir (st)	65	-1,0880	4,827	0,0547*
v–eu (mm)	63	2,4540	4,631	0,0000**
eu–lp p–a (mm)	72	4,4110	9,586	0,0000**
v–fmt (mm)	74	-0,6194	2,890	0,0732*
fmt–lp (mm)	72	0,9025	8,276	0,7499**
fmt–pr (mm)	80	0,8987	6,077	0,1910**
n–apt (mm)	79	-0,0113	2,883	0,9720*
apt–lp (mm)	79	-0,3253	2,274	0,2398**
n–mf (mm)	79	-0,7412	2,489	0,3489**
mf–lp (mm)	80	-1,3250	1,969	0,0000*
mf–ek (mm)	80	0,9850	2,451	0,0001**
spa–sbk (mm)	80	0,7962	1,988	0,0005*
p. oczod (mm ²)	80	57,2625	79,110	0,0000**

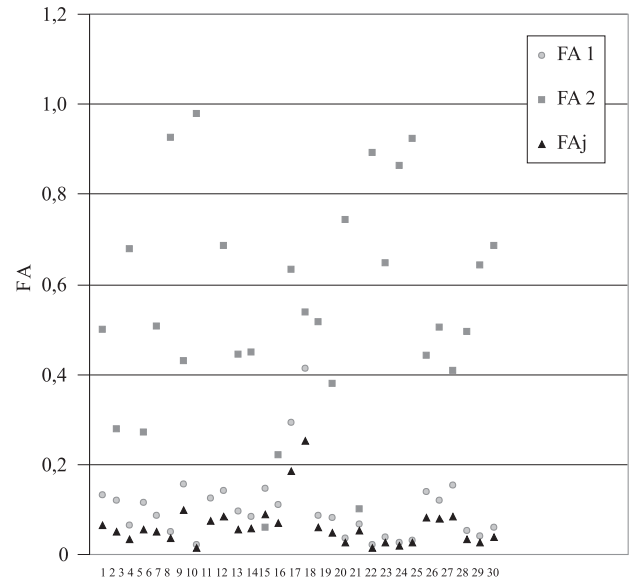
* poziom istotności p badany za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych / T-Student test for dependant trials

** poziom istotności p badany za pomocą testu kolejności par Wilcozona / Wilcoxon matched pairs test

Asymetria fluktuacyjna oceniana była przy użyciu trzech wskaźników. Na rycinie 3 zobrazowano porównanie wskaźników asymetrii fluktuacyjnych. Analogiczny rozkład wartości mają FA1 i FAj. Wskaźnik FA2 osiąga wartości wyższe. Wartości wskaźnika FA2 dla cech o dużych wartościach pomiarów (op–eu) i dla bardzo małych wartości (lp–f.o) są wyższe, jednak proporcjonalne do FA1 i FAj. Dla cech o średnich wartościach pomiarów wskaźnik ten jest wyższy od pozostałych.

Czaszki średniowieczne z Cedyni

Z badanych siedmiu wymiarów sklepienia sześć różni się statystycznie. Wszystkie wskazują na dominację strony prawej. Jedna cecha twarzoczaszki, odległość n–apt, wykazuje znamienne różnice rozkładu średnich stron $p < 0,05$. Jest to dominacja prawostronna. Wśród pozostałych cech zauważa się znamiennej asymetrię kierunkową w okolicy otworu kołowego ($x = 1,09$, $p < 0,05$) i owalnego ($x = 1,255$, $p < 0,01$). Są one położone zdecydowanie dalej od linii pośrodkowej po stronie prawej (tab. 2).



Ryc. 3. Porównanie wskaźników asymetrii fluktuacyjnej czaszek współczesnych

Fig. 3. Fluctuating asymmetry indicators of contemporary skulls

Tabela 2. Wartości asymetrii kierunkowej w czaszkach średniowiecznych z Cedyni

Table 2. Directional asymmetry values for mediaeval skulls from Cedynia

Pomiar / Dimension Jednostka pomiaru / Unit	Liczebność Quantity	Średnia różnica P - L Mean R - L difference	SD	p
op–eu (mm)	50	5,7840	6,137	0,0000**
eu–lp (mm)	50	7,5280	7,463	0,0000**
op–ast m (mm)	50	5,6420	5,950	0,0000**
ast m–lp (mm)	50	7,6320	7,303	0,0000**
ast m–sphba (mm)	44	7,1590	8,514	0,0000**
sphba–spal (mm)	45	0,2240	1,998	0,4552*
spal–lp (mm)	50	-0,3240	3,693	0,5379*
spal–ol (mm)	50	-0,4000	1,858	0,1343*
fol–lp (mm)	47	-0,4234	2,336	0,2203*
½ p.f.mag (mm ²)	46	-20,1000	73,160	0,0524**
ba–f.o (mm)	38	0,6763	2,609	0,1186*
ba–f.s (mm)	39	0,9512	2,880	0,0460*
lp–f.o (mm)	38	1,2550	3,276	0,0069**
lp–f.s (mm)	39	1,0920	2,704	0,0159*
p.f.o (mm ²)	37	1,8830	7,422	0,7772*
p.f.s (mm ²)	39	-0,1205	2,640	0,0187*
dł. pir. (mm)	47	3,0570	8,252	0,0048**
< pir (st)	46	-0,8913	3,653	0,1049*
v–eu (mm)	35	2,3110	5,045	0,0050**
eu–lp p–a (mm)	35	2,2420	5,238	0,0160*
v–fmt (mm)	35	-0,5114	5,096	0,5566*
fmt–lp (mm)	35	-0,8857	3,402	0,1327*
fmt–pr (mm)	35	-0,7800	3,012	0,1371**
n–apt (mm)	35	0,4657	1,158	0,0322**
apt–lp (mm)	35	0,4171	2,632	0,3551*
n–mf (mm)	35	-0,5745	3,003	0,2659*
mf–lp (mm)	35	-1,6370	3,404	0,0085**
mf–ek (mm)	35	0,7800	2,893	0,1200*
spa–sbk (mm)	35	0,3428	1,896	0,2922*
p. oczod (mm ²)	35	12,3600	78,400	0,3574*

* poziom istotności p badany za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych / T-Student test for dependant trials

** poziom istotności p badany za pomocą testu kolejności par Wilcozona / Wilcoxon matched pairs test

Wartości wskaźników FA1 i FAj są do siebie zbliżone. Wskaźnik FA2 osiąga wartości wyższe, podobnie jak w grupie czaszek współczesnych.

Czaszki średniowieczne z Gródka nad Bugiem

Badanie asymetrii kierunkowej wykazało, że sklepienie przedstawia dominację prawostronną. Z siedmiu badanych wymiarów sklepienia sześć przedstawia istotne różnice pomiędzy stroną prawą i lewą. Asymetria kierunkowa twarzoczaszki przedstawia się ambiwalentnie. Z badanych dziewięciu cech tylko cztery są istotne statystycznie. Dwie cechy dominują po stronie prawej (n-apt, mf-ek), dwie po lewej (n-mf i mf-lp). Na podstawie czaszki znamienne wartości asymetrii kierunkowej wykazują długość piramidy kości skroniowej $p < 0,005$ i odległość ast m-sphba $p < 0,001$. Średnia różnica obu cech jest wyższa po stronie prawej (tab. 3).

Stosunek wartości wskaźników asymetrii czaszek z Gródka nad Bugiem obliczanych różnymi metodami przedstawia się tak samo, jak w grupie czaszek współczesnych i średnio-

wiecznych z Cedyni. Porównując wartości asymetrii fluktuacyjnej i kierunkowej w czaszkach średniowiecznych z Gródka zaznacza się wyraźna asymetria kierunkowa prawostronna sklepienia i dość silna asymetria fluktuacyjna podstawy czaszki.

Analiza porównawcza asymetrii czaszek średniowiecznych i współczesnych

Porównując średnie różnice pomiarów po prawej i lewej stronie w czaszkach średniowiecznych z Cedyni i Gródka stwierdzono, że tylko w zakresie dwóch cech różni się dominacja stron w tych populacjach. Podniebienie jest szersze i dłuższe po stronie prawej w czaszkach z Gródka, a po stronie lewej w Cedyni. Nie są to jednak różnice istotne. Istotnie większe wymiary mają sklepienia czaszek z Cedyni w stosunku do czaszek z Gródka ($p < 0,005$). W obu grupach jest to dominacja prawostronna (ryc. 4).

Oczodoły lewe w czaszkach z Cedyni są mniejsze i znacznie dalej oddalone od linii środkowej niż w czaszkach

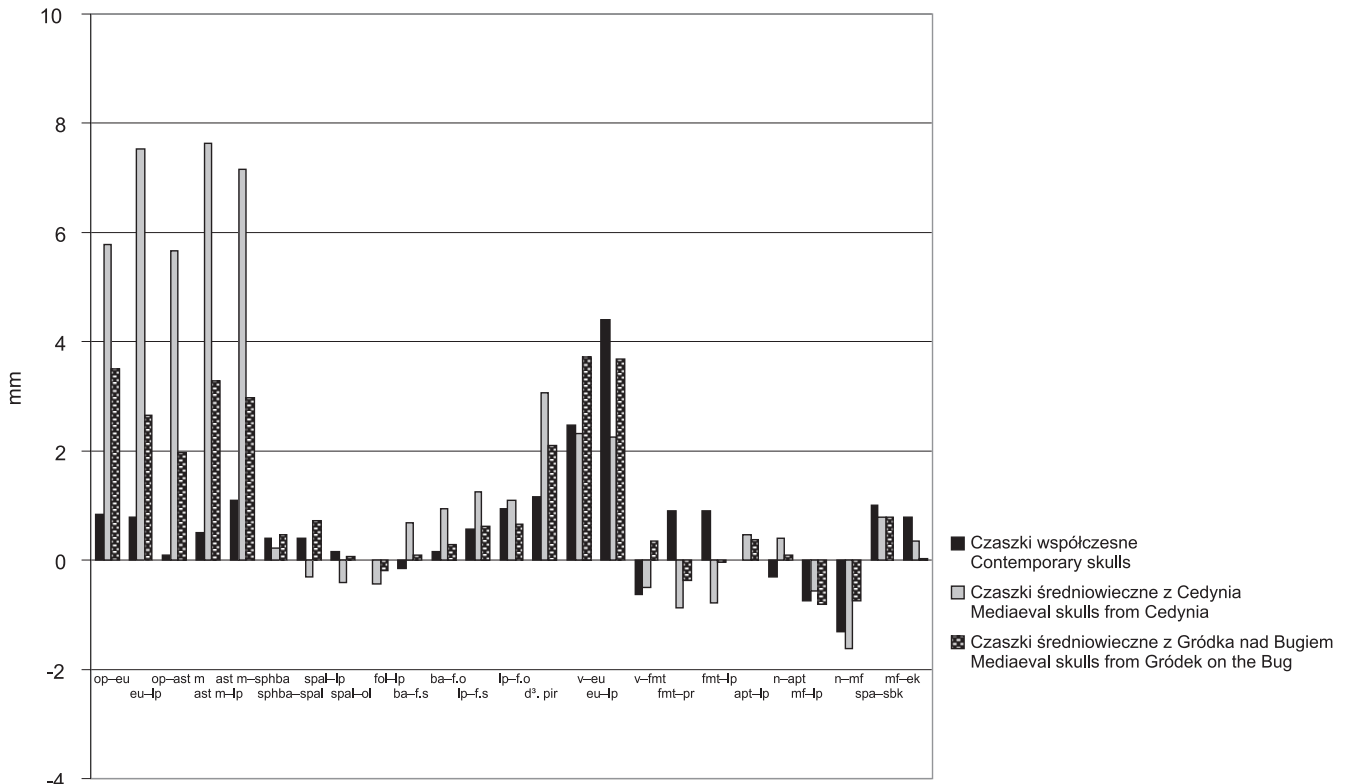
Tabela 3. Wartości asymetrii kierunkowej w czaszkach średniowiecznych z Gródka nad Bugiem

Table 3. Directional asymmetry values for mediaeval skulls from Gródek on Bug

Pomiar / Dimension Jednostka pomiaru / Unit	Liczebność Quantity	Średnia różnica P - L Mean R - L difference	SD	p
op-eu (mm)	77	3,4940	12,100	0,0000**
eu-lp (mm)	77	2,6510	6,025	0,0000**
op-ast m (mm)	77	1,9630	4,176	0,0000*
ast m-lp (mm)	77	3,2940	6,058	0,0000*
ast m-sphba (mm)	77	2,9660	5,501	0,0000**
sphba-spal (mm)	77	0,4660	2,158	0,0618*
spal-lp (mm)	77	0,7140	3,243	0,0570*
spal-ol (mm)	77	0,0590	2,378	0,8261*
fol-lp (mm)	77	-0,1961	2,293	0,6145*
½ p.f.mag (mm ²)	74	-4,8750	84,040	0,4554*
ba-f.o (mm)	74	0,1000	2,897	0,7674*
ba-f.s (mm)	74	0,2901	2,793	0,3844*
lp-f.o (mm)	74	0,6310	3,050	0,0792*
lp-f.s (mm)	74	0,6647	2,971	0,0635*
p.f.o (mm ²)	73	0,3492	9,121	0,1772**
p.f.s (mm ²)	77	-0,4496	1,750	0,0630**
dł. pir. (mm)	74	2,0930	7,746	0,0023**
< pir. (st)	74	-0,1675	5,756	0,6630**
v-eu (mm)	74	3,7220	6,505	0,0000*
eu-lp p-a (mm)	74	3,6890	6,380	0,0000*
v-fmt (mm)	74	0,3472	4,084	0,4668*
fmt-lp (mm)	74	-0,3837	3,507	0,9507**
fmt-pr (mm)	74	-0,0270	3,167	0,9416*
n-apt (mm)	74	0,3837	2,160	0,0019**
apt-lp (mm)	74	0,0824	1,945	0,7165*
n-mf (mm)	74	-0,8040	2,080	0,0013*
mf-lp (mm)	74	-0,7513	2,335	0,0071*
mf-ek (mm)	74	0,7770	2,070	0,0018**
spa-sbk (mm)	74	0,0189	2,105	0,9385*
p. oczod (mm ²)	74	25,5700	104,200	0,0659**

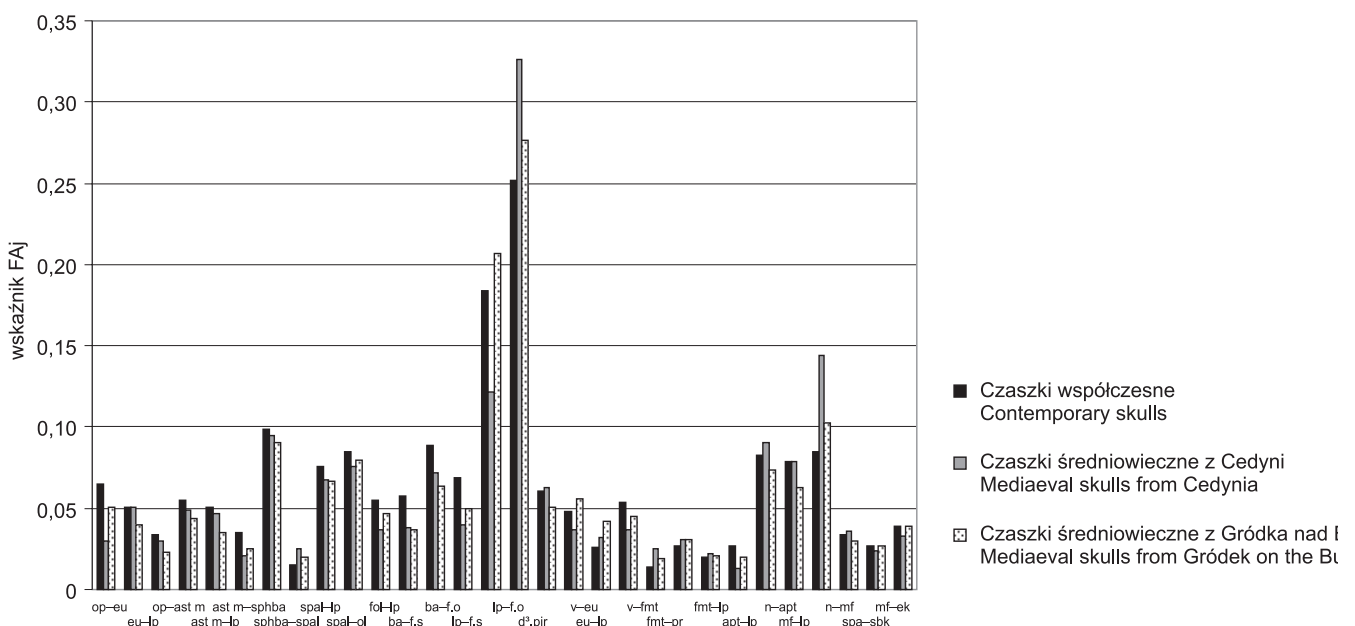
* poziom istotności p badany za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych / T-Student test for dependant trials

** poziom istotności p badany za pomocą testu kolejności par Wilcozona / Wilcoxon matched pairs test



Ryc. 4. Średnie różnice pomiarów po stronach prawej i lewej w trzech populacjach czaszek

Fig. 4. Mean values of dimensions on the left and right side of three skull populations



Ryc. 5. Średnie wartości wskaźnika asymetrii FAJ w trzech populacjach czaszek

Fig. 5. Mean values of FAJ asymmetry indicator for three skull populations

z Gródka ($p = 0,05$). Otwór gruszkowaty po stronie prawej jest znacząco wyższy w populacji z Cedyni ($p = 0,05$). Asymetria kierunkowa w obu grupach dotyczy tych samych cech, głównie sklepienia i elementów pozostałych części czaszki. Znacząco większe wartości osiąga w czaszkach z Cedyni.

Istotne różnice między populacją współczesną a średniowiecznymi wyrażają się przede wszystkim w zakresie

miarów sklepienia i twarzoczaszki w okolicy oczodołów. Czaszki obu grup średniowiecznych mają dużo wyższe wartości różnic pomiędzy pomiarami strony prawej i lewej dla takich cech jak op–eu, eu–lp, op–ast m, ast m–lp ($p < 0,005$). Obserwacja ta potwierdza występowanie asymetrii kierunkowej w rozwoju sklepienia czaszek średniowiecznych oraz jej brak w czaszkach współczesnych. Zgodnie z wcześniejszymi spostrzeżeniami, wskazującymi

na obecność asymetrii kierunkowej cech okolicy oczodołów w czaszkach współczesnych i jej brak w czaszkach średniowiecznych, zauważalne są różnice w tych populacjach. Pola powierzchni oczodołów są znamienne większe po stronie prawej w czaszkach współczesnych przy $p < 0,01$, następnie średniowiecznych z Gródka i Cedyni.

Porównując wartości wskaźnika asymetrii fluktuacyjnej w populacjach średniowiecznych, stwierdzono brak istotnych różnic pomiędzy nimi. Istotność statystyczna wystąpiła jedynie w zakresie trzech cech charakteryzujących podstawę czaszki: spal-ol, pole otworu owalnego i kąt piramidy kości skroniowej. Cechy sklepienia czaszki i twarzoczaszki we wszystkich cechach wykazywały taki sam poziom asymetrii. W obu grupach maksymalne poziomy asymetrii notuje się dla pomiaru pola powierzchni otworu kolcowego.

Na podstawie analizy danych można stwierdzić, że na obie populacje, mimo zamieszkiwania na odległych od siebie obszarach Polski, działały podobne czynniki środowiskowe (ryc. 5).

Poziom asymetrii fluktuacyjnej czaszek współczesnych i obu grup średniowiecznych różni się istotnie w zakresie 14 cech. Poziomy te są dla czaszek współczesnych znacznie wyższe od poziomów w czaszkach średniowiecznych. Asymetria fluktuacyjna w czaszkach współczesnych jest bardziej zaznaczona dla cech sklepienia op-eu oraz górnej części twarzoczaszki: fmt-lp, fmt-pr, n-apt. Nieistotne różnice asymetrii fluktuacyjnej pomiędzy populacjami zauważono w zakresie wysokości i szerokości oczodołów.

Dyskusja

Historyczne prace dotyczące asymetrii czaszki opierają się przede wszystkim na analizie średnich wymiarów cech mierzonych po stronie prawej i lewej oraz na różnicy pomiędzy pomiarami strony prawej i lewej [12, 32, 33]. Kolejni badacze, w celu zobiektywizowania danych i ułatwienia ich porównywania wprowadzali do analizy wtórne wskaźniki asymetrii. Wskaźniki te opierały się na transformacji pomiarów po prawej i lewej stronie badanej cechy. *Plochocki* [34] obliczał wskaźnik asymetrii ze wzoru $(L - P/L) \times 100$. Jako stronę dominującą przyjął stronę lewą. W badaniach czaszki większość wyników ma wtedy wartość ujemną, co nie jest wygodne w użyciu.

Większość badaczy za stronę dominującą przyjmuje stronę prawą. *Myslobodsky i wsp.* [35] stworzyli wskaźnik asymetrii według wzoru $(R - L) \times 100/R + L$. Wskaźnik według *Skóry i Kruka-Jeromina* [36] wyliczany jest ze wzoru $\{2(P + L)\} \times 100/P + L$. Wskaźnik według *Rossiego i wsp.* [37], tworzony jest według wzoru $(P - L) \times 100/P$. *Kolesnikov* [38] używał wzoru $(1 - R/L)$. Zastosowanie tych wskaźników pozwala na analizę asymetrii morfologicznej bez różnicowania na typ kierunkowy czy fluktuacyjny. Często otrzymuje się wyniki nieznamiennie statystycznie. Nie można więc wnioskować czy asymetria ma charakter wrodzony, czy jest wynikiem wpływu środowiska.

Obecnie w badaniach symetrii czaszki istnieje wyraźna tendencja i wskazanie do oceny asymetrii kierunkowej i fluktuacyjnej. W tym celu można zastosować wiele procedur [1, 6, 10, 30, 39, 40]. O ile sposób oceny asymetrii kierunkowej jest w zasadzie jednolity w większości prac, o tyle asymetria fluktuacyjna badana jest przy użyciu wielu metod. Jedną z najstarszych jest wyliczanie jej według wzoru *Van Valena* [4] $1 - r^2$, gdzie r oznacza współczynnik korelacji pomiędzy pomiarami po stronie prawej i lewej. Wskaźnik ten jest używany w wielu pracach, umożliwia więc porównywanie wyników ze sobą. Z tego powodu postanowiono zastosować go również w niniejszych badaniach. Autorka niniejszej pracy zgadza się z *Palmerem i Strobekiem* [30], że jest on mało czuły i w dużej mierze wyniki zależą od wielkości badanych obiektów. Nie powinno się go używać jako jedynego wskaźnika oceniającego asymetrię fluktuacyjną. Opierając się na tym, do porównania wartości asymetrii fluktuacyjnej wybrano wskaźnik zalecany przez *Herskovitza i wsp.* [10] – FA1. Jest to wskaźnik, którego wielkość zależy od wielkości badanej cechy. W celu uzyskania obiektywnych danych zastosowano jego transformację niezależną od wielkości badanej cechy – wskaźnik FAj według tego samego autora.

Ocena komponenty kierunkowej i fluktuacyjnej pozwala stwierdzić nie tylko dominację stron, ale również rodzaj czynnika warunkującego tę dominację. Szerokie badania w tym zakresie prowadzili *Fields i wsp.* [41], *Herskovitz i wsp.* [10, 39, 40], *Livshits i Kobylansky* [6], a także *Škvařilová* [42], *Doyle i Johnson* [25], *Perzigian* [26]. Większość badań oparta jest na pomiarze asymetrii fluktuacyjnej zębów, mniejsza ich liczba poświęcona jest przekrojowym badaniom czaszki. Jedynie w nielicznych pracach zajęto się porównaniem asymetrii czaszek odległych od siebie populacji dziejowych [43]. Tym samym niniejsza praca stanowi uzupełnienie wiedzy w tym zakresie.

Herskovitz i wsp. [10], badając asymetrię czaszek dwóch populacji Beduinów zamieszkujących odległe od siebie tereny, stwierdzili istnienie asymetrii kierunkowej w dwunastu z dziesiętnastu badanych pomiarów sklepienia czaszki. Dziesięć dominowało po stronie prawej, dwa po lewej. W obrębie twarzoczaszki znacząca asymetria kierunkowa zaznacza się w ośmiu z dziesięciu pomiarów, jednak tylko połowa dotyczyła strony prawej. Na podstawie czaszki asymetrię kierunkową wykazywały tylko dwa pomiary, przy czym oba miały większe wartości po stronie lewej.

W badaniach własnych stwierdzono obecność asymetrii kierunkowej sklepienia czaszki w czaszkach średniowiecznych z Cedyni i z Gródka. Wystąpiła ona w sześciu z siedmiu badanych pomiarów. Tak samo, jak w badaniach *Herskovitza i wsp.* [39], jest to dominacja prawostronna. Niestety, w swojej pracy autor nie podaje okresu, z jakiego pochodzą analizowane czaszki Beduinów, a jedynie informacje, że pochodzą z plemion izolowanych przez lata, w których wystąpił wysoki stopień wsobności. Wyniki są więc bardziej zbliżone do danych dotyczących czaszek średniowiecznych, wykorzystanych w niniejszej pracy niż czaszek współczesnych, w których asymetria

kierunkowa sklepienia czaszki jest bardzo słabo wyrażona i dotyczy tylko jednego pomiaru. W analizowanych czaszkach średniowiecznych asymetria kierunkowa twarzoczaszki była ambiwalentna. Tylko połowa cech wykazywała wartości znamienne, przy czym część wskazywała dominację prawostronną, a część lewostronną. Wyniki te są bardzo zbliżone do obserwacji *Hershkovitz* i *wsp.* [39]. Wyrażna asymetria kierunkowa twarzoczaszki wystąpiła natomiast w czaszkach współczesnych. We wszystkich badanych grupach czaszek najslabiej zaznacza się asymetria kierunkowa w obrębie podstawy czaszki, tak jak u Beduinów.

Analiza asymetrii fluktuacyjnej dokonywana przez *Hershkovitz* i *wsp.* [39], wykazała, że najwyższe jej poziomy odnotowywane są w okolicy twarzoczaszki, następnie podstawy, a najniższe w regionie sklepienia czaszki. Asymetria ta była oceniana według wskaźnika FA1 i FAj. Poziomy w grupie kobiet i mężczyzn są zbliżone. Obserwacje własne nieco się różnią. W badanym materiale najwyższe poziomy we wszystkich grupach czaszek zaobserwowano w okolicy podstawy czaszki, następnie twarzoczaszki. Natomiast najniższe poziomy asymetrii fluktuacyjnej zanotowano, tak jak *Hershkovitz* i *wsp.*, w okolicy sklepienia czaszki. Analizując poszczególne pomiary, zaobserwowano, że parametry o znamionym poziomie asymetrii fluktuacyjnej charakteryzują się niskim poziomem asymetrii kierunkowej i odwrotnie. Zjawisko to możemy tłumaczyć tym, że czynniki zewnętrzne (tak zwany zewnętrzny stres) najsilniej wpływają na te cechy, których kierunek nie jest ściśle zaprogramowany genetycznie. Wysoki poziom asymetrii fluktuacyjnej podstawy czaszki i twarzoczaszki wynikać może również z faktu, że zbudowane są z dużej liczby elementów kostnych, z których każdy ulega wpływom środowiska. Stwierdzono, że poziomy średnich wskaźników asymetrii fluktuacyjnej poszczególnych okolic czaszki nie różnią się istotnie między trzema badanymi populacjami.

W dostępnym piśmiennictwie bardzo mało jest prac poświęconych analizie porównawczej asymetrii różnych populacji dziejowych. Głównym problemem badawczym jest tu mała dostępność materiału pochodzącego z odległych epok.

Perzigian [26] do analizy porównawczej użył materiału trzech populacji szkieletowych z różnych warunków socjoekonomicznych i różnych środowisk żywieniowych. Populację o najgorszych warunkach życiowych reprezentował materiał wykopaliskowy prehistorycznych myśliwych Indian Knoll, grupę o lepszych warunkach – populacja pasterska z okolic Missisipi, trzecią grupę stanowiły współcześnie zmarłe osoby. Według oceny historycznej, najlepsze warunki życia miała grupa współczesnych zmarłych z okolicy Cleveland. We wszystkich grupach *Perzigian* stwierdził brak asymetrii kierunkowej. Grupy te różniły się poziomem asymetrii fluktuacyjnej. Najwyższe jej wartości zanotowano w grupie Indian Knoll. Występowała w niej duża liczba linii Harrisa, hypoplasia szkliwa i duża śmiertelność, jak pokazywały wcześniejsze badania. Wskazuje to na wysoki poziom czynników stresowych. Asymetria fluktuacyjna w grupie pasterskiej i współczesnej była porównywalna.

Badania własne przyniosły odmienne wyniki. Najwyższe poziomy asymetrii fluktuacyjnej zanotowano w grupie czaszek współczesnych. Obie populacje średniowieczne wykazują porównywalne poziomy tej asymetrii. Zjawisko to jest dosyć zaskakujące.

Wydawałoby się, że populacja współczesna rozwijała się w lepszych warunkach socjoekonomicznych, odżywianie było lepsze, tymczasem występuje tu wyższy poziom asymetrii fluktuacyjnej, warunkowany przede wszystkim czynnikami wpływającymi na rozwijający się płód. Pamiętać należy, że czaszki pochodzą z początku XX wieku, kiedy te warunki były dużo gorsze od obecnych. Być może poziom sposobu odżywiania na przestrzeni wieków (od średniowiecza do XX wieku) nie zmienił się tak istotnie. Doszły natomiast dodatkowe czynniki stresogenne, działające na płód, jak zanieczyszczenie środowiska, stres psychiczny, środki toksyczne, palenie tytoniu. Efektem tego działania jest wyższy poziom asymetrii fluktuacyjnej w populacjach współczesnych. Patrząc pod tym kątem, można przypuszczać, że poziom asymetrii fluktuacyjnej w przyszłych pokoleniach będzie utrzymywał się na porównywalnym poziomie, gdyż w toku zmian ewolucyjnych potrzebny jest długi okres na powstanie zmian. Może mieć jednak tendencje wzrostowe.

Wnioski

1. Wszystkie grupy czaszek wykazują asymetrię z tendencją do dominacji strony prawej, zarówno w komponencie kierunkowej, jak i fluktuacyjnej.
2. Na przestrzeni wieków wystąpiły zmiany w rozkładzie asymetrii kierunkowej i fluktuacyjnej dla poszczególnych pomiarów. Czaszki współczesne cechuje wysoki poziom asymetrii kierunkowej w części twarzowej i asymetrii fluktuacyjnej w obrębie sklepienia czaszki. Wydaje się, że zjawisko to może wykazywać tendencję postępującą w przyszłości. W czaszkach populacji średniowiecznych panują stosunki odwrotne.
3. Wyższy poziom wartości wskaźników asymetrii fluktuacyjnej w czaszkach współczesnych świadczy o większym narażeniu na stres rozwojowy tej populacji i o jej słabszych możliwościach kompensacyjnych.

Piśmiennictwo

1. *Molsted K., Dahl E.*: Asymmetry of the maxilla in children with complete unilateral cleft lip. *Cleft. Palate. Craniofac. J.* 1990, 27 (2), 184–190.
2. *Polak M.*: Developmental instability: causes and consequences. Oxford University Press, New York 2003, 279–319.
3. *Żądzińska E.*: Fluctuating asymmetry of some head structures and its possible causes. *Prz. Antrop.* 2003, 66, 39–54.
4. *Van Valen L.*: A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, 1962, 16, 125–142.
5. *Henneberg M.*: Próba znalezienia metody badania i interpretacji asymetrii kości długich kończyn. *Prz. Antrop.* 1974, 40 (1), 113–126.
6. *Livshits G., Kobylitsky E.*: Fluctuating asymmetry as a possible measure of developmental homeostasis in humans. *Hum. Biol.* 1991, 63, 441–466.

7. *Barden H.S.*: Fluctuating dental asymmetry: A measure of developmental instability in Down syndrome. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1980, 52, 169–173.
8. *Malinowski A., Losiak B.*: Asymetria twarzy w świetle pomiarów łuków trągion nosion, trągion – subnasale, i trągion-gnathion. *Prz. Antrop.* 1974, 40 (1), 127–132.
9. *Mess A.*: Asymetria fluktuująca a zmienność morfologiczna cech dermatoglicficznych. *Człowiek w czasie i przestrzeni.* Gdańsk 1993, 427–433.
10. *Hershkovitz I., Ring B., Kobylansky E.*: Efficiency of cranial bilateral measurements in separating human populations. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1990, 83, 307–319.
11. *Manning J.T., Chamberlain A.T.*: Fluctuating asymmetry in gorilla canines: a sensitive indicator of environmental stress. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1994, 255 (1343), 189–193.
12. *Woo T.L.*: On the asymmetry of the human skull. *Biometrika*, 1931, 22, 324–352.
13. *Lundström A., Dubl S.D.*: Some asymmetries of the dental arches, jaws, and skull, and their etiological significance. *Am. J. Orthod.* 1961, 47 (2), 81–106.
14. *Opitz J.M., Utkus A.*: Comments on biological asymmetry. *Am. J. Med. Genet.* 2001, 101, 359–369.
15. *Ossenberg N.S.*: Within and between race distances in population studies based on discrete traits of the human skull. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1976, 45, 701–716.
16. *Pirttiniemi P., Kantomaa T., Rönning O.*: Relation of the glenoid fossa to craniofacial morphology, studied on dry human skulls. *Acta Odontol. Scand.* 1990, 48, 359–364.
17. *Wrzosek A.*: Asymetria twarzy. *Prz. Antrop.* 1927, 2, 123–130.
18. *Piasecki K., Reymond J., Wysocki J.*: Wypust żylny sutkowy w aspekcie anatomiczno-klinicznym. *Antropologia a medycyna i promocja zdrowia*, tom II. Wyd. Uniw. Łódź., Łódź 1996, 279–286.
19. *Björk A., Björk L.*: Artificial deformation and cranio-facial asymmetry in ancient Peruvians. *J. Dent. Res.* 1964, 43 (2), 356–362.
20. *Kyrkanides S., Bellohusen R., Subtelny J.D.*: Asymmetries of the upper lip and nose in noncleft and postsurgical unilateral cleft lip and palate individuals. *Cleft. Palate. Craniofac. J.* 1996, 33, 306–311.
21. *Mølsted K., Dahl E.*: Asymmetry of the maxilla in children with complete unilateral cleft lip. *Cleft. Palate. Craniofac. J.* 1990, 27 (2), 184–190.
22. *Laspos C.P., Kyrkanides S., Tallents R.H., Moss M.E., Subtelny J.D.*: Mandibular asymmetry in noncleft and unilateral cleft lip and palate individuals. *Cleft. Palate. Craniofac. J.* 1997, 34 (5), 410–416.
23. *Türp J.C., Vach W., Harbich K.*: Mandibular condyles and rami are asymmetric structures. *Cranio*, 1988, 16 (1), 51–56.
24. *Bailit H.L., Workman P.L., Niswander J.D., Mac Lean C.J.*: Dental asymmetry as a indicator of genetic and environmental conditions in human populations. *Hum. Biol.* 1970, 42, 626–638.
25. *Doyle W.J., Johnson O.*: On the meaning of increased fluctuating dental asymmetry: a cross population study. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1977, 46 (1), 127–134.
26. *Perzigian A.J.*: Fluctuating dental asymmetry: variation among skeletal populations. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1977, 47 (1), 81–88.
27. *Richards L.C.*: Temporomandibular joint morphology in two Australian aboriginal populations. *J. Dent. Res.* 1987, 66 (10), 1602–1607.
28. *Marchiori D.M.*: Radiologia kliniczna. Czelej, Lublin 1999.
29. *Zaborowski Z., Piontek P.*: Zastosowania rentgenokraniometrii w badaniach antropologicznych. *Prz. Antrop.* 1977, 43 (2), 359–365.
30. *Palmer R.A., Strobeck C.*: Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1986, 17, 391–421.
31. *Moczko J.A., Bręborowicz G.H., Tadeusiewicz R.*: Statystyka w badaniach medycznych. Springer PWN, Warszawa, 1998.
32. *Gundara N., Zivanovic S.*: Asymmetry in East African skulls. *Am. J. Anthropol.* 1968, 28, 331–338.
33. *Jain K.K., Jain B.K.*: Asymmetry in the skull. *Acta Anat.* 1979, 104, 349–352.
34. *Plachocki J.H.*: Directional bilateral asymmetry in Human Sacral Morphology. *Int. J. Osteoarchaeol.* 2002, 12, 349–355.
35. *Myslobodsky M.S., Ingraham L.J., Weinberger D.R.*: Skull asymmetry and handedness in adults: a possibility of their association with lateral head turning in infancy. *Percept. Mot. Skills*, 1987, 65, 415–421.
36. *Skóra A., Kruk-Jeromin J.*: Asymetria twarzy u dzieci i młodzieży z mikrocją. *Now. Lek.* 2000, 69 (1), 38–49.
37. *Rossi M., Ribeiro E., Smith R.*: Craniofacial asymmetry in development: an anatomical study. *Angle Orthod.* 2003, 4, 381–385.
38. *Kolesnikov L.L.*: Asymmetry of the negroid facial skull. *Stomatologia Mosk.* 1999, 78 (4), 39–41.
39. *Hershkovitz I., Ring B., Kobylansky E.*: Craniofacial asymmetry in Bedouin adults. *Am. J. Human Biol.* 1992, 4, 83–92.
40. *Hershkovitz I., Livshits G., Moskona D., Arensburg B., Kobylansky E.*: Variables affecting dental fluctuating asymmetry in human isolates. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1993, 91, 349–365.
41. *Fields S.J., Spiers M., Hershkovitz I., Livshits G.*: Reliability of reliability coefficients in the estimation of asymmetry. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1995, 96, 83–87.
42. *Škvařilová B.*: Facial asymmetry: type, extent and range of normal values. *Acta Chir. Plast.* 1993, 35 (3–4), 173–180.
43. *Teul I., Czerwiński F., Gawlikowska A., Konstany-Kurkiewicz V., Sławiński G.*: Asymmetry of the ovale and spinous foramina in mediaeval and contemporary skulls in radiological examinations. *Folia Morphol. (Warsz.)* 2002, 61, 3, 147–152.

Komentarz

Problematyka asymetrii stanowi dziś ogromną gałąź wiedzy i badań w wielu dziedzinach. Wnikliwym ocenom poddawane są przyczyny powstawania asymetrii, jej poziom, a także rodzaje występującej w przyrodzie asymetrii. Dzięki nowoczesnym metodom badawczym – radiologicznym i statystycznym – coraz częściej ocenia się asymetrię fluktuacyjną, traktowaną jako miernik homeostazy rozwojowej organizmu (Rossi M., Ribeiro E., Smith R.: Craniofacial asymmetry in development: An anatomical study. *Angle Orthod.* 2003, 4, 381–385; Polak M.: *Developmental instability: Causes and consequences.* Oxford University Press, New York 2003, 279–319). Badania tego rodzaju asymetrii prowadzone są na świecie w różnych dziedzinach medycyny, o czym donosi światowa literatura. W polskim piśmiennictwie jest to, niestety, kierunek w dalszym ciągu pionierski i niewykorzystany we właściwym stopniu w medycynie.

Praca autorstwa Aleksandry Gawlikowskiej-Sroki doskonale pokazuje przekrój dotychczasowej wiedzy i poglądów na temat rodzajów asymetrii oraz metod badań i możliwości wykorzystania ich w praktyce klinicznej. Zagadnienie występowania asymetrii w czaszkach ludzkich zostało potraktowane bardzo szeroko i rzetelnie. Badania oparto na dużym materiale. Zastosowane metody badawcze są nowoczesne i precyzyjne, co pozwoliło autorce uzyskać wiele obserwacji dających obraz dziejowych zmian czaszki. Bardzo cennym efektem pracy jest porównanie i ocena wartości różnych metod badawczych asymetrii fluktuacyjnej. Badania wykazały istotne różnice w budowie czaszek populacji współczesnej i średniowiecznej oraz w rozkładzie wartości asymetrii fluktuacyjnej i kierunkowej. Praca stanowi duży wkład do nauki dotyczącej zmienności biologicznej człowieka.

prof. dr hab. n. med. *Florian Czerwiński*

DARIUSZ KUCZYŃSKI, DANUTA KOSIK-BOGACKA, WANDA KUŻNA-GRYGIEL

ŚWIADOMOŚĆ EKOLOGICZNA MIESZKAŃCÓW SZCZECINA

ENVIRONMENTAL AWARENESS OF THE RESIDENTS OF SZCZECIN

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wanda Kuźna-Grygiel

Summary

Purpose: The aim of the study was to examine environmental awareness of the residents of Szczecin.

Material and methods: The study was carried out in 2004–2005 among 132 residents of Szczecin between the age of 18 and 55 years. The main research tool was a questionnaire which included fifteen questions about the sensitivity to environmental issues, attitudes, ecological knowledge, and pro-ecological behavior of the respondents.

Results and conclusions: Most of the respondents declared that they are able to foster improvements in the natural environment and are aware of the problems connected with environment pollution in their vicinity. The pro-ecological behavior is manifested by reducing water (68%) and electric energy consumption (75%), by pro-ecological consumer attitudes (66%) and waste sorting (55%). Very few of Szczecin's residents are members of ecological organizations (5%). The main sources of knowledge about environmental protection are the radio and television (38%), press (31%) and the internet (16%).

Among the respondents there was a group of people (15%) showing interest in and sensitivity to environmental issues and was therefore called a pro-ecological group. Nevertheless, environmental awareness of the residents of Szczecin is rather low and still needs to be improved through professional educational activities.

Key words: questionnaire – pro-ecological behavior – environment.

Streszczenie

Wstęp: Celem badań była ocena poziomu świadomości ekologicznej mieszkańców Szczecina.

Material i metody: Badania przeprowadzono w latach 2004–2005 wśród 132 szczecinian w wieku od 18 do 55 lat. Narzędziem badawczym był kwestionariusz zawierający piętnaście pytań dotyczących: wrażliwości, postaw i wiedzy ekologicznej oraz proekologicznych zachowań ankietowanych.

Wyniki i wnioski: Większość ankietowanych szczecinian uważa, że ma wpływ na poprawę stanu środowiska naturalnego oraz zauważa problemy związane z zanieczyszczeniem środowiska w swoim otoczeniu. Zachowania proekologiczne manifestują oni poprzez oszczędzanie wody (68%) i energii elektrycznej (75%), proekologiczne zachowania konsumenckie (66%), segregowanie odpadów (55%), a także przez aktywny udział w akcjach ekologicznych na rzecz ochrony środowiska (27%). Niestety, w organizacjach ekologicznych działa niewielu ankietowanych szczecinian (5%). Wiedzę na temat ochrony środowiska respondenci czerpią z radia i telewizji (38%), prasy (31%) oraz z internetu (16%).

Spośród ankietowanych wyodrębniono grupę osób (15%), które wykazywały zainteresowanie oraz wrażliwość ekologiczną i określono ją jako proekologiczną. Na podstawie analizy ankiet stwierdzono, że świadomość ekologiczna mieszkańców Szczecina jest niska. Trzeba więc pogłębiać świadomość ekologiczną szczecinian poprzez prowadzenie profesjonalnej działalności edukacyjnej.

H a s ł a: ankietowany – postawa proekologiczna – środowisko.

Wstęp

Głównym problemem naszej cywilizacji jest degradacja środowiska naturalnego spowodowana między innymi emisją zanieczyszczeń, a także zmniejszającymi się zasobami mineralnymi ziemi. W związku z tym dużego znaczenia

nabiera stosunek człowieka do otaczającego go środowiska, czyli świadomość ekologiczna. Termin ten oznacza zespół wyuczonych, społecznie kontrolowanych i powszechnie akceptowanych poglądów, wartości oraz postaw charakterystycznych dla przedstawicieli danej zbiorowości [1]. Świadomość ekologiczna kształtowana jest przez system wartości funkcjonujących w danej społeczności oraz przez wiedzę uzyskaną w czasie procesu edukacyjnego [2]. Na poziom świadomości ekologicznej wpływ mają informacje dostarczane przez media i doświadczenia indywidualne [3].

W wielu krajach Europy, w tym również w Polsce, przeprowadzono badania ankietowe mające na celu określenie poziomu świadomości ekologicznej obywateli. Badania te były badaniami kompleksowymi, obejmującymi mieszkańców całego kraju. Na ich podstawie nie można jednak określić poziomu świadomości oraz problemów społeczności lokalnych. Dlatego postanowiono przeprowadzić ankietę wśród mieszkańców Szczecina, aby poznać ich stosunek do otaczającego środowiska oraz określić poziom świadomości ekologicznej.

Material i metody

Badania przeprowadzono w latach 2004–2005 na próbie losowej mieszkańców Szczecina. Ankietę wypełniły 132 osoby, w tym 76 kobiet (58%) i 56 mężczyzn (42%). Najmłodszy ankietowany miał 18 lat, a najstarszy 55. Respondentów podzielono na trzy grupy wiekowe:

- I grupa – osoby od 18. do 22. r.ż. (35%),
- II grupa – osoby od 23. do 32. r.ż. (31%),
- III grupa – osoby od 33. do 55. r.ż. (34%).

Ankietowani stanowili dosyć jednorodną grupę. Większość respondentów, bo aż 98%, to osoby z wykształceniem średnim. Pozostałe 2% legitymowało się wykształceniem wyższym. Brak było w grupie ankietowanych osób z wykształceniem zawodowym i podstawowym. Narzędziem badań był kwestionariusz zawierający piętnaście pytań dotyczących:

- wrażliwości ekologicznej,
- proekologicznych zachowań,
- postawy proekologicznej,
- wiedzy ekologicznej.

Wyniki badań ankietowanych poddano analizie statystycznej (test χ^2).

Wyniki i dyskusja

Większość ankietowanych szczecinian, w tym 84% kobiet i 64% mężczyzn uważa, że ma wpływ na poprawę stanu środowiska naturalnego. Taką postawę wyróżniały się przede wszystkim kobiety w wieku od 33 do 55 lat (tab. 1). Potwierdzeniem tego są odpowiedzi respondentów na kolejne pytanie ankiet. Według 35% ankietowanych, największy wpływ na poprawę stanu środowiska ma społeczność lokal-

na i lokalne władze, a najmniejszy – księża oraz prywatni inwestorzy. Zauważono istotne różnice w odpowiedzi na to pytanie w zależności od płci respondentów. Według kobiet największy wpływ na poprawę stanu środowiska mają lokalne władze, natomiast według mężczyzn – społeczność lokalna. Podobne wyniki ankiet uzyskał CBOS [4]. Według większości ankietowanych działania na rzecz poprawy stanu środowiska powinny podejmować przede wszystkim lokalne władze gminy. Tylko 1/3 ankietowanych uważała, że poprawa stanu środowiska zależy od postawy ich samych.

Tabela 1. Deklaracje ankietowanych dotyczące ochrony środowiska

Table 1. Responses to questions concerning environmental protection

Ankietowani Respondents	Przedział wiekowy Age range	Odpowiedź na pytanie w procentach Percentage of answers	
		tak / yes	nie / no
Kobiety / Females	18–22	84	16
	22–33	90	10
	33–55	96	4
Mężczyźni / Males	18–22	64	36
	22–33	80	20
	33–55	77	23

Od początku lat 80. ubiegłego wieku zaczęto zwracać uwagę konsumentom na to, jaki wpływ mają przetworzone produkty konsumpcyjne na stan ich zdrowia. Ruchy konsumenckie określiły cechy produktu przyjaznego środowisku, a wprowadzone ekoznaki miały pomóc klientom w wyborze produktów [5, 6]. Proekologiczne zachowania konsumenckie wykazuje 66% ankietowanych szczecinian, głównie kobiet (52%) i mężczyzn (52%) w wieku od 23 do 32 lat. Natomiast mężczyźni z I grupy badawczej (93%) nie zwracają uwagi na to, czy kupowany produkt jest przyjazny dla środowiska. Prezentowane wyniki różnią się znacznie od wyników badań CBOS [4] oraz Instytutu na rzecz Ekorozwoju [3]. Według raportu CBOS 56% ankietowanych unika kupowania produktów szkodliwych dla środowiska. Natomiast według raportu Instytutu na rzecz Ekorozwoju, aż 85% badanych w 1997 r. kupowało produkt droższy, lecz nieszkodliwy dla środowiska, a 89% ankietowanych preferowało opakowanie mniej wygodne, ale przyjazne środowisku.

Wysoki poziom deklaracji ankietowanych, dotyczący proekologicznych zachowań konsumenckich, odbiega znacznie od realnych zachowań. Większość konsumentów nie zna ekoznaków umieszczanych na opakowaniach, co potwierdzają wyniki ankiet Instytutu na rzecz Ekorozwoju, w których tylko 45% ankietowanych rozpoznało oznaczenia świadczące o szkodliwości danych produktów [3]. Jednak liczba osób znających ekoznakowanie wciąż wzrasta, a w 1997 r. – w porównaniu z 1993 r. – grupa ta powiększyła się o 10%.

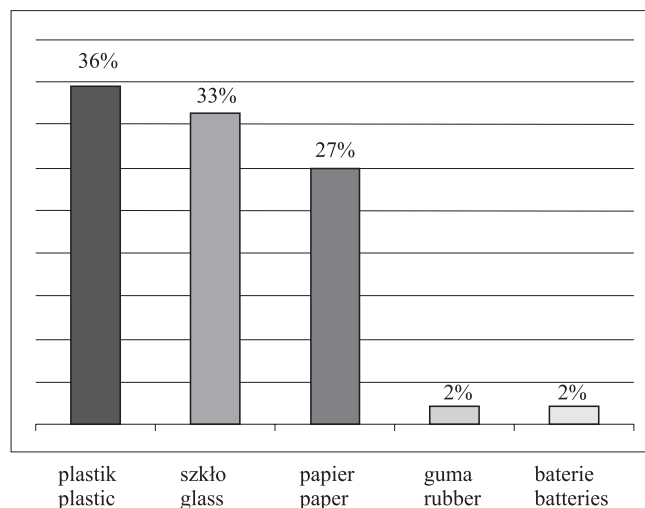
W związku ze zmniejszającymi się zasobami naturalnymi naszej planety dużego znaczenia dla ochrony środowiska

w Polsce nabiera oszczędzanie wody i energii elektrycznej. W prezentowanych badaniach oszczędzanie wody deklarowało 68% ankietowanych, głównie kobiet (79%) i mężczyzn (81%) w wieku od 23 do 32 lat. Podobne wyniki uzyskali ankietujący CBOS w 2000 r. [4]. W badaniach tych oszczędzanie wody deklarowało 67% ankietowanych. Próby oszczędzania energii elektrycznej podejmuje 3/4 ankietowanych szczecinian, głównie kobiet w wieku od 23 do 32 lat (81%) oraz mężczyzn w wieku od 33 do 55 lat (86%). Odsetek osób oszczędzających energię elektryczną w badaniach CBOS i własnych był podobny. Próby oszczędzania energii elektrycznej podejmowało 78% ankietowanych przez CBOS Polaków. Z przedstawionych badań wynika, że odsetek osób oszczędzających energię elektryczną jest wyższy niż osób oszczędzających wodę. Jest to prawdopodobnie związane z powszechnością występowania liczników energii elektrycznej, w przeciwieństwie do wodomierzy. W gospodarstwach domowych, w których brak jest wodomierzy, płaci się za wodę niezależnie od zużycia.

Powodem oszczędzania wody i energii elektrycznej przez ankietowanych szczecinian są czynniki ekonomiczne. Natomiast z pobudek ekologicznych oszczędza wodę jedynie 30% ankietowanych mężczyzn i 20% kobiet, zaś energię elektryczną 28% kobiet i 22% mężczyzn.

W związku ze zwiększającą się ilością odpadów komunalnych i niewłaściwym ich składowaniem duże znaczenie ma racjonalna gospodarka odpadami i zmniejszenie ich wytwarzania. W Polsce rocznie na wysypiska wywożonych jest 46,8 miliona metrów sześciennych odpadów [7]. W 1992 r. na legalne wysypiska komunalne wywieziono ok. 12 tys. ton odpadów z terenu Szczecina [8]. Ponad 70% odpadów komunalnych to wartościowy surowiec wtórny. Papier, tektura, tworzywa sztuczne, szkło i metale powinny być segregowane oraz zwracane do obiegu materiałowego. Ważne jest zatem zapewnienie mieszkańcom przez władze lokalne odpowiednich kontenerów na surowce wtórne. Najczęściej w pobliżu miejsca zamieszkania ankietowanych szczecinian występują kontenery na plastik (36%), szkło (33%) i papier (27%). Kontenery na gumę i baterie występują rzadziej, tylko 2% ankietowanych zauważyło je w pobliżu miejsca zamieszkania (ryc. 1).

Z pojemników tych korzysta 55% ankietowanych szczecinian, w tym 54% kobiet i 47% mężczyzn. Najbardziej skłonni do segregacji śmieci są mężczyźni w wieku od 23 do 32 lat, a najmniej mężczyźni z I grupy badawczej. Część z ankietowanych (28%), pomimo że ma warunki do segregacji śmieci, nie robi tego. Natomiast pięciu ankietowanych, pomimo braku kontenerów w pobliżu miejsca zamieszkania, segregowało śmieci, co związane było z pokonywaniem znacznych odległości, aby umieścić śmieci w odpowiednich pojemnikach. Przedstawione wyniki różnią się znacznie od wyników przedstawionych w raporcie Instytutu na rzecz Ekorozwoju [3]. W 2000 r. w rejonie północno-zachodnim śmieci segregowało tylko 31–35% ankietowanych. Wyższy odsetek osób segregujących śmieci w prezentowanej pracy może być związany z tym, że Instytut na rzecz Ekorozwoju



Ryc. 1. Dostępność kontenerów do segregacji odpadów

Fig. 1. Availability of waste sorting containers

prowadził badania nie tylko wśród mieszkańców dużych miast, ale także mieszkańców wsi i małych miast, gdzie dostęp do kontenerów jest ograniczony. Wyższy odsetek ankietowanych segregujących śmieci może być również związany z mniejszą ilością kontenerów na terenie miasta Szczecina w latach 90. XX w.

Pobudzenie powszechnej świadomości ekologicznej na temat negatywnych skutków rozwoju cywilizacji oraz stanu środowiska naturalnego jest wynikiem działania ruchów ekologicznych [9]. W Polsce zarejestrowanych jest około 600 organizacji deklarujących w swoim statucie działalność ekologiczną. Ponad 60 najbardziej aktywnych organizacji uczestniczy w rozwiązywaniu lokalnych problemów, w pracach komisji sejmowych oraz wspieraniu w działaniu organów państwowych w realizacji zadań polityki ekologicznej. Tylko 5% ankietowanych szczecinian aktywnie działa w organizacjach ekologicznych, pomimo że 62% kobiet i 45% mężczyzn w wieku od 23 do 32 lat wie o tego typu organizacjach działających w miejscu jego zamieszkania. Najmniej o organizacjach ekologicznych wiedzą mężczyźni w wieku od 33 do 55 lat (18%). Tak niski odsetek osób działających w organizacjach ekologicznych może być związany z brakiem zaufania do efektów działań tych organizacji.

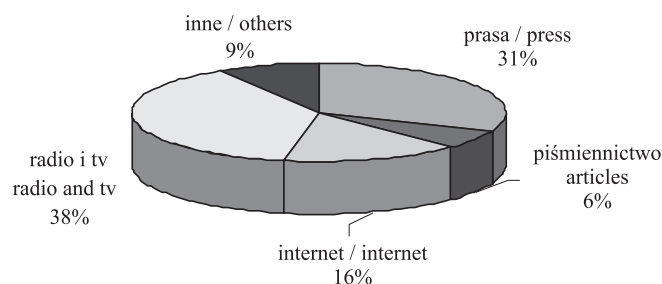
Pomimo że tak mała część ankietowanych działa w organizacjach ekologicznych, to w różnorodnych akcjach prowadzonych na rzecz ochrony środowiska brało udział 27% ankietowanych szczecinian, głównie kobiet w wieku od 18 do 22 lat (34%) i mężczyzn w przedziale wiekowym od 23 do 32 lat (35%). Najmniejszą aktywność w podejmowaniu działań proekologicznych wykazywali ankietowani w wieku od 33 do 55 lat, co może być związane z aktywnością zawodową osób z tej grupy. Najczęściej respondenci uczestniczyli w corocznych akcjach „Sprzątanie świata” (68%) oraz w obchodach „Dnia Ziemi” (10%).

Ankietowani szczecinianie zauważają problemy związane z zanieczyszczeniem środowiska w swoim otoczeniu (57%). Są to głównie osoby w wieku od 33 do 55 lat, zarówno mężczyźni (64%), jak i kobiety (61%). Na podstawie

ankiet stwierdzono, że głównym problemem Szczecina jest duża ilość odpadów oraz zbyt mała ilość kontenerów do segregacji śmieci. Pomimo tego, że Szczecin nazywany jest miastem zieleni, według ankietowanych za mało jest terenów zielonych. Badani szczecinianie niezadowoleni są również z jakości wody wodociągowej i chcą jak najszybszego otwarcia w ich mieście oczyszczalni ścieków. Szczecin jest jedynym dużym miastem w Polsce nieposiadającym systemu oczyszczania ścieków. Być może przyznane na ten cel środki z Unii Europejskiej przyspieszą budowę oczyszczalni ścieków na terenie miasta.

Na poziom świadomości ekologicznej ankietowanych duży wpływ ma dostępność informacji o przyczynach, skutkach i sposobach degradacji środowiska. Jednym z głównych przekazników tych treści w skali lokalnej i globalnej są media [10]. Ankietowani szczecinianie informacje na temat ochrony środowiska czerpią z radia i telewizji (38%), prasy (31%) oraz internetu (16%) – rycina 2. Aż 57% respondentów dostępność informacji na temat stanu środowiska ocenia dobrze, są to głównie kobiety w wieku od 18 do 22 lat i mężczyźni w wieku od 33 do 55 lat. Najgorzej dostępność informacji o stanie środowiska naturalnego oceniają mężczyźni w przedziale wiekowym od 18 do 22 lat. Z przedstawionych badań wynika, że media mają ogromny wpływ na poziom wiedzy o stanie środowiska naturalnego Polaków. Zatem rola mediów, przede wszystkim lokalnych, w procesie informowania i edukowania społeczeństwa jest znacząca. Według Narodowej Strategii Edukacji Ekologicznej „Przez edukację do zrównoważonego rozwoju” środki masowego przekazu powinny przedstawiać w sposób rzetelny stan środowiska naturalnego, prezentować pozytywne przykłady działań podejmowanych na rzecz jego ochrony oraz promować styl życia i zachowania przyjazne środowisku, a także ograniczać lansowanie cywilizacji konsumpcyjnej.

Analizując wyniki ankiet wśród respondentów można wyodrębnić grupę określaną jako proekologiczną. Do grupy tej zaliczono 15% ankietowanych. Grupę tę stanowiły przede wszystkim osoby w wieku od 23 do 32 lat, które wykazywały zainteresowanie i wrażliwość ekologiczną. W badaniach Instytutu na rzecz Ekorozwoju na terenie północno-zachodniej Polski grupa ta stanowiła 21–25% [3]. Obserwowany spadek liczby osób o zachowaniu proekologicznym może być związany z pogarszającą się sytuacją materialną społeczeństwa polskiego.



Ryc. 2. Źródła informacji ankietowanych dotyczących ochrony środowiska
Fig. 2. Sources of information of the respondents about environmental protection

Wnioski

Świadomość ekologiczna mieszkańców Szczecina jest niska. Świadczy o tym wiele negatywnych zachowań, między innymi zaśmiecanie lasów czy rzek oraz powstawanie nielegalnych wysypisk. Coroczna akcja „Sprzątanie świata” przynosi efekty, ale na pełen sukces trzeba poczekać jeszcze wiele lat. Sami Polacy wiedzą, że ich stan świadomości ekologicznej jest bardzo niski. Z badań Sandnera wynika, że 71% ankietowanych ocenia świadomość proekologiczną społeczeństwa jako bardzo niską i niską [11].

Krytyczna ocena stanu świadomości ekologicznej naszego społeczeństwa znalazła również potwierdzenie w raporcie Instytutu na rzecz Ekorozwoju [3]. Z badań tych wynikało, że deklaracja społeczeństwa na temat pozytywnego stosunku do środowiska nie idzie w parze z zachowaniami oraz że przyszły stan świadomości ekologicznej społeczeństwa polskiego będzie zależał od kondycji finansowej naszego państwa. Wiadomo bowiem, że świadomość ekologiczna społeczeństwa zależy między innymi od warunków bytowych, czyli poziomu zamożności.

Czynnikiem wpływającym na niską świadomość ekologiczną jest zbyt małe nasycenie programów nauczania problematyką ochrony i kształtowania środowiska [12]. Edukację społeczeństwa należałoby rozpocząć już w przedszkolu i przez całe życie kształtować jego sposób myślenia i zachowania [13].

Piśmiennictwo

1. *Mirowski W.*: Świadomość ekologiczna i społeczne ruchy w Polsce. IFiS PAN, Warszawa 1999.
2. *Sadowski A.*: Struktura świadomości ekologicznej. *Ekon. i Środ.* 2000, 2, 191–203.
3. *Burger T.*: Świadomość ekologiczna społeczeństwa polskiego u progu XXI wieku. Instytut na rzecz Ekorozwoju, Warszawa 2000.
4. *Komorowska K.A.*: Ekologiczna świadomość Polaków. Komunikat CBOS nr 2418, nr kancelaryjny BS/161/2000, 2000.
5. *Klimczyk-Bryk M.*: Świadomość ekologiczna konsumentów i jej uwarunkowania. *Zesz. Nauk. AE Krak.* 2000, 543, 95–103.
6. *Leśniak J.*: Ekologiczne znaki towarowe w ochronie środowiska przyrodniczego. *Ekon. i Środ.* 1995, 1, 95–114.
7. *Łuczyk D.*: Zielono i czysto. CZG, Szczecin 1999.
8. *Jasnowska J.*: Stan środowiska miasta i rejonu Szczecina. *Szczec. Tow. Nauk. Szczecin* 1993, 353–355.
9. *Gocko J.*: Postawy i kształtowanie odpowiedzialności ekologicznej. *Seminare*, 2003, 19, 247–259.
10. *Misiołek A.*: Problemy kształtowania postaw i świadomości ekologicznej. *Problemy Ekologii*, 2003, 7, 130–132.
11. *Sandner J.*: Badanie postaw proekologicznych społeczeństwa polskiego. In: *Świadomość i edukacja ekologiczna*. Ed. J.M. Dołęga. Wyd. Akad. Teol. Kat. Warszawa 1998, 37–52.
12. *Lonc E., Pyszny J., Rydzanicz K.*: Edukacja ekologiczna w polskiej szkole i prasie jako szansa rozwoju ekoturystyki. *Rocz. Nauk. PWSZ Wałb.* 2003, 3, 47–61.
13. *Wiśniewska R.*: Edukacja ekologiczna w przedszkolu. In: *Stan środowiska przyrodniczego podstawowym warunkiem zdrowia społeczeństwa*. Uniw. Szczec. Centrum Ekologiczno-Rekolekcyjne „Przymierze”, Szczecin 2004, 143–150.

LUKASZ HENSZEL, WANDA KUŻNA-GRYGIEL

ROZTOCZE KURZU DOMOWEGO W ETIOLOGII REAKCJI ALERGICZNYCH HOUSE DUST MITES IN THE ETIOLOGY OF ALLERGIC DISEASES

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Medycznej Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wanda Kuźna-Grygiel

Summary

One of the more important etiological factors of allergies are mites occurring in the closest vicinity of humans, i.e. in the house dust and in the stored foodstuffs. The most important are the species representing the families: *Pyroglyphidae* (mainly *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae*, and *Euroglyphus maynei*), *Glycyphagidae* (e.g. *Lepidoglyphus destructor*, *Blomia sp.*), and *Acaridae* (e.g. *Tyrophagus putrescentiae*, *Acarus siro*). Mites shed an abundance of allergenic proteins. Particularly abundant in allergens are the extracts of mite faeces as well as the extracts of their purified bodies or culture substrate. In humans they may inflict atopic allergies (respiratory and dermal), such as bronchial asthma, rhinitis, or atopic eczema. It has been estimated that some 5% of the human population is sensitive to dust mites allergens.

Key words: *Acari* – house dust mites – *Pyroglyphidae* – *Acaridae* – *Glycyphagidae* – allergic diseases.

Streszczenie

Roztocze występujące w bezpośrednim otoczeniu człowieka, tzn. w kurzu domowym i przechowywanej żywności, stanowią jeden z najważniejszych czynników etiologicznych alergii. Najczęstsze gatunki pochodzą z rodziny *Pyroglyphidae* (przede wszystkim *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae* oraz *Euroglyphus maynei*), *Glycyphagidae* (np. *Lepidoglyphus destructor*, *Blomia sp.*) i *Acaridae* (np. *Tyrophagus putrescentiae*, *Acarus siro*). Roztocze są źródłem wielu białek uczulających. Szczególnie bogatymi

w alergeny są ekstrakty kału roztoczy, jak również ekstrakty z ich oczyszczonego ciała czy podłoże hodowlane. U człowieka roztocze mogą wywoływać alergię atopową (oddechową i skórny), jak astma oskrzelowa, nieżyt nosa, czy wyprysk atopowy. Szacuje się, że około 5% populacji ludzkiej stanowią osoby uczulone na alergeny roztoczy kurzu domowego.

H a s ł a: *Acari* – roztocze kurzu domowego – *Pyroglyphidae* – *Acaridae* – *Glycyphagidae* – choroby alergiczne.

Roztocze (*Acari*) jest to rząd pajęczaków (*Arachnoidea*) szeroko rozpowszechnionych w wielu środowiskach: w wodzie, w glebie oraz w bezpośrednim otoczeniu zwierząt i ludzi. Powszechnie znanymi gatunkami roztoczy, pasożytującymi w skórze człowieka są świerzbowiec drążący (*Sarcoptes scabiei*) i nużeniec ludzki (*Demodex folliculorum*). Z kolei najbardziej znanym roztoczem krwiopijnym jest kleszcz pospolity (*Ixodes ricinus*). Oprócz roztoczy pasożytniczych, w bezpośrednim otoczeniu człowieka występuje wiele mikroskopijnych gatunków odżywiających się resztkami organicznymi, w tym także złuszczone naskórkami. Chociaż nie prowadzą one pasożytniczego trybu życia to mają duże znaczenie w medycynie, ponieważ głównie w ich chitynowych wylinkach i wydalinach obecne są białka o właściwościach alergogennych dla człowieka. Roztocze te są wszechobecne w pomieszczeniach wewnątrzdomowych, jak też w magazynach przechowywania różnych produktów spożywczych.

Już na początku XX wieku stwierdzono związek alergicznych odczynów skórnych i astmy z kurzem domowym (Kern, 1921 r.), a w 1964 r. jednocześnie w Holandii – Voor-

horst i wsp. [1] oraz w Japonii – Oshima [2] odkryli w nim obecność roztoczy z rodziny *Pyroglyphidae*. Kolejne badania wykazały powszechność występowania roztoczy w kurzu domowym i ich związek z chorobami alergicznymi u ludzi. Wiele dotychczas przeprowadzonych badań potwierdziło, że nawet do 90% akarofauny kurzu domowego stanowią roztocze z rodziny *Pyroglyphidae* (*Acar*: *Acaridida*) [3]. Są to małe, owalne pajęczaki, o długości 170–585 μm , o wadze ok. 16 μg [4]. W klimacie umiarkowanym najczęstszymi gatunkami z rodziny *Pyroglyphidae* wykrywanymi w pomieszczeniach mieszkalnych, zakładach pracy, magazynach produktów spożywczych, są: *D. pteronyssinus*, *D. farinae* oraz *E. maynei*. W piśmiennictwie wymieniane są one wśród najważniejszych czynników wyzwalających reakcje alergiczne [1, 5, 6, 7, 8]. Chociaż głównym pokarmem tych roztoczy jest łuszczący się naskórek człowieka, to jednak poszczególne gatunki różnią się w preferencjach pokarmowych. Dla najpospolitszego roztocza kurzu domowego – *D. pteronyssinus* oraz dla *E. maynei*, głównym pożywieniem są komórki złuszczonego naskórka, włosy oraz inne rogowe cząstki. Natomiast *D. farinae* odżywia się głównie cząstkami pochodzenia roślinnego albo grzybami rozwijającymi się na tych cząstkach [3]. Dużą rolę w odżywianiu się kurzowych *Pyroglyphidae* odgrywają grzyby z rodzaju *Pityrosporum*, które wstępnie, nadtrawiając komórki naskórka, czynią je dostępnymi dla roztoczy [3]. Rzadziej wykrywanym gatunkiem w naszym klimacie jest *Blomia tropicalis* (z rodziny *Glycyphagidae*), który dominuje w akarofaunie klimatu tropikalnego [9].

W rozwoju osobniczym roztoczy występują jaja, larwy, protonimfy i deutonomimfy oraz dojrzałe samce i samice. W niekorzystnych warunkach nimfy mogą przechodzić w formę nieaktywną, tzw. *hypopus*. W mieszkaniach roztocze rozmnażają się głównie w łóżkach, w meblach tapicerskich oraz w szczelinach podłóg. Liczebność populacji tych stawonogów determinuje temperatura i wilgotność. Optymalną temperaturą dla ich rozwoju jest 25°C, chociaż przeżywiają w temperaturze od -18°C do 50°C [10]. Rozmnażają się w środowisku o wilgotności względnej powietrza powyżej 60%. Wzrost wilgotności sprzyja zwiększaniu się liczebności populacji roztoczy [7, 11, 12]. Nie wykrywano roztoczy w pomieszczeniach o wilgotności poniżej 45%. Gatunek *D. farinae*, w porównaniu z dwoma pozostałymi (*D. pteronyssinus* i *E. maynei*), jest odporniejszy na mniejszą wilgotność, dlatego też wykrywany jest częściej w mieszkaniach z centralnym ogrzewaniem [3, 13, 14, 15, 16, 17].

Już w 1969 r. badacze holenderscy odkryli, że roztocze występujące w otoczeniu człowieka są źródłem alergenu [18]. Obecnie wiadomo, że roztocze są źródłem wielu alergenów (a nie, jak początkowo sądzono, tylko jednego) reakcji IgE-zależnych [5, 6, 8, 19]. Szczególnie bogate w alergeny są ekstrakty kału roztoczy, a także ekstrakty z ich oczyszczonego ciała [7, 19, 20]. Można przypuszczać, że około 5% populacji ludzkiej jest uczulona na alergeny roztoczy kurzu domowego [21]. Istnieją doniesienia, w któ-

rych wykazano, iż prevalencja alergii wzrasta gwałtowniej u mężczyzn powyżej 18. roku życia, niż u dziewcząt [22]. W porównaniu do częstości występowania alergii spowodowanych nadwrażliwością na inne cząsteczki, jak pyłki roślin czy zarodniki grzybów pleśniowych, alergie spowodowane samymi roztoczami zdarzają się częściej (54,2%). Od roztoczy częściej uczuła sam kurz (84,2%), naskórek kota (76,5%) i psa (63%) [22]. Wykazano, iż podatność na rozwój choroby atopowej zależy od aktualnego poziomu alergenów w miejscu przebywania, np. w łóżkach, ale także jest determinowana genetycznie [23]. U pacjentów wykazano zależność poziomu swoistych przeciwciał IgE od polimorfizmu genu interleukinowego na chromosomie 5q31–5q33 [24], czego jednak nie potwierdziły dalsze badania tych samych autorów [25]. Prawdopodobnie, poziom produkowanych IgE kontrolowany jest wielogenowo [26, 27].

Największe stężenie alergenów roztoczy występuje w miejscach najchętniej przez nie kolonizowanych: pościeli, dywanach i meblach tapicerowanych. W 1 g kurzu znajdują się setki, a nierzadko dziesiątki tysięcy roztoczy w różnych stadiach rozwoju, przeważnie kolonie dwu-, trzy- lub nawet kilkugatunkowe. Żeby wystąpiły objawy uczuleniowe, koncentracja roztoczy musi przekroczyć 100 osobników/1g kurzu, co odpowiada stężeniu 2 μg alergenów [28, 29, 30]. Największego stężenia alergenów (głównie *D. pteronyssinus*) należy spodziewać się w miesiącach wczesnojesiennych, najbardziej sprzyjających rozmnażaniu roztoczy z uwagi na optymalną temperaturę i wilgotność [31].

Do tej pory odkryte alergeny roztoczy kurzu z rodziny *Pyroglyphidae*, zostały wyizolowane, oczyszczone, zbadane i nazwane zgodnie z zasadami nomenklatury zaproponowanej przez International Union of Immunological Societies (IUIS). U roztoczy tych najlepiej poznano alergeny grupy I, II i III u *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, i *E. maynei* [5, 32, 33]. Klonując odcinki cDNA i sekwencjonując białka alergenów uzyskano informację na temat ich budowy i właściwości [34]. Alergeny grupy I (np. Der p 1, Der f 1, Eur m 1) to termolabilne (w temp. 56°C w ciągu 1 godz. tracą połowę swych właściwości antygenowych) glikoproteiny, łatwo rozpuszczalne, stabilne w zakresie pH 4–10 i trypsynoodporne, o masie cząsteczki około 25 kDa. Białka te wykazują aktywność proteolityczną oraz duże podobieństwo sekwencji aminokwasowej do proteinyazy cysteinowej (np. katepsyny albo papainy), a także są prawdopodobnie enzymami odgrywającymi rolę w trawieniu u tych roztoczy. Największe stężenie alergenów grupy I obserwuje się w drobinach kału roztoczy oraz w ekstraktach z podłoża hodowlanego. Podobne proteolityczne właściwości mają alergeny grupy III (np. Der p 3, Der f 3), białka o masie cząsteczki około 29–30 kDa, które są enzymami o aktywności proteinyazy serynowej (np. trypsyna). Alergeny grupy II (np. Der p 2, Der f 2) są z kolei łatwo rozpuszczalnymi białkami, o masie cząsteczki około 14–15 kDa, nieco mniej wrażliwymi na zmiany pH (bardziej pH-stabilnymi), nie zmieniają swoich właściwości w pH w zakresie 2–12. Są ponadto bardziej odporne na wysoką temperaturę, nie tracąc swoich właściwości alergi-

zujących w temp. 56°C, a w temp. 100°C wytrzymują przez 10 minut. Funkcja tych białek (alergenów grupy II) nie jest znana. Wiadomo, że są rozmieszczone w różnych miejscach ciała roztocza, a największą ich koncentrację stwierdza się w wyciągach tzw. oczyszczonych ciał roztoczy [5, 6, 7, 8, 19, 34, 35, 36, 37, 38, 39].

Alergogenne działanie kurzu domowego na organizm ludzki może manifestować się objawami astmy oskrzelowej, nieżytem nosa oraz wypryskiem atopowym. Spośród pospolitych, wewnątrzdomowych alergenów wziewnych, roztocze kurzu domowego są na ogół najczęstszą przyczyną atopowego nieżytu nosa i atopowej astmy oskrzelowej. Bezsportny jest też udział roztoczy w etiopatogenezie pokrzywki czy zapalenia spojówki i rogówki [5, 7, 8, 19, 22, 32, 34, 35, 40, 41].

W Polsce pierwsze badania nad roztoczami alergogennymi były prowadzone przez Boczka i Dutkiewicza w 1972 r. [42] oraz Boczka i Czajkowską w 1973 r. [43], a dotyczyły one występowania gatunku *D. farinae* (należącego do rodziny *Pyroglyphidae*) w magazynach zielarskich i zbożowych. Po raz pierwszy w Polsce dane o występowaniu roztoczy z rodziny *Pyroglyphidae* w kurzu domowym opisano w 1977 r. [44]. W wyniku dalszych badań nad akarofauną kurzu domowego w kraju wykazano, że najczęściej wykrywaniem gatunkami są: *D. pteronyssinus*, *D. farinae* oraz *E. maynei* [45, 46, 47]. Jednocześnie autorzy wykazali, że w mieszkaniach o niższych wartościach wilgotności częściej występuje *D. farinae*. Te same gatunki, które bytują w kurzu domowym, były wykrywane również w zakładach pracy, jak w obiektach portowych w Gdyni, na statkach dalekomorskich, w magazynach zbożowych [48]. Jak wykazały badania, przeprowadzone w wielu krajach europejskich, te same gatunki, które występują w kurzu domowym wykrywano w szkołach [49], w powietrzu miejskim [28], w pociągach pasażerskich [50], a nawet w pyłe zebrany z chodników [28] czy w pyłe węglowym [51]. Autorzy najnowszych badań w Polsce (na Górnym Śląsku i w Trójmieście) donoszą o wysokiej częstości występowania roztoczy, z których największy odsetek stanowią te należące do rodziny *Pyroglyphidae* (89–95%) [41, 52, 53, 54, 55].

Również ważną grupę, z medycznego punktu widzenia, stanowią roztocze produktów przechowywanych, które są przyczyną uczuleń związanych z wykonywanym zawodem: u rolników, farmerów, magazynierów, młynarzy, tapicerów, pracowników przemysłu spożywczego. Uczulenia te są określane jako alergia na roztocze magazynowe ("allergy to storage mites"). W produktach przechowywanych przez człowieka spotyka się roztocze należące do 5 rzędów: *Gamasida*, *Actinedida*, *Tarsonemida*, *Acaridida* oraz *Oribatida*. Najczęstsze i najliczniejsze są roztocze z rzędu *Acaridida* (= *Astigmata*), głównie przedstawiciele dwóch rodzin: *Acaridae* (rozkruszkowate) (*A. siro*, *T. putrescentiae*) i *Glycyphagidae* (roztoczkowate) (*L. destructor*, *Glycyphagus domesticus*) oraz pojedyncze gatunki z rodzin *Chortoglyphidae*, *Suidasiidae* i *Carpoglyphidae*. Najpopularniejszym i najlepiej poznany roztoczem przechowa-

nianym jest rozkruszek mączny (*A. siro*). Ze względu na szkodliwość dla zdrowia człowieka największą uwagę poświęca się roztoczkowi owłosionemu (*L. destructor*) oraz rozkruszkowi drobnemu (*T. putrescentiae*). Szkodliwość tej grupy roztoczy polega na zanieczyszczaniu produktów spożywczych kałem, wylinkami i martwymi osobnikami (gatunki z rzędów *Gamasida*, *Actinedida* i *Oribatida*) oraz na zjadaniu, zanieczyszczaniu i zawilgoceniu produktów (*Acaridae* i *Glycyphagidae*).

Częsty kontakt z porażonymi produktami albo pyłem unoszącym się podczas pracy jest właśnie powodem obserwowanych dolegliwości alergicznych w postaci atopowej astmy oskrzelowej, atopowego nieżytu nosa, zapalenia spojówek i uczuleń skórnych. Od dawna znane są takie alergie skórne, jak: choroba "copra itch" na skutek kontaktu z alergenem roztocza *T. putrescentiae* oraz „świąd magazynierów”, którego przyczyną jest najczęściej *A. siro*. Opisano także podobne przypadki u piekarzy (tzw. wyprysk piekarzy jako reakcja na *A. siro*) i u właścicieli sklepów spożywczych z artykułami kolonialnymi (tzw. egzema sklepikarzy kojarzona z reakcją na *G. domesticus*) [7, 52, 56, 57, 58, 59, 60].

W 1985 r. w Danii stwierdzono częste występowanie uczuleń na roztocze magazynowe. U 45% pacjentów przeprowadzone testy skórne były pozytywne, a alergię na roztocze magazynowe stwierdzono u 4 ze 133 pacjentów [59]. Badania wykonane w Norwegii w 1998 r. sugerowałyby, iż mamy do czynienia z dużym narażeniem na roztocze, głównie *L. destructor* [61].

W przypadku alergenów roztoczy magazynowych najczęściej danych zgromadzono na temat antygeny *Lep d 2* z oczyszczonych ciał roztoczek *L. destructor*, który wydaje się głównym, najczęściej uczulającym alergenem tego gatunku. Analogiczne alergeny o masie cząsteczkowej około 15–16 kDa wyizolowano także z oczyszczonych ciał *A. siro* i *T. putrescentiae* (np. *Tyr p 2*). Ponadto u *L. destructor* odkryto jeszcze inne alergeny o dużej masie cząsteczkowej. Wydaje się, że źródłem niektórych z nich, podobnie jak w przypadku roztoczy kurzu domowego, są drobiny kału tego roztoczka [5, 33, 35, 60, 62].

Wykrywanie roztoczy, występujących w kurzu domowym, obejmuje analizę akarologiczną, do której kurz pobiera się za pomocą odkurzacza. Większość metod izolacji oparta jest na przesiewaniu próby, wirowaniu, flotacji w nasyconym roztworze NaCl oraz filtrowaniu badanego materiału. Można stosować metodę izolacji z 80% etanolem i nasyconym NaCl wg Fain i Hart (1986 r.) [63]. Po wyizolowaniu roztocze zamyka się w preparatach trwałych, bez barwienia, w płynie Faure'a lub Hoyera, a następnie oznacza do stadium i gatunku pod mikroskopem z kontrastem fazowym. Stosuje się także metody immunochemiczne (np. ELISA) lub molekularne (np. *western blotting*). Do niedawna stosowano wykrywanie pośrednie alergenów kałowych roztoczy testem guaninowym (*Acarex test*®). Obecnie odchodzi się od wykorzystywania tego testu ze względu na częste występowanie fałszywie dodatnich wyników [32].

Wykrywanie roztoczy produktów spożywczych przeprowadza się w materiale, takim jak próby tych produktów lub próby pyłu. Do izolacji stosuje się wypłaszarki (fotoklektory) Berlesego–Tüllgrena lub metodę flotacji z nasyconym roztworem NaCl lub mieszaniną trichloroetyleny i denaturatu.

Stężenie alergenów roztoczy w środowisku wewnątrz-mieszkalnym można zmniejszyć poprzez zabiegi polegające na regularnym odkurzaniu materacy, dywanów; użytkowanie mebli z odpowiednim antyalergicznym okryciem (Allergocover®, Allergopharma); stosowanie specjalnych filtrów w odkurzaczach (HEPA filtry). Zalecane są akarycydy, a nawet szampony przeciwko roztoczom [64].

Piśmiennictwo

- Voorhorst R. et al.: Is a mite (*Dermatophagoides* sp.) the producer of house-dust allergen? *Allergie und asthma*, 1964, 10, 329–334.
- Oshima S.: Observations of floor mites collected in Yokohama. I. On the mites found in several schools in summer. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 1964, 15, 233–244.
- Hallas T.E.: The biology of mites. *Allergy*, 1991, 46 (11), 6–9.
- O'Connor B.M.: Evolutionary ecology of astigmatid mites. *Ann. Rev. Entomol.* 1982, 27, 385–409.
- Arlian L.G.: House-dust-mite allergens: A review. *Exp. Appl. Acarol.* 1991, 10, 167–186.
- Colloff M.J. et al.: The control of allergens of dust mites and domestic pets: a position paper. *Clin. Exp. Allergy* 1992, 22 (2), 1–28.
- Fain A., Guérin B., Hart B.J.: Mites and allergic disease. In: Ed. B. Guérin: *Allerbio*. Varennes en Argonne, 1990, 190.
- Pope A.M., Patterson R., Burge H.: Indoor allergens. Assessing and controlling adverse health effects. National Academy Press, Washington 1993, 309.
- Arlian L.G., Vyszenski-Moher D.L., Fernandez-Caldas E.: Allergenicity of the mite, *Blomia tropicalis*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1993, 91, 1042–1050.
- Hallas T.E., Korsgaard J.: Peak expiration flow variations may reflect house-dust-mite exposure and patient reactivity. *Allergy*, 1998, 53 (48), 101–103.
- Arlian L.G. et al.: Population dynamics of the house dust mites *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus*, and *Euroglyphus maynei* (Acari: Pyroglyphidae) at specific relative humidities. *J. Med. Entomol.* 1998, 35 (1), 46–53.
- Arlian L.G., Neal J.S., Bacon S.W.: Survival, fecundity and development of *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae) at fluctuating relative humidity. *J. Med. Entomol.* 1998, 35, 962–966.
- Arlian L.G.: Biology and ecology of house dust mites, *Dermatophagoides* spp. and *Euroglyphus* spp. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 1989, 9, 339–356.
- Colloff M.J.: A review of the biology and allergenicity of the house-dust mite *Euroglyphus maynei* (Acari: Pyroglyphidae). *Exp. Appl. Acarol.* 11 (2–3), 177–198. Review. Erratum in: *Exp. Appl. Acarol.* 1991, 12 (1–2), 151.
- Korsgaard J.: House-dust-mites and absolute indoor humidity. *Allergy*, 1983, 38, 85–92.
- Korsgaard J.: Mite asthma and residency: a case-control study on the impact of exposure to house dust mites in dwellings. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1983, 128, 231–253.
- Korsgaard J., Iversen M.: Epidemiology of house dust mite allergy. *Allergy*, 1991, 46 (11), 14–18.
- Voorhorst R., Spijksma F.T.M., Varekamp H.: House-dust atopy and the house-dust-mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897). *Stafleu's Scientific Publishing Co., Leiden* 1969, 159.
- Platts-Mills T.A.E. et al.: Dust mite allergens and asthma: report of a Second International Workshop. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992, 89, 1046–1060.
- Tovey E.R., Baldo B.A.: Localization of antigens and allergens in thin sections of the house-dust-mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). *J. Med. Entomol.* 1990, 27, 368–376.
- Suggars A.L.: House dust mites: a review. *J. Entomol. Sci.* 1987, 1 (1), 3–15.
- Boulet L.P. et al.: Comparative degree and type of sensitization to common indoor and outdoor allergens in subjects with allergic rhinitis and/or asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 1997, 27, 52–59.
- Young R.P. et al.: House dust mite sensitivity: interaction of genetics and allergen dosage. *Clin. Exp. Allergy*, 1992, 22 (2), 205–211.
- Noguchi E. et al.: Association of asthma and the interleukin-4 promoter gene in Japanese. *Clin. Exp. Allergy*, 1998, 28 (4), 449–453.
- Noguchi E. et al.: No association between atopy/asthma and the IL-50Val polymorphism of IL-4 receptor. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999, 160 (1), 342–345.
- Laitinen T. et al.: Genetic control of serum IgE levels and asthma: linkage and linkage disequilibrium studies in an isolated population. *Hum. Mol. Genet.* 1997, 6 (12), 2069–2076.
- Noguchi E. et al.: ADAM33 polymorphisms are associated with asthma susceptibility in a Japanese population. *Clin. Exp. Allergy*, 2006, 36 (5), 602–608.
- Custovic A., Chapman M.: Risk levels for mite allergens. Are they meaningful? *Allergy*, 1998, 53 (48), 71–76.
- Korsgaard J.: House-dust mites and asthma. A review on house-dust mites as a domestic risk factor for mite asthma. *Allergy*, 1998, 53, 77–83.
- Munir A.K.: Risk levels for mite allergen: are they meaningful, where should samples be collected, and how should they be analyzed? *Allergy*, 1998, 53, 84–87.
- Solarz K.: Seasonal dynamics of house dust mites populations in bed/mattress dust from two dwellings in Sosnowiec (Upper Silesia, Poland): an attempt to assess exposure. *Ann. Agric. Environ. Med.* 1997, 4, 253–261.
- Arlian L.G.: Dust mites: update on their allergens and control. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2001, 1, 581–586.
- Arlian L.G.: Arthropod allergens and human health. *Ann. Rev. Entomol.* 2002, 47, 395–433.
- Robinson C. et al.: On the potential significance of enzymatic activity of mite allergens to immunogenicity. Clues to structure and function revealed by molecular. *Clin. Exp. Allergy*, 1997, 27, 10–21.
- Aalberse R.C.: Allergens from mites: implications of cross-reactivity between invertebrate antigens. *Allergy*, 1998, 53 (48), 47–48.
- Kawamoto S. et al.: T-cell epitope analysis of Mag 3, an important allergen from house-dust-mite, *Dermatophagoides farinae*. *Immunol. Lett.* 2000, 72, 53–60.
- Maruo K. et al.: Generation of anaphylatoxins through proteolytic processing of C3 and C5 by house dust mite protease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, 100 (2), 253–260.
- Morgan M.S. et al.: Characterization of the allergens of house dust mite *Euroglyphus maynei*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, 100, 222–228.
- Schou C., Lind P.: The antigenicity of house dust mites. *Allergy*, 1991, 46 (11), 10–13.
- Mumcuoglu Y.K. et al.: House dust mites and vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmologica*, 1988, 196, 175–181.
- Solarz K.: Risk of exposure to house dust pyroglyphid mites in Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2001, 8, 11–24.
- Boczek J., Dutkiewicz J.: Roztocze i owady w pyłach przyczyną alergicznych schorzeń układu oddechowego. *Med. Wiej.* 1972, 7, 157–165.
- Boczek J., Czajkowska B.: Co wiemy o szkodliwości rozkruszków? Cz. II. Higieniczno-sanitarne i epidemiologiczne znaczenie rozkruszków. *Prz. Zboż. Młyn.* 1973, 12, 20–11.
- Romański B. et al.: Alergia na kurz domowy u chorych na dychawicę oskrzelową. I. Częstość występowania i problem charakteru alergenu kurzu domowego. *Pol. Arch. Med. Wew.* 1977, 57, 21–26.

45. *Samoliński B., Zawisza A., Wasyluk A.*: Akarofauna domowa na terenie Warszawy w mieszkaniach chorych z alergią wziewną. Mat. VI Symp. Akarontomol. Med. Wet. Gdańsk 1989, 37.
46. *Solarz K.*: Wstępne badania nad występowaniem alergogennych roztoczy na terenie Górnego Śląska. Postępy Zool., Mat. XIII Zjazdu Pol. Tow. Zool. Katowice 1983, 132.
47. *Solarz K.*: Fauna alergogennych roztoczy (Acari) kurzu domowego w wybranych środowiskach Górnego Śląska. [Maszynopis powielany] Śl. Akad. Med. Katowice 1987.
48. *Więcko E.*: Acarina znalezione w kurzu obiektów portowych w Gdyni. Wiad. Parazytol. 1986, 32, 445–447.
49. *Zock J.P., Brunekreef B.*: House dust mite allergen levels in dust from schools with smooth and carpeted classroom floors. Clin. Exp. Allergy, 1995, 25 (6), 549–553.
50. *Colloff M.J.*: Mite fauna of dust from passenger trains in Glasgow. Epidemiol. Infect. 1987, 98 (1), 127–30.
51. *Solarz K., Solarz D.*: Wstępne badania nad występowaniem roztoczy alergogennych w pyłe węglowym w kopalniach Górnego Śląska. Wiad. Parazytol. 1991, 37 (1), 21–24.
52. *Racewicz M.*: House dust mites (Acari: Pyroglyphidae) in the cities of Gdańsk and Gdynia (Northern Poland). Ann. Agric. Environ. Med. 2001, 8, 33–38.
53. *Solarz K.*: The allergenic acarofauna of house dust from dwellings, hospitals, libraries and institutes in Upper Silesia (Poland). Ann. Agric. Environ. Med. 1998, 5, 73–85.
54. *Solarz K.*: Some species of mites (Acari) from house dust in Upper Silesia (Poland). Acta Zool. Cracov. 2000, 43 (3–4), 241–259.
55. *Solarz K., Senczuk L.*: Allergenic acarofauna of synanthropic outdoor environments in a densely populated urban area in Katowice, Upper Silesia, Poland. Internat. J. Acarol. 2003, 29 (4), 403–420.
56. *Hage-Hamsten M. van, Johansson E.*: Clinical and immunologic aspects of storage mite allergy. Allergy, 1998, 53 (48) 49–53.
57. *Hallas T.E. et al.*: Number of mites in stored grain, straw and hay related to the age of the substrate (Acari). Ent. Meddr. 1991, 59, 57–60.
58. *Hallas T.E., Iversen M.*: Sources of exposure to storage mites in the farming environment. Ann. Agric. Environ. Med. 1996, 3, 9–12.
59. *Korsgaard J. et al.*: Storage mites as a cause of bronchial asthma in Denmark. Allergol. Immunopathol. (Madr.) 1985, 13 (2), 143–149.
60. *Tee R.D.*: Allergy to storage mites. Clin. Exp. Allergy, 1994, 24, 636–640.
61. *Mehl R.*: Occurrence of mites in Norway and the rest of Scandinavia. Allergy, 1998, 53, 28–35.
62. *Arlian L.G., Morgan M.S., Neal J.S.*: Dust mite allergens: ecology and distribution. Curr. Allergy Asthma Rep. 2002, 2 (5), 401–411.
63. *Fain A., Hart B.J.*: A new, simple technique for extraction of mites, using the difference in density between ethanol and saturated NaCl (preliminary note). Acarologia, 1986, 27, 3, 255–256.
64. *Sporik R. et al.*: The Melbourne House Dust Mite Study: long-term efficacy of house dust mite reduction strategies. J. Allergy Clin. Immunol. 1998, 101 (4 Pt 1), 451–456.

Annales Academiae Medicae Stetinensis – Annals of the Pomeranian Medical University is a scientific periodical regularly published since 1951. *Annals* content is covered by all major abstracting and indexing services, including Index Medicus (Medline), Biological Abstracts, and Chemical Abstracts, and is accessible in more than 150 national and foreign libraries.

Annals accepts original articles, reviews, and case reports relevant to basic sciences, clinical research, and medical humanities, by authors at the Pomeranian Medical University, as well as at other national and foreign centres.

Papers in Polish or English should be submitted in line with the Notice to Contributors. Each volume consists of three parts: (1) original articles, concise doctoral theses, reviews, etc.; (2) chronicle of the Pomeranian Medical University for the past year with the inaugural address by the Rector opening the current academic year; and (3) list of departments and annual bibliography of the University.

As of volume 50, changes have been introduced into the Notice to Contributors.

NOTICE TO CONTRIBUTORS*

Annales Academiae Medicae Stetinensis – Annals of the Pomeranian Medical University

Annales Academiae Medicae Stetinensis – Annals of the Pomeranian Medical University accepts original articles in all fields of medicine, including those being too extensive to be published in specialized periodicals.

The typescript should not exceed 20–25 pages of A4 size paper, inclusive of figures, tables, legends, references cited (limited to a minimum), and abstracts.

The article in Polish or English is to be typed on white paper, without highlighting. Only one side of the sheet is to be typed on, the other side is to remain empty. A 12-point font and double spacing are to be used throughout. Pages should be numbered consecutively starting with the title page and placing the number in the bottom right corner of every page. The text should be structured as follows: title page, main text, illustrative material, references.

Title page

The following information should be given: names and surnames of author (authors); title in two languages; institution conferring the scientific degree (in case of a doctoral dissertation) or employing the author (name and address, head's scientific title and degree); key words in two languages, listed in the MeSH catalogue; address and name of institution where the work was performed; details of the dissertation (applicable to doctoral theses: name of promotor, number in the original thesis of: pages, figures, tables, and references).

Main text

S u m m a r y: in English and/or other language, structured as follows: objectives of study or trial, basic procedures (enrolment criteria, methods of observation or analysis), basic results (important data and their statistical significance), and conclusions. New and important aspects of the study should be exposed. **I n t r o d u c t i o n:** presentation of the objectives of the study and reasons for undertaking the investigation, accompanied by references if needed. **M e t h o d s:** easy to understand description of criteria for selection of study material and of research and statistical methods applied. **R e s u l t s:** in logical order, not repeating data given in tables and figures, with emphasis on important findings. **D i s c u s s i o n:** focusing on new and important aspects of the study and on conclusions arising therefrom, without repeating information from the Introduction and Results sections. Comparisons with the findings of other authors should be made. **C o n c l u s i o n s:** related to the study objectives and concisely presented. **S t r u c t u r e d a b s t r a c t** (Introduction, Material and Methods, Results, Conclusions): in the language of the article, presenting the quintessence of the study and counting from 200 to 250 words. **A b b r e v i a t i o n s:** used for the first time should be preceded by the term in full. A sentence should not begin with an abbreviation. **U n i t s o f m e a s u r e m e n t a n d t h e i r s y m b o l s** should belong to the international SI system. **K e y w o r d s:** 3 to 6 words, not repeating words in the title of the article, listed in the MeSH catalogue.

Illustrative material

Each figure (graph, diagram and photograph) and table should be accompanied by a title (under the figure, above the table). Figures and tables should be provided each on a separate page, oriented (top – bottom), and numbered consecutively as cited in the text. Figures and tables should be numbered separately. Micrographs should possess a scale bar and the symbols, arrows and signs should be legible. Colours should be used only in case of necessity. Titles and internal information of the figures and tables should be in Polish and English. Numbers should be shown on the typescript margin at places where the figure or table is to appear.

References

References cited should be numbered in the order as they appear in the text. Each reference should be typed starting from a new line. References should not be duplicated. Numbers of the references should be given in brackets, separated by commas and spaces. Surname of every author with initial letters of names are to be given. All authors should be shown when the article has no more than six authors; if otherwise, the first six authors should be given, followed by *et al.* The name of the journal should be abbreviated using Index Medicus (Medline) format.

Typescripts should be submitted in duplicate and accompanied by an electronic version (diskette or CD-ROM) in MS Word format.

* Based on the guidelines published by the International Committee of Medical Journal Editors cf. *Problemy Medycyny Nuklearnej* 1997, 11 (21), 67–87.

NADCHODZĄCE WYDARZENIA NAUKOWE W PAM

- ZAKAŻENIE A ZDROWIE REPRODUKCYJNE KOBIET – styczeń 2007 r., Kazimierz nad Wisłą. Organizatorzy: Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii PAM.
- PROBLEMY NEUROLOGICZNE OKRESU NOWORODKOWEGO, WCZESNA REHABILITACJA – 1–3 lutego 2007 r., Szczecin. Organizatorzy: Klinika Neonatologii PAM, Polskie Towarzystwo Neonatologiczne, Oddział Zachodniopomorski.
- IV POLSKO-NIEMIECKIE SYMPOZJUM CHIRURGII RĘKI – 13–14 kwietnia 2007 r., Szczecin. Organizatorzy: Klinika Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Ręki PAM, Oddział Chirurgii Ręki w Schwerinie.
- SYMPOZJUM Z OKAZJI 50-LECIA ZAKŁADU MEDYCYNY NUKLEARNEJ – NAJNOWSZE TRENDY W ZAKRESIE DIAGNOSTYKI I TERAPII RADIOIZOTOPOWEJ – 19–22 kwietnia 2007 r., Szczecin. Organizatorzy: Zakład Medycyny Nuklearnej PAM, European School of Nuclear Medicine, European Association of Nuclear Medicine, Polskie Towarzystwo Medycyny Nuklearnej.
- AUTYZM – PROBLEMY MEDYCZNE, PSYCHOLOGICZNE I SPOŁECZNE – 18–19 maja 2007 r., Szczecin. Organizatorzy: Samodzielna Pracownia Pielęgniarstwa Rodzinnego PAM.
- VI POMORSKIE WARSZTATY ALERGOLOGICZNE – 18–20 maja 2007 r., Kołobrzeg. Organizatorzy: Zakład Alergologii Klinicznej PAM, Oddział Przewlekłych Chorób Płuc i Alergii ZOZ nad Matką i Dzieckiem w Gdańsku.
- SYMPOZJUM ORTOPEDII DZIECIĘCEJ – 24–26 maja 2007 r., Międzyzdroje. Organizatorzy: Katedra i Klinika Ortopedii Dziecięcej.
- BLIŹNIĘTA W RÓŻNYCH OKRESACH ŻYCIA: ASPEKTY BIOLOGICZNE, MEDYCZNE, PSYCHOLOGICZNE I SPOŁECZNE – maj 2007 r., Szczecin. Organizatorzy: Klinika Medycyny Matczyno-Płodowej PAM, Polskie Towarzystwo Gemeliologiczne.
- XLII ZJAZD POLSKIEGO TOWARZYSTWA BIOCHEMICZNEGO – 18–21 września 2007 r., Szczecin. Organizator: Oddział Szczeciński Polskiego Towarzystwa Biochemicznego.
- WSPÓŁCZESNE MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA LEKÓW BIOLOGICZNYCH W LECZENIU WYBRANYCH SCHORZEŃ W CHIRURGII STOMATOLOGICZNEJ – październik 2007 r., Szczecin. Organizatorzy: Samodzielna Pracownia Farmakoekonomiki PAM, Zakład Chirurgii Stomatologicznej PAM.
- NOWOTWORY DZIEDZICZNE – PROFILAKTYKA – październik 2007 r., Międzyzdroje – Szczecin. Organizatorzy: Międzynarodowe Centrum Nowotworów Dziedzicznych PAM, Ogólnopolskie Stowarzyszenie Wspierania Rodzin z Predyspozycjami do Nowotworów Dziedzicznych.