



Journal of Health Study
and Medicine

2017, nr 1

Redaktor naczelny / Editor in chief
prof. dr hab. Adam Jaworski

Skład / Adjustment, Typesetting
Witold Kowalczyk

CC-BY-SA 3.0PL

ISSN 2451-1471

ul. Kilińskiego 109
90-011 Łódź
tel./fax: (042) 676 25 29 wew. 339
e-mail: wydawnictwo@spoleczna.pl

Wersja elektroniczna publikacji jest wersją podstawową, dostępną na stronie:
jhsm.san.edu.pl

E-version is the original version of the article, available:
jhsm.san.edu.pl

Artykuły recenzowane / All the articles published are subject to reviews.

- 5 *List od Redakcji*
- 7 **Maciej Cedzyński, Anna S. Świerzeko** | *Znaczenie czynników aktywacji dopełniacza na drodze lektywnej w chorobach nowotworowych*
- 37 **Adam Jaworski, Ireneusz Jurczyk, Katarzyna Dudek** | *Reaktywne formy tlenu (RFT) indukowane w komórkach bakterii stresem związanym z działaniem antybiotyków stanowią istotną komponentę bakteriobójczego działania różnych klas antybiotyków*
- 57 **Katarzyna Paraszekiewicz, Anna Kuśmierska** | *Biosurfaktanty drobnoustrojów (część 1)*
- 77 **Katarzyna Paraszekiewicz, Anna Kuśmierska** | *Biosurfaktanty drobnoustrojów (część 2)*
- 93 **Franciszek Seneczko, Michał Seneczko, Ireneusz Jurczak, Katarzyna Dudek, Joanna Sułkowska** | *Świąd ramienno-promieniowy – patogenezza, objawy i postępowanie lecznicze*
- 111 **Wojciech Gruszczyński, Andrzej Dryja, Magdalena Gruszczyńska** | *Zaburzenia stresowe pourazowe w aktualnej klasyfikacji Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego (APA) wg DSM-5*



List od Redakcji

Szanowni Państwo, pracownicy naukowcy, nauczyciele akademicki i studenci Instytutu Nauk o Zdrowiu Społecznej Akademii Nauk w Łodzi, pracownicy naukowcy, nauczyciele akademicki i studenci innych instytutów i wydziałów Uczelni, w tym wydziałów zamiejscowych Społecznej Akademii Nauk, nasi przyjaciele z innych uczelni oraz ośrodków naukowych i dydaktycznych w kraju i zagranicą, pragniemy Państwa poinformować, że od chwili powołania pod koniec 2015 r. nowego czasopisma naukowego „Journal of Health Study and Medicine”, wydawanego przez Instytut Nauk o Zdrowiu Społecznej Akademii Nauk, w 2016 r. opublikowaliśmy 24 prace doświadczalne i przeglądowe zamieszczone w czterech kwartalnikach. Tematyka opublikowanych prac doświadczalnych i przeglądowych w ubiegłym roku, zgodnie z ustaleniami Rady Programowej i Redakcji naszego czasopisma, była poświęcona bardzo aktualnym i różnorodnym aspektom, problemom oraz wyzwaniom nauk medycznych oraz biologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem wielkich osiągnięć w dziedzinach takich jak: biologia medyczna, biologia molekularna, fizjoterapia, mikrobiologia, mykologia, wirusologia, a także epidemiologia chorób człowieka i szeroko rozumianego zdrowia publicznego. Autorom i współautorom 24 opublikowanych w 2016 r. prac doświadczalnych i artykułów przeglądowych opublikowanych w „Journal of Health Study and Medicine” Redakcja bardzo serdecznie dziękuje. Dziękujemy bardzo gorąco krajowym i zagranicznym Recenzentom za Ich bezinteresowną pracę i okazaną życzliwość dla naszego nowego czasopisma oraz jego Redakcji.

Zwracamy się z gorącą naukową prośbą do wszystkich pracowników naukowych i dydaktycznych naszego Instytutu, nauczycieli akademickich, promotorów prac licencjackich i magisterskich na kierunkach: fizjoterapia, kosmetologia, zdrowie publiczne i kierunkach pokrewnych o przesyłanie do Redakcji interesujących wyników godnych upowszechnienia w krajowym obiegu naukowym (w języku polskim) lub międzynarodowym obiegu naukowym (w języku angielskim). Wyrażamy naukowe

przekonanie, że „wartość” wyników pracy naukowej, zarówno o charakterze poznawczym, jak i aplikacyjnym może być mierzona we współczesnym świecie jedynie poprzez ich upowszechnianie w krajowym i międzynarodowym obiegu naukowym oraz liczbą ich cytowań w literaturze polskiej i światowej. Co więcej, wyrażamy w pełni uprawniony pogląd, że takie działania są moralnym i naukowym obowiązkiem całej Kadry Naukowej i Dydaktycznej Instytutu Nauk o Zdrowiu SAN, w tym również obowiązkiem naszych Studentów i Dyplomantów.

Prosimy naszych Przyjaciół z innych wydziałów naszej Uczelni oraz z innych uczelni publicznych i niepublicznych, a także z Instytutów Polskiej Akademii Nauk, o nadsyłanie prac i artykułów do Redakcji „JHSM”.

Wyrażamy przekonanie, że obowiązkiem naukowców jest nie tylko upowszechnianie wyników przerastających coraz częściej wyobraźnię nawet bardzo dobrze wykształconych ludzi, lecz także skuteczna, ostra walka z coraz szerszym propagowaniem w mediach publicznych i w internecie pseudonaukowego „oszołomstwa”, ignorancji i nieuctwa, a nawet zamierzonego kłamstwa. Negowanie ogromnych osiągnięć nauk biologicznych, medycznych drugiej połowy XX i drugiej dekady XXI w. jest działaniem bardzo szkodliwym, a nawet niebezpiecznym dla Polski i Polaków. My – naukowcy, specjaliści w różnych dziedzinach i dyscyplinach nauk biologicznych i medycznych – mamy moralny i zawodowy obowiązek mądrze się takim działaniom przeciwstawiać poprzez upowszechnianie rzetelnej, udokumentowanej wiedzy i mądrą edukację. Łamy naszego czasopisma są otwarte dla autorów prac doświadczalnych, prac o charakterze kazuistycznym, artykułów przeglądowych, poglądowych, a także autorskich przemyśleń, opinii i sądów, w tym dotyczących aktualnych problemów i wyzwań w dziedzinie nauk medycznych i biologicznych oraz zdrowia publicznego w Polsce i w świecie. Zachęcamy Autorów i Czytelników do podejmowania na łamach naszego czasopisma dyskusji i twórczych polemik, bo to najlepsza, sprawdzona strategia, która dobrze służy zarówno nauce, jak i społecznej edukacji.

Redakcja „Journal of Health Study and Medicine”



Znaczenie czynników aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej w chorobach nowotworowych

Factors of the Lectin Pathway of Complement Activation in Cancer

Maciej Cedzyński¹, Anna S. Świerzko¹

¹ Pracownia Immunobiologii Zakażeń,
Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, Lodowa 106, 93-232 Łódź

¹ Laboratory of Immunobiology of Infections,
Institute of Medical Biology, Polish Academy of Sciences, Lodowa 106, 93-232 Łódź,
Poland

Streszczenie

Układ dopełniacza jest kluczowym systemem odpowiedzi odpornościowej, współdziałającym z innymi mechanizmami odporności (zarówno wrodzonej, jak i nabytej). Jest on aktywowany kaskadowo, na drogach: klasycznej, alternatywnej lub lektynowej. Składnikami unikalnymi dla aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej są niektóre kolektyny, fikoliny (czynniki rozpoznające wzorce molekularne związane z patogenami) oraz białka rodziny MASP (proteazy serynowe i białka pokrewne niebędące enzymami, uczestniczące w inicjowaniu aktywacji lub jej regulacji). W artykule omówiono ich znaczenie w chorobach nowotworowych, przede wszystkim układu krwiotwórczego, pokarmowego i rozrodczego.

Przedstawiony zwięzły przegląd literatury wskazuje, że czynniki aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej mogą pełnić bardzo różnorodne funkcje w chorobach nowotworowych. Ich znaczenie często zależy nie tylko od typu nowotworu, lecz także od wieku, pochodzenia etnicznego pacjentów czy występowania innych chorób. Obok bezpośrednich (aktywność przeciwnowotworowa) czy pośrednich (aktywność przeciwważna, udział w eliminacji komórek ulegających apoptozie/ne-

krozie) efektów ochronnych, będąc mediatorami przewlekłej lub nazbyt nasilonej reakcji zapalnej, mogą w pewnych warunkach sprzyjać kancerogenezie.

Słowa kluczowe

dopełniacz, nowotwór, lektyna wiążąca mannozę (MBL), ficolina, MASP

Summary

Complement is a key system of immune response, interacting with other mechanisms of innate as well as acquired immunity. It may be activated via the classical, alternative or lectin pathway. Factors specific for the latter are certain collectins, ficolins (pattern-recognition molecules) and proteins of the MASP family (serine proteases and related, non-enzymatic proteins, contributing to the initiation or regulation of lectin pathway activation). Presented paper summarizes literature concerning their possible associations with various types of cancer. Data discussed in this short review suggest their direct or indirect protective role in certain diseases and, on the other hand, adverse effects in others. Their role may be influenced by variety of factors as patients' age, ethnicity or accompanying diseases.

Key words

complement, cancer, mannose-binding lectin (MBL), ficolin, MASP

Wprowadzenie

Układ dopełniacza jest kluczowym systemem odpowiedzi odpornościowej, współdziałającym z innymi mechanizmami odporności (zarówno wrodzonej, jak i nabytej). Jest on aktywowany kaskadowo na drogach: klasycznej, alternatywnej lub lektynowej. Każda z nich charakteryzuje się specyficznymi czynnikami i mechanizmami inicjacji, jednak wszystkie łączą się w końcową drogę wspólną, prowadzącą do powstania kompleksu ataku błonowego (*membrane attack complex*, MAC), wbudowującego się w osłonę komórki docelowej, co umożliwia jej bezpośrednią lizę. Składnikami unikalnymi dla drogi lektynowej są niektóre kolektyny (lektyna wiążąca mannozę, kolektyna 10, kolektyna 11) i fikoliny (fikolina-1, -2, -3) oraz białka rodziny MASP. Kolektyny i fikoliny są czynnikami rozpoznającymi wzorce cząsteczkowe związane z patogenami (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMP) lub szerzej, wzorce cząsteczkowe związane z zagrożeniem (*danger-associated molecular patterns*, DAMP), do których zalicza się także ligandy endogenne (np. struktury powierzchniowe komórek o zaburzonej glikozylacji). Obok funkcji aktywacji dopełniacza mogą one odgrywać rolę opsonin, co przyczynia się do ułatwienia fagocytozy przez odpowiednie komórki gospodarza. Tworzące z nimi kompleksy białka MASP to enzymy inicjujące kaskadową aktywację lub czynniki o charakterze regulatorów. Termin „MASP” jest akronimem określenia *mannose-binding lectin (MBL)-associated serine proteases* (proteazy serynowe związane z lektyną wiążącą mannozę), jednak w skład tej rodziny wchodzi także czynniki pozbawione aktywności proteolitycznej. Ponadto współdziałają one nie tylko z lektyną wiążącą mannozę, lecz także z pozostałymi wymienionymi kolektynami i fikolinami [1-4]. Należy podkreślić, że niektóre z kolektyn nie występują w postaci kompleksów z MASP. Białka surfaktantu płucnego typu A i D (*surfactant protein-A, -D; SP-A, SP-D*) są pozbawione zdolności aktywacji dopełniacza, natomiast kolektyna 12 prawdopodobnie zaangażowana jest w jego aktywację na drodze alternatywnej [5].

Aktywacja dopełniacza może się przyczyniać zarówno do hamowania, jak i do promowania rozwoju nowotworów, a jego niektóre składniki mogą być biomarkerami pozwalającymi na stwierdzenie choroby, ocenę jej zaawansowania czy skuteczności terapii [6]. Niedobory dopełniacza mogą nie tylko dodatkowo nasilać podatność na zagrażające życiu zakażenia u pacjentów poddawanych chemioterapii przeciwnowotworowej,

lecz także wpływać na ryzyko infekcji wywoływanych przez drobno-ustroje onkogenne [7].

Czynniki rozpoznania charakterystyczne dla drogi lektynowej

Cząsteczki kolektyń i fikolin są oligomerami podstawowych podjednostek, z których każda zbudowana jest z trzech identycznych polipeptydów. Na końcu N znajduje się region bogaty w reszty cysteiny, który dzięki tworzeniu mostków disiarczkowych, umożliwia oligomeryzację podjednostek. Przechodzi on w domenę podobną do kolagenu (*collagen-likedomain*, CLD), obejmującą powtórzenia Gly-X-Y (X i Y oznaczają reszty dowolnych aminokwasów), odpowiedzialną za oddziaływania z MASP, a także receptorami komórkowymi. Za nią znajduje się krótki region łącznikowy („neck”) oraz fragment determinujący wiązanie ligandów. W wypadku kolektyń stanowi go domena rozpoznająca węglowodany (*carbohydrate recognition domain*, CRD), charakterystyczna dla lektyn typu C, a w wypadku fikolin – domena podobna do fibrynogenu (*fibrinogen-likedomain*, FBG) [1,2].

Lektyna wiążąca mannozę

Lektyna wiążąca mannozę (*mannose-binding lectin*, MBL) opisywana jest także jako lektyna wiążąca mannan lub białko wiążące mannozę/mannan (*mannose/mannan-binding protein*, MBP). Wykazuje ona powinowactwo do D-mannozy (D-Man), N-acetylo-D-glukozaminy (D-GlcNAc), N-acetylo-D-mannozaminy (D-ManNAc) i L-fukozy (L-Fuc), co umożliwia jej rozpoznawanie takich PAMP jak lipopolisacharydy, wielocukry otoczkowe, mannany grzybowe czy osłonki wirusów. Może się też wiązać z niektórymi fosfolipidami oraz białkami błony zewnętrznej *Neisseria* [1,2,8]. MBL rozpoznaje również ligandy endogenne – komórki znajdujące się w późnej fazie apoptozy, ulegające nekrozie, starzejące się fibroblasty czy komórki nowotworowe charakteryzujące się zaburzoną glikozylacją struktur powierzchniowych, mitochondria uwalniane podczas lizy komórek czy agalaktozyłowe cząsteczki przeciwciał klasy IgG [7,9-13].

Niedobór MBL, uważany za najczęściej występujące u człowieka zaburzenie odporności, związany jest przede wszystkim z polimorfizmami pojedynczych nukleotydów (*single nucleotide polymorphisms*, SNP) zlokalizowanymi w kodonach 52, 54 i 57 pierwszego eksonu genu MBL2. Dominujące allele, określane odpowiednio jako D, B i C (lub wspólnie jako O,

w odróżnieniu od allelu niezmienionego – A), przyczyniają się do zmiany struktury regionu kolagenowego, co powoduje zaburzenie oligomeryzacji podjednostek, tworzenia kompleksów z MASP i skutkuje szybszym usuwaniem defektywnego białka z krążenia. Ponadto na stężenie MBL we krwi wpływają polimorfizmy regionu promotorowego, w pozycjach -550 i -221, oznaczane odpowiednio H/L i Y/X oraz fragmentu nieulegającego translacji eksonu 1 (+4, P/Q). Genotypy LXPA/O i O/O związane są z występowaniem pierwotnego niedoboru MBL [3,7,8].

Fikoliny

Białka należące do rodziny fikolin – ze względu na wiązanie różnorodnych glikokoniuugatów oraz podobieństwo strukturalne i funkcjonalne do kolektyn – opisywane są najczęściej jako lektyny. Należy jednak zauważyć, że region FBG nie jest typową domeną lektynową, a fikoliny rozpoznają za jego pośrednictwem grupy acetylowe (nie tylko w cząsteczkach cukrów), nie zaś hydroksylowe [1,2].

Fikolina-1 (często opisywana także jako fikolina M), w odróżnieniu od pozostałych białek tej rodziny czy MBL, których głównym źródłem jest wątroba (w wypadku fikoliny-3 także komórki śródbłonka w układzie oddechowym), syntezowana jest w szpiku kostnym i leukocytach krwi obwodowej. Początkowo uważana była za receptor „zmiatacz”, występujący jedynie wewnątrz komórek lub na ich powierzchni, wykazano jednak, że białko to jest wydzielane na zewnątrz komórki i uczestniczy w aktywacji dopełniacza [14,15]. Należy podkreślić, że fikolina-1 nie posiada domeny przezbłonowej, a jej obecność na powierzchni monocytów i granulocytów wynika z wiązania reszt kwasu siałowego przez FBG, nie może więc ona pełnić funkcji typowego receptora [16]. Innymi ligandami fikoliny 1 są D-GlcNAc, D-ManNAc oraz N-acetylo-D-galaktozamina (D-GalNAc) [1,2,4,17]. Czynniki te rozpoznaje wielocukry otoczkowe niektórych bakterii Gram-dodatnich, a także lipopolisacharydy bakterii Gram-ujemnych [1,2,4,17]. Ostatnio, udowodniono, że fikolina-1 może ułatwiać wnikanie wirusa Ebola do makrofagów, poprzez oddziaływanie FBG z wirusową glikoproteiną GP. Przypuszczalnie w procesie tym konkuruje o wspólny receptor komórkowy z MBL [18]. Dla utrzymania homeostazy istotne mogą być interakcje omawianego białka z mitochondriami pochodzącymi z uszkodzonych komórek gospodarza czy (dzięki tworzeniu kompleksów z pentraksyną-3) komórkami ulegającymi apoptozie/nekro-

zie [12,19]. Gen odpowiedzialny za syntezę tego białka jest wysoce polimorficzny. Mimo że dotychczas nie opisano przypadku całkowitego niedoboru fikoliny-1, przypuszcza się, że występować on może u homozygot pod względem mutacji Ser268Pro. Inne mutacje, jak Ala218Thr czy Asn289Ser związane są z niższym stężeniem omawianego czynnika w krążeniu i jego obniżoną aktywnością. Polimorfizmy zlokalizowane w regionie promotorowym, w pozycjach -542 (G>A) i -144 (C>A) związane są natomiast z wyższymi stężeniami fikoliny-1 [20-23].

Fikolina-2 (fikolina L, wcześniej określana także jako hukolina lub białko P35) wykazuje powinowactwo do D-GlcNAc, D-GalNAc oraz kwasu sjałowego, ale może się łączyć też z ligandami niecukrowymi, takimi jak elastyna czy niektóre kortykosteroidy, a także utleniona i acetylowana forma lipoproteiny o niskiej gęstości (*low density lipoprotein*, LDL) czy DNA. Czynniki te wiąże się też do białka C-reaktywnego, ale tylko kiedy jest ono przyłączone np. do bakterii, co może nasilać procesy zapalne. Dzięki rozpoznawaniu niektórych lipopolisacharydów, wielocukrów otoczkowych, β -1,3-glukanów grzybowych, fikolina-2 uczestniczy w eliminacji drobnoustrojów. Przyczynia się też do usuwania komórek ulegających apoptozie (za [1-4,24]). Ostatnio zaobserwowano jej oddziaływanie z glikoproteiną gp120 HIV-1. Fikolina-2 może z jednej strony hamować wnikanie wirusa do komórek, a z drugiej strony działać cytotoksycznie (na drodze zależnej od aktywacji dopełniacza) na komórki już zainfekowane [25]. Opisano kilkadziesiąt polimorfizmów genu FCN2 odpowiadającego za syntezę fikoliny-2, z których jedynie kilka wpływa na poziom ekspresji genu lub aktywność białka. Polimorfizmy zlokalizowane w pozycjach -986 (A>G), -557 (A>G) i -64 (A>C) (region promotorowy) oraz +6424 (ekson 8, G>T, Ala258Ser) związane są z niskim stężeniem i/lub aktywnością białka, natomiast te w pozycjach -602 (G>A) i -4 (A>G) (promotor) oraz 6359 (ekson 8, C>T, Thr236Met) wywierają efekt przeciwny [26-29]. Dotychczas nie opisano przypadku całkowitego niedoboru fikoliny-2.

Fikolina-3 (fikolina H, antygen Hakata) wykazuje powinowactwo do D-GlcNAc, D-GalNAc oraz L-Fuc, dzięki czemu może rozpoznawać niektóre lipopolisacharydy i wielocukry bakteryjne [1-4]. Tylko jeden ze znanych polimorfizmów genu FCN3 (delecja pojedynczego nukleotydu w eksonie 5, powodująca przesunięcie ramki odczytu: +1637delC), wpływa na obniżenie stężenia i aktywności białka, a u homozygot – jego całkowity niedobór. Niedobór taki opisano jedynie w kilku przypadkach [30,31].

Proteazy serynowe tworzące kompleksy z kolektykami i fikolinami

MASP-2 ma kluczowe znaczenie dla zainicjowania aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej dzięki zdolności trawienia składników C4 i C2 [4]. Wśród opisanych polimorfizmów genu MASP2 jeden (występujący w odmianie kaukaskiej), zlokalizowany w eksonie 3 (+359 A>G; D120G), jest przyczyną niedoboru tej proteazy u homozygot. Zmiana sekwencji aminokwasowej powoduje utratę zdolności tworzenia kompleksów z kolektykami/fikolinami, w związku z tym uniemożliwia aktywację dopełniacza [32]. Niedobór MASP-2 występuje z niewielką częstością; dotychczas opisano kilkanaście przypadków (za [33]). Należy wspomnieć, że MASP-2 może współuczestniczyć w aktywacji innych, niezwykle istotnych z punktu widzenia utrzymania homeostazy, systemów białek – kaskady krzepnięcia oraz układu kalikreina-kininy. Enzym ten rozpoznaje i trawi protrombinę oraz kininogen. Produkt alternatywnego dojrzewania mRNA genu MASP2, białko MAp19, nie posiada właściwości proteazowych i uczestniczy w regulacji aktywności drogi lektynowej [4,8,33].

Drugim z enzymów warunkujących rozpoczęcie aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej jest MASP-1. Przez wiele lat przeważał pogląd, że proteaza ta pełni funkcję regulatorową, nasilając aktywację poprzez trawienie składników C2 i C3. Dowiedziono jednak, że jest ona niezbędna do aktywacji MASP-2 (sama ulega autoaktywacji pod wpływem zmian konformacyjnych po przyłączeniu kompleksu czynnik rozpoznania/MASP do odpowiedniego liganda) [34]. Sugeruje się także, że dzięki MASP-1 powstaje większość aktywnych cząsteczek C2a [34]. Ponadto enzym ten trawi protrombinę [35], fibrynogen, czynnik XII, aktywowany trombiną inhibitor fibrynolizy (TAFI), kininogen oraz oddziałuje z receptorem PAR-4, tak więc jej fizjologiczna rola daleko wykracza poza udział w aktywacji dopełniacza [4,8]. Powstające w wyniku alternatywnego składania mRNA genu MASP1/3 – proteaza MASP-3 i nieenzymatyczne białko MAp44 (MAP-1) są regulatorami aktywacji drogi lektynowej [4,8]. Należy także wspomnieć o toczącej się dyskusji dotyczącej udziału MASP w aktywacji dopełniacza na drodze alternatywnej. Ostatnie dane wskazują, że w procesie tym uczestniczy MASP-3, przyczyniając się do powstania aktywnego czynnika D (factor D, FD), trawiąc jego prekursor, pro-FD obecny w osoczu [36,37]. MASP-1 i MASP-2 wykazują podobną właściwość, jednak jedynie w formie oczyszczonych preparatów, in vitro [36,37].

Kilkanaście opisanych polimorfizmów genu MASP1/3 może wpływać na aktywność i/lub stężenie co najmniej jednego z wymienionych produktów [38-40]. Na szczególną uwagę zasługuje mutacja w pozycji +870 (G>A; ekson 6; W290X) skutkująca przedwczesnym wprowadzeniem kodonu „stop” i zaburzająca syntezę MASP-1, MASP-3 i MASP44. Defekt ten występuje z niską częstością, dotychczas opisano jedną homozygotę G/G [38].

Znaczenie czynników aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej w nowotworach układu krwiotwórczego i ich powikłaniach infekcyjnych

Wśród doniesień literaturowych dotyczących znaczenia czynników drogi lektynowej w nowotworach hematologicznych i ich powikłaniach infekcyjnych większość dotyczy lektyny wiążącej mannozę. Wykazano, że genotypy MBL2 związane z niedoborem MBL (XA/O, O/O) są czynnikami ryzyka rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej (*acute lymphoblastic leukemia*, ALL) u dzieci [41]. Ponadto u pacjentów z różnymi typami nowotworów (także układu krwiotwórczego), nosicielstwo allelu O oraz niskie stężenie MBL w surowicy mogą być związane z częstszymi i przedłużającymi się epizodami gorączki z neutropenią (*febrile neutropenia*, FN) i zagrażającymi życiu zakażeniami [42,43,44]. Stężenie tego białka <1 µg/ml może także sprzyjać zakażeniom u dzieci z ALL oraz osób, u których przeprowadzono allogeniczne przeszczepy macierzystych komórek krwiotwórczych [45,46]. Dotyczy to również pacjentów o długim okresie przeżycia, którzy byli biorcami szpiku w dzieciństwie [46]. Schlapbach i wsp. [47] zaobserwowali jednak, że częstsze epizody FN występują u dzieci, u których stężenie MBL w surowicy przekracza 1 µg/ml, natomiast całkowity niedobór tej lektyny sprzyja ciężkim zakażeniom bakteryjnym. Ponadto Frakking i wsp. zasugerowali, że niedobór MBL (zdefiniowany jako stężenie w surowicy <0,2 µg/ml) może być związany z cięższym przebiegiem choroby u dzieci, u których występuje gorączka z neutropenią (przy ujemnym wyniku badań mikrobiologicznych) [48]. Wcześniej ci sami autorzy [49] nie wykazali zależności pomiędzy deficytem lektyny wiążącej mannozę i podatnością na zakażenia u dzieci leczonych z powodu różnych nowotworów (włączając choroby układu krwiotwórczego). Przeciwnie, pacjenci z prawidłowym stężeniem tego białka częściej byli przyjmowani do oddziałów intensywnej

terapii [49]. Z drugiej strony u większości dzieci z niedoborem lektyny wiążącej mannozę dochodziło do ciężkiej neutropenii [49]. Ponieważ w kilku pracach [50-52] nie stwierdzono wpływu MBL na ryzyko zakażeń u dzieci z nowotworami hematologicznymi, znaczenie tego białka wciąż jest kontrowersyjne. Na podstawie analizy wyników otrzymanych w różnych ośrodkach, publikowanych w ciągu kilkunastu lat, sugeruje się, że jego niedobór nie jest niezależnym czynnikiem ryzyka zakażeń/FN w tej grupie pacjentów [53]. Sprzeczne dane mogą jednak odzwierciedlać heterogenność grup badanych, różnice w ich liczebności, specyfikę protokołów leczenia i katamnezy czy różne definiowanie pojęcia „niedobór MBL” [53].

Także dane dotyczące osób dorosłych nie są jednoznaczne. Część opublikowanych prac wskazuje, że niedobór MBL (definiowany genetycznie lub ilościowo) istotnie wpływa na ryzyko zakażeń [54-56], również u pacjentów poddawanych przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych [57-60]. Mullighan i wsp. [59,60] zaobserwowali, że w wypadku przeszczepów allogenicznych allele O genu MBL2 zarówno u dawcy, jak i u biorcy są czynnikami sprzyjającymi infekcjom, natomiast haplotyp HYA wywiera efekt ochronny. Neth i wsp. [61] stwierdzili natomiast, że istotny z punktu widzenia ryzyka zakażeń jest jedynie status biorcy. Zanotowali oni, że stężenie MBL $<0,4 \mu\text{g/ml}$ jest czynnikiem ryzyka grzybiczego zapalenia płuc, sepsy, reaktywacji zakażenia wirusem cytomegalii (CMV) i rozwoju ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (*graft-versus-host disease*, GVHD) [61]. Granell i wsp. [58] sugerują natomiast, że genetycznie determinowany niedobór MBL u dawcy może sprzyjać inwazyjnym zakażeniom wywoływanym przez grzyby u biorcy. Genotyp A/A – jak się wydaje – chroni przed rozwojem sepsy w szpiczaku mnogim (*multiple myeloma*, MM) [62], a wysokie stężenie MBL w surowicy – sprzyja dobremu rokowaniu u pacjentów z ostrą białaczką szpikową (*acute myeloid leukemia*, AML), u których doszło do tego ciężkiego powikłania [63]. Podobnie jak w wypadku nowotworów hematologicznych u dzieci opublikowano także doniesienia sugerujące brak znaczenia omawianej lektyny u pacjentów dorosłych [64-69].

Literatura dotycząca znaczenia innych czynników aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej jest znacznie uboższa. Schlapbach i wsp. [70] zaobserwowali bardzo wysokie stężenia fikoliny-1 u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną z komórek B (B-ALL). Ameye i wsp. [71] zano-

towali natomiast, że niższe stężenia tego białka (lecz nie fikoliny-2 i -3) u chorych nasilają podatność na ciężkie zakażenia. Brak wpływu fikoliny-2 i -3 na ryzyko zakażeń u pacjentów hematologicznych wcześniej opisali już Kilpatrick i wsp. [55]. Z drugiej strony sugeruje się, że niskie stężenia w surowicy fikoliny-3 mogą być związane z gorączką z neutropenią (zwłaszcza z towarzyszącą bakteriecią) u dzieci [72]. Pana i wsp. [44], badając wybrane polimorfizmy genów FCN2 (-986 A>G, -602G>A, -4 A>G, +6359 C>T i +6424 G>T), stwierdzili, że haplotypy GGACT, GGATG, AGACG, GGACG (niezależnie lub w połączeniu z genotypem A/O lub O/OMBL2) mogą sprzyjać wydłużaniu epizodów FN i zakażeniom bakteryjnym. Ostatnio zaproponowano włączenie fikoliny-2 do panelu biomarkerów zespołu niedrożności zatokowej (*sinusoidal obstruction syndrome, SOS*) po allogenicznym przeszczepie macierzystych komórek krwiotwórczych [73].

Polimorfizm genu MASP2 w pozycji +1111 (G>T) może wpływać na ryzyko zachorowania na chłoniaka rozlanego niezziarniczego z dużych komórek B. Działanie ochronne przypisuje się allelowi T [74]. Wysokie stężenia MASP-2 wykazano u osób z chłoniakami niezziarniczymi oraz ALL [75]. Z drugiej strony u dzieci z nowotworami hematologicznymi (głównie chłoniaki Hodgkina) i wysokimi stężeniami MASP-2 zanotowano dłuższe okresy przeżycia bez nawrotów choroby [76].

Aktywność LP, zależna od kompleksów MBL-MASP-2, okazała się wyższa u pacjentów z białaczką dorosłych z komórek T (ATL) niż u nosicieli wirusa HTLV-1, u których nie doszło do rozwoju choroby oraz zdrowych kontroli [77]. U biorców przeszczepów allogenicznych, będących heterozygotami A/G (polimorfizm w pozycji +359 genu MASP2), stwierdzono wyższe ryzyko ciężkich zakażeń wywoływanych przez grzyby [58]. Niskie stężenia MASP-2 związane były z częstszymi epizodami FN i dłuższym okresem hospitalizacji dzieci z nowotworami hematologicznymi [78,79].

Znaczenie czynników aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej w nowotworach innych narządów

Nowotwory układu pokarmowego

Wyniki badań kilku niezależnych grup sugerują, że genotyp MBL2 może wpływać na ryzyko rozwoju raka żołądka. Baccarelli i wsp. [80] zaobserwowali, że homozygoty H/H chorują częściej w porównaniu z osobami

o genotypie L/L. Podobnie haplotyp HYD i genotyp YA/D związane są z wyższym ryzykiem zachorowania niż odpowiednio haplotyp HYA i genotyp YA/YA, a szczególnie narażeni są nosiciele haplotypu HYD genu dla MBL i allelu T w pozycji -511 (C>T) genu IL1B (dla interleukiny 1 β) [80]. Scudiero i wsp. [81] zanotowali, że haplotyp HYPD jest czynnikiem ryzyka rozwoju raka w przypadkach związanych z zakażeniem *Helicobacter pylori*. W obu wspomnianych pracach wykluczono znaczenie polimorfizmów w kodonach 54 (A/B) i 57 (A/C) genu MBL2 [80,81], jednak dane opublikowane później wskazują, że wariant B występuje częściej u młodszych (w wieku do 65 lat) pacjentów [82]. Dotyczą one jednak populacji japońskiej, w której praktycznie nie występują polimorfizmy A/D i A/C.

Wykazano także związek wariantu X (polimorfizm w pozycji -221) omawianego genu z rakiem wątrobowokomórkowym (*hepatocellular carcinoma*, HCC), rozwijającym się w wyniku zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV). Zarówno u homozygot, jak i heterozygot Y/X obserwowano większe rozmiary guzów, częściej także zaatakowane były oba płaty wątroby [83]. Wcześniej Segat i wsp. [84] nie zaobserwowali wpływu polimorfizmów A/B, A/C i A/D (a także mutacji w pozycji +359 (A>G) genu MASP2) na ryzyko rozwoju raka wątrobowokomórkowego, niezależnie od zakażeń HCV czy wirusem typu B (HBV). Ostatnio sugeruje się, że SNP w pozycji +753 (C>T) (fragment nieulegający translacji końca 5' genu MBL2) może wpływać na ryzyko rozwoju tego typu nowotworu u pacjentów z marskością wątroby, związaną z zakażeniem HBV [85].

Ponadto wykazano efekt ochronny haplotypu AGGG (w odniesieniu do polimorfizmów: -986 G>A, -602 G>A, -4 A>G, +6424 G>T genu FCN2) przed rozwojem HCC, u osób zakażonych HBV. Haplotyp AAAG był natomiast związany z wyższym mianem wirusa i wyższym stężeniem fikoliny-2 [86]. Z drugiej strony u osób z przewlekłym zakażeniem HBV wysokie stężenie tego białka wiązało się z lepszymi wynikami leczenia, niskie zaś – z podwyższonym ryzykiem marskości wątroby i rozwoju raka [87]. Stężenie fikoliny-2 w surowicy wpływa też na przebieg infekcji HCV i efektywność terapii [88]. Czynnikiem ten rozpoznaje glikoproteiny osłonki HCV [89] i hamuje jego wnikanie do komórek docelowych [90,91]. Ekspresja genu FCN2 jest obniżona w komórkach HCC [87,92]. Jej poziom jest szczególnie niski w komórkach o dużym potencjale przerzutowania i wpływa na skrócenie czasu przeżycia wolnego od choroby (*disease-free*

survival, DFS) [92]. Sugeruje się także, że ficolina-2 hamuje migrację komórek, ich inwazyjność i przejście nabłonkowo-mezenchymalne (epithelial-mesenchymal transition, EMT), współdziałając z transformującym czynnikiem wzrostu β (transforming growth factor β , TGF- β) [92]. Ekspresja genu FCN3 w komórkach HCC jest także niższa niż w normalnych komórkach wątroby [93]. Za pomocą analizy proteomicznej z użyciem dwuwymiarowej fluorescencyjnej elektroforezy różnicowej (*two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis*, 2-D DIGE) stwierdzono, że w osoczu pacjentów z rakiem wątrobowokomórkowym zakażonych HCV znajduje się mniej ficoliny-3 niż w osoczu osób z marskością wątroby (również z zakażeniem HCV), u których nie doszło do rozwoju raka [93]. Badania liczniejszych grup (z wykorzystaniem ELISA) nie potwierdziły jednak tych wstępnych wyników [94]. Ponadto, posługując się elektroforezą 2-D, zanotowano wyższą ekspresję ficoliny-3 w surowicy pacjentów z HCC zależnym od zakażenia HBV niż w grupie chorych, u których wykluczono zakażenie wirusami zarówno typu B, jak i C [95].

Wyższe, w porównaniu z grupą kontrolną, stężenia MBL w surowicy i zależną od tego białka aktywność dopełniacza zaobserwowano w wypadkach raka jelita grubego (niezależnie od wieku badanych osób, ich płci czy zaawansowania choroby). Jednocześnie nie wykazano różnic częstości występowania wariantów polimorficznych genu MBL2 (badano polimorfizmy zlokalizowane w regionie promotorowym i eksonie 1) ani ilościowego niedoboru MBL [96-98]. Później Zanetti i wsp. [99] opisali związek haplotypów LYPA i LYQC z podwyższonym ryzykiem zachorowania w populacji afroamerykańskiej (lecz nie u przedstawicieli odmiany kaukaskiej, badanych także w pracach cytowanych wcześniej [96-98]). Ponadto także u Afroamerykanów czynnikiem ryzyka rozwoju raka jelita grubego może być haplotyp CGGT (w odniesieniu do polimorfizmów MBL2 zlokalizowanych we fragmencie nieulegającym translacji końca 3' eksonu 4: Ex4-1483 T>C, Ex4-901 A>G, Ex4-710 A>G i 3283bp STP C>T) [99].

Wysokie stężenie MASP-2 (niezależnie od mutacji genu MASP2 w pozycji +359) zaproponowano jako marker wskazujący na niebezpieczeństwo nawrotu tej choroby i fatalnego rokowania [97,100,101]. W innych badaniach [102] nie zanotowano jednak związku pomiędzy stężeniem MASP-2 i śmiertelnością.

Niedawno Storm i wsp. [103] opublikowali wyniki kompleksowych badań mających na celu ewaluację czynników aktywacji dopełniacza na

drodze lektynowej (MBL, kolektyna 10, ficolina-1, ficolina-3, MASP-1, MASP-2) i białek uczestniczących w jej regulacji (MASP-3, M α p-44) jako biomarkerów raka jelita grubego. Na ich podstawie autorzy wnioskują, że kolektyna 10, ficolina-1 i M α p-44 mogą się okazać markerami pomocniczymi choroby.

Pojedyncze doniesienia literaturowe dotyczą nowotworów złośliwych innych narządów układu pokarmowego. Rong i wsp. [104], badając za pomocą 2D-DIGE surowice osób chorujących na raka trzustki i zdrowych, wykazali wyższą ekspresję lektyny wiążącej mannozę u pacjentów. Verma i wsp. [105], stosując immunobarwienie, udowodnili natomiast silniejszą ekspresję MASP-2 w komórkach płaskonabłonkowego raka przełyku w porównaniu z komórkami dysplastycznymi i niezmiennymi.

Nowotwory sutka i układu rozrodczego

Bernig i wsp. [106] zaobserwowali, że polimorfizmy końca 3' genu MBL2 (Ex4-1483 T>C, Ex4-1067 G>A, Ex4-1047 T>C, Ex4-901 G>A, Ex4-710 A>G, 3238bp 3'STP C>T) mogą wpływać na ryzyko zachorowania na raka sutka. Afroamerykanki (lecz nie przedstawicielki odmiany kaukaskiej) będące nosicielkami haplotypu TATAAC chorowały istotnie rzadziej niż kobiety z odpowiedniej grupy porównawczej.

Świerzko i wsp. [107] wykazali wyższą częstość występowania genotypów O/O i A/O wśród pacjentek z pierwotnym rakiem jajnika niż wśród kobiet zdrowych (bez historii chorób nowotworowych). Pomiedzy tak zdefiniowanymi grupami nie stwierdzono jednak znaczących różnic stężeń MBL w surowicy. Ponadto u chorych o genotypach YA/YA i YA/XA (związanych z wysokim poziomem ekspresji MBL2) mediana stężeń lektyny wiążącej mannozę (jak również aktywność kompleksów MBL-MASP-2) była istotnie wyższa niż w grupie odniesienia [107]. W późniejszych badaniach, do których włączono także grupę pacjentek z łagodnymi zmianami jajników, potwierdzono związek genotypu O/O z rakiem jajnika [108]. Z drugiej strony genetycznie uwarunkowany niedobór MBL (warianty O/O i LXA/O) prognozował dłuższy okres przeżycia po cytoredukcji [108]. U homozygot A/A, chorujących na raka, stężenia MBL były wyższe niż u pacjentek o tym samym genotypie ze zmianami łagodnymi i bez zmian patologicznych jajnika (operowanych jednak z innych przyczyn). Zanotowano także ich korelację ze stężeniami białka C-reaktywne-

go (*C-reactive protein*, CRP) [108]. Udowodniono ponadto, że geny MBL2 i MASP2 ulegają ekspresji (zarówno na poziomie mRNA, jak i białka) w komórkach prawidłowych jajnika, a także w komórkach nowotworowych. Poziom wspomnianej ekspresji był wyższy w narządach, w których rozwinęły się guzy złośliwe [107,108]. Nevadunsky i wsp. [109] potwierdzili związek występowania allelu B (polimorfizm genu MBL2 zlokalizowanego w kodonie 54 eksonu 1) z rakiem jajnika. Zaobserwowali także, że polimorfizm ten istotnie wpływa na stężenie MBL w drogach rodnych (badano supernatanty powstałe po zawieszeniu i odwirowaniu materiału z wymazów pobranych z pochwy, w fizjologicznym roztworze NaCl) [109].

Szala i wsp. [110], badając wspomniane [108] grupy, wykazali, że stężenia fikoliny-2 i fikoliny-3 u kobiet z pierwotnym rakiem jajnika są istotnie wyższe niż u pacjentek z łagodnymi zmianami i kobiet, u których wykluczono zmiany patologiczne tego narządu. Nie zaobserwowano jednak różnic częstości wariantów polimorficznych genu FCN2 (badano SNP w pozycjach -64, -4, +6359 i +6424) ani występowania mutacji w pozycji +1637 genu FCN3. Geny te ulegają ekspresji w jajniku, przy czym jej poziom w narządach, w których doszło do rozwoju guzów złośliwych, jest niższy niż w narządach niezmiennych [110]. Wcześniej, na podstawie analizy proteomicznej prób surowic (DIGE), Andersen i wsp. [111] zaproponowali fikolinę-3 jako jeden z potencjalnych markerów raka jajnika.

Polimorfizmy eksonu 1 genu MBL2 (nosicielstwo alleli O) nasilają podatność na zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego (*human papilloma virus*, HPV) i (u kobiet odmiany kaukaskiej) – ryzyko rozwoju związanego z tymi infekcjami raka szyjki macicy [112].

Nowotwory innych narządów

Wykazano, że allel B (a zwłaszcza genotyp B/B) genu MBL2 związany jest z wyższym ryzykiem rozwoju glejaka u osób dorosłych [113]. Podobny efekt postulowano także dla polimorfizmu zlokalizowanego w intronie 1 tego genu (rs1982266, +573 C>T) [113]. Fisch i wsp. [75] zaobserwowali natomiast podwyższone stężenia MBL u dzieci z guzami litymi różnych narządów, natomiast MASP-2 – z nowotworami centralnego układu nerwowego. Podwyższoną ekspresję genu FCN1 (dla fikoliny-1, przypuszczalnie w odpowiedzi na rozwój guza) zanotowano w komórkach NK pacjentów z rakami płaskonabłonkowymi głowy i szyi [114]. Na podstawie

analizy proteomicznej prób pobranych od pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym w obrębie jamy ustnej z przerzutami do węzłów chłonnych fikolina-2 rozważana jest natomiast jako potencjalny biomarker tego typu nowotworów [115].

Lu i wsp. [116] wykazali za pomocą immunobarwienia ekspresję MBL w komórkach raka i gruczolaka tarczycy oraz normalnych komórkach tego narządu. Jej poziom w komórkach rakowych skorelowany był ze stopniem zaawansowania choroby i zdolnością przerzutowania. Traktowanie ich rekombinowaną MBL indukowało apoptozę, co może stanowić punkt wyjścia opracowania nowej metody leczenia [116].

Haplotyp LX oraz genotyp LXA/B genu MBL2 mogą być związane z dłuższym czasem przeżycia osób (odmiany kaukaskiej, lecz nie afroamerykańskiej) chorych na raka płuc, zwłaszcza palących duże ilości tytoniu [117]. Ponadto haplotyp HYP A (odpowiadający najwyższemu poziomowi ekspresji tego genu) uznany został za czynnik ryzyka rozwoju nowotworu u osób niepalących, będących jednak biernymi palaczami w dzieciństwie [118]. U pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym tego narządu obserwowano nadekspresję (mRNA) genu MASP1/3 [119].

Ponadto sugeruje się, że proteaza MASP-2 oznaczana w moczu może być biomarkerem raka jasnokomórkowego i brodawczakowatego nerek [120].

Podsumowanie

Przedstawiony zwięzły przegląd literatury wskazuje, że czynniki aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej mogą odgrywać bardzo różnorodne role w chorobach nowotworowych. Ich znaczenie często zależy nie tylko od typu nowotworu, lecz także od wieku, pochodzenia etnicznego pacjentów czy występowania innych chorób. Obok bezpośrednich (aktywność przeciwnowotworowa) czy pośrednich (aktywność przeciwwzakaźna, udział w eliminacji komórek ulegających apoptozie/nekrozie) efektów ochronnych, będąc mediatorami przewlekłej lub nazbyt nasilonej reakcji zapalnej, mogą w pewnych warunkach sprzyjać kancerogenezie.

Podziękowanie

Praca powstała częściowo w ramach realizacji projektu nr 2013/11/B/NZ6/01739, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Piśmiennictwo

1. Thiel S. Complement activating soluble pattern recognition molecules with collagen-like regions, mannan binding lectin, ficolins and associated proteins. *Mol Immunol* 2007;44:3875-88.
2. Thiel S, Gadjeva M. Humoral pattern recognition molecules: mannan-binding lectin and ficolins. W: Kishore U, editor. *Target pattern recognition in innate immunity*. Springer-Verlag New York; 2009, str. 58-73.
3. Cedzyński M, Swierzko AS, Kilpatrick DC. Factors of the lectin pathway of complement activation and their clinical associations in neonates. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:364246. doi:10.1155/2012/363246.
4. Matsushita M, Endo Y, Fujita T. Structural and functional overview of the lectin complement pathway: its molecular basis and physiological implication. *Arch Immunol Ther Exp* 2013;61:273-83.
5. Ma YJ, Hein E, Munthe-Fog L i wsp. Soluble collectin-12 (CL-12) is a pattern recognition molecule initiating complement activation via the alternative pathway. *J Immunol* 2015;195:3365-73.
6. Markiewski M, Lambris JD. Is complement good or bad for cancer patients? A new perspective on an old dilemma. *Trends Immunol* 2009;30:286-92.
7. Swierzko AS, Kilpatrick DC, Cedzynski M. Mannan-binding lectin in malignancy. *Mol Immunol* 2012;55:16-21.
8. Pałowska-Klimek I, Cedzyński M. Mannan-binding lectin in cardiovascular disease. *Biomed Res Int* 2014;2014:616817. doi: 10.1155/2014/616817.
9. Nauta AJ, Raashou-Jensen N, Roos A, Daha MR, Madsen HO, Borrias-Essers MC i wsp. Mannose-binding lectin engagement with late apoptotic and necrotic cells. *Eur J Immunol* 2003;33:2853-63.

10. Tomaiuolo R, Ruocco A, Salapete C, Carrus C, Baggio G, Franceschi C. Activity of mannose-binding lectin (MBL) in centenarians. *Aging Cell* 2012;11:394-400.
11. Fujita T, Taira S, Kodama N, Matsushita M, Fujita T. Mannose-binding protein recognizes glioma cells: in vitro analysis of complement activation on glioma cells via the lectin pathway. *Jpn J Cancer Res* 1995;86:187-92.
12. Brinkmann CR, Jensen L, Dagnæs-Hansen F, i wsp. Mitochondria and the lectin pathway of complement. *J BiolChem* 2013;288:8016-27.
13. Malhotra R, Wormald MR, Rudd PM, Fischer PB, Dwek RA, Sim RB. Glycosylation changes of IgG associated with rheumatoid arthritis can activate complement via the mannose-binding protein. *Nature Med* 1995;1:237-43.
14. Liu Y, Endo Y, Iwaki D i wsp. Human M-ficolin is a secretory protein that activates the lectin complement pathway. *J Immunol* 2005;175:3150-6.
15. Wittenborn T, Thiel S, Jensen L, Nielsen HJ, Jensenius JC. Characteristics and biological variations of M-ficolin, a pattern recognition molecule, in plasma. *J Innate Immun* 2010;2:167-80.
16. Honore C, Rorvig S, Hummelshoj T, Skjoedt MO, Borregaard N, Garred P. Tethering of Ficolin-1 to cell surfaces through recognition of sialic acid by the fibrinogen-like domain. *J LeukocBiol* 2010;88:145-58.
17. Chandrasekhar A., Dinsarapu AR, Garred P, Subramaniam S. Ficolin-1. *UCSD Molecule Pages* 2014; doi:10.6072/HO.MPA004265.01.
18. Favier A-L, Gout E, Reynard O i wsp. Enhancement of Ebola virus infection via ficolin-1 interaction with the mucin domain of GP glycoprotein. *J Virol* 2016;90:5256-69.
19. Ma YJ, Doni A, Romani L. i wsp. Ficolin-1-PTX3 complex formation promotes clearance of altered self-cells and modulates IL-8 production. *J Immunol* 2013;191:1324-33.

20. Hummelshoj T, Munthe-Fog L, Madsen HO, Garred P. Functional SNPs in the human ficolin (FCN) genes reveal distinct geographical patterns. *Mol Immunol* 2008;45:2508-20.
21. Garred P, Honore C, Ma YJ i wsp. The genetics of ficolins, *J Innate Immun* 2010;2:3-16.
22. Ammitzboll CG, Kjaer TR, Steffensen Ri i wsp. Non-synonymous polymorphisms in the FCN1 gene determine ligand-binding ability and serum levels of M-ficolin. *PLoS One* 2012;11:e50585, doi: 10.1371/journal.pone.0050585.
23. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Honore C i wsp. Variation in FCN1 affects biosynthesis of ficolin-1 and is associated with outcome of systemic inflammation. *Genes Immun* 2012;13:515-22.
24. Kilpatrick DC, Chalmers JD. Human L-ficolin (ficolin-2) and its clinical significance. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:138797, doi: 10.1155/2012/138797.
25. Luo F, Chen T, Liu J i wsp. Ficolin-2 binds to HIV-1 gp120 and blocks viral infection. *Virol Sin* 2016; 31: 406-414.
26. Hummelshoj T, Munthe-Fog L, Madsen HO, Fujita T, Matsushita M, Garred P. Polymorphisms in the FCN2 gene determine serum variation and function of Ficolin-2. *Hum Mol Genet* 2005;14:1651-8.
27. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Hansen BE i wsp. The impact of FCN2 polymorphisms and haplotypes on the Ficolin-2 serum levels. *Scand J Immunol* 2007;65:382-92.
28. Cedzynski M, Nuytinck L, Atkinson AP i wsp. Extremes of L-ficolin concentrations in children with recurrent infections are associated with single nucleotide polymorphisms in the FCN2 gene. *ClinExp Immunol* 2007;150:99-104.

29. Kilpatrick DC, Swierzko AS, Matsushita M i wsp. The relationship between FCN2 genotypes and serum ficolin-2 (L-ficolin) protein concentrations from a large cohort of neonates. *Hum Immunol* 2013;74:867-71.
30. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Honore C, Madsen HO, Permin H, Garred P. Immunodeficiency associated with FCN3 mutation and ficolin-3 deficiency. *N Engl J Med* 2009;360:2637-44.
31. Michalski M, Świerzek AS, Pałowska-Klimek I i wsp. Primary Ficolin-3 deficiency – is it associated with increased susceptibility to infections? *Immunobiology* 2015;220:711-3.
32. Stengaard-Pedersen K, Thiel S, Gadjeva M, i wsp. Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *N Engl J Med* 2003;349:554-60.
33. Sokolowska A, Szala A, Swierzko AS i wsp. Mannan-binding lectin-associated serine protease-2 (MASP-2) deficiency in two patients with pulmonary tuberculosis and one healthy control. *Cell Moll Immunol* 2015;12:119-21.
34. Heja D, Kocsis A, Dobo J i wsp. Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:10498-503.
35. Jenny L, Dobo J, Gal P, Schroeder V. MASP-1 induced clotting – the first model of prothrombin activation by MASP-1. *PLoS One* 2015;10:e0144633, doi: 10.1371/journal.pone.0144633.
36. Oroszlan G, Kortvely E, Szakacs D i wsp. MASP-1 and MASP-2 do not activate pro-factor D in resting human blood whereas MASP-3 is a potential activator: kinetic analysis involving specific MASP-1 and MASP-2 inhibitors. *J Immunol* 2016;196:857-65.

37. Dobo J, Szakacs D, Oroszlan G i wsp. MASP-3 is the exclusive pro-factor D activator in resting blood: the lectin and the alternative pathways are functionally linked. *SciRep* 2016;6:31877, doi: 10.1038/srep31877.
38. Sirmaci A, Walsh T, Akay H i wsp. MASP1 mutations in patients with facial, umbilical, coccygeal and auditory findings of Carnevale, Malupech, OSA, and Michels syndromes. *Am J Hum Genet* 2010;87:679-86.
39. Ammitzball CG, Steffensen R, Jorgen Nielsen H i wsp. Polymorphisms in the MASP1 gene are associated with serum levels of MASP-1, MASP-3, and MASP44. *PLoS One* 2013;8:e73317, doi: 10.1371/journal.pone.0073317.
40. Beltrame MH, Boldt AB, Catarino SJ i wsp. MBL-associated serine proteases (MASPs) and infectious diseases. *Mol Immunol* 2015;67:85-100.
41. Schmiegelow K, Garred P, Lausen B, Andreassen B, Petersen BL, Madsen HO. Increased frequency of mannose-binding lectin insufficiency among children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100:3757-60.
42. Neth O, Hann I, Turner MW, Klein NJ. Deficiency of mannose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy: a prospective study. *Lancet* 2001;358:614-8.
43. Dommett R, Chisholm J, Turner M, Bajaj-Elliott M, Klein NJ. Mannose-binding lectin genotype influences frequency and durations of infectious complications in children with malignancy. *J Pediatr Hematol Oncol* 2013;35:69-75.
44. Pana ZD, Samarah F, Papi R i wsp. Mannose-binding lectin and ficolin-2 polymorphisms are associated with increased risk for bacterial infections in children with B acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2014;61:1017-22.

45. Ghazi M, Isadyar M, Gachkar L i wsp. Serum levels of mannose-binding lectin and the risk of infection in pediatric oncology patients with chemotherapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 2012;34:128-30.
46. Osthoff M, Rovo A, Stern M i wsp. Mannose-binding lectin levels and major infections in a cohort of very long-term survivors after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2010;95:1389-96.
47. Schlapbach LJ, Aebi C, Otth M i wsp. Serum levels of mannose-binding lectin and the risk of fever in neutropenia pediatric cancer patients. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49:11-6.
48. Frakking FN, Brouwer N, Dolman KM i wsp. Mannose-binding lectin (MBL) as a prognostic factor in paediatric oncology patients. *Clin Exp Immunol* 2011;165:51-9.
49. Frakking FN, van de Wetering MD, Brouwer N i wsp. The role of mannose-binding lectin (MBL) in paediatric oncology patients with febrile neutropenia. *Eur J Cancer* 2006;42:909-16.
50. Lehrnbecher T, Venzon D, de Haas M, Chanock SJ, Kuhl J. Assessment of measuring circulating levels of interleukin-6, interleukin-8, C-reactive protein, soluble Fc gamma receptor type III, and mannose-binding protein in febrile children with cancer and neutropenia. *Clin Infect Dis* 1999;29:414-9.
51. Lausen B, Schmiegelow K, Andreassen B, Madsen HO, Garred P. Infections during induction therapy of childhood acute lymphoblastic leukemia – no association of mannose-binding lectin deficiency. *Eur J Haematol* 2006;76:481-7.
52. Rubnitz JE, Howard SC, Willis J, Pui CH, Pounds S, Hayden RT. Baseline mannose binding lectin levels may not predict infection among children with leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:866-8.
53. Frakking FN, Israels J, Kremer LC i wsp. Mannose-binding lectin (MBL) and the risk for febrile neutropenia and infection in pediatric oncology patients with chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer* 2011;57:89-96.

54. Peterslund NA, Koch C, Jensenius JC, Thiel S. Association between deficiency of mannose-binding lectin and severe infections after chemotherapy. *Lancet* 2001;358:637-8.

55. Kilpatrick DC, McLintock LA, Allan EK i wsp. No strong relationship between mannan binding lectin or plasma ficolins and chemotherapy-related infections. *ClinExpImmunol* 2003;134:279-84.

56. Vekemans M, Robinson J, Georgala A i wsp. Low mannose-binding lectin concentration is associated with severe infection in patients with haematological cancer who are undergoing chemotherapy. *Clin Infect Dis* 2007;44:1593-601.

57. Horiuchi T, Gondo H, Miyagawa H i wsp. Association of MBL gene polymorphisms with major bacterial infection in patients treated with high-dose chemotherapy and autologous PBSCT. *Genes Immun* 2005;6:162-6.

58. Granell M, Urbano-Ispizua A, Suarez B i wsp. Mannan-binding lectin deficiencies and invasive fungal infections following allogeneic stem cell transplantation. *ExpHematol* 2006;34:1435-41.

59. Mullighan CG, Heatley S, Doherty K i wsp. Mannose-binding lectin gene polymorphisms are associated with major infection following allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2002;99:3524-9.

60. Mullighan CG, Bardy PG. Mannose-binding lectin and infection following allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma* 2004;45:247-56.

61. Neth OW, Bacher U, Das P i wsp. Influence of mannose-binding lectin genotypes and serostatus in allo-SCT: analysis of 131 recipients and donors. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:13-9.

62. Molle I, Peterslund NA, Thiel S, Steffensen R. MBL2 polymorphism and risk of severe infections in multiple myeloma patients receiving high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:555-60.

63. Kurz K, Garimorth K, Joannidis M, Fuchs D, Petzer A, Weiss G. Altered immune response during septicaemia in patients suffering from haematological malignancies. *Int J ImmunopatholPharmacol* 2012;25:147-56.
64. Rocha V, Franco RF, Porcher R i wsp. Host defense and inflammatory gene polymorphisms are associated with outcomes after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* 2002;100:3908-18.
65. Bergmann OJ, Christiansen M, Laursen I i wsp. Low levels of mannose-binding lectin do not affect occurrence of severe infections or duration of fever in acute myeloid leukaemia during remission induction therapy. *Eur J Haematol* 2003;70:91-7.
66. Martinez-Lopez J, Rivero A, Rapado I i wsp. Influence of MBL2 mutations in the infection risk of patients with follicular lymphoma treated with rituximab, fludarabine, and cyclophosphamide. *Leuk Lymphoma* 2009;50:1283-9.
67. Klostergaard A, Steffensen R, Moller JK, Peterslund N, Juhl-Christensen C, Molle I. Sepsis in acute myeloid leukaemia patients receiving high-dose chemotherapy: no impact of chitotriosidase and mannose-binding lectin polymorphisms. *Eur J Haematol* 2010;85:58-64.
68. Torfoss D, Sandstad B, Mollnes TE i wsp. The mild inflammatory response in febrile neutropenic lymphoma patients with low risk of complications is more pronounced in patients receiving tobramycin once daily compared with three times daily. *Scand J Immunol* 2011;74:632-9.
69. Wong M, Ohrmalm L, Broliden K, Aust C, Hibberd M, Tolfvenstam T. Mannose-binding lectin 2 polymorphisms do not influence frequency or type of infection in adults with chemotherapy induced neutropaenia. *PLoS One* 2012;7:e30819, doi: 10.1371/journal.pone.0030819.
70. Schlappbach LJ, Thiel S, Aebi C i wsp. M-ficolin in children with cancer. *Immunobiology* 2011;216:633-8.

71. Ameye L, Paesmans M, Thiel S, Jensenius JC, Aoun M. M-ficolin levels are associated with the occurrence of severe infections in patients with haematological cancer undergoing chemotherapy. *ClinExpImmunol* 2012;167:303-8.
72. Schlapbach LJ, Aebi C, Hansen AG, Hirt A, Jensenius JC, Ammann R. H-ficolin serum concentration and susceptibility to fever and neutropenia in paediatric cancer patients. *ClinExpImmunol* 2009;157:83-9.
73. Akil A, Zhang Q, Mumaw CL i wsp. Biomarkers for diagnosis and prognosis of sinusoidal obstruction syndrome after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:1739-45.
74. Hu W., Bassig BA, Xu J i wsp. Polymorphisms in pattern-recognition genes in the innate immunity system and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Environ Mol Mutagen* 2013;54:72-7.
75. Fisch U, Zehnder A, Hirt A i wsp. Mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease-2 in children with cancer. *Swiss Med Wkly* 2011;141:w13191. doi: 10.4414/smw.2011.13191.
76. Zehnder A, Fisch U, Hirt A i wsp. Prognosis in pediatric hematologic malignancies is associated with serum concentration of mannose-binding lectin-associated serine protease-2. *Pediatr Blood Cancer* 2009;53:53-7.
77. Ishida Y, Yamashita K, Sasaki H i wsp. Activation of complement system in adult T-cell leukemia (ATL) occurs mainly through lectin pathway: a serum proteomic approach using mass spectrometry. *Cancer Lett* 2008;271:166-77.
78. Schlapbach LJ, Aebi C, Otth M, Leibundgut K, Hirt A, Ammann RA. Deficiency of mannose-binding lectin-associated serine protease-2 associated with increased risk of fever and neutropenia in pediatric cancer patients. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:989-94.

79. Nazari S, Ebrahimi M, AbdollahGorji F, Abadi A, Fahimzad A. Association between serum levels of MASP-2 and neutropenic febrile attacks in children with leukemia. *Arch Iran Med* 2012;15:625-8.
80. Baccarelli A, Hou L, Chen J i wsp. Mannose-binding lectin-2 genetic variation and stomach cancer risk. *Int J Cancer* 2006;119:1970-5.
81. Scudiero O, Nardone G, Omodei D i wsp. A mannose-binding lectin-defective haplotype is a risk factor for gastric cancer. *ClinChem* 2006;52:1625-6.
82. Wang F-Y, Tahara T, Arisawa T i wsp. Mannan-binding lectin (MBL) polymorphism and gastric cancer risk in Japanese population. *Dig Dis Sci* 2008;53:2904-8.
83. Eurich D, Boas-Knoop S, Morawietz L i wsp. Association of mannose-binding lectin-2 gene polymorphism with the development of hepatitis C-induced hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2011;31:1006-12.
84. Segat L, Fabris A, Padovan L i wsp. MBL2 and MASP2 polymorphisms in patients with hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2008;15:387-91.
85. Wang P-S, Kuai J, Li H, Wang CG, Shi, B-J, Zhong L. Mannose-binding lectin rs11003123 polymorphism is associated with the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis-B related cirrhosis in the Chinese population. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2016;15:282-8.
86. Hoang TV, Toan NL, Song le H i wsp. Ficolin-2 levels and FCN2 haplotypes influence hepatitis B infection outcome in Vietnamese patients. *PLoS One* 2011;11:e28113, doi: 10.1371/journal.pone.0028113.
87. Chen T, Hu Y, Ding Q i wsp. Serum ficolin-2 concentrations are significantly changed in patients with hepatitis B virus infection and liver diseases. *Virol Sin* 2015;30:249-60.

88. Hu Y-L, Luo F-L, Fu J-L i wsp. Early increased ficolin-2 concentrations are associated with severity of liver inflammation and efficacy of anti-viral therapy in chronic hepatitis C patients. *Scand J Immunol* 2013;77:144-50.
89. Liu J, Ali MA, Shi Y i wsp. Specifically binding of L-ficolin to N-glycans of HCV envelope glycoproteins E1 and E2 leads to complement activation. *Cell Moll Immunol* 2009;6:235-44.
90. Zhao Y, Ren Y, Zhang X i wsp. Ficolin-2 inhibits hepatitis C virus infection, whereas apolipoprotein E3 mediates viral immune escape. *J Immunol* 2014;193:783-96.
91. Hamed MR, Brown RJ, Zothner C i wsp. Recombinant human L-ficolin directly neutralizes hepatitis C virus entry. *J Innate Immun* 2014;6:676-84.
92. Yang G, Liang Y, Zheng T i wsp. FCN2 inhibits epithelial-mesenchymal transition-induced metastasis of hepatocellular carcinoma via TGF- β /Smad signalling. *Cancer Lett* 2016;378:80-6.
93. Luo JH, Ren B, Keryanov S i wsp. Transcriptomic and genomic analysis of human hepatocellular carcinomas and hepatoblastomas. *Hepatology* 2006;44:1012-24.
94. Ferrin G, Ranchal I, Llamasa C i wsp. Identification of candidate biomarkers for hepatocellular carcinoma in plasma of HCV-infected cirrhotic patients by 2-D DIGE. *Liver Int* 2014;34:438-46.
95. Sarvari J, Mojtahedi Z, Kuramitsu Y i wsp. Comparative proteomics of sera from HCC patients with different origins. *Hepat Mon* 2014;14:e13103, doi: 10.5812/hepatmon.13103.
96. Ytting H, Jensenius JC, Christensen IJ Thiel S, Nielsen HJ. Increased activity of the mannan-binding lectin complement pathway in patients with colorectal cancer. *Scand J Gastroenterol* 2004;39:674-9.

97. Ytting H, Christensen IJ, Steffensen R i wsp. Mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease 2 (MASP-2) genotypes in colorectal cancer. *Scand J Immunol* 2011;73:122-7.
98. Ytting H, Christensen IJ, Jensenius JC, Thiel S, Nielsen HJ. Preoperative mannan-binding lectin pathway and prognosis in colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2005;54:265-72.
99. Zanetti KA, Haznader M, Welsh JA i wsp. 3'UTR and functional secretor haplotypes in mannan-binding lectin 2 are associated with increased colon cancer risk in African Americans. *Cancer Res* 2012;72:1467-77.
100. Ytting H, Christensen IJ, Thiel S, Jensenius JC, Nielsen HJ. Serum mannan-binding lectin-associated serine protease 2 levels in colorectal cancer: relation to recurrence and mortality. *Clin Cancer Res* 2005;11:1441-6.
101. Ytting H, Christensen IJ, Thiel S, Jensenius JC, Nielsen HJ. Pre- and postoperative levels in serum of mannan-binding lectin associated serine protease-2 - a prognostic marker in colorectal cancer. *Hum Immunol* 2008;69:414-20.
102. Kocsis J, Meszaros T, Madaras B i wsp. High levels of acute phase proteins and soluble 70 kDa heat shock proteins are independent and additive risk factors for mortality in colorectal cancer. *Cell Stress Chaperones* 2011;16:49-55.
103. Storm L, Christensen IJ, Jensenius JC, Nielsen HJ, Thiel S; Danish Study Group on Early Detection of Colorectal Cancer. Evaluation of complement proteins as screening markers for colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2015;64:41-50.
104. Rong Y, Jin D, Hou C i wsp. Proteomics analysis of serum protein profiling in pancreatic cancer patients by DIGE: up-regulation of mannan-binding lectin 2 and myosin light chain kinase 2. *BMC Gastroenterol* 2010;10:68, doi: 10.1186/1471-230X-10-68

105. Verma A, Matta A, Shukla NK, Deo SV, Gupta SD, Ralhan R. Clinical significance of mannose-binding lectin-associated protease-2 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2006;118:2930-5.
106. Bernig T, Boersma BJ, Howe TM i wsp. The mannose-binding lectin (MBL2) haplotype and breast cancer: an association study in African-American and Caucasian women. *Carcinogenesis* 2007;28:828-36.
107. Swierzko AS, Florczak K, Cedzynski M i wsp. Mannan-binding lectin (MBL) in women with tumours of the reproductive system. *Cancer ImmunolImmunother* 2007;56:959-71.
108. Swierzko AS, Szala A, Sawicki S i wsp. Mannose-Binding Lectin (MBL) and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2) in women with malignant and benign ovarian tumours. *Cancer ImmunolImmunother* 2014;63:1129-40.
109. Nevadunsky NS, Korneeva I, Caputo T, Witkin SS. Mannose-binding lectin codon 54 genetic polymorphism and vaginal protein levels in women with gynecologic malignancies. *Eur J ObstetGynecolReprodBiol* 2012;163:216-8.
110. Szala A, Sawicki S, Swierzko AS i wsp. Ficolin-2 and ficolin-3 in women with malignant and benign ovarian tumours. *Cancer ImmunolImmunother* 2013;62:1411-9.
111. Andersen JD, Boylan KL, Xue FS i wsp. Identification of candidate biomarkers in ovarian cancer serum by depletion of highly abundant proteins and differential in-gel electrophoresis. *Electrophoresis* 2010;31:599-610.
112. Wang HL, Lu X, Yang X, Xu N. Association of MBL2 exon 1 polymorphisms with high-risk papillomavirus infection and cervical cancers: a meta-analysis. *Arch GynecolObstet* 2016; 294: 1109-116.

113. Michaud DS, Sidding A, Cox DG i wsp. Mannose-binding lectin 2 gene and risk of adult glioma. *PLoS One* 2013;8:e61117. doi: 10.1371/journal.pone.0061117.
114. Bottcher A, Ostwald J, Koczan D, Knecht R, Kramp B, Dommerich S. Gene expression profiling of circulating natural killer cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Genomics Proteomics* 2013;10:197-207.
115. Arellano-Garcia ME, Li R, Liu X i wsp. Identification of tetranectin as a potential biomarker for metastatic oral cancer. *Int J MolSci* 2010;11:3106-21.
116. Lu Y, Sun G, Liu G i wsp. Clinical significance of mannose-binding lectin expression in thyroid carcinoma tissues. *PatholOncol Res* 2013;19:259-66.
117. Pine SR, Mechanic LE, Ambs S i wsp. Lung cancer survival and functional polymorphisms in MBL2, an innate-immunity gene. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:1401-9.
118. Olivo-Marston S, Yang P, Mechanic LE i wsp. Childhood exposure to secondhand smoke and functional mannose binding lectin polymorphism are associated with increased lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:3375-83.
119. Kang JU, Koo SH, Kwon KC, Park JW, Kim JM. Identification of novel candidate target genes, including EPHB3, MASP1 and SST at 3q26.2-q29 in squamous cell carcinoma of the lung. *BMC Cancer* 2009; 9:237, doi: 10.1186/1471-2407-9-237.
120. Alves G, Pereira DA, Sandim V i wsp. Urine screening by Seldi-ToF, followed by biomarker identification, in a Brazilian cohort of patients with renal cell carcinoma (RCC). *IntBraz J Urol* 2013;39:228-39.

Adres do korespondencji:

dr hab. Maciej Cedzyński
Pracownia Immunobiologii Zakażeń,
Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk
ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź
tel. 42 2723607
fax: 42 2723600
e-mail: mcedzynski@cbm.pan.pl

CCC-BY-SA 3.0PL



Reaktywne formy tlenu (RFT) indukowane w komórkach bakterii stresem związanym z działaniem antybiotyków stanowią istotną komponentę bakteriobójczego działania różnych klas antybiotyków

Reactive Oxygen Species (ROS) are involved in antibiotics – induced bacterial cell death

Adam Jaworski¹, Ireneusz Jurczyk¹, Katarzyna Dudek¹

¹ Społeczna Akademia Nauk

¹ University of Social Sciences, Łódź, Poland

Streszczenie

W świetle danych literatury światowej z ostatnich kilku lat lepsze, głębsze zrozumienie złożonej odpowiedzi komórek bakterii na stres związany ze specyficznym, molekularnym mechanizmem działania różnych antybiotyków na określone struktury i procesy komórkowe wydaje się kluczem do opracowania sposobów zwiększenia antybakteryjnej aktywności i terapeutycznej skuteczności stosowanych obecnie antybiotyków. W artykule uwaga została skoncentrowana na powszechnie stosowanych antybiotykach należących do trzech różnych klas – β -laktamowych (ampicylina), glikozydowych (gentamycyna) i fluorochinolowych (norfloksacylina) – które niezależnie od ich specyficznego mechanizmu działania na określone, dobrze poznane tarcze molekularne indukują stres oksydacyjny i syntezę reaktywnych form tlenu (RFT). Reaktywne formy tlenu (*reactive oxygen species*), syntetyzowane w różnych szlakach metabolicznych redukcji i utleniania komórkowego, stanowią bardzo istotną, dodatkową komponentę bójczego działania antybiotyków na komórki różnych gatunków bakterii. W artykule przedstawiamy także bardzo dobrze udokumentowane dane dowodzące, że antyoksydanty, „zmiatacze” rodników tlenowych oraz białka ochronne indukowane stresem oksyda-

cyjnym związanym z działaniem antybiotyków chronią komórki bakterii przed śmiercią, a więc bardzo znacząco obniżają skuteczność antybiotykoterapii chorób infekcyjnych.

Abstract

In the light of new data from the world literature, a better and more profound understanding of the complexity of bacterial cells' response to stress related to specific molecular mechanisms of different antibiotics' activity on the structures and cellular processes, appears to be a key to the development of strategies increasing antibacterial activity and therapeutic efficacy of the antibiotics being in use today. The article focuses on three different groups of commonly used antibiotics (β -lactams, aminoglycosides and fluoroquinolons) which regardless of their specific mechanisms of action on certain, well-known molecular targets induce oxidative stress and synthesis of reactive oxygen species. Reactive oxygen species synthesized in metabolic redox pathways constitute an important additional component of several antibiotics antibacterial activity against different species of bacterial. The article presents also very well documented data, proving that antioxidants, scavengers of oxygen radicals as well as repair proteins induced by oxidative stress generated by antibiotics protect bacterial cells against death thus significantly decrease the effectiveness of antibiotic therapies used in infectious diseases treatment.

Key words

reactive oxygen species (ROS), antibiotics, bacterial response to antibiotics - induced lethal stress, new model for antibiotics lethality

Narastająca oporność bakterii na antybiotyki w połączeniu z ograniczoną liczbą nowych antybiotyków wprowadzanych do terapii chorób infekcyjnych kreuje współcześnie globalny problem dla zdrowia publicznego [1, 2, 3, 4, 5]. Ze względu na biologiczne skutki działania różnych antybiotyków na bakterie dzieli się je zwykle na dwie grupy: związki o działaniu bakteriostatycznym (hamujące wzrost komórek) i bakteriobójczym (prowadzące do śmierci komórek). Wśród antybiotyków o działaniu bakteriobójczym wyróżniało się zwykle trzy klasy tych związków ze względu na specyficzny, molekularny mechanizm ich działania na struktury i procesy komórkowe bakterii: inhibitory syntezy ściany komórkowej, inhibitory replikacji DNA oraz inhibitory biosyntezy białek [6].

Jednak w ostatniej dekadzie narasta wiedza na temat nowego szlaku, wspólnego dla tych trzech klas antybiotyków, generującego w warunkach tlenowych reaktywne formy tlenu (*reactive oxygen species*, ROS), które mają, jak się sądzi, znaczący udział w zabijaniu zarówno bakterii Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich [7, 8, 9, 10]. Poziom syntezy i aktywności reaktywnych form tlenu takich jak: anionorodnik ponadtlenkowy (*superoxide anion*), nadtlenek wodoru (*hydrogen peroxide*) i rodnik hydroksylowy (*hydroxyl radicals*), ubocznych produktów metabolizmu tlenowego organizmów żywych podlega w komórkach ścisłej kontroli poprzez syntezę, z jednej strony, katalaz i dysmutaz enzymów detoksyfikujących RFT, z drugiej strony, poprzez dwuskładnikowe systemy regulatorowe, odpowiedzi komórkowej na stresi (SoxRS, OxyRS, SOS), które kontrolują rodzaj i poziom uszkodzeń dokonanych w komórkach przez reaktywne formy tlenu i inne genotoksyczne czynniki [11, 12, 13]. Ustalenie wszystkich źródeł i mechanizmów syntezy całej puli reaktywnych form tlenu produkowanych przez komórki bakterii, w tym przez komórki modelowych szczepów *Escherichia coli*, nie jest łatwe, a opisywane w wielu pracach wyniki są często niepewne z powodu ogromnego arsenału potencjalnych generatorów ROS w komórkach bakterii. RFT potencjalnie mogą być produkowane we wszystkich reakcjach utleniania, kiedy tlen przyjmuje elektrony ze zredukowanych flavin, chinolonów oraz z funkcjonalnych grup różnych innych związków [14]. W szlakach metabolizmu komórek *E. coli* funkcjonują w różnych szlakach metabolicznych 133 enzymy i reakcje utleniania, w których potencjalnie mogą być generowane ROS. Liczba tych reakcji jest porównywalna z liczbą reakcji, w których syntetyzowana jest komórkowa pula ATP/ADP, NAD/NADH i NADP/

NADP. Nie ma więc wątpliwości, że RFT odgrywają bardzo istotną, zintegrowaną rolę w całym metabolizmie bakterii. Najogólniej można powiedzieć, że każda hiperaktywacja łańcucha transportu elektronów indukuje w komórce syntezę rodników tlenowych takich jak anionorodnik nadtlenkowy i rodnik hydroksylowy. Podczas reakcji Fentona nadtlenek wodoru, reagując z jonem żelazowym (Fe^{2+}), generuje powstawanie rodnika hydroksylowego ($\cdot\text{OH}$), jonu wodorotlenkowego (OH^-) oraz jonu żelazowego (Fe^{3+}).

Rodniki hydroksylowe są najsilniejszym reaktywnym czynnikiem utleniającym różne klasy molekuł i makromolekuł komórkowych, w tym generującym bezpośrednio zarówno uszkodzenia oksydacyjne genomowego DNA, jak i uszkodzenia oksydacyjne puli komórkowych nukleotydów GTP i ATP [15, 16, 17, 18, 19]. Postawiono interesującą hipotezę, że uszkodzenia oksydacyjne nukleotydów guanylowego, adenyłowego, z wytworzeniem w puli komórkowej odpowiednio 8-oxo-dGTP i 8-oxo-dATP, a następnie ich inkorporacja do DNA mogą mieć znaczący udział w bójącym działaniu trzech różnych klas antybiotyków: β -laktamowych (inhibitory syntezy ściany komórkowej), chinolinowych (inhibitory gyrazy, a w efekcie replikacji DNA), aminoglikozydowych (inhibitory syntezy białek) [10]. Hipotezę testowano na modelu *E. coli*. W badaniach oceniano, po pierwsze, wpływ trzech białek naprawczych zwanych w literaturze angielskiej *sanitizers*, z których dwa są glikozylazami DNA MutM i MutY, inicjującymi system BER, który usuwa uszkodzone nukleotydy guanyłowe [20], trzecie zaś jest nukleotydazą MutT, która hydrolizuje 8-oxo-dGTP do 8-oxo-dGMP i pirofosforanu [21, 22]. Po drugie, zbadano udział polimeraz DNA – PolI, PolII, PolIV i PolV – w inkorporacji uszkodzonych nukleotydów guanyłowych do genomowego DNA poprzez pomiar stopnia śmiertelności populacji komórek w warunkach działania badanych antybiotyków [23]. Uzyskane wyniki i sformułowane, jak się wydawało, w pełni uprawnione wnioski płynące z badań przeprowadzonych w różnych układach izogenicznych szczepów dzikich i mutantów *E. coli* były niezwykle interesujące, a nawet zaskakujące. I tak okazało się, że nadprodukcja glikozylazy MutT (sanitizer 8-oxo-dGTP), przy równoczesnej delekcji genów *mutM* i *mutY* – chroni komórki bakterii przed bójącym działaniem antybiotyków chinolinowych o rząd lub dwa rzędy wielkości i w nieco mniejszym stopniu także przed działaniem antybiotyków β -laktamowych i aminoglikozydowych [10]. Autorzy cytowanej pracy wnio-

skują, że obecna w komórkach pula uszkodzonego nukleotydu 8-oxo-dGTP, generowanego przez rodniki tlenowe pod wpływem działania antybiotyków, inkorporowana przez polimerazy DNA PolIV i PolV do *de novo* syntetyzowanego DNA prowadzi do pojawiania się licznych podwójnych pęknięć DNA (DSBs), które w porę nienaprawione przez systemy BER oraz RecA i RecBCD zależnej naprawy homologicznej rekombinacji (HR) indukują kaskadę zdarzeń prowadzącą do apoptotycznej śmierci komórek [23]. Intrygującym odkryciem wydaje się to, że protekcja komórek przed bójczym działaniem antybiotyków przez nukleoazydazę MutT jest związana nie tylko z degradacją puli 8-oxo-dGTP, lecz także puli rybonukleotydu 8-oxo-rGTP [24]. Okazało się bowiem, że polimeraza RNA łatwo inkorporuje 8-oxo-rGTP do transkryptów, co skutkuje zaburzeniami w strukturze rRNA i tRNA, a w efekcie w syntezie prawidłowych białek [25, 26]. Na podstawie uzyskanych wyników postawiono ważny wniosek, że wrażliwość bakterii na wszystkie trzy klasy antybiotyków można by znacząco zwiększyć poprzez zahamowanie syntezy lub enzymatycznej aktywności białek MutT (degradacja 8-oxo-dGTP) oraz MutM i MuY (inicjacja systemu BER), a także inaktywację na poziomie genów lub produktów systemu naprawy HR [10]. Autorzy cytowanych prac zakładają, że uda się opracować związki chemiczne, które stosowane w antybiotykoterapii w postaci specyficznych adiuwantów będą blokować białka naprawiające oksydacyjne uszkodzenia DNA i dwuniciowe pęknięcia (dsDNA), a także indukować syntezę polimeraz DNA (PolIV i PolV) inkorporujących uszkodzone nukleotydy do genomowego DNA. Nie dziwi więc fakt, że komentowane badania i uzyskane wyniki oraz sformułowane daleko idące wnioski i sugestie spotkały się z jednej strony z dużym zainteresowaniem, a z drugiej strony wzbudziły kontrowersyjną dyskusję wśród specjalistów. Ostatnio ukazały się w literaturze naukowej kolejne ważne prace doświadczalne dotyczące tej tematyki, zatytułowane: „Cell Death from Antibiotics Without the Involvement of Reactive Oxygen Species”, „Killing by Bactericidal Antibiotics Does Not Depend on Reactive Oxygen Species”. Autorzy tych prac negują udział rodników tlenowych w bakteriostatycznym i bakteriobójczym działaniu antybiotyków [15, 16]. W pierwszej z tych prac na modelu *E. coli* Mg1655 wykazano, że ampicylina, norfloksacyna i kanamycyna w warunkach bez-tlenowego wzrostu tego szczepu, kiedy to rodniki tlenowe nie mogą być generowane w komórkach w reakcji Fentona, wykazują bardzo zbliżony

efekt bakteriobójczy jak w warunkach tlenowych. Ponadto w badaniach przeprowadzonych z zastosowaniem mutantów pozbawionych aktywności katalazy i peroksydazy, zmiataczy H_2O_2 , nie ujawniono istotnych różnic w bakteriobójczym działaniu tych antybiotyków w porównaniu ze szczepem dzikiego; nie potwierdzono także zwiększonej produkcji H_2O_2 w ich obecności [15]. Podobne rezultaty opisano dla *E. coli* BW25113 w drugiej z cytowanych wcześniej prac, dowodząc, że w przeciwieństwie do wyników opisanych przez Foti i wsp. [10] bójczy efekt ofloksacyny w warunkach beztlenowych, kiedy nie powstają RTF, był znacznie silniejszy niż w tlenowych. Przytaczają również dane wskazujące, że mutant *Streptomyces pneumoniae*, niezdolny do produkcji rodników tlenowych, jest bardzo wrażliwy na działanie bakteriobójczych antybiotyków. Nie odnotowano również żadnego klinicznego szczepu tego gatunku opornego na antybiotyki, który byłby mutantem pozbawionym zdolności produkcji RTF [16]. Zachodzi pytanie o przyczyny tak poważnych różnic w wynikach badań przeprowadzonych przez uznane, specjalistyczne laboratoria naukowe. Można wymienić wiele przyczyn, które mogły doprowadzić do tak rozbieżnych wyników uzyskanych, zdawałoby się, w podobnych warunkach eksperymentalnych. Do takich przyczyn należy zaliczyć różnice w tle genetycznym użytych w badaniach modelowych szczepów, które w większości wywodzą się z historycznego szczepu *E. coli* K12 i jego pochodnych np. *E. coli* 1655. Znane są przypadki, że mało znacząca, jak by się wydawało, dotychczas nieznaną mutacją w jednym z modelowych szczepów (*E. coli* 1655) okazała się decydująca dla jego niezwykle wysokiej zdolności przyjmowania obcego DNA na drodze transformacji [27]. Ponadto ustalenie ściśle określonego jednego stężenia MIC antybiotyków różnych szczepów dzikich i ich mutantów, stosowanych w cytowanych badaniach, jest problematyczne, a nawet niemożliwe. Pomiar stopnia przeżywalności komórek, jako skutek działania lub braku działania reaktywnych form tlenu, wydaje się w tych warunkach mało precyzyjnym miernikiem dla formułowania uprawnionych wniosków. Nie można wykluczyć też obecności w puli modelowych szczepów małej populacji uśpionych metabolicznie komórek zwanych w literaturze angielskiej *persister cells*, które są odporne na działanie antybiotyków, mimo że komórki te nie noszą genów lekooporności. Wreszcie nie można zapominać, że preparaty antybiotyków, obok swoistego działania na określone tarcze komórkowe, wykazują nieswoistą aktywność na komór-

ki bakterii i w ten sposób mogą zmieniać ich fenotyp [28, 29]. Ponadto wciąż nie ma pełnej wiedzy ani na temat mechanizmów indukcji przez antybiotyki β -laktamowe autolizy komórek, ani na temat nieprawidłowej translacji (*mistranslation*), powodowanej przez antybiotyki aminoglikozydowe, prowadzącej do akumulacji toksycznych produktów białkowych i śmierci komórek [30]. Niezwykle ciekawe wyniki dotyczące molekularnego mechanizmu przeżywania komórek bakterii w obecności wysokich stężeń antybiotyków opisano dla oportunistycznych bakterii *Burkholderia cepacia complex* (*Bcc*), odpowiedzialnych za groźne dla życia infekcje pacjentów z niedoborami układu odpornościowego, w tym cierpiących na mukowiscydozę [31, 32, 33]. Eradykacja patogennych bakterii jest niezwykle trudna z racji wysokiej oporności bakterii na większość stosowanych antybiotyków, zwłaszcza rosnących w postaci biofilmu. Na zjawisko bardzo wysokiej oporności bakterii nakładają się różne molekularne mechanizmy [4], w tym mało poznany mechanizm uśpiania metabolicznego (*persister cells*) małej frakcji komórek w obecności wysokich stężeń antybiotyków. W wypadku *Bcc* wykazano, że w biofilmie traktowanym tobramycyną w stężeniu 1024 $\mu\text{g/ml}$ przeżywa około 0,1% populacji komórek, a równoczesne pomiary stężenia RFT ujawniły bardzo istotny wzrost ich syntezy. Postawiono więc pytanie, jakie mechanizmy, czynniki chronią komórki uśpione metabolicznie przed bójczym działaniem nie tylko antybiotyków, lecz także RFT. Analiza transkryptomu tych opornych na antybiotyki komórek przyniosła nowe, ważne dane wskazujące, że w komórkach nastąpiło bardzo silne zahamowanie ekspresji genów cyklu Krebsa i łańcucha transportu elektronów generujących RTF, z równoczesną indukcją genów szlaku glioksalowego (*glyoxylate shunt*). Potwierdzeniem tej obserwacji były rezultaty uzyskane dla mutantów ΔkatA i ΔkatB pozbawionych aktywności, odpowiednio katalazy i peroksydazy. Okazało się, że traktowanie tych komórek turbomycyną generuje znacznie mniejszą populację komórek uśpionych metabolicznie, opornych na antybiotyki. Ponadto zablokowanie za pomocą inhibitora kwasu itakonowego w dzikim szczepie *Bcc* liazy izocytrynianowej (ICL), pierwszego enzymu szlaku glioksalowego, 10-krotnie zmniejszyła liczbę pojawiających się w biofilmie komórek uśpionych metabolicznie i opornych na wysokie stężenia turbomycyny. Przedstawione wyniki wskazują, że komórki uśpione metabolicznie wyciszają tlenowy szlak transportu elektronów, by zahamować syntezę RTF, a równocześnie aktywują szlak glioksalowy. Reasu-

mując, mechanizmy aktywowania tlenowych szlaków generujących syntezę reaktywnych form tlenu, a także hamowania szlaku glioksalowego mogą być rozważane jako propozycje dla opracowania nowych, bardzo skutecznych strategii terapeutycznych dla leczenia zakażeń *Bcc*, tym bardziej że ludzkie komórki nie mają genów i enzymów szlaku glioksalowego [33]. Ponadto autorzy cytowanych prac piszą, że uzyskane wyniki w badaniach biofilmu *Bcc* traktowanego tobramycyną, cyprofloksacyną i meropenemem, z równoczesnymi pomiarami ilości syntetyzowanych RTF oraz przeżywalności komórek, z zastosowaniem różnych komplementarnych metod i technik, pozwalają na postawienie uprawnionego wniosku o znaczącym udziale RTF w uwrażliwianiu komórek *Bcc* na zastosowane antybiotyki. Wspomniane wcześniej kontrowersje wokół udziału reaktywnych form tlenu indukowanych działaniem antybiotyków w bakterio-bójczym działaniu mogą wynikać z zastosowania w różnych laboratoriach odmiennych modeli badawczych, to jest różnych gatunków i szczepów bakterii oraz różnych antybiotyków. Może to być związane również z odmiennymi warunkami przeprowadzonych doświadczeń, a także odmiennymi, nie zawsze wystarczająco czułymi metodami stosowanymi do pomiaru ilości produkowanych RTF oraz oceny stopnia przeżywalności komórek. Dobrym przykładem potwierdzającym powyższe sformułowanie są wyniki niedawno opublikowanej pracy, uzyskane na modelu dzikiego szczepu *Salmonella Typhimurium* oraz mutantu pozbawionego katalazy, badanych w różnych warunkach oraz fazach wzrostu i traktowanych różnymi antybiotykami [34]. Wyniki tej bardzo dobrze udokumentowanej pracy wskazują, że różne warunki hodowli, rodzaj podłoża, temperatura, pH, a nawet faza wzrostu bakterii mają bardzo istotny wpływ na produkcję RTF, a tym samym na przeżywalność bakterii poddanych ekspozycji na antybiotyki takie jak: gentamycyna, streptomycyna, kanamycyna, cyprofloksacyna, cetotaxymina, ampicylina).

W naszej opinii komentowane kontrowersje w większości zostały wyjaśnione wynikami wieloautorskiej pracy doświadczalnej zatytułowanej „Antibiotics induce redox-related physiological alterations as a part of their lethality”, opublikowanej w maju 2014 r. przez wybitnych uczonych z Howard Hughes Medical University, Boston University, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Columbia University, Harvard University [18]. W realizację celów tej pracy wprężnięto najnowszą specjalistyczną aparaturę, wiele najnowszych, alternatywnych technik i metod

biochemicznych do precyzyjnego pomiaru stężenia RTF, metod genetycznych dla konstrukcji ściśle zdefiniowanych mutantów w celu ustalenia roli określonych genów i operonów, indukowanych działaniem różnych klas antybiotyków. Badania zostały przeprowadzone na modelu komórek *Escherichia coli* zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych, w tym w obecności różnych zmiataczy rodników tlenowych, a walidację uzyskanych wyników przeprowadzono dobranymi metodami statystycznymi. Opisane w tej pracy wyniki są znakomicie udokumentowane i w pełni wiarygodne.

Do jednego z najważniejszych rezultatów opisanych w tej pracy należy zaliczyć, po pierwsze, jednoznaczne potwierdzenie, że komórki bakterii w odpowiedzi na działanie badanych antybiotyków należących do różnych klas – β -laktamowych (ampicylina, 5 $\mu\text{g/ml}$), aminoglikozydowych (gentamycyna 5 $\mu\text{g/ml}$, fluorochinolonów (norfloksacyna, 250 ng/ml) – syntetyzują bardzo znaczące ilości RTF. Co więcej, okazało się, że indukcja syntezy RTF jest związana ze specyficznym działaniem danego antybiotyku na określoną tarczę molekularną w komórce bakteryjnej, a więc z wprowadzonymi do komórki pierwotnymi uszkodzeniami. Dla przykładu norfloksacyna nie indukuje syntezy RTF w szczepie noszącym zmutowany gen gyrazy (*gyrA17*), a stąd opornym na działanie fluorochinolonów. Można sądzić z dużą dozą prawdopodobieństwa, że podobne wyniki są możliwe w wypadku wielu innych szczepów i gatunków bakterii opornych na różne antybiotyki, z racji noszonych przez te szczepy genetycznych determinant oporności na antybiotyki, wydajnych systemów *efflux pumps*, lub zjawiska *persister cells*, opisywanych w jednym z naszych wcześniejszych artykułów [4]. Drugim ważnym wynikiem tej pracy jest udowodnienie za pomocą skonstruowanych bardzo czułych testów biochemicznych, że badane antybiotyki indukują syntezę H_2O_2 , co było wcześniej podważane w doświadczeniach z wykorzystaniem mutantów pozbawionych aktywności katalazy i peroksydazy, w których spodziewano się podwyższenia puli H_2O_2 . Okazało się, że inny enzym – cytochromowa oksydaza bd – kompensuje brak katalazy i peroksydazy w „zmiataaniu” H_2O_2 . Ponadto generowany H_2O_2 jest wykorzystywany w reakcji Fentona jako substrat do syntezy rodników hydroksylowych, a stąd było trudno precyzyjnie mierzyć rzeczywisty poziom syntetyzowanego w komórkach H_2O_2 . Do bardzo ważnych wyników tej pracy należy zaliczyć wykazanie, że badane antybiotyki bardzo silnie aktywują promotory operonów od-

powiedzi na stres oksydacyjny, OxyR i SoxRS, z których pierwszy, jak było wiadomo już wcześniej, jest indukowany H_2O_2 , drugi zaś anionorodnikiem ponadtlenkowym [35]. Uzyskano bardzo wysoki poziom aktywacji badanych promotorów reporterowych, a także całych operonów odpowiedzi na stres oksydacyjny w analizowanych transkryptomach komórek traktowanych zarówno ampicyliną, gentamycyną, jak i norfloksacyną w stężeniach odpowiednio 5 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$ i 250 $\mu\text{g/ml}$, jak i H_2O_2 w stężeniu 10 μM . Reasumując, wyniki badań biochemicznych, enzymatycznych, genetycznych, w tym z wykorzystaniem mikromacierzy dla analizy całego transkryptomu, upoważniają do sformułowania wniosku, że badane antybiotyki: ampicylina, gentamycyna i norfloksacyna indukują w komórkach *Escherichia coli* syntezę reaktywnych form tlenu oraz aktywują regulowaną odpowiedź na stres oksydacyjny w sposób bardzo podobny jak w wypadku traktowania komórek egzogennym H_2O_2 w stężeniu 10 μM . Postawiono hipotezę, że proces indukowania przez antybiotyki syntezy reaktywnych form tlenu w różnorodnych reakcjach redukcji i utleniania komórkowego winien mieć odzwierciedlenie w postaci istotnych zmian w konsumpcji tlenu przez populacje bakterii traktowanych antybiotykami (*bacterial oxygen consumption rate*, OCR). Autorzy opracowali metodę, system do monitorowania w czasie rzeczywistym zużycia tlenu w rosnących hodowlach bakterii w obecności i nieobecności antybiotyków. Okazało się, że badane antybiotyki znacząco zwiększają konsumpcję tlenu, co potwierdzało wcześniej opisany efekt działania tych antybiotyków w postaci bardzo silnego podwyższenia ładunku energetyczne komórek (*energy charge*), mierzonego stosunkiem ATP/ADP.

Kontrowersje, o których dyskutowano wcześniej, dotyczyły pytania, czy i w jakim stopniu RTF mają udział w bójkowym działaniu antybiotyków na bakterie. Wcześniejsze obserwacje sugerowały pośrednio, że deficyt w komórkach bakterii zmiataczy reaktywnych form tlenu, enzymów katalazy (KatG) i peroksydazy (AhpC), bardzo zwiększa śmiertelność komórek w obecności antybiotyków [13]. Jednakże wyniki innej pracy przeczyły tej hipotezie, bowiem nie obserwowano żadnej różnicy w śmiertelności komórek traktowanych antybiotykami, rosnących w warunkach tlenowych w porównaniu z warunkami beztlenowymi, kiedy reaktywne formy tlenu nie są syntetyzowane [15]. Wyniki komentowanej pracy Dwyera i wsp. dowodzą bezpośrednio, że w ochronie komórek bakterii przed śmiercią w obecności badanych antybiotyków udział mają

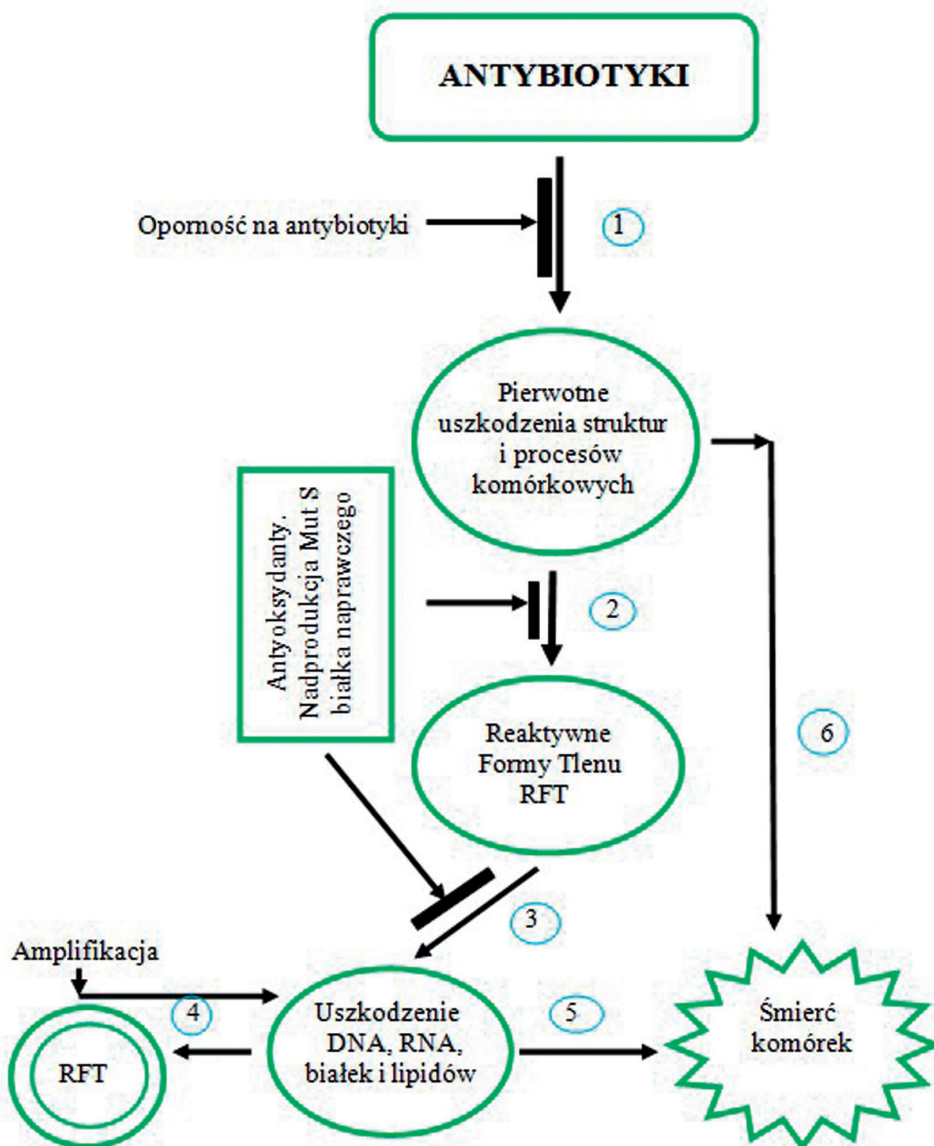
nie tylko katalaza i peroksydaza, zmiatacze reaktywnych form tlenu, lecz także regulowane odpowiedzi komórek na stres oksydacyjny, indukowane przez antybiotyki. Nawet w komórkach mutanta *E. coli* HpX, z niedoborem aktywności katalazy i peroksydazy, indukcja operonu odpowiedzi na stres oksydacyjny egzogennym H_2O_2 – w znacznym stopniu chroni komórki przed śmiercią w obecności antybiotyków. Wiadomo było już wcześniej, że nadprodukcja białka MutS, odpowiedzialnego za rozpoznanie błędnie sparowanych zasad w DNA w wyniku inkorporacji przez polimerazę IV uszkodzonych nukleotydów, generowanym przez antybiotyki rodnikiem hydroksylowym, redukuje częstość mutagenyzy [36]. W komentowanej pracy Dwyera i wsp. (2014 r.) dowiedziono także, że przeżywalność komórek traktowanych badanymi antybiotykami, w warunkach nadprodukcji tego ważnego białka sytemu MRS (*mismatch repair system*), zwiększa się populacja *Escherichia coli* o 4–5 rzędów. Potwierdzono także, że antyoksydanty, glutation, kwas askorbinowy, zmiatacze rodników tlenowych, stosowane w stężeniach niehamujących wzrostu bakterii, zwiększają przeżycie bakterii w obecności badanych antybiotyków co najmniej o 1 rząd. Trzeba jednak w tym miejscu dodać, że nadprodukcja katalazy, peroksydazy czy obecność antyoksydantów w różnym stopniu chroni komórki bakterii przed śmiercią, w zależności od rodzaju stosowanych antybiotyków i mechanizmu ich pierwotnego, specyficznego działania na struktury i procesy komórkowe. W większości badanych przypadków najsilniejszą protekcję przed bójącym działaniem RTF obserwowano w przypadku ampicyliny, najmniejszą w przypadku norfloksacyny. Autorzy ten efekt tłumaczą działaniem norfloksacyny na DNA, antybiotyku, który uszkadza nukleotydy i z dużą częstością wprowadza letalne, podwójne pęknięcia do helisy DNA [10, 37]. Ampicylina, przedstawiciel antybiotyków β -laktamowych, działa przede wszystkim na syntezę ściany komórkowej, a zatem w mniejszym stopniu wprowadza do DNA groźne dla życia komórki letalne uszkodzenia.

W świetle najnowszych danych literatury światowej, przedstawionych w niniejszym artykule, coraz lepsze, głębsze zrozumienie przyczyn i mechanizmów śmierci komórek w wyniku działania różnych klas antybiotyków, w tym generujących reaktywne formy tlenu w różnych warunkach wzrostu bakterii, zwłaszcza rosnących w postaci biofilmu, stanowi w opinii specjalistów pewien drogowskaz dla opracowania stosownych zaleceń praktycznych dla poprawienia skuteczności powszechnie stoso-

wanych antybiotyków. Jednym z nich jest unikanie w czasie antybiotykoterpii składników diety i suplementów zawierających antyoksydanty lub związki aktywujące syntezę lub aktywność katalazy, peroksydazy czy oksydazy cytochromowej. Być może możliwe stanie się także opracowanie nowych strategii terapii bakteryjnych chorób infekcyjnych, z wykorzystaniem specyficznych adjuwantów wzmagających, poprzez większy udział komponentów RTF w bójczym, antibakteryjnym działaniu powszechnie stosowanych antybiotyków.

Podsumowanie

Jako podsumowanie niniejszego artykułu przedstawiamy schemat (rys. 1) obrazujący złożoną odpowiedź komórek bakterii na stresogenne działanie różnych klas antybiotyków, indukcję syntezy reaktywnych form tlenu oraz ich wpływ na przeżywalność komórek. Opracowany przez nas schemat jest zgodny z danymi literatury światowej, prezentowanymi w niniejszym artykule, w tym w cytowanych przez nas pracach opublikowanych w ostatnich 2–3 latach. [18,38].



Rys. 1. Główne etapy letalnego działania antybiotyków

Etap 1. *Działanie antybiotyków na komórki bakterii prowadzi do pierwotnych uszkodzeń struktur i procesów komórkowych, które są charakterystyczne dla danej klasy antybiotyków i zależne od ich specyficznego działania na określone tarcze molekularne.*

W laboratoriach mikrobiologicznych skuteczność antybiotyków ocenia się zwykle poprzez oznaczenie wartości MIC lub zliczanie liczby kolonii wyrosłych na podłożach stałych w obecności określonych stężeń antybiotyków. Parametry te nie odzwierciedlają jednak samego efektu bójczego antybiotyków, to jest wydajności w zabijaniu komórek, bowiem są zależne od wielu innych czynników takich jak: szybkość transportu antybiotyków do wnętrza komórki, sprawność białek transportowych i mechanizmu *efflux pumps*, stopień powinowactwa danego antybiotyku i docelowej tarczy komórkowej, oporność genetyczna lub fizjologiczna na określone antybiotyki [4, 5].

Etap 2. *Pierwotne uszkodzenia struktur i procesów komórkowych stymulują szlaki metaboliczne do syntezy reaktywnych form tlenu.*

Szlaki te można blokować, a zatem ograniczać w komórkach pulę RTF, poprzez traktowanie komórek chelatorami jonów żelaza lub antyoksydantami, hamowanie transportu łańcucha elektronów oraz enzymów cyklu Krebsa. Szlaki te można także stymulować, a zatem zwiększać komórkową pulę ROS, poprzez inaktywację genów kodujących syntezę katalazy i peroksydazy lub hamowanie ich aktywności.

Etap 3. *Rodniki tlenowe, w tym szczególnie rodnik hydroksylowy, generowany w reakcji Fentona, wprowadzają drugorzędowe uszkodzenia w cząsteczkach DNA, RNA, białek i lipidów.*

Etap 4. *Drugorzędowe uszkodzenia polimerów komórkowych dodatkowo bardzo silnie stymulują syntezę reaktywnych form tlenu, a kiedy ich pula komórkowa osiągnie poziom krytyczny, rozpoczyna się proces jej gwałtownej amplifikacji.*

Etap 5. *Amplifikacja puli RTF prowadzi nieuchronnie do śmierci komórek.*

Etap 6. *Pierwotne, bardzo rozległe i głębokie uszkodzenia (severe enough) mogą być bezpośrednią przyczyną śmierci komórek, bez konieczności stymulacji i amplifikacji RFT.*

Poziom zabijanych komórek w populacji w wyniku głębokich pierwotnych uszkodzeń struktur i procesów komórkowych w wyniku działania antybiotyków w wysokich stężeniach, powyżej MIC, może być oceniany w doświadczeniach z zastosowaniem związków blokujących syntezę rodnika hydroksylowego w reakcji Fentona lub znoszących aktywność RTF poprzez działanie „zmiataczy”: katalazy, peroksydazy, oksydazy cytochromowej bd lub antyoksydantów.

Piśmiennictwo

1. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010; 74(3): 417- 433.
2. Spellberg B, Powers JH, Brass EP, Miller LG, Edwards JE Jr. Trends in antimicrobial drug development: implications for the future. *Clin Infect Dis* 2004; 38(9): 1279-1286.
3. Wright GD. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5(3):175-186.
4. Jaworski A, Jurczak I, Adamczyk J. Molekularne mechanizmy i procesy komórkowe odpowiedzialne za pojawianie się oraz rozsiewanie w środowiskach naturalnych szczepów bakterii opornych na antybiotyki. *JHSM* 2016; 3: 29-50.
5. Jaworski A, Jurczak I. Geny oporności na antybiotyki są częścią metagenomu hodowlanych i niehodowlanych bakterii środowiskowych. *JHSM* 2016; 2: 5-22.
6. Walsh C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature* 2000; 406(6797): 775-781.
7. Albasa I, Becerra MC, Battán PC, Páez PL. Oxidative stress involved in the antibacterial action of different antibiotics. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317(2): 605-609.

8. Goswami M, Mangoli SH, Jawali N. Involvement of reactive oxygen species in the action of ciprofloxacin against *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(3): 949-954.
9. Dwyer DJ, Kohanski MA, Hayete B, Collins JJ. Gyrase inhibitors induce an oxidative damage cellular death pathway in *Escherichia coli*. *Mol Syst Biol* 2007;3:91.
10. Foti JJ, Devadoss B, Winkler JA, Collins JJ, Walker GC. Science. Oxidation of the guanine nucleotide pool underlies cell death by bactericidal antibiotics. 2012; 336(6079): 315-319.
11. Zhao X, Drlica K. Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress. *Curr Opin Microbiol* 2014; 21: 1-6.
12. Imlay JA, Fridovich I. Superoxide production by respiring membranes of *Escherichia coli*. *Free Radic Res Commun* 1991;12-13: 59-66.
13. Wang X, Zhao X. Contribution of oxidative damage to antimicrobial lethality. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(4): 1395-1402.
14. Wiegand I, Marr AK, Breidenstein EB, Schurek KN, Taylor P, Hancock RE. Mutator genes giving rise to decreased antibiotic susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(10): 3810-3813.
15. Liu Y, Imlay JA. Cell death from antibiotics without the involvement of reactive oxygen species. *Science* 2013; 339(6124): 1210-1213.
16. Keren I, Wu Y, Inocencio J, Mulcahy LR, Lewis K. Killing by bactericidal antibiotics does not depend on reactive oxygen species. *Science* 2013; 339(6124): 1213-1216.
17. Imlay JA. Diagnosing oxidative stress in bacteria: not as easy as you might think. *Curr Opin Microbiol* 2015; 24: 124-131.

18. Dwyer DJ, Belenky PA, Yang JH et al. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(20): E2100-9.
19. Tassotto ML, Mathews CK. Assessing the metabolic function of the MutT 8-oxodeoxyguanosine triphosphatase in *Escherichia coli* by nucleotide pool analysis. *J Biol Chem* 2002; 277(18): 15807-15812.
20. Michaels ML, Cruz C, Grollman AP, Miller JH. Evidence that MutY and MutM combine to prevent mutations by an oxidatively damaged form of guanine in DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(15): 7022-7025.
21. Saraswat V, Massiah MA, Lopez G, Amzel LM, Mildvan AS. Interactions of the products, 8-oxo-dGMP, dGMP, and pyrophosphate with the MutT nucleoside triphosphate pyrophosphohydrolase. *Biochemistry* 2002; 41(52): 15566-15577.
22. Rotman E, Kuzminov A. The mutT defect does not elevate chromosomal fragmentation in *Escherichia coli* because of the surprisingly low levels of MutM/MutY-recognized DNA modifications. *J Bacteriol* 2007; 189(19): 6976-6988.
23. Kottur J, Nair DT. Reactive Oxygen Species Play an Important Role in the Bactericidal Activity of Quinolone Antibiotics. *Angew Chem Int Ed Engl* 2016; 55(7): 2397-23400.
24. Ito R, Hayakawa H, Sekiguchi M, Ishibashi T. Multiple enzyme activities of *Escherichia coli* MutT protein for sanitization of DNA and RNA precursor pools. *Biochemistry* 2005; 44(17): 6670-6674.
25. Taddei F, Hayakawa H, Bouton M, et al. Counteraction by MutT protein of transcriptional errors caused by oxidative damage. *Science* 1997; 278(5335): 128-130.
26. Dukan S, Farewell A, Ballesteros M, Taddei F, Radman M, Nyström T. Protein oxidation in response to increased transcriptional or translational errors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 7(11): 5746-5749.

27. Maciąg-Dorszyńska M, Szalewska-Pałasz A, Węgrzyn G. Different effects of ppGpp on *Escherichia coli* DNA replication in vivo and in vitro. *FEBS Open Bio* 2013; 3: 161-164.
28. Zhao X, Drlica K. Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress. *Curr Opin Microbiol* 2014; 21: 1-6.
29. Zhao X, Hong Y, Drlica K. Moving forward with reactive oxygen species involvement in antimicrobial lethality. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70(3): 639-642.
30. Kohanski MA, Dwyer DJ, Wierzbowski J, Cottarel G, Collins JJ. Mis-translation of membrane proteins and two-component system activation trigger antibiotic-mediated cell death. *Cell* 2008; 135(4): 679-690
31. Lipuma JJ. Update on the *Burkholderia cepacia* complex. *Curr Opin Pulm Med* 2005;11(6): 528-533.
32. Mahenthiralingam E, Urban TA, Goldberg JB. The multifarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3(2): 144-156.
33. Van Acker H, Gielis J, Acke M, Cools F, Cos P, Coenye T. The Role of Reactive Oxygen Species in Antibiotic-Induced Cell Death in *Burkholderia cepacia* Complex Bacteria. *PLoS One* 2016 ; 11(7): e0159837.
34. van der Heijden J, Vogt SL, Reynolds LA, et al. Analysis of bacterial survival after exposure to reactive oxygen species or antibiotics. *Data Brief* 2016; 7: 894-899.
35. Chiang SM, Schellhorn HE. Regulators of oxidative stress response genes in *Escherichia coli* and their functional conservation in bacteria. *Arch Biochem Biophys* 2012; 525(2): 161-169.
36. Gutierrez A, Laureti L, Crussard S, et al. β -Lactam antibiotics promote bacterial mutagenesis via an RpoS-mediated reduction in replication fidelity. *Nat Commun* 2013; 4: 1610.

37. Dwyer DJ, Camacho DM, Kohanski MA, Callura JM, Collins JJ. Antibiotic-induced bacterial cell death exhibits physiological and biochemical hallmarks of apoptosis. *Mol Cell* 2012; 46(5): 561-572.

38. Zhao X, Drlica K. Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress. *Curr Opin Microbio* 2014; 21: 1-6.

Adres do korespondencji

Prof. dr hab. Adam Jaworski

Instytut Nauk o Zdrowiu, Społeczna Akademia Nauk,

90-113 Łódź, ul. Sienkiewicza 9

e-mail: adam@biol.uni.lodz.pl



Biosurfaktanty drobnoustrojów (część 1)

Microbial biosurfactants (part 1)

Katarzyna Paraszkievicz¹, Anna Kuśmierska¹

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii
Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Biosurfaktanty i surfaktanty (odpowiednio metabolity bakteryjne i ich syntetyczne odpowiedniki) dzięki swojej strukturze amfifilowej obejmującej zarówno ugrupowania hydrofilowe, jak i hydrofobowe, są związkami powierzchniowo czynnymi. Ze względu na swoją aktywność są w stanie brać udział w różnych procesach zachodzących na granicy faz, m.in. obniżają napięcie powierzchniowe i międzyfazowe oraz stabilizują emulsje i piany. Biosurfaktanty odgrywają zasadniczą rolę w ruchliwości i formowaniu biofilmów przez komórki bakteryjne, a także zwiększają rozpuszczalność i biodostępność związków hydrofobowych. Związki te są klasyfikowane ze względu na pochodzenie mikrobiologiczne, masę cząsteczkową, właściwości fizykochemiczne, sposób działania oraz strukturę chemiczną części hydrofilowej cząsteczki. Biosurfaktanty wykazują duży potencjał komercyjny w zakresie ochrony środowiska, np. zwiększają odzysk ropy naftowej i przyspieszają procesy biodegradacji/usuwania toksycznych zanieczyszczeń. Mogą być także stosowane w różnych gałęziach przemysłu, m.in. w przemyśle spożywczym, chemicznym, kosmetycznym, metalurgicznym oraz w rolnictwie, medycynie i farmacji.

Słowa kluczowe

biosurfaktant, surfaktant, napięcie powierzchniowe, krytyczne stężenie micelarne, naturalna rola fizjologiczna, zastosowania przemysłowe

Abstract

Biosurfactants and surfactants (microbial metabolites and synthetic counterparts, respectively) are surface-active compounds due to their amphiphilic structure with both hydrophilic and hydrophobic moieties. Therefore, they are able to generate various processes in the interfaces including the reduction of surface and interfacial tension as well as stabilization of emulsions and foams. Biosurfactants play an essential natural role in swarming motility and biofilm formation by microbial cells and also increase the solubility and bioavailability of hydrophobic compounds. They are classified according to their microbial origin, molecular weight, physico-chemical properties, mode of action, and the chemical structure of the molecule hydrophilic part. Biosurfactants exhibit a great commercial potential in environmental protection including enhanced oil recovery, the control of oil spills and biodegradation/ detoxification processes. They can also be used in various applications of food processing and in health, chemical, agricultural, cosmetic, mining and metallurgical industries.

Keywords

biosurfactant, surfactant, surface tension; critical micelle concentration; natural physiological role, industrial applications

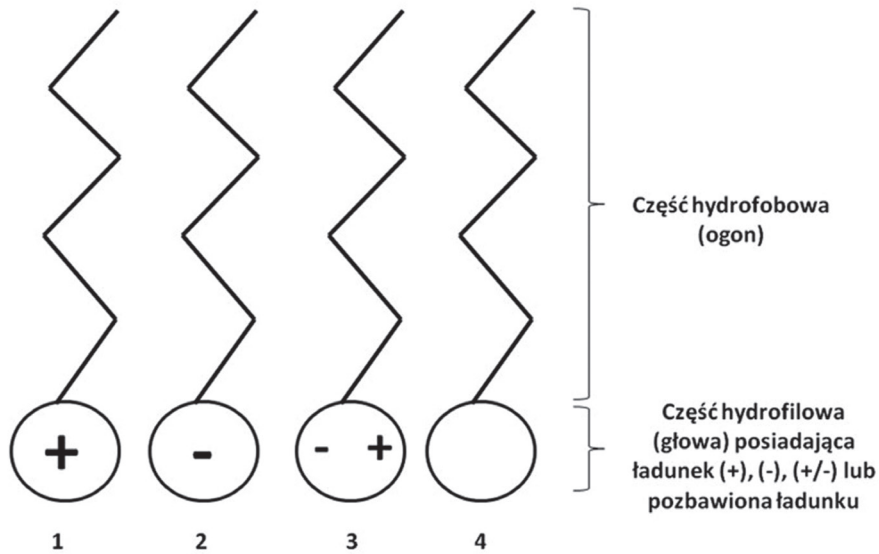
Cechy charakterystyczne i podział biosurfaktantów

Biosurfaktanty (*biological surface active agents*), to związki powierzchniowo czynne (ZPC) pochodzenia biologicznego. Wytwarzane są przez rośliny – np. saponiny obficie gromadzone w tkankach takich roślin takich jak mydlnica lekarska (*Saponaria officinalis* L.) czy też biosurfaktanty wydzielane przez komórki korzeni różnorodnych roślin do ryzosfery. ZPC pochodzenia zwierzęcego to m.in. lecytyna i tzw. surfaktant płucny. Niemniej najbardziej liczną grupą organizmów zdolnych do syntezy biosurfaktantów są drobnoustroje (głównie bakterie i drożdże). Charakterystyczną cechą tej grupy związków, jak również surfaktantów syntetycznych (otrzymywanych w wyniku przetwarzania składników ropy naftowej) jest amfipatyczna (amfifilowa) budowa, co oznacza, że cząsteczki zawierają jednocześnie część hydrofilową oraz część hydrofobową. Ze względu na ładunek części hydrofilowej surfaktanty dzielone są na jonowe (kationowe, anionowe i amfoteryczne) oraz niejonowe (Ryc. 1) [1, 2].

Większość mikrobiologicznych ZPC ma charakter obojętny lub anionowy, a tym samym jest mniej toksyczna dla organizmów w porównaniu z syntetycznymi odpowiednikami. Cząsteczki związków amfifilowych gromadzą się na granicy dwóch faz o przeciwnej polarności, co z kolei powoduje spadek napięcia międzyfazowego (określanego terminem napięcia powierzchniowego, w wypadku granicy między powietrzem i wodą). Zależnie od budowy chemicznej oraz rodzaju sąsiadujących ze sobą faz (powietrze/płyn; płyn/płyn; powierzchnia stała/powietrze lub powierzchnia stała/płyn) ZPC mogą brać udział w przebiegu i stabilizowaniu różnych, czasem przeciwstawnych procesów. Należą do nich m.in. obniżanie napięcia powierzchniowego i międzyfazowego, stabilizacja (lub destabilizacja) emulsji i pian, zwilżanie, koagulacja, dyspersja oraz działanie antystatyczne [3, 4, 5].

Najczęściej stosowane kryteria podziału mikrobiologicznych ZPC to budowa chemiczna części hydrofilowej oraz wielkość cząsteczek. Część hydrofilowa biosurfaktantów może zawierać fosforan, kwas karboksylowy, liniowy lub cykliczny peptyd, węglowodan, aminokwas lub alkohol. W skład domeny hydrofobowej wchodzi zazwyczaj reszta kwasu tłuszczowego, a w niektórych przypadkach hydrofobowe aminokwasy polipeptydu lub białka [6]. Zgodnie z tym podziałem mikrobiologiczne surfaktanty dzielone są na pięć klas: 1) glikolipidy, do których zaliczane

są ramnolipidy, soforolipidy, lipidy mannozyloerytritolu (MELs), lipidy trechalozy oraz lipidy celobiozy; 2) lipopeptydy i lipoproteiny; 3) kwasy tłuszczowe, fosfolipidy i lipidy obojętne; 4) biosurfaktanty złożone (np. glikolipoproteiny) oraz 5) biosurfaktanty specjalne obejmujące m.in. składniki fimbrii i otoczek (Tab. 1) [2,5].

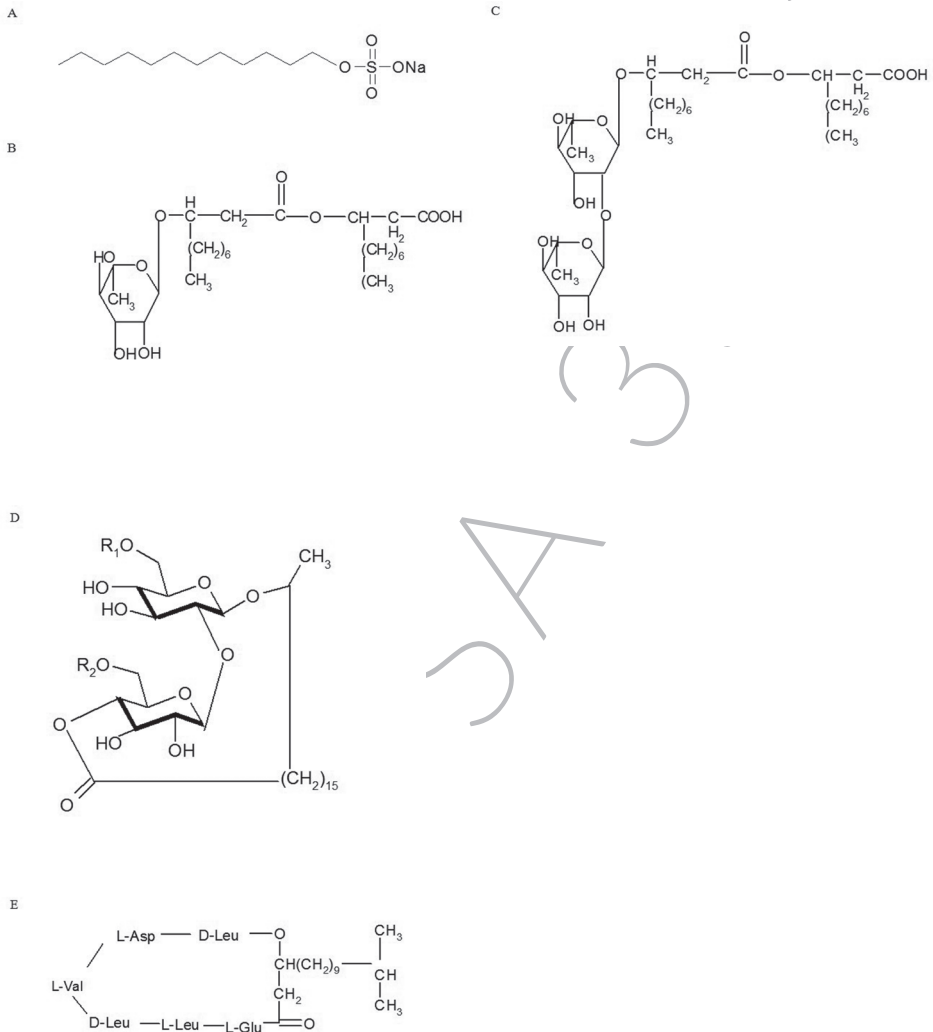


Rycina. 1. Schemat amfifilowej budowy cząsteczki surfaktantu. Ze względu na obecność i rodzaj ładunku części hydrofilowej wyróżniane są surfaktanty kationowe (1), anionowe (2), amfoteryczne (3) oraz niejonowe (4). Rysunek zmodyfikowany wg. [1, 2].

Tabela 1. Podział biosurfaktantów ze względu na budowę chemiczną i wielkość cząsteczek (N – surfaktanty niskocząsteczkowe; W – surfaktanty wysokocząsteczkowe). Tabela zmodyfikowana wg. [2, 7].

Klasa	grupa, rodzina ZPC lub przykład związku	Drobnoustrój
Glikolipidy (N)	Ramnolipidy	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Serratia</i> sp.
	Soforolipidy	<i>Candida bombicola</i> , <i>Candida apicola</i>
	Lipidy trehalozy	<i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Arthrobacter</i> sp. <i>Mycobacterium</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp.
	Lipidy celobiozy	<i>Ustilago maydis</i>
	Lipidy mannozylo-erytritolu	<i>Pseudozyma</i> sp.
Lipopeptydy (N)	Rodziny: surfaktyny, ituryny, fengicyny, syringomycyna	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.
Lipoproteiny (W)		<i>Lactobacillus</i> sp.
Kwasy tłuszczowe (N)		<i>Penicillium spiculisporum</i> <i>Corynebacterium lepus</i>
Fosfolipidy, Lipidy obojętne (W)		<i>Corynebacterium alcalolyticum</i> <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>
Złożone (W)*	Emulsan Rag 1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG 1
	Alasan	<i>Acinetobacter radioresistens</i> KA53
	Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> A2
	Mannoproteina	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
	inne	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Curvularia lunata</i> IM 2901
Specjalne(W)*	fimbrie, otoczki	<i>Staphylococcus aureus</i>

Wzory wybranych biosurfaktantów przedstawiono na Ryc. 2 [7].



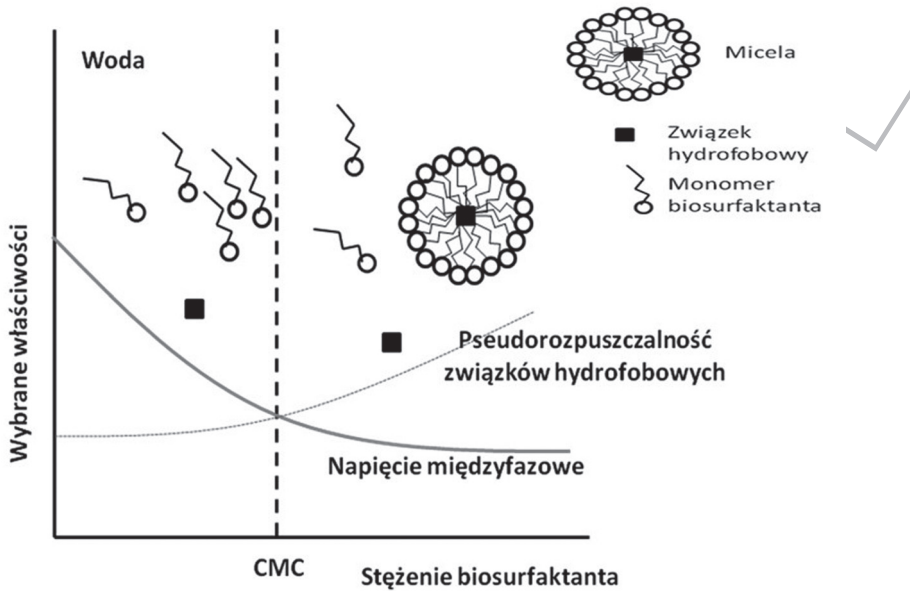
Rycina 2. Wzory strukturalne wybranych związków powierzchniowo czynnych: A) syntetyczny surfaktant dodecylosiarczan sodu (SDS); B) monoramnolipid* *P. aeruginosa* ($C_{26}H_{48}O_9$) o masie molowej 504 g; C) diramnolipid* *P. aeruginosa* ($C_{32}H_{58}O_{13}$) o masie molowej 650g; D) soforolipid (w postaci laktonu) wytwarzany przez *C. bombicola*; E) lipopeptyd surfaktyna *B. subtilis*.

*Przedstawione na rycinie ramnolipidy są dominującymi składnikami preparatu JBR 425, produkowanego przez Jeneil Biosurfactant Company, USA [8].

Zaproponowana przez Rosenberg i Ron (1999) [8] klasyfikacja wyróżnia nisko- i wysokocząsteczkowe biosurfaktanty. Do pierwszej grupy należą związki o masie nieprzekraczającej 2000 Da, zazwyczaj zdolne do bardzo silnego obniżania napięcia międzyfazowego i powierzchniowego. Przykładem takiego biosurfaktantu jest surfaktyna (cykliczny lipopeptyd o masie cząsteczkowej 1036 Da, wytwarzany przez szczepy różnych gatunków *Bacillus*, w tym przede wszystkim *B. subtilis* i *B. amyloliquefaciens*). Związek ten już w bardzo niskim stężeniu (13–30 mg/l) obniża napięcie powierzchniowe z 72 (wartość charakterystyczna dla układu woda/powietrze) do 27 mN/m, jest także silnie pianotwórczy, natomiast wykazuje niewielką aktywność emulgacyjną. Z kolei biosurfaktanty wysokocząsteczkowe (o masie dochodzącej nawet do 1000 kDa) to w większości efektywne emulgatory. Do takich biosurfaktantów należą m.in. lipoproteiny oraz związki z klasy biosurfaktantów złożonych (np. emulsan produkowany przez szczepy *Acinetobacter calcoaceticus*).

Badania aktywności powierzchniowej biosurfaktantów

Do ważnych parametrów charakteryzujących własności fizykochemiczne surfaktantów należą: krytyczne stężenie micelarne (*critical micelle concentration*, CMC), napięcie powierzchniowe, napięcie międzyfazowe, równoważnik hydrofilowo-lipofilowy (*hydrophile-lipophile balance*, HLB) oraz zdolność do stabilizowania (destabilizacji) emulsji i pian. Krytyczne stężenie micelarne obrazuje rozpuszczalność ZPC w wodzie. Dla surfaktantu w stężeniu CMC napięcie powierzchniowe osiąga najniższą wartość (Rys. 3). Po przekroczeniu stężenia CMC monomery biosurfaktantu agregują, formując różnego rodzaju skupienia. Najczęściej są to micelle, ale mogą to być także nanostruktury o charakterze rurek, układów dwuwarstwowych lub pęcherzyków [9]. Wartości CMC mikrobiologicznych ZPC zazwyczaj są o wiele niższe w porównaniu z surfaktantami syntetycznymi. Na przykład soforolipidy w stężeniu CMC, wynoszącym około 40 mg/l, powodują spadek napięcia powierzchniowego do wartości około 34 mN/m. Uzyskanie podobnego efektu dla dodecylosiarczanu sodu (SDS) wymaga użycia tego surfaktantu w wielokrotnie wyższym stężeniu (2120 mg/l). W środowisku wodnym ZPC formują tzw. micelle proste, w których cząsteczki eksponują domeny hydrofilowe na zewnątrz (Ryc. 3) [2].



Rycina 3. Schematyczne przedstawienie zależności między stężeniem surfaktantu w roztworze wodnym a napięciem międzyfazowym, zdolnością do formowania skupień (miceli) i rozpuszczania związków hydrofobowych; CMC (krytyczne stężenie micelarne).

Rysunek zmodyfikowany [2].

W takich układach obserwowany jest wzrost rozpuszczalności dodawanych związków hydrofobowych ponad granicę ich rozpuszczalności w wodzie. Zjawisko wynika z łokowania się cząsteczek wprowadzanego związku w hydrofobowym wnętrzu skupień biosurfaktantu i określane jest mianem pseudorozpuszczania. Natomiast w płynach niepolarnych formowane są tzw. micelle odwrócone. Napięcie powierzchniowe wyznaczone jest przy użyciu tensjometru. Badanie to pozwala wyznaczyć jednocześnie wartość CMC oraz charakterystyczne dla danego surfaktantu napięcie powierzchniowe. W celu porównywania aktywności różnych surfaktantów napięcie międzyfazowe zazwyczaj wyznaczone jest na granicy n-heksadkanu i wodnego roztworu surfaktantu, dodanego w stężeniu CMC. Wartość HLB określa stopień hydrofobowości związku [10]. Parametr ten używany jest przede wszystkim do charakteryzowania aktywności emulgacyjnej syntetycznych surfaktantów. Jako wzorce hydrofobowości przyjęto kwas oleinowy oraz oleinian sodu, którym przyporządkowano

odpowiednio najniższą wartość równą 1 i najwyższą – równą 20 w skali HLB. Wzrost wartości HLB oznacza wyższą hydrofilowość związku. Biosurfaktanty, dla których wartość HLB nie przekracza 6, tworzą emulsje typu „woda w oleju” (olej tworzy fazę ciągłą, w której zawieszono są kropelki wody). Z kolei związki o wartościach HLB mieszczących się w zakresie 10–18 tworzą emulsje typu „olej w wodzie”. Do określenia aktywności emulgacyjnej (E_{24}) wykorzystuje się próbki płynów pochodzących, które miesza się intensywnie z równoważną objętością płynu o charakterze hydrofobowym. Najczęściej są to mieszaniny węglowodorów lub czyste węglowodory, takie jak: kerosen – mieszanina płynnych węglowodorów, mieszanina heksadekanu i 2-metylnaftalenu lub sam heksadekan. Po 24 godzinach określana jest zawartość stabilnej emulsji w próbie i/lub gęstość optyczna emulsji (najczęściej przy długości fali $\lambda=600$ nm).

Rola fizjologiczna biosurfaktantów

Zdolność drobnoustrojów do produkcji biosurfaktantów jest bardzo powszechna, co tłumaczy się wysokim stosunkiem powierzchni komórek (szczególnie bakteryjnych) do ich objętości. Biosurfaktanty biorą udział w generowaniu różnych procesów na granicy faz, w tym także na granicy komórki i środowiska zewnętrznego, poprzez wpływ na fizjologię i procesy metaboliczne bakterii. Zdolność do produkcji biosurfaktantów jest często opisywaną cechą drobnoustrojów wykorzystujących jako źródło węgla i energii alkanany oraz węglowodory aromatyczne. Wynika to z faktu, że ZPC zwiększają rozpuszczalność związków hydrofobowych w roztworach wodnych, biorą udział w stabilizowaniu mikroemulsji oraz wpływają na hydrofobowość powierzchni komórek, a tym samym w istotny sposób zwiększają dostępność i przyspieszają transport hydrofobowych składników odżywczych [11, 12]. Obecność biosurfaktantów może wpływać zarówno na poszczególne komórki, jak i całe populacje. Na przykład niektóre cykliczne lipopeptydy wytwarzane przez bakterie z rodzaju *Bacillus* i *Pseudomonas*, poza bardzo wysoką aktywnością powierzchniową, charakteryzują się aktywnością biologiczną, m.in. działaniem przeciwdrobnoustrojowym, zdolnością do aktywowania indukowanej odporności systemicznej roślin (*Induced Systemic Resistance*, ISR), biorą udział w ruchu rozpełzliwym (*swarming motility*) oraz w formowaniu biofilmów [13, 14, 15]. Van Hamme i wsp. (2006) [4] zaproponowali podział funkcji mikrobiologicznych surfaktantów na:

1. wewnątrzkomórkowe (pobieranie i przechowywanie związków odżywczych, regulacja aktywności genów i enzymów);
2. zewnątrzkomórkowe (ruch ślizgowy oraz modulowanie hydrofobowości osłon komórkowych wpływające na zdolność komórek do adhezji/desorpcji,
3. międzykomórkowe – populacyjne, np. formowanie biofilmów, udział w oddziaływaniach antagonistycznych, patogenezie.

Przykładem biosurfaktantów o stosunkowo dobrze rozpoznanej roli fizjologicznej są soforolipidy produkowane przez osmofilne drożdże m.in. *Candida apicola* i *C. bombicola*. Większość szczepów zdolnych do wytwarzania soforolipidów wyizolowano ze środowisk związanych z pszczołami i trzmielami (miód, płatki kwiatów, powierzchnia czerwi). Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że soforolipidy mogą stanowić dla produkujących je szczepów jedyne źródło węgla. Tym samym synteza soforolipidów może być dla drożdży sposobem na obniżenie ciśnienia osmotycznego oraz otrzymanie zewnątrzkomórkowego i jednocześnie mniej dostępnego dla innych organizmów materiału zapasowego. Ponieważ soforolipidy wykazują silne działanie przeciwdrobnoustrojowe, synteza tych związków prawdopodobnie dodatkowo ułatwia produkującym je szczepom utrzymanie zajmowanej niszy ekologicznej [16, 17].

Kierunki wykorzystania biosurfaktantów

Możliwości stosowania biosurfaktantów obejmują przede wszystkim procesy wydobywania i transportu ropy naftowej [18, 19] przemysł spożywczy i rolnictwo [20,21] bioremediację [12, 22], przemysł kosmetyczny [23] oraz farmację i medycynę [24, 25]. Potencjał komercyjny biosurfaktantów został opisany także w innych pracach przeglądowych [26, 27].

Przemysł petrochemiczny i górnictwo

Dodatek niektórych biosurfaktantów bardzo silnie obniża lepkość, a tym samym ułatwia przepompowywanie i transport rurociągami oleistych frakcji ropy naftowej. Związki powierzchniowo czynne zwiększają także efektywność mycia urządzeń, w których magazynowana jest ropa naftowa. Dotyczy to przede wszystkim czyszczenia ładowni tankowców, ponieważ ciężkie frakcje ropy, osadzające się na dnie zbiorników, zmniejszają ładowność statków. W powyższych aplikacjach biosurfaktanty można stosować w formie nieoczyszczonej – w postaci całych hodowli

lub płynów pohodowlanych. Brak konieczności izolacji i oczyszczania biosurfaktantów bardzo obniża koszty użycia tych związków. Zastąpienie syntetycznych surfaktantów związkami pochodzenia biologicznego jest korzystne nie tylko z punktu widzenia ochrony środowiska. Ma także korzystny wpływ na bezpieczeństwo pracy. Złoża ropy naftowej, których nie opłaca się eksploatować tradycyjnymi metodami, często zawierają znaczną ilość surowca zalegającego w przestrzeniach kapilarnych skały. Z takich miejsc można wydobywać ropę naftową, stosując tzw. przepłukiwanie złoża. Metody określane terminem MEOR (*Microbial Enhanced Oil Recovery*) wykorzystują właśnie zdolność drobnoustrojów do wytwarzania biosurfaktantów. Obecność tych związków w złożu przyspiesza desorpcję i zwiększa efektywność wydobywania węglowodorów. Metoda MEOR *ex situ* polega na wprowadzaniu do złoża hodowli drobnoustrojów namnożonej uprzednio w bioreaktorze, natomiast w technice MEOR *in situ* biosurfaktanty wytwarzane są bezpośrednio w złożu (przez szczepy wprowadzane do miejsca odwiertu albo przez mikroflorę autochtoniczną). Obie te techniki są stosunkowo tanie i wymagają jedynie kontrolowanego dostarczania składników odżywczych, wspomagających wzrost bakterii i produkcję ZPC [28, 29, 30]. Biosurfaktanty, wiążąc się z hydrofobową powierzchnią minerałów, przeciwdziałają ich flokulacji. Zjawisko to wykorzystywane jest do podwyższania wydajności wydobywania i transportu wapienia w obecności biodispersanu (biosurfaktantu *Acinetobacter calcoaceticus* A2). Biosurfaktanty różnych szczepów bakterii m.in. z rodzaju *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Arthrobacter* stosowane są do stabilizacji zawiesin węglowych.

Bioremediacja środowiska

Biosurfaktanty mogą być stosowane do oczyszczania zarówno ścieków, jak i gleby. Związki te przyspieszają rozkład hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych oraz zwiększają efektywność usuwania jonów metali. Dlatego biosurfaktanty są szczególnie przydatne do bioremediacji środowisk skażonych jednocześnie związkami ropopochodnymi i metalami ciężkimi [12, 31, 32, 33]. Anionowe biosurfaktanty (głównie ramnolipidy, soforolipidy i surfaktyna) mogą być wykorzystywane do remediacji gleby metodami wypłukiwania zanieczyszczeń biosurfaktantami wprowadzanymi do gleby w postaci roztworu lub piany (*soil extraction - flushing/washing*). W obecności ZPC dochodzi do spadku

napięcia międzyfazowego (na granicy faza stała/roztwór wodny), co w efekcie przyspiesza desorpcję hydrofobowych zanieczyszczeń oraz metali ciężkich z powierzchni cząstek gleby. Desorpcję ułatwia także utrzymywanie przez biosurfaktanty stosunkowo niskiego stężenia zanieczyszczeń w fazie wodnej. Jest to wynikiem przenikania hydrofobowych zanieczyszczeń do wewnętrznej (lipofilnej) przestrzeni miceli surfaktantów oraz wiązania kationów metali przez ujemnie naładowane domeny tych związków [34, 35]. Stosowane w metodach przepłukiwania gleby syntetyczne surfaktanty (np. SDS), pomimo niskiej ceny, charakteryzują się, w porównaniu z mikrobiologicznymi ZPC, dłuższym czasem biodegradacji i wyższą toksycznością. Dodatkową zaletą biosurfaktantów (szczególnie ramnolipidów) jest większe powinowactwo do metali ciężkich niż do wpływających na żyzność gleby jonów potasu, magnezu i wapnia.

Przemysł kosmetyczny

Soforolipidy produkowane przez *C. apicola* i *C. bombicola* wykazują duże powinowactwo do skóry oraz mają właściwości nawilżające. Związki te wchodziły w skład różnych kosmetyków przeznaczonych zarówno do makijażu, jak i pielęgnacji skóry oraz włosów. Produkty kosmetyczne z dodatkiem soforolipidów po raz pierwszy wprowadziła na rynek japońska firma Kao Co Ltd [17, 18].

Przemysł farmaceutyczny i medycyna

Wiele biosurfaktantów, głównie z grupy lipopeptydów i glikolipidów, wskazywanych jest jako potencjalne środki terapeutyczne [19, 36]. Potencjalne antybiotyki to m.in. lipopeptydy wytwarzane przez szczepy *B. subtilis* (ituryna i surfaktyna), *B. brevis* (gramicydyna S) oraz *B. polymyxa* (polimyksyny). Mechanizm ich działania polega na zwiększaniu przepuszczalności, a następnie dezintegracji błon. Wykazano, że biosurfaktanty *Candida antarctica* hamują rozwój wielu bakterii Gram-dodatnich. Szczep *P. aeruginosa* AT10 produkuje mieszaninę ramnolipidów powodujących inhibicję wzrostu różnych bakterii i grzybów, m.in. *E. coli*, *Micrococcus luteus*, *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens*, *Mycobacterium phlei*, *Staphylococcus epidermidis*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aureobasidium pullulans*. Do potencjalnych fungicydów należy także glikolipid produkowany przez *Pseudozyma fusi-*

formata oraz ituryna i fengicyna wytwarzane przez bakterie z rodzaju *Bacillus*. Inne lipopeptydy syntetyzowane przez *Bacillus* – surfaktyna i jej analog pumilacydyna, a także glikolipid produkowany przez *Rhodococcus erythropolis* wykazują aktywność przeciwwirusową. Mechanizm działania tych związków opiera się prawdopodobnie na niszczeniu osłony lipidowej, obecnej na cząstkach niektórych wirusów. Obecnie prowadzone badania m.in. koncentrują się na określeniu wpływu lipopeptydów i glikolipidów produkowanych przez bakterie z rodzaju *Bacillus*, *Candida* oraz *Streptosporangium* na komórki ssacze. W wyniku działania tych związków na komórki nowotworowe zaobserwowano zahamowanie proliferacji, stymulację różnicowania się komórek lub indukcję procesów prowadzących do apoptozy [37].

Inne potencjalne zastosowanie tych związków to ochrona różnych powierzchni przed rozwojem drobnoustrojów zdolnych do adhezji i tworzenia biofilmów. Na przykład lipopeptydy *Bacillus* hamowały proces formowania się drobnoustrojowych biofilmów i powodują rozpad już utworzonych biofilmów bakterii uropatogennych [38]. Przeciwbiofilmowa aktywność biosurfaktantów może być wykorzystana do ochrony jałowości powierzchni protez, implantów i cewników, powierzchni roboczych w zakładach przemysłu spożywczego czy też w ochronie sieci wodociągowych [39].

Znaczenie w farmakologii mogą mieć także biosurfaktanty zdolne do wiązania się z ludzkimi przeciwciałami IgG, hamowania działania niektórych enzymów lub przyspieszające rozpuszczanie skrzepów krwi. Biosurfaktanty stabilizujące emulsje mogą z kolei pełnić funkcję adiuwantów w szczepionkach lub ułatwiać transport i wchłanianie leków [40].

Rolnictwo

Wykazano, że obecność niektórych biosurfaktantów poprawia własności hydrofilowe gleby. Biosurfaktanty można także stosować jako dodatek do hydrofobowych nawozów sztucznych i pestycydów. Zabieg ten zwiększa rozpuszczalność i efektywność działania preparatów [13]. Z uwagi na aktywność lityczną ramnolipidów *P. aeruginosa* wobec zarodników fitopatogennych szczepów *Botrytis cinerea* i *Rhizoctonia solani*, zaproponowano wykorzystanie tych biosurfaktantów jako biofungicydów [21].

Przemysł spożywczy

Dodatek emulgatorów korzystnie wpływa na teksturę wielu produktów spożywczych. Obecnie rolę tę odgrywają przede wszystkim związki pochodzenia roślinnego oraz mikrobiologiczne wielocukry. Wykazano, że surfaktanty drożdży *Candida utilis* oraz mannoproteinę *S. cerevisiae* można wykorzystać jako czynniki stabilizujące emulsje w środkach spożywczych. Inną potencjalną funkcją biosurfaktantów jest modyfikacja własności reologicznych. Zdolność bioemulgatora *Enterobacter cloacae* do zwiększania lepkości w środowisku o niskim pH pozwala użyć tego związku w produktach stabilizowanych kwasem cytrynowym lub askorbinowym. L-ramnoza jest jednym z prekursorów środków zapachowych stosowanych w przemyśle spożywczym. Opracowano metodę otrzymywania tego związku na drodze hydrolizy ramnolipidów *P. aeruginosa* [41]. Ważnym zagadnieniem jest ochrona żywności przed rozwojem patogenych drobnoustrojów (m.in. z rodzaju *Listeria*, *Enterococcus*, *Salmonella*, *Proteus*) zdolnych do adhezji, wspomaganą wytwarzaniem biofilmów. Wykazano, że biosurfaktanty ograniczające własności adhezyjne bakterii oraz powodujące rozpad biofilmów korzystnie wpływają na efektywność działania antybiotyków dodawanych do produktów spożywczych.

Inne zastosowania biosurfaktantów

Wskazywana jest możliwość stosowania mikrobiologicznych ZPC podczas niektórych etapów produkcji papieru i tkanin jako czynniki stabilizujące układy dyspersyjne (w przemyśle ceramicznym i w produkcji farb) oraz jako środki czyszczące specjalnego przeznaczenia (np. do mycia precyzyjnych urządzeń, wrażliwych na działanie chemicznych detergentów [18].

Piśmiennictwo

1. Paraszkievicz K, Długoński J. Biosurfaktanty drobnoustrojowe – synteza i zastosowanie. *Biotechnologia* 2003; 4 (63): 82-91.
2. Paraszkievicz K. Biosurfactant enhancement factors in microbial degradation processes. W: Długoński J, editor. *Microbial biodegradation: from omics to function and application*. Caister Academic Press, 2016. ISBN: 978-1-910190-45-6 <http://www.horizonpress.com/biodegradation> str.167-182.

3. Desai JD, Banat IM. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Molec Biol Rev* 1997; 61: 47-64.
4. Van Hamme JD, Singh A, Ward OP. Physiological aspects: Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. *Biotechnol Adv* 2006; 24: 604-620.
5. Dhanarajan G, Sen R. Amphiphilic molecules of microbial origin: classification, characteristics, genetic regulations and pathways for biosynthesis. W: Mulligan CN, Sharma SK, Mudhoo A, editors. *Biosurfactants: research trends and applications*. CRC Press Taylor & Francis Group; 2014. str. 31-48.
6. Soberón-Chávez G, Maier RM. Biosurfactants: A general overview. W: Soberón-Chávez G, editor. *Biosurfactants: from genes to applications*. Microbiology Monographs. Springer Verlag Berlin Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2011. str. 2-11.
7. Urum K, Pekdemir T, Çopur M. Screening of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing. *J Environ Eng Sci* 2005; 4(6): 487-496.
8. Rosenberg E, Ron EZ. High- and low-molecular-mass microbial surfactants. *Appl Microbiol Biotechnol* 1999; 52: 154-162.
9. Hamley IW. Lipopeptides: from self-assembly to bioactivity. *Chem Commun (Camb)*. 2015; 21: 8574-83.
10. Łebkowska M. Biologiczne związki powierzchniowo czynne i ich zastosowanie do oczyszczania gruntów z produktów naftowych. *Biotechnologia* 2004; 1: 43-53.
11. Sotirova A, Spasova D, Vasileva-Tonkova E, Galabova D. Effects of rhamnolipid-biosurfactant on cell surface of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Res* 2009; 164: 297-303.
12. Pacwa-Płociniczak M, Płaza GA, Piotrowska-Seget Z, Cameotra SS. Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 633-654.

13. Ongena M, Jacques P. Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol* 2008; 16: 15-25.
14. Raaijmakers JM, De Bruijn I, Nybroe O, Ongena M. Natural functions of lipopeptides from Bacillus and Pseudomonas: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol Rev* 2010; 34: 1037-1062.
15. Singh AK, Dhanjal S, Cameotra SS. Surfactin restores and enhances swarming motility under heavy metal stress. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2014; 116: 26-31.
16. Van Bogaert INA, Zhang J, Soetaert W. Microbial synthesis of sophorolipids. *Proc Biochem* 2011; 46: 821-833.
17. Paraszkiwicz K, Jasińska A, Słaba M. Budowa produkcja i zastosowanie soforolipidów. *Pol J Cosmetol* 2012; 15(1): 15-20.
18. Banat IM, Franzetti A, Gandolfi I, Bestetti G, Martinotti G, Fracchia L, Smyth TJ, Marchant R. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Appl Microbiol Biotechnol* 2010; 87: 427-444.
19. Bachmann RT, Johnson AC, Edyvean, RGJ. Biotechnology in the petroleum industry: An overview. *Int Biodeterior Biodegradation* 2014; 86: 225-237.
20. Sachdev DP, Cameotra SS. Biosurfactants in agriculture. *Appl Microbiol Biotechnol* 2013; 97: 1005-1016.
21. Campos JM, Stamford TL, Sarubbo LA, de Luna JM, Rufino RD, Banat IM. Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnol Prog* 2013; 29(5): 1097-1108.
22. Bustamante M, Durán N, Diez MC. Biosurfactants are useful tools for the bioremediation of contaminated soil: a review. *J Soil Sci Plant Nutr* 2012; 12: 667-687.

23. Kanlayavattanakul M, Lourith N. Lipopeptides in cosmetics. *Int J Cosmet Sci* 2010; 32(1):1-8
24. Gharaei-Fathabad E. Biosurfactants in Pharmaceutical Industry (A Mini-Review). *American J Drug Discov Dev* 2011; 1: 58-69.
25. Fariq A, Saeed A. Production and Biomedical Applications of Probiotic Biosurfactants. *Curr Microbiol* 2016; 72(4): 489-495
26. Singh A, van Hamme JD, Ward OP. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Applications aspects. *Biotech Adv* 2007; 25: 99-121.
27. Reis RS, Pacheco GJ, Pereira AG, Freire, DMG. Biosurfactants: production and applications. W: Chamy R, editor. *Biodegradation – Life of Science*. InTech, 2013, str. 31-61.
28. Silva RCFS, Almeida DG, Rufino RD, Luna JM, Santos VA, Sarubbo LA. Application of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 12523-12542.
29. Liu JF, Mbadanga SM, Yang SZ, Gu JD, Mu BZ. Chemical structure, property and potential applications of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* in petroleum recovery and spill mitigation. *Int J Mol Sci* 2015; 3: 4814-37.
30. Patel J, Borgohain S, Kumar M, Rangarajan V, Somasundaran P, Sen R. Recent developments in microbial enhanced oil recovery. *Renew Sust Energ Rev* 2015; 52: 1539-1558.
31. Chakraborty J, Das S. Biosurfactant-based bioremediation of toxic metals. W: Das S, editor. *Microbial Biodegradation and Bioremediation*. Elsevier, 2014, str. 167-201.
32. Mulligan CN. Enhancement of remediation technologies with biosurfactants. W: Mulligan CN, Sharma SK, Mudhoo A, editors. *Biosurfactants: research trends and applications*. CRC Press Taylor & Francis Group, 2014, str. 231-276.

33. Souza EC, Vessoni-Penna TC, de Souza Oliveira RP. Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: An overview. *Int Biodeterior Biodegrad* 2014; 89: 88-94.
34. Lima TM, Procópio LC, Brandão FD, Carvalho AM, Tótola MR, Borges AC. Simultaneous phenanthrene and cadmium removal from contaminated soil by a ligand/biosurfactant solution. *Biodegradation* 2011; 22: 1007-15.
35. da Rosa CFC, Freire DMG, Ferraz HC. Biosurfactant microfoam: application in the removal of pollutants from soil. *J Environ Chem Eng* 2015; 3: 89-94.
36. Rodrigues LR, Teixeira JA. Biomedical and therapeutic applications of biosurfactants. *Adv Exp Med Biol* 2010; 672: 75-87.
37. Krasowska A. Biomedyczna aktywność biosurfaktantów. *Postępy Hig Med Dośw* 2010; 64: 310-313.
38. Moryl M, Spętana M, Dziubek K, Paraszkiwicz K, Różalska S, Płaza GA, Różalski A. Antimicrobial, antiadhesive and antibiofilm potential of lipopeptides synthesised by *Bacillus subtilis*, on uropathogenic bacteria. *Acta Biochim Pol* 2015; 62: 725-32.
39. Banat IM, De Rienzo MA, Quinn GA. Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014; 98(24): 9915-29.
40. Cameotra SS, Makkar RS. Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. *Curr Opin Microbiol* 2004; 7: 262-6.
41. Nitschke M, Costa SGV. Biosurfactants in food industry. *Trends Food Sci Technol* 2007; 18, 252-259.

Adres do korespondencji

Katarzyna Paraszkievicz

e-mail: katarzyna.paraszkievicz@biol.uni.lodz.pl

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii

Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii,

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16,

90-237, Łódź,

tel. (48-42) 6354146,

fax(48-42)6655818.

CC-BY-SA 3.0



Biosurfaktanty drobnoustrojów (część 2)

Microbial biosurfactants (part 2)

Katarzyna Paraszkiewicz¹, Anna Kuśmierska¹

¹ Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii
Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Biosurfaktanty pochodzenia drobnoustrojowego (produkowane głównie przez bakterie i drożdże) wykazują szereg zalet w porównaniu ze swoimi syntetycznymi odpowiednikami. Należą do nich m.in.: niższa toksyczność, wyższa podatność na biodegradację, lepsze dostosowanie się do środowiska i wyższa aktywność w ekstremalnych warunkach. Ponadto związki te są wytwarzane ze źródeł odnawialnych, w tym możliwa jest produkcja oparta na utylizacji odpadów i produktów ubocznych przemysłu rolno-spożywczego. Niemniej ze względu na niskie koszty procesów chemicznych na rynku dominują obecnie syntetyczne środki powierzchniowo czynne. Niniejszy artykuł przeglądowy omawia wybrane aspekty strategii biotechnologicznych mających na celu poprawę wydajności produkcji i komercyjnego upowszechnienia biosurfaktantów – związków określanych mianem tzw. „zielonej chemii”.

Słowa kluczowe

biosurfaktant, skrining, produkcja, strategia omikowa

Abstract

Biosurfactants of microbial origin (produced mainly by bacteria and yeast) exhibit such advantages over synthetic counterparts as lower toxicity, higher biodegradability, better environmental compatibility and higher activity under extreme conditions. Moreover, they are produced from renewable resources including wastes and by-products generated by agriculture and food processing. Nevertheless, now mainly synthetic surfactants are available in the market due to their very low price. This review article is focused on some aspects involved in the biotechnological strategies developed for improving biosurfactant production and a wider implementation of these "green chemicals" into the market.

Keywords

Biosurfactant, screening, production, omics strategy

Czynniki przyspieszające postęp badań i komercjalizację biosurfaktantów

Biosurfaktanty drobnoustrojów określane są mianem zielonego (ekologicznego) rozwiązania (*green solution*) lub zielonej chemii (*green chemistry*). Związki te charakteryzują się szeregiem zalet w porównaniu z syntetycznymi odpowiednikami. Należą do nich m.in. niższa toksyczność, wyższa aktywność powierzchniowa, różnorodna aktywność biologiczna oraz większa podatność na biodegradację, a tym samym krótszy czas zalegania w środowisku [1]. Duże znaczenie ma fakt, że biosurfaktanty produkowane są przy wykorzystaniu odnawialnych źródeł węgla, możliwe jest także użycie (jako składników podłoży mikrobiologicznych) odpadów i produktów ubocznych przemysłu rolno-spożywczego. Dlatego dodatkowym czynnikiem stymulującym jest przyjęty przez Unię Europejską dokument proponujący wsparcie dla działań rozwijających gospodarkę o obiegu zamkniętym – opartą na możliwie największym wykorzystaniu odpadów i produktów ubocznych [2]. Innym, równie ważnym dokumentem unijnym jest Dyrektywa EC No 648/2004 [3], według której wymagany jest opis podatności na biodegradację surfaktantów przeznaczonych do użycia w ochronie środowiska oraz w ochronie zdrowia.

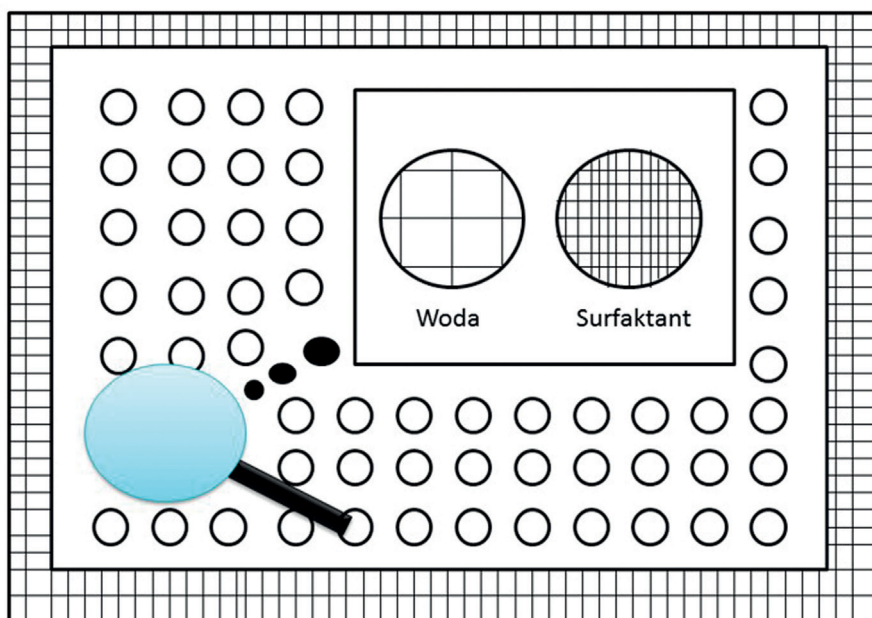
Opracowanie nowych technik badawczych (obejmujących m.in. metody chromatograficzne sprzężone ze spektrometrią mas), sposobów prowadzenia badań (tzw. strategia omikowa – *omics strategy*) oraz regulacje prawne i wzrost świadomości społeczeństwa odnośnie do konieczności ochrony środowiska naturalnego spowodowały znaczący postęp badań podstawowych, jak i prac aplikacyjnych poświęconych biosurfaktantom, w tym szczególnie ramnolipidom [4, 5, 6, 7], lipopeptydom [8, 9, 10, 11] oraz glikolipidom produkowanym przez drożdże [12, 13, 14, 15, 16].

Metody stosowane do szybkiej oceny obecności biosurfaktantów

Metody te nie wymagają specjalistycznego sprzętu. Ze względu na szybkość i prostotę wykonania stały się bardzo użyteczne podczas badań skriningowych, w których z dużej liczby szczepów izolowane są drobnoustroje produkujące surfaktanty [17, 18]. W bezpośrednich metodach skriningowych pozwalających wskazać kolonie potencjalnych producentów ZPC wykorzystywane są:

1. podłoże stałe z warstwą oleju;
2. podłoże stałe z kationowym kompleksem CTAB-MB (*Cetyltrimethylammonium bromide-Methylene Blue*);
3. podłoże agarowe z krwią baranią (*blood agar*).

Ocena zdolności do hemolizy erytrocytów wykorzystywana jest przede wszystkim do izolacji szczepów produkujących lipopeptydy i niektóre ramnolipidy. Test ten charakteryzuje się jednak dość dużym odsetkiem fałszywych wyników, co wynika z możliwości wydzielania przez mikroorganizmy innych niż surfaktanty czynników hemolizujących. Kolejne techniki wymagają przygotowania hodowli płynnych uprzednio wyizolowanych czystych kultur. Wyznaczenie aktywności emulgacyjnej (E_{24}) pozwala wykryć w płynie pohodowlanym emulgatory. Metody kolorymetryczne znalazły zastosowanie w testach wykrywających obecność anionowych biosurfaktantów (związki te tworzą z kationowymi odczynnikami barwne kompleksy). Test załamującej się kropli (*drop collapse test*) polega na umieszczeniu kropli płynu pohodowlanego na hydrofobowej powierzchni. W wypadku obecności biosurfaktantu kropla zmienia kształt i staje się płaska. W kolejnej metodzie (*oil spreading technique*) na powierzchnię wody nanoszona jest kropla oleju, na którą nakraplany jest płyn pohodowlany. Średnica powstającego przejaśnienia jest proporcjonalna do stężenia biosurfaktantu w próbie. Chen i wsp. [19] opracowali prosty w użyciu test, w którym 96-dołkowa płytka (zawierająca próby badanych płynów pohodowlanych) umieszczana jest na kartce papieru milimetrowego (Ryc.1). Obserwacja wzoru kratki pozwala wskazać szczepy, które są zdolne do syntezy ZPC, ponieważ obecność biosurfaktantów zmienia kształt formowanego przez płyn menisku. Tym samym próby działają jak soczewki przybliżające lub oddalające (zagęszczające) wzór kratki. Najczęściej jako układy odniesienia stosowana jest woda oraz roztwory syntetycznych surfaktantów (Tween 80 lub SDS) lub dostępnej w handlu surfaktyny.



Ryc. 1. Metoda stosowana do szybkiej oceny obecności biosurfaktantów. 96-dołkowa płytki (zawierająca próbkę badanego płynu pochodowlanego) umieszczana jest na kartce papieru milimetrowego. Obserwacja wzoru krętek pozwala wskazać szczepy, które są zdolne do syntezy ZPC (obecność biosurfaktantów zmienia kształt formowanego przez płyn menisku).

Czynniki regulujące syntezę biosurfaktantów

Substraty odżywcze obecne w środowisku mogą działać indukcyjnie lub powodować represję syntezy wielu biosurfaktantów. Do najczęściej opisywanych induktorów należą długołańcuchowe kwasy tłuszczowe oraz węglowodory alifatyczne typu alkanany. Dodatek tych związków do podłoża jest niezbędny podczas produkcji większości glikolipidów, lipopeptydów oraz niektórych biosurfaktantów złożonych. Natomiast represja syntezy biosurfaktantów obserwowana jest często w obecności łatwo metabolizowanych źródeł węgla np. glukozy, trójkarboksylowych kwasów czy glicerolu [20]. Rodzaj źródła węgla może wpływać zarówno na intensywność produkcji biosurfaktantów, jak i na strukturę chemiczną (a tym samym aktywność powierzchniową i/lub biologiczną) tych związków. Opisano biosurfaktanty, których wytwarzanie silnie zależy od zawartości źródła azotu oraz stężenia jonów niektórych metali, m.in.: Fe,

Mg, Ca oraz Mn [21]. Na przykład produkcja części ramnolipidów rośnie dopiero w warunkach ograniczonej dostępności azotu (przy odpowiednio wysokim stosunku C:N). Bardzo różnorodna jest także kinetyka wytwarzania związków powierzchniowo czynnych. Związki te mogą być produkowane w trakcie intensywnego wzrostu hodowli lub dopiero po osiągnięciu fazy stacjonarnej. Jeszcze inaczej (dwuetapowo) przebiega produkcja emulsanu. W logarytmicznej fazie wzrostu na powierzchni komórek gromadzony jest związek o strukturze zbliżonej do emulsanu. Wydzielanie do podłoża aktywnej formy tego surfaktantu następuje dopiero w fazie stacjonarnej. Zależnie od uzdolnień metabolicznych drobnoustrojów podłoża stosowane do produkcji surfaktantów zawierają jako źródło węgla: związki hydrofobowe (węglowodory ropy naftowej, tłuszcze zwierzęce, oleje roślinne) oraz/lub proste albo złożone węglowodany i alkohole (np. glukozę, laktozę, skrobię, etanol, glicerol). Jako źródło azotu mogą być wykorzystywane jony amonowe, azotanowe lub azot organiczny, np. w postaci hydrolizatów białkowych lub wyciągu namokowego z kukurydzy. Produkcja biosurfaktantów prowadzona jest najczęściej w podłożach płynnych, w warunkach hodowli okresowej lub hodowli ciągłej z zachowaniem małej szybkości rozcieńczania.

W literaturze opisano również metody otrzymywania niektórych ZPC przy użyciu hodowli w stałym złożu (*Solid State Fermentation, SSF*). Przykładem może być produkcja surfaktyny przez szczep *B. subtilis* namnażany na odpadach sojowych [22]. Zdolność do generowania i stabilizacji pian wykazuje wiele glikolipidów i lipopeptydów. Dlatego w hodowlach wgłębnych częstym problemem technologicznym jest pienienie. Stosowane rozwiązania technologiczne polegają m.in. na utrzymywaniu niskiego stężenia biosurfaktantu w podłożu hodowlanym. Na przykład podczas produkcji ramnolipidów hodowla jest zawracana do bioreaktora po uprzednim wydzieleniu surfaktantu na kolumnie adsorpcyjnej. Coraz częściej wykorzystuje się także metodę ciągłego odbierania i frakcjonowania płyny. Usuwanie biosurfaktantów w czasie prowadzenia hodowli ogranicza dodatkowo inhibicję produktem [23, 24].

Ekonomiczne aspekty produkcji mikrobiologicznych biosurfaktantów

Według danych opublikowanych w raporcie CAGR (2014) [25] światowa produkcja ZPC wynosi obecnie około 15 Mton rocznie, w tym 344068,40 ton stanowią surfaktanty pozyskiwane ze źródeł biologicz-

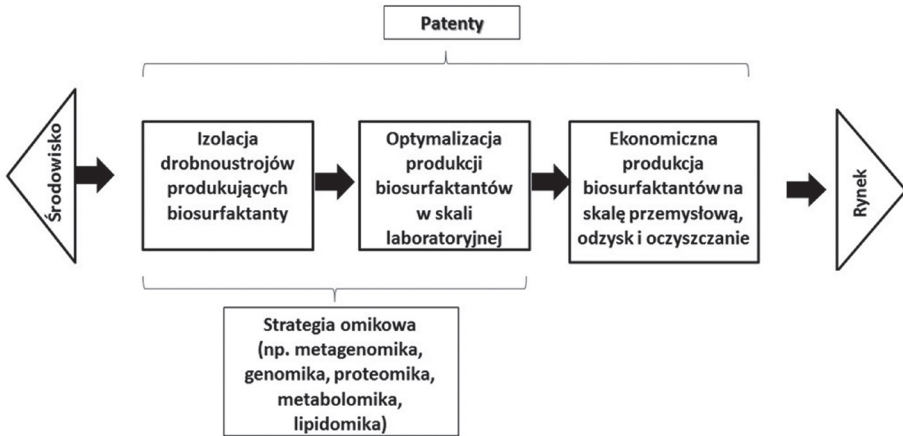
nych (*bio-based surfactants*), obejmujące głównie metyloestrosulfoniany (*metyl ester sulfonates*, MESs) oraz poliglukozydy alkilowe (*alkil polyglucosides*, APGs) otrzymywane w wyniku chemicznego przekształcania surowców roślinnych.

Tylko niektóre biosurfaktanty mikrobiologiczne osiągnęły opłacalność ekonomiczną. Należą do nich ramnolipidy, lipopeptydy, soforolipidy oraz emulsan. Do największych firm oferujących tego typu związki należą m.in. Soliance Company, Saraya Iwata Chemical Co. Ltd, Jeneil Biosurfactant Company (USA), Sigma oraz Lipofabrik. Cena drobnoustrojowych surfaktantów jest bardzo zróżnicowana i zależy m.in. od stopnia oczyszczenia (przeznaczenia produktu) oraz wydajności procesu produkcji (w tym przede wszystkim produktywności szczepu). Obecnie, w wyniku optymalizacji warunków hodowli oraz zastosowania szczepów zmodyfikowanych genetycznie, istotnie zwiększono wydajność otrzymywania niektórych ramnolipidów (do 100 g l^{-1}) oraz soforolipidów (od 400 do 700 g l^{-1}).

Prace zmierzające do obniżenia kosztów wytwarzania biosurfaktantów obejmują:

1. skryning drobnoustrojów o wysokiej wydajności produkcji ZPC lub surfaktantów zachowujących aktywność w szerokim zakresie temperatur, pH czy zasolenia,
2. udoskonalanie szczepów,
3. optymalizację składu podłoża i warunków prowadzenia bioprocessu,
4. opracowanie tańszych i bardziej wydajnych metod wydzielenia i oczyszczania produktu,
5. ograniczenie ilości odpadów poprodukcyjnych oraz ustalenie możliwości ich dalszego wykorzystania [26].

Przebieg badań mających na celu ustalenie ekonomicznych metod produkcji biosurfaktantów przedstawiono schematycznie na Ryc. 2 [27].



Rycina 2. Etapy badań ukierunkowanych na ekonomiczną produkcję biosurfaktantów – od izolacji ze środowiska do wprowadzenia oczyszczonych preparatów na rynek. Zmodyfikowane na podstawie [27].

Szczepy produkujące biosurfaktanty występują w środowisku powszechnie. Często izolowane są ze środowisk zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi, z ryzosfery, fermentowanych produktów spożywczych, wód morskich i słodkich, a także z organizmów zwierzęcych [28, 29, 30, 31]. Szczególnie poszukiwane są biosurfaktanty zachowujące aktywność powierzchniową w ekstremalnych warunkach. Stąd częstą grupą środowisk badanych w kierunku obecności drobnoustrojów zdolnych do syntezy ZPC są tzw. środowiska ekstremalne [32, 33, 34].

Szczep przemysłowy powinien być zdolny zarówno do nadprodukcji biosurfaktantu, jak i charakteryzować się innymi cechami sprzyjającymi obniżeniu kosztów produkcji (np. łatwością flokulacji, małą wrażliwością na wahania składu podłoża i warunków produkcji czy niepatogennością). Obecnie na skalę przemysłową biosurfaktanty otrzymywane są przede wszystkim przy użyciu mutantów oraz rekombinantów transpozono-nych. Selekcja mutantów ukierunkowana jest m.in. na izolację szczepów o podwyższonej produktywności, mniej wrażliwych na jonowe detergenty oraz zdolnych do wzrostu na odpadach. Kierunki modyfikacji metodami inżynierii genetycznej obejmują z kolei: konstruowanie szczepów zdolnych do rozkładu laktozy (możliwość wykorzystania serwatki jako źródła składników odżywczych) oraz transfer genów odpowiedzialnych za syntezę biosurfaktantu, np. geny ramnolipidów patogennych szczepów

P. aeruginosa wprowadzane są m.in. do komórek szczepów *P. putida* lub *P. fluorescens*. Modyfikacje genu syntetazy peptydowej pozwoliły otrzymać różne odmiany surfaktyny, głównie o ograniczonej toksyczności wobec komórek *B. subtilis* oraz erytrocytów [7, 35].

W wypadku większości biosurfaktantów koszt składników podłoża hodowlanego może mieć bardzo znaczący udział (sięgający nawet 50%) w cenie końcowego produktu [36, 37]. Ograniczenie tej grupy wydatków polega na opracowaniu podłoży o optymalnym składzie i jednocześnie zawierających tanie źródła węgla i energii. Produkcja większości biosurfaktantów wymaga obok łatwo przyswajalnego źródła węgla (glukoza, sacharoza, etanol), także związków hydrofobowych (dawniej powszechnie stosowano węglowodory ropy naftowej). Z uwagi na rosnącą cenę tego surowca i jego nieodnawialny charakter prowadzone są badania nad możliwością użycia w skali przemysłowej podłoży zawierających różne surowce roślinne oraz odpady z przemysłu rolno-spożywczego. Wykorzystywane są m.in. melasa, serwatka, odpady powstające z przetwarzania ziemniaków, ryżu i zbóż, ścieki o wysokiej zawartości węglowodanów. Obecnie źródłem związków hydrofobowych są najczęściej oleje: słonecznikowy, rzepakowy, kukurydziany czy sojowy. Z uwagi na wysoką cenę tych produktów dąży się do zastąpienia ich olejami roślinnymi, które nie mają zastosowania w przemyśle spożywczym (np. ze względu na nieodpowiedni kolor, zapach lub skład chemiczny). Innym tanim źródłem mogą być odpady (makuchy) roślin oleistych, ścieki generowane podczas produkcji mydeł, z zakładów tłuszczowego oraz zużyte oleje spożywcze [22, 38, 39]. Drugim ważnym aspektem jest optymalizacja składu podłoża, sprzyjająca wysokiej produkcji biosurfaktantów. Wiele drobnoustrojów zwiększa intensywność wydzielania ZPC w warunkach ograniczonej dostępności źródła azotu lub po dodaniu jonów Fe lub magnezu. Dlatego opracowując skład podłoża hodowlanego, określa się optymalne dla ich produkcji wartości C:N, C:P, C:Fe oraz C:Mg. Poza takimi parametrami jak temperatura, stężenie rozpuszczonego tlenu (DOT), szybkość mieszania, pH i czas określa się także sprzyjającą produkcji danego biosurfaktantu metodę prowadzenia procesu (hodowla w stałym złożu, węgłbna, powierzchniowa, okresowa, półciągła itp.) oraz parametry dodawanego inokulum [40].

Wydzielenie i oczyszczenie produktu to w wypadku wielu procesów mikrobiologicznych nawet 60% całkowitych kosztów produkcji. Duża

różnorodność metod izolacji biosurfaktantów (Tab. 1) [26] wynika przede wszystkim z różnic w budowie chemicznej tych związków. Niekiedy surfaktant można izolować, stosując odmienne techniki. Tylko niektóre biosurfaktanty wydzielane są do podłoża hodowlanego. Część z nich występuje w postaci warstwy (otoczki) przylegającej do powierzchni komórek lub stanowią składniki ściany komórkowej. W tym ostatnim przypadku wydzielenie ZPC wymaga dezintegracji komórek drobnoustrojów (przykładem może być mannoproteina *S. cerevisiae*). Spośród metod stosowanych do wydzielenia biosurfaktantów (Tab. 1) na uwagę zasługują: stosowanie pian, umożliwiające zarówno wydzielenie, jak i wstępne oczyszczenie niektórych surfaktantów, techniki ultrafiltracji oraz zastępowanie acetonu, metanolu czy chloroformu tańszymi i mniej toksycznymi rozpuszczalnikami (np. *methyl-tertiary-butyl ether*).

Tabela 1. Wybrane metody stosowane do wydzielenia i oczyszczania biosurfaktantów [26].

Metoda	Biosurfaktant
Precypitacja siarczanem amonu	Biosurfaktanty złożone, zawierające część białkową np. emulsan, biodispersan
Precypitacja acetonem	Biosurfaktanty złożone zawierające część polisacharydową oraz niektóre glikolipidy
Kwaśna precypitacja (po zakwaszeniu do pH 2) prowadzona w niskiej temperaturze	surfaktyna
Ekstrakcja organicznymi rozpuszczalnikami*	Glikolipidy oraz liposan
Kryształizacja	Glikolipidy
Wirowanie	Glikolipidy
Adsorpcja (Amberlit, węgiel aktywny), a następnie ekstrakcja	Ramnolipidy, lipopeptydy,
Wydzielenie z użyciem piany, a następnie precypitacja w niskim pH i ekstrakcja	Surfaktyna
Techniki filtracyjne:	glikolipidy

* np. chloroform; chloroform/metanol; dichlorometan/metanol; octan etylu; butanol; heksan; obecnie zastępowane tańszymi i mniej toksycznymi rozpuszczalnikami

W zależności od przeznaczenia handlowym preparatem biosurfaktantu może być płyn pochodzący, wydzielony związek lub związek otrzymany w wyniku wielokrotnie powtórzonych etapów zateżnienia i oczyszczania. Wymagany stopień oczyszczenia zależy od przeznaczenia biosurfaktantów i ma bardzo istotny wpływ na ostateczną cenę produktu. Wysoko oczyszczone związki wykorzystywane są w przemyśle farmaceutycznym oraz do produkcji większości środków spożywczych i kosmetyków. Z kolei biosurfaktanty o niskim stopniu oczyszczenia mogą być stosowane do usuwania związków naftowych i metali ciężkich ze środowiska, mycia ładowni tankowców, w produkcji farb oraz w przemyśle tekstylnym. Cena tej grupy produktów jest już konkurencyjna w porównaniu z syntetycznymi surfaktantami. Dodatkowe zalety mikrobiologicznych ZPC (niższa toksyczność, szybsze uleganie biodegradacji i możliwość stosowania w dużo niższych stężeniach) powoduje, że biosurfaktanty są coraz częściej używane w aplikacjach środowiskowych.

Regulacje prawne związane z ochroną środowiska, a także rosnące opłaty za składowanie odpadów powodują, że koszty zagospodarowania odpadów poprodukcyjnych mają coraz większy udział w całkowitych kosztach prowadzenia bioprodukcji. Poza dążeniem do ograniczenia ilości otrzymywanych odpadów badane są także potencjalne możliwości dalszego ich wykorzystania i sprzedaży.

Piśmiennictwo

1. Reis RS, Pacheco GJ, Pereira AG, Freire DMG. Biosurfactants: production and applications. W: Chamy R, Rosenkranz F, editors. Biodegradation – Life of Science. InTech; 2013. str. 31-61.
2. Communication EU Commission. 2012. "Innovating for Sustainable Growth: A Bioeconomy for Europe". COM Brussels, 13.2.2012 COM(2012) 60 final.
3. Regulation EC No. 648/2004 of the European Parliament and of the Council on detergents. Official Journal of the European Union L 104. [Internet] 2004 March 31 [cited 2017 March 29]; str. 1-35. Available from: [eur42319.pdf](#).

4. Abdel-Mawgoud AM, Lépine F, Déziel E. Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. *Appl Microbiol Biotechnol* 2010; 86: 1323–1336.
5. Müller MM, Kügler JH, Henkel M, Gerlitzki M, Hörmann B, Pöhnlein M, Syldatk C, Hausmann R. Rhamnolipids-next generation surfactants? *J Biotechnol* 2012; 31: 366–380.
6. Silva VL, Lovaglio RB, Von Zuben CJ, Contiero J. Rhamnolipids: solution against *Aedes aegypti*? *Front Microbiol* 2015; 6: 88
7. Dobler L, Vilela LF, Almeida RV, Neves BC. Rhamnolipids in perspective: gene regulatory pathways, metabolic engineering, production and technological forecasting. *N Biotechnol* 2016; 25: 123–135.
8. Mulligan CN. Characterization, production and applications of lipopeptides. W: Mulligan CN, Sharma SK, Mudhoo A, editors. *Biosurfactants: Research Trends and Applications*. CRC Press Taylor & Francis Group; 2014. str.147-176.
9. Mnif I, Ghribi D. Review lipopeptides biosurfactants: Mean classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications. *Biopolymers* 2015; 104: 129-147.
10. Walia NK, Cameotra SS. Lipopeptides: biosynthesis and applications. *J Microb Biochem Technol* 2015; 7: 103-107.
11. Meena KR, Kanwar SS. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics. *Biomed Res Int* 2015; 9 pages, doi: 10.1155/2015/473050.
12. Van Bogaert INA, Zhang J, Soetaert W. Microbial synthesis of sophorolipids. *Proc Biochem* 2011; 46: 821-833.
13. Paraszkiwicz K, Jasińska A, Słaba M. Budowa produkcja i zastosowanie soforolipidów. *Pol J Cosmet* 2012; 15(1): 15-20.

14. Roelants SL, De Maeseneire SL, Ciesielska K, Van Bogaert IN, Soetaert W. Biosurfactant gene clusters in eukaryotes: regulation and biotechnological potential. *Appl Microbiol Biotechnol* 2014; 98: 3449-3461.
15. Yu M, Liu Z, Zeng G, Zhong H, Liu Y, Jiang Y, Li M, He X, He Y. Characteristics of mannosylerythritol lipids and their environmental potential. *Carbohydr Res* 2015; 407: 63-72.
16. Morita T, Fukuoka T, Imura T, Kitamoto D. Mannosylerythritol lipids: production and applications. *J Oleo Sci* 2015; 64: 133-141.
17. Satpute SK, Banpurkar AG, Dhakephalkar PK, Banat IM, Chopade BA. Methods for investigating biosurfactants and bioemulsifiers: a review. *Crit Rev Biotechnol* 2010; 30: 127-144.
18. Walter V, Syldatk C, Hausmann R. Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms. *Adv Exp Med Biol* 2010; 672: 1-13.
19. Chen CY, Baker SC, Darton RC. The application of a high throughput analysis method for the screening of potential biosurfactants from natural sources. *J Microbiol Methods* 2007; 70: 503-510.
20. Santos AS, Sampaio AP, Vasquez GS, Santa Anna LM, Pereira NJr, Freire DM. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of rhamnolipids by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Biochem Biotechnol* 2002; 98-100: 1025-1035.
21. Banat IM, Franzetti A, Gandolfi I, Bestetti G, Martinotti G, Fracchia L, Smyth TJ, Marchant R. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Appl Microbiol Biotechnol* 2010; 87: 427-444.
22. Das K, Mukherjee AK. Comparison of lipopeptide biosurfactants production by *Bacillus subtilis* strains in submerged and solid state fermentation systems using a cheap carbon source: some industrial applications of biosurfactants. *Process Biochem* 2007; 42: 1191-1199.

23. Heyd M, Kohnert A, Tan TH, Nusser M, Kirschhöfer F, Brenner-Weiss G, Franzreb M, Berensmeier S. Development and trends of biosurfactant analysis and purification using rhamnolipids as an example. *Anal Bioanal Chem* 2008; 391: 1579-1590.
24. Henkel M, Müller MM, Kügler JH, Lovaglio RB, Contiero J, Syldatk C, Hausmann R. Rhamnolipids as biosurfactants from renewable resources: Concepts for next-generation rhamnolipid production. *Process Biochem* 2012; 47: 1207-1219.
25. CAGR report. Biosurfactants market by product (Market Research Report Code, GVR20). Grand View Research Inc. [Internet] 2015 April. [cited 2017 March 29] Available from: <http://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biosurfactants-industry>.
26. Mukherjee S, Das P, Sen R, Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends Biotechnol* 2006; 24: 509-515.
27. Paraszkiwicz K, Długoński J, Trzmielak D. Application of Recent Omics Achievements in Bioremediation Processes Illustrated by Progress in Microbial Surfactants Commercialization. W: Długoński J, editor. *Microbial Biodegradation: From Omics to Function and Application*. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2016. str. 219-232.
28. Joshi S, Bharucha C, Desai AJ. Production of biosurfactant and antifungal compound by fermented food isolate *Bacillus subtilis* 20B. *Biore-sour Technol* 2008; 99(11): 4603-4608.
29. Ebrahimi A, Tashi N, Lotfalian S. Isolation of biosurfactant producing bacteria from oily skin areas of small animals. *Jundishapur J Microbiol* 2012; 5(2): 401-404.
30. Ibrahim ML, Ijah UJJ, Manga SB, Bilbis LS, Umar S. Production and partial characterization of biosurfactant produced by crude oil degrading bacteria. *Int Biodeterior Biodegradation* 2013; 81: 28-34.

31. Płaza G, Chojniak J, Rudnicka K, Paraszkiwicz K, Bernat P. Detection of biosurfactants in *Bacillus* species: genes and products identification. *J Appl Microbiol* 2015; 119: 1023-1034.
32. Janek T, Łukaszewicz M, Rezanka T, Krasowska A. Isolation and characterization of two new lipopeptide biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* BD5 isolated from water from the Arctic Archipelago of Svalbard. *Bioresour Technol* 2010; 101: 6118-6123.
33. Jadhav VV, Yadav A, Shouche YS, Aphale S, Moghe A, Pillai S, Arora A, Bhadekar, RK. Studies on biosurfactant from *Oceanobaçillus* sp. BRI 10 isolated from Antarctic sea water. *Desalination* 2013; 318: 64-71.
34. da Silva FS, Pylro VS, Fernandes PL, Barcelos GS, Kalks KH, Schaefer CE, Tótola MR. Unexplored Brazilian oceanic island host high salt tolerant biosurfactant-producing bacterial strains. *Extremophiles* 2015; 19(3): 561-572.
35. Cha M, Lee N, Kim M, Lee S. Heterologous production of *Pseudomonas aeruginosa* EMS1 biosurfactant in *Pseudomonas putida*. *Bioresour Technol* 2008; 99: 2192-2199.
36. Marchant R, Banat IM. Microbial biosurfactants: challenges and opportunities for future exploitation. *Trends Biotechnol* 2012; 30: 558-565.
37. Satpute SK, Płaza GA, Banpurkar AG. Biosurfactants' production from renewable natural resources: example of innovated smart technology in circular bioeconomy. *Management Systems in Production Engineering* 2017; 1: 46-54.
38. Košaric N, Vardar Sukan F, red. *Biosurfactants: Production and Utilization—Processes, Technologies, and Economics*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press; 2014.
39. Moya RI, Tsaousi K, Rudden M, Marchant R, Jurado Alameda E, García Román M, Banat IM. Rhamnolipid and surfactin production from olive oil mill waste as sole carbon source. *Bioresour Technol* 2015; 198: 231-236.

40. Banat IM, Satpute SK, Cameotra SS, Patil R, Nyayanit NV. Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants' production. *Front Microbiol* 2014; 5: 697-708.

Adres do korespondencji

Katarzyna Paraszkiwicz
e-mail: katarzyna.paraszkiwicz@biol.uni.lodz.pl
Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii
Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16,
90-237, Łódź,
tel. (48-42) 6354146,
fax(48-42)6655818.



Świąd ramiennie-promieniowy – patogeneza, objawy i postępowanie lecznicze

Brachioradial pruritus – pathogenesis, symptoms and treatment

Franciszek Seneczko¹, Michał Seneczko¹, Ireneusz Jurczak¹,
Katarzyna Dudek¹, Joanna Sułkowska¹ •

¹ Katedra Dermatologii, Dermatologii Estetycznej i Kosmetologii
Społecznej Akademii Nauk w Łodzi

Streszczenie

Świąd ramiennie-promieniowy jest przewlekłą czuciową neuropatią, charakteryzującą się intensywnym świądem, uczuciem mrowienia lub pieczenia. Objawy są zlokalizowane w grzbietowo-bocznych powierzchniach kończyn górnych i znacznie pogarszającą jakość życia osób dotkniętych. Etiologia dolegliwości jest wieloczynnikowa, jednak mechanizmy patofizjologiczne nieznane. W części przypadków zależnych od uszkodzeń skóry postłonecznych, objawy nasilają się późnym latem i jesienią oraz dotyczą przeważnie osób o jasnej karnacji. Dolegliwości są trudne do leczenia.

Prezentowana praca obejmuje przegląd aktualnego stanu wiedzy na temat świądu ramiennie-promieniowego.

Słowa kluczowe

świąd, świąd ramiennie-promieniowy, choroby skóry, świąd neuropatyczny, leczenie świądu

Summary

Brachioradial pruritus is a chronic sensory neuropathy, characterized by intense itching, tingling Or burning feeling. Symptoms are located in the dorsal-lateral surfaces of the Upper limbs and significantly deteriorating the quality of life of people affected. The etiology diseases is multifactorial, but pathophysiological mechanisms are unknown. In some cases, depending on the damage to the skin sunspots, symptoms intensify in the late summer and autumn, and mostly relate to people with fair skin. Symptoms are difficult to treat.

The present work includes a review of the current state of knowledge about the itching brachioradial.

Keywords

pruritus, brachioradial pruritus, skin diseases, neuropathic itch, itch therapy

Wprowadzenie

Świąd (*pruritus*) jest klasyfikowany w kategorii zaburzenia czucia (*dysesthesia*), które to pojęcie stanowi nazwę rodzajową dla różnych objawów skórnych. Poza świądem należą do nich: mrowienie (*tingling*), pieczenie (*burning*), łaskotanie (*tickling*), kłucie (*stinging*), znieczulenie (*anesthesia*), niedoczulica (*hypoesthesia*), uczucie zimna (*coldsensation*) lub bólu (*pain*). Wymienione dolegliwości cechuje dobrze określona lokalizacja, wynikająca często z miejsca uszkodzenia nerwu, urazu lub podrażnienia skóry [1].

Jakkolwiek są prowadzone intensywne badania szlaków komórkowych i molekularnych uczestniczących w wywoływaniu uczucia świądu, to jednak jest to zagadnienie niepoznane ostatecznie, między innymi w różnicowaniu dróg przekazywania bodźców świądowych i bólowych z rdzenia kręgowego do ośrodkowego układu nerwowego. Wyróżnia się dwie ścieżki przekazywania uczucia świądu:

1. ścieżkę histaminozależną, w której uczestniczą stymulowane histaminą niewrażliwe na bodźce mechaniczne włókna C;
2. ścieżkę histaminoniezależną z użyciem włókien C polimodalnych, przekazujących bodźce mechaniczne, termiczne i chemiczne. Z kolei w mózgu badania obrazowe ujawniają, że mapa świądu nakłada się na mapę bólu, jednak nie są to mapy identyczne [2].

Świąd jest doznaniem wywołującym potrzebę drapania lub pocierania; jego nasilenie jest często niewspółmierne do bodźca wywołującego (*alloknesis*). Zaburzenie nie dotyczy narządów wewnętrznych [3]. Świąd może mieć podłoże dwojakie: neuropatyczne lub psychogenne, występować w przebiegu chorób skóry lub chorób ogólnoustrojowych. W klasyfikacji świądu proponowanej przez Międzynarodowe Forum Badania Świądu (International Forum for the Study of Itch) wyróżnia się trzy grupy:

1. grupa I – świąd w chorobach (zapaleniach) skóry (*pruritus on diseased [inflamed] skin*);
2. grupa II – świąd bez chorób (bez zapalenia) skóry (*pruritus on non-diseased [non-inflamed] skin*);
3. grupa III – świąd występujący wtórnie do uszkodzeń skóry na skutek drapania (*pruritus presenting with severe chronic secondary scratch lesions*), np. w świerzbiączce guzkowej (*prurigo nodularis*). W dalszej kolejności klasyfikacja uwzględnia kategorie chorób przebiegających ze świądem: choroby dermatologiczne, neurolo-

giczne, psychiatryczne, a także ogólnoustrojowe [4], w tym przewlekła niewydolność nerek [5, 6], cholestaza, zakażenia układowe, nowotwory złośliwe, zaburzenia endokrynologiczne [5], a także zmiany polekowe [4, 5] oraz ciąża [4]. W części przypadków mogą występować przyczyny mieszane (więcej niż jedna) [4].

Świąd neuropatyczny jest związany z zaburzeniami centralnego (guzy rdzenia, choroby demielinizacyjne) lub obwodowego układu nerwowego (neuropatia po półpaścu, *notalgia paresthetica*). Temu rodzajowi świądu mogą towarzyszyć: czucie opaczne (*paraesthesia*), nasilone odczuwanie bólu – przeczulica (*hyperaesthesia*) lub obniżone czucie dotyku (*hypoaesthesia*). Z kolei u podłoża świądu psychogenego leżą zaburzenia psychologiczne: obsesyjno-kompulsywne, depresje oraz urojenia pasożytnicze [7].

Generalnie świąd ramiennie-promieniowy ma podłoże neuropatyczne [7, 8], podobnie jak świąd występujący po półpaścu (*postherpetic itch*) [2] oraz opisane wcześniej *notalgia paresthetica* [9,10] i *meralgia paresthetica* [11]. Świąd pochodzenia neuropatycznego dotyczy 8% wszystkich pacjentów ze świądem przewlekłym. Wyszczególnione postacie kliniczne tego rodzaju świądu są na ogół ograniczone do jednego dermatomu. W przeciwieństwie do nich może występować świąd neuropatyczny uogólniony, którego częste podłoże stanowią choroby metaboliczne [12].

Epidemiologia

Świąd ramiennie-promieniowy (*brachioradial pruritus* – BRP) jest schorzeniem występującym stosunkowo rzadko [4, 5, 13], częściej (86%) u osób rasy kaukaskiej [14], w 72–81,4% u kobiet [14, 15, 16], w wieku 12–84 lata [15], średnio w wieku 55,9–56,1 lat [14, 16]. W 59,2% przypadków następuje zaostrzenie po ekspozycji na światło słoneczne [16]. Parametry epidemiologiczne BRP są jednak zmienne [14].

Etiologia i patogeneza

BRP jest przewlekłą czuciową neuropatią o wieloczynnikowej etiologii i niepoznanej ostatecznie etiopatogenezie [4, 5, 17, 18].

Przypadki z intensywnym i trwałym świądem skóry nad mięśniem ramiennie-promieniowym opisał po raz pierwszy Waisman. Wyniki neurofizjologicznych badań molekularnych wykazują odchylenia w zakresie doprowadzających neuronów C, odrębnych od neuronów przekazujących ból [19].

Wśród przyczyn BRP wymienia się uszkodzenie postłoneczne (zapalne) występujące na skutek intensywnego nastłonecznienia [13]; do ważnych mediatorów mechanizmów prozapalnych w skórze zalicza się substancję P (*substance P* – SP) – neuropeptyd zidentyfikowany przez von Euler i Gaddum w 1931 r., opisany i roboczo nazwany „substancją P” przez Gaddum i Schild w 1934 r., a w latach 1970–1971 wyizolowany z podwzgórza bydłowego przez Leemana i wsp. [20, 21, 22, 23]. SP jest syntetyzowana i uwalniana z włókien nerwowych peptyderygicznych oraz z komórek zapalnych takich jak eozynofile, limfocyty, makrofagi i komórki dendrytyczne (*dendritic cell* – DC). Do działania biologicznego SP dochodzi poprzez wiązanie się z receptorem neurokininy 1 (*neurokinin-1 receptor* – NK-1R) [20, 21, 24, 25]. Neuropeptyd wpływa na liczne komórki zaangażowane w generację świądu skórno: keratynocyty, fibroblasty, komórki tuczne [20]. U osób, u których w patogenezie BRP ważną rolę odgrywa uszkodzenie postłoneczne skóry, objawy są nasilone późnym latem i jesienią oraz dotyczą częściej osób o jasnej karnacji [26].

Do kolejnych przyczyn zalicza się patologie kręgosłupa szyjnego – zapalenie kostno-stawowe albo urazy neurologiczne [13, 17, 18, 27, 28]. Spośród 45 osób z BRP, u których przeprowadzono badania obrazowe odcinka szyjnego kręgosłupa, u sześciu wykazano dyskopatię międzykręgową, a u sześciu innych zwężenie kanału kręgowego; 10 osób wykazywało więcej niż jedną nieprawidłowość kręgosłupa szyjnego. Spośród 31 pacjentów, u których przeprowadzono badania neurologiczne, u 8 stwierdzono radikulopatię lub neuropatię obwodową. BRP, obok zapalenia skórno-mięśniowego (*dermatomyositis*), może występować jako wczesny objaw skórny (skórny rewelator nowotworowy) w nowotworach układu nerwowego [29]. Opisano przypadek BRP w przebiegu gwiaździaka (*astrocytoma*) części szyjnej rdzenia kręgowego [30]. Opisano także przypadek 56-letniego mężczyzny z objawami BRP po przewlekłym urazie rdzenia kręgowego, poprzedzającym rozwój jamistości rdzenia (*syringomyelia*) w odcinku szyjnym kręgosłupa [31]. Z kolei w opisanym przypadku 60-letniej kobiety zdiagnozowano ciężki BRP w przebiegu dyskopatii kręgosłupa szyjnego i zespołu Parsonage-Turnera [18]; zespół Parsonage-Turnera (*neuralgia amiotroficzna, acute brachial neuritis*) może występować w następstwie infekcji wirusowych, seroterapii lub mikrourazów prowadzących do uszkodzeń nerwów pachowego (*nervus axillaris*), nadłopatkowego (*nervus suprascapularis*), piersiowego długiego

(*nervus thoracicus longus*), mięśniowo-skórnego (*nervus musculocutaneus, n. perforans*) ramienia, rzadziej korzeni C4, C5, C6 i C7 [32, 33].

Jednak w większości wypadków występowanie BRP stwierdzano u osób bez uchwytnych przyczyn strukturalnych [15].

Objawy kliniczne

Do objawów typowych dla BRP należą doznania czuciowe w postaci świądu, pieczenia, kłucia lub mrowienia skóry górnej części ramienia. Objawy są zwykle zlokalizowane w obrębie lub powyżej głowy, bliższej mięśnia ramiennie-promieniowego (*musculus brachioradialis*) [13, 17], w części przypadków dolegliwości obejmują również dermatomy C5-C6-C7-C8 [14]. Zaburzenie może występować jedno- lub dwustronnie [15, 17, 34]. Niekiedy dolegliwość rozszerza się na okolice ramion, szyi oraz górnych partii klatki piersiowej i pleców [14, 18].

Ze względu na przewlekły charakter BRT znacznie pogarsza jakość życia pacjenta [4, 14] – czyni to w podobnym stopniu jak ból neuropatyczny [2]. Diagnostyka różnicowa obejmuje reakcje fotoalergiczne po zastosowaniu warenikliny (*varenicline*) – wielopierścieniowego związku organicznego stosowanego w leczeniu uzależnienia od nikotyny [35].

Postępowanie lecznicze

Leczenie ogólne

W leczeniu ogólnym są proponowane:

- Leki przeciwpadaczkowe – grupa leków o właściwościach przeciwdrgawkowych, co predysponuje je głównie do leczenia padaczki [36]. Spośród tej grupy leków gabapentyna (*gabapentinum, gabapentin*) oraz prolek gabapentyny – pregabalina (*pregabalin*) – wykazują również właściwości hamowania bólu neuropatycznego [2, 37]. Gabapentyna jest związkiem organicznym działającym na poziomie rdzenia kręgowego [38]. W związku z wykazywanym dodatkowo efektem przeciwświądowym, gabapentyna jest stosowana także do leczenia świądu różnego pochodzenia, w tym świądu neuropatycznego; przede wszystkim, na zasadzie stabilizacji nastroju [36]. Pierwszego opisu przydatności leku w leczeniu BRP dokonano w roku 1999 [39]. Uważa się, że efekt przeciwświądowy gabapentyny wynika z mo-

dulowania (blokady) postsynaptycznych kanałów wapniowych, hamowania syntezy glutaminianu i/lub hamowania GABA-ergiczných ścieżek w ośrodkowym układzie nerwowym [2, 40, 41]. U osób z BRP obserwowano zachęcające rezultaty po doustnym stosowaniu gabapentyny w dawkach 900–3600 mg [19]. Poza BRP korzystne efekty lecznicze przeciwświądowego działania gabapentyny obserwowano również w świerzbiączce (*prurigo*), *notalgia paresthetica*, śwιάdzie starczym (*senile pruritus*), chłoniakach T-komórkowych (*cutaneous T cell lymphoma* – CTCL), śwιάdzie wywołanym morfiną (*morphine-induced itch*), śwιάdzie związanym z chorobami wątroby i nerek, a także w śwιάdzie idiopatycznym [42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49] oraz w opiece paliatywnej [50]. Lek jest jednak obarczony potencjalnymi skutkami ubocznymi – należą do nich: przyrost masy ciała, uogólnione obrzęki, ból pleców, niewyraźne widzenie, biegunki, zaparcia, suchość w jamie ustnej, senność, nudności, rozstrój żołądka, wymioty, zmęczenie. Do możliwych działań niepożądanych należą także alergie oraz ryzyko wystąpienia napadów padaczkowych [42, 51, 52].

- Trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne (*tricyclic antidepressants* – TCAs) – działają na poziomie receptora serotonergicznego i/lub noradrenergicznego neuronów postsynaptycznych [53]. Wykazują efekty uspokajający i przeciwłękowy. Są stosowane: 1) amitryptylina (*amitriptyline*) – po zastosowaniu leku obserwowano ulgę w części przypadków [16, 17]; 2) doksepina (*doxepin*) [19] – skuteczność leku jest nieprzewidywalna [42].
- Antagoniści receptorów opioidowych (*opioid-receptor antagonist*): μ (μ), kappa (κ) i delta (δ). W śwιάdzie różnego pochodzenia szczególne nadzieje wiąże się z antagonistami receptora μ , takimi jak naltrekson (*naltrexone*) – doustnie, nalokson (*naloxone*) i nalmeffen (*nalmefene*) – dożylnie. Wymienione leki są obarczone wieloma działaniami ubocznymi takimi jak zawroty głowy, senność, zaburzenia żołądkowo-jelitowe [19, 42, 54, 55].
- Selektywne inhibitory zwrotnego wychwytu serotoniny (*selective serotonin reuptake inhibitors* – SSRIs): paroksetyna (*paroxetine*) [19].
- Glikokortykosteroidy systemowe – działają wielokierunkowo: aktywują receptory cytoplazmatyczne GC (*cytoplasmic GC receptors*

- GCR) – kompleks GC/GCR działa jako czynnik transkrypcyjny, modulują cytokiny, chemokiny, prostanoidy, leukotrieny, fosfolipazy A2, tlenek azotu, a także sygnały szlaków transdukcji (jądrowy czynnik κ B). Są zatem skuteczne w wielu chorobach przebiegających ze świądem [42]. W BRP wykazują jednak małą skuteczność [14, 18, 51].
- Leki przeciwhistaminowe – podobnie jak glikokortykosteroidy wykazują małą skuteczność terapeutyczną [14, 18, 51].
- Talidomid – lek stosowany w wielu chorobach, w tym w chorobach skóry przebiegających ze świądem [42]. U chorych z BRP wykazuje skuteczność zróżnicowaną [18].
- Aprepitant – lek przeciwwymiotny stosowany dla celów przeciwdziałania nudnościom i wymiotom u chorych, u których jest stosowana chemioterapia nowotworowa [56]. Jest silnym doustnym antagonistą ludzkiego receptora neurokininy 1 (NK-1) [57], co wpływa na hamowanie wiązania receptora z substancją P i jej działanie biologiczne [20, 21, 24, 25]. Skuteczność preparatu w leczeniu BRP wymaga dalszych potwierdzeń.

Leczenie miejscowe

- Kapsaicyna (*capsaicine*) – naturalny alkaloid z papryczki chili (*chili pepper*) [13, 38, 51]. Preparat zmniejsza stężenie substancji P, a także odwrażliwia (desensytyzuje) neurony czuciowe (*afferentne*), co skutkuje hamowaniem świądu i bólu [2, 17, 51]. Uważa się, że stosowanie miejscowe kapsaicyny stanowi postęp w leczeniu także innych niż świąd ramiennie-promieniowy chorób dermatologicznych takich jak: *notalgia paresthetica*, liszaj zwykły przewlekły (*lichen Simple chronicus*), świerzbiączka guzkowa (*prurigo nodularis*), nerwobóle po półpaści (*postherpetic neuralgia*), świąd odbytu (*pruritus ani*), stwardnienie tłuszczowo-skinne (*lipodermatosclerosis*), łysienie plackowate (*alopecia areata*), łuszczyca (*psoriasis*), świąd u osób dializowanych (*pruritus of hemodialysis*), świąd w kontakcie z wodą (*aquagenic pruritus*) [58]. Kapsaicyna stosowana miejscowo, w monoterapii lub jako adjuwant, jest generalnie uznawana za lek niskiego ryzyka [58]. Jednak leczenie miejscowe jest związane z niedogodnościami; krem – zazwyczaj w stężeniach od 0,025% do 0,1% – musi być aplikowany 4–6 razy na dobę, obserwowano również działanie drażniące preparatu, wyra-

żające się pieczeniem oraz lokalnym odczynem rumieniowym skóry [19, 42, 51]. Poza tym efektem terapeutycznym jest niepełny lub nietrwały [19, 42, 59, 60]. Korzystne efekty zmniejszania świądu i poprawy jakości życia u chorych z BRP, podobnie jak u chorych z *notalgia parasthetica*, obserwowano po stosowaniu plastrów z 8% kapsaicyną (*capsaicin patch*) [10, 30, 61].

- Preparaty miejscowo chłodzące – 1% mentol [38]. Uważa się także, że w części przypadków ulgę objawową przynosi zastosowanie na zmienioną powierzchnię zimnego okładu [13]; po stosowaniu worka z lodem (*ice-pack*) obserwowano poprawę u 20,9% osób dotkniętych dolegliwością [14].
- Miejscowa aplikacja żelu zawierającego amitryptylinę z dodatkiem ketaminy – preparatu stosowanego w przypadkach obwodowej neuropatii spowodowanej chemioterapią [62].
- Ostrzykiwanie dotkniętych miejsc toksyną botulinową A (*botulinum A toxin*) [2, 63].
- Ochrona przed promieniowaniem słonecznym (filtry przeciwsłoneczne) [13].

Leczenie wspomagające

Za metody leczenia wspomagającego (*adjuvant therapies*) przydatne w łagodzeniu objawów świądu różnego pochodzenia uznaje się terapie behawioralne, poznawcze oraz psychologiczne (psychoterapia), takie jak [8, 64, 65, 66, 67, 68, 69]:

- zabiegi fizjoterapeutyczne,
- akupunktura,
- hipnoza,
- terapia psychosomatyczna,
- terapia poznawcza.

Ze względu na niewyjaśnioną ostatecznie etiopatogenezę leczenie BRP jest trudne i w głównej mierze objawowe. Wymienione metody leczenia dolegliwości mają różne powodzenie [15].

Piśmiennictwo

1. Shumway NK, Cole E, Fernandez KH. Neurocutaneous disease: Neurocutaneous dysesthesias. *J Am Acad Dermatol* 2016; 74 (2): 215–228.

2. Dhand A, Aminoff MJ. The neurology of itch. *Brain* 2014; 137 (Pt 2): 313–322.
3. Fowler IM, Tucker AA, Mendez RJ. Treatment of meralgia paresthetica with ultrasound-guided pulsed radiofrequency ablation of the Lateral femoral cutaneous nerve. *Pain Pract* 2012; 12 (5): 394–398.
4. Ständer S, Weisshaar E, Mettang T, et al. Clinical classification of itch: a position paper of the International Forum for the Study of Itch. *Acta Derm Venerol* 2007; 87 (4): 291–294.
5. Cassano N, Tessari G, Vena GA, Girolomoni G. Chronic pruritus in the absence of specific skin disease: an update on pathophysiology, diagnosis, and therapy. *Am J Clin Dermatol* 2010; 11 (6): 399–411.
6. Seneczko F, Broncel M, Moczulski D. Świąd u chorych dializowanych – etiopatogeneza, klinika i leczenie. *Forum Nefrologiczne* 2014; 7 (4): 224–233.
7. Sytze Van Dam P, Cotter MA, Bravenboer B, Cameron NE. Pathogenesis of diabetic neuropathy: focus on neurovascular mechanisms. *Eur J Pharmacol* 2013; 719 (1-3): 180–186.
8. Stellon A. Neurogenic pruritus: an unrecognised problem? A retrospective case series of treatment by acupuncture. *Acupunct Med* 2002; 20 (4): 186–190.
9. Seneczko F, Dudek K. Notalgia paresthetica – patogeneza, objawy i leczenie. *Dermatologia Praktyczna* 2014; 6: 11–17.
10. Steinke S, Gutknecht M, Zeidler C, et al. Cost-effectiveness of an 8% capsaicin patch in the treatment of brachioradial pruritus and notalgia paresthetica, two forms of neuropathic pruritus. *Acta Derm Venerol* 2017; 96 (7): 71–76.
11. Seneczko F, Dudek K. Meralgia paresthetica – patogeneza, objawy i postępowanie lecznicze. *JHSM* 2016; 3: 5–20.

12. Stumpf A, Ständer S. Neuropathic itch: diagnosis and management. *Dermatol Ther* 2013; 26 (2): 104–109.

13. Hein R. Choroby psychiczne i neurologiczne. [w]: Braun-Falco O, Burgdorf WHC, Plewig G, Wolff HH, Landthaler M. (Red.): *Dermatology*. Wydanie polskie (Red.) Gliński W, Czarnecka-Operacz M, Krasowska D, Serwin AB, Wolska H. *Dermatologia*. Wyd. II. Czelej Sp. z o.o., Lublin 2010, 1212–1221.

14. Masuda PY, Martelli AC, Wachholz PA, Akumatsu HT, Martins AL, Silva NM. Brachioradial pruritus – descriptive analysis of Brazilian case series. *J Dtsch Dermatol Ges* 2013; 11 (6): 530–535.

15. Mirzoyev SA., Davis MD. Brachioradial pruritus: Mayo Clinic experience over the past decade. *Br J Dermatol* 2013; 169 (5): 1007–1015.

16. Pinto AC, Wachholz PA, Masuda PY, Martelli AC. Clinical, epidemiological and therapeutic profile of patients with brachioradial pruritus in a reference service in dermatology. *An Bras Dermatol* 2016; 91 (4): 549–551.

17. Barry R, Rogers S. Brachioradial pruritus – an enigmatic entity. *Clin Exp Dermatol* 2004; 29 (6): 637–638.

18. Carvalho S, Sanches M, Alves R, Selores M. Brachioradial pruritus in a patient with cervical disc herniation and Parsonage-Turner syndrome. *An Bras Dermatol* 2015; 90 (3): 401–402.

19. Greaves MW. Recent advances in pathophysiology and current management of itch. *Ann Acad Med Singapore* 2007; 36 (9): 788–792.

20. Ständer S, Luger TA. NK-1 antagonists and itch. *Hand Exp Pharmacol* 2015; 226: 237–255.

21. Lisowska B. Rola substancji P w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Reumatologia* 2007; 45 (5): 290–293.

22. Adamus M. Wpływ substancji P na komórki krwi. *Postępy Hig Med Dosw* (online) 2009; 63: 106–113.
23. Leeman SE, Ferguson SL. Substance P: an historia perspective. *Neuropeptides* 2000; 34 (5): 249–254.
24. O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Bredin CP, Shanahan F. The role substance P in inflammatory disease. *J Cel Physiol* 2004; 201 (2): 167–180.
25. Weinstock JV, Blum AM. Release of substance P by granuloma eosinophils in response to secretagogues in murine schistosomiasis mansoni. *Cell Immunol* 1990; 125 (2): 280–385.
26. Ulgall Pallesen KA, Bygum A. Brachioradial pruritus effectively treated with gabapentin. *Ugeskr Laeger* 2012; 174 (26): 1830–1831.
27. Oaklander AL. Neuropathic itch. *Semin Cutan Med Surg* 2011; 30 (2): 87–92.
28. Goodkin R, Wingard E, Bernhard JD. Brachioradial pruritus: cervical spine disease and neurogenic/neuropathic (corrected) pruritus. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48 (4): 521–524.
29. Strowd RE, Strowd LC, Blakeley JO. Cutaneous manifestations in neuro-oncology: clinically relevant tumor and treatment associated dermatologic findings. *Semin Oncol* 2016; 43 (3): 401–407.
30. Hardy J, Uthurriague C, Bibas N, Bon E, Paul C, Nougoué J. Brachioradial pruritus revealing cervicomedullary astrocytoma and treated with 8% capsaicin patches. *Ann Dermatol Venerol* 2014; 141 (5): 374–375.
31. Skelton F, Frontera JE. Brachioradial pruritus as a harbinger of syring in chronic spinal cord injury: A case report. *PM R.* 2016; 18: S1934-1482(16)30842-5.

32. Kwolek A, Majka-Sibiga M, Zwolińska J, Korab D. Zespół Parsonage-Turnera (neuralgia amiotroficzna) – opis przypadku. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego*. Rzeszów 2006; 3: 223–226.
33. Misamore GW, Lehman DE. Parsonage-Turner syndrome (acute brachial neuritis). *J Bone Joint Surg Am* 1996; 78 (9): 1405–1408.
34. Veien NK, Lauberg G: Brachioradial pruritus: a follow-up of 76 patients. *Acta Derm Venerol* 2011; 91 (2): 183–185.
35. Zabludovska K, Anderson MD, Jemec GB. Photoallergic reactions to varenicline mimicking brachioradial pruritus. *J Am Acad Dermatol* 2013; 69 (3): 484.
36. Boylan LS, Ettinger AB. Psychotropic effects of antiepileptic drugs. *Neurology* 2007; 69: 1640.
37. Backonja M, Glanzman RL. Gabapentin dosing for neuropathic pain: evidence from randomized, placebo-controlled clinical trials. *Clin Ther* 2003; 25 (1): 81–104.
38. Yosipovitch G, Samuel LS. Neuropathic and psychogenic itch. *Dermatol Ther* 2008; 21 (1): 32–41.
39. Bueller HA, Bernhard JD, Dubroff LM: Gabapentin treatment for brachioradial pruritus. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 1999; 13 (3): 227–228.
40. Scheinfeld N. The role of gabapentin in treating diseases with cutaneous manifestations and pain. *Int J Dermatol* 2003; 42 (6): 491–495.
41. Winhoven SM, Coulson IH, Bottomley WW. Brachioradial pruritus: response of treatment with gabapentin. *Br J Dermatol* 2004; 150 (4): 786–787.
42. Steinhoff M, Cevikbas F, Ikoma A, Berger TG. Pruritus: management algorithms and experimental therapies. *Semin Cutan Med Surg* 2011, 30 (2): 127–137.

43. Gunal AL, Ozalp G, Yoldas SY, Gunal SY, Kirciman E, Celiker H. Gabapentin therapy for pruritus in haemodialysis patients: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (2): 3137–3139.
44. Yesudian PD, Wilson NJ. Efficacy of gabapentin in the management of pruritus of unknown origin. *Arch Dermatol* 2005; 141 (12): 1507–1509.
45. Demierre MF, Taverna J. Mirtazapine and gabapentin for reducing pruritus in cutaneous T-cellymphoma. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55 (3): 543–544.
46. Bergasa NV, McGee M, Ginsburg IH, Engler D. Gabapentin in patients with the pruritus o cholestasis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hepatology* 2006; 44 (5): 1317–1323.
47. Loosemore MP, Bordeaux JS, Bernhard JD. Gabapentin treatment for notalgia paresthetica, a common isolated peripheral sensory neuropathy. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2007; 21 (10): 1440–1441.
48. Sheen MJ, Ho ST, Lee CH, Tsung YC, Chang FL. Preoperative gabapentin prevents intra the calmorphine-induced pruritus after orthopedic surgery. *Anesth Analg* 2008, 106 (6), 1868–1872.
49. Ruiz-Villaverde R, Sánchez-Cano D. Idiopathic senile pruritus: Therapeutic response to gabapentin. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2009; 44 (6): 355–356.
50. Anand S. Gabapentin for pruritus in palliativecare. *Am J Hosp Palliat Care*. 2013; 30 (2): 192–196.
51. Ständer S, Metze D. Świąd i świerzbiączka. [w]: Braun-Falco O, Burgdorf WHC, Plewig G, Wolff HH, Landthaler M. (Red.): *Dermatology. Wydanie polskie* (Red.) Gliński W, Czarnecka-Operacz M, Krasowska D, Serwin AB, Wolska H. *Dermatologia*. Wyd. II .Czelej Sp. z o.o., Lublin 2010, 452–465.

52. Gencoglan G, Inanir I, Gunduz K. Therapeutic hot line: Treatment of prurigonodularis and lichen simple chronicus with gabapentin. *Dermatol Ther* 2010; 23 (2): 194–198.

53. Cevikbas F, Steinhoff M, Ikoma A. Role of spinal neurotransmitter receptors in itch: New insights into therapies and drug development. *CNS Neurosci Ther* 2011; 17 (6): 742–749.

54. Brune A, Metze D, Luger TA, Ständer S. Antipruritic therapy with the oral opioid receptor antagonist naltrexone. Open, non-placebo controlled administration in 133 patients. *Hautarzt* 2004; 55 (12): 1130–1136.

55. Bergasa NV, Alling DW, Talbot TL, Wells MC, Jones EA. Oral nalmefene therapy reduces scratching activity due to the pruritus of cholestasis: a controlled study. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41 (3 Pt 1): 431–434.

56. Ally MS, Gamba CS, Peng DH, Tang JY. The use of aprepitant in brachioradial pruritus. *JAMA Dermatol* 2013; 149 (5): 627–628.

57. Elati CR, Kolla N, Gangula S, et al. A convergent approach to the synthesis of aprepitant: a potent human NK-1 receptor antagonist. *Tetrahedron Letters* 2007; 48 (45): 8001–8004.

58. Boyd K, Shea SM, Patterson JW. The role of capsaicin in dermatology. *Prog Drug Res* 2014; 68: 293–306.

59. Cooding SM, Canter PH, Coelho HF, Boddy K, Emst E. Systematic review of topical capsaicin in the treatment of pruritus. *Int J Dermatol* 2010; 49 (8): 858–865.

60. Raison-Peyron N, Meunier L, Acevedo M, Meynadier J. Notalgia paresthetica: clinical, physiopathological and therapeutic aspects. A study of 12 cases. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 1999; 12 (3): 215–221.

61. Zeidler C, Lüling H, Dieckhöfer A, et al. Capsaicin 8% cutaneous patch: a promising treatment for brachioradial pruritus? *Br J Dermatol* 2015; 172 (6): 1669–1671.

62. Poterucha TJ, Murphy SL, Davis MD, et al. Topical amitriptyline-ketamine for the treatment of brachioradial pruritus. *JAMA Dermatol* 2013; 149 (2): 148–150.
63. Kavanagh GM, Tidman MJ. Botulinum A toxin and brachioradial pruritus. *Br J Dermatol* 2012; 166 (5): 1147.
64. Gupta MA, Gupta AK. Stressful major life events are associated with a higher frequency of cutaneous sensory symptoms: an empirical study of non-clinical subjects. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 2004; 18 (5): 560–565.
65. Kesting MR, Thurmüller P, Hölzle F, Wolff KD, Holland-Letz T, Stücker M. Electrical acupuncture reduces histamine-induced itch (alloknesis). *Acta Derm Venerol* 2006; 86 (5): 399–403.
66. Hui KK, Liu J, Marina O, et al. The integrated response of the human cerebro-cerebellar and limbic systems to acupuncture stimulation at ST 36 as evidenced by fMRI. *Neuroimage* 2005; 27 (3): 479–496.
67. Stangier U, Ehlers A, Gieler U. Predicting long-term outcome in group treatment of atopic dermatitis. *Psychother Psychosom* 2004; 73 (5): 293–301.
68. Staab D, Diepgen TL, Fartasch M, et al. Age related, structured educational programmes for the management of atopic dermatitis in children and adolescents: multicentre, randomised controlled trial. *BMJ* 2006; 332 (7547): 933–938.
69. Zeidler C, Ständer S. Secondary generalized brachioradial pruritus. An uncommon but easy-to-use differential diagnostic approach to generalized pruritus. *Hautarzt* 2014; 65 (1): 56–58.

Adres do korespondencji

prof. dr hab. n. med. Franciszek Seneczko
Społeczna Akademia Nauk
90-113 Łódź, ul. Sienkiewicza 9
e-mail: franciszek.seneczko@umed.lodz.pl

CC-BY-SA 3.0 PL



Zaburzenia stresowe pourazowe w aktualnej klasyfikacji Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego (APA) wg DSM-5

Post-traumatic stress disorder in the current American Psychiatric Association DSM 5 classification

Wojciech Gruszczyński¹, Andrzej Dryja¹, Magdalena Gruszczyńska¹

¹ Katedra Psychologii Zdrowia i Klinicznej, Społeczna Akademia Nauk

Streszczenie

Z tytułu publikacji wynika, że dotychczasowe nazewnictwo – post-traumatic stress disorder – (PTSD) wg Klasyfikacji DSM-III, DSM-III-R oraz DSM-IV zostało w 2013 r. „rewolucyjnie” zmodyfikowane w nowej, obecnie obowiązującej Klasyfikacji DSM-5.

W związku z tym nazewnictwo i kryteria diagnostyczne PTSD można już uznać za „historyczne”. W 2015 r. ukazało się tłumaczenie DSM-5 w języku polskim. Wynika to również z faktu współwystępowania dwóch klasyfikacji zaburzeń psychicznych: międzynarodowej w ICD i amerykańskiej DSM, przy czym ta ostatnia zajmuje pozycję dominującą.

Rodzi to określone problemy naukowe, edukacyjne, diagnostyczno-orzecznicze i publikacyjne. „Zaburzenia stresowe pourazowe” w DSM-5, uwzględniające również kryteria diagnostyczne „u dzieci w wieku 6 lat i młodszych”, zostały opisane w rozdziale pt: „Zaburzenia pourazowe i związane z czynnikiem stresowym”.

Autorzy podręcznika na temat DSM-5 zwracają uwagę, że opisane w zestawach kryteria diagnostyczne obejmują procesy poznawcze, emocjonalne, behawioralne i fizjologiczne. Przedstawienie charakterystycznych zespołów objawów przedmiotowych i podmiotowych wskazuje na zasadnicze zaburzenia z jego swoistym wywiadem rozwojowym, biologicznym, środowiskowymi czynnikami ryzyka, zależnościami neuropsychologicznymi i filologicznym oraz typowym przebiegiem klinicznym.

Słowa kluczowe

zaburzenia stresowe pourazowe, DSM-5, zaburzenia psychosomatyczne

Abstract

On account of the publication it results that the current nomenclature „post-traumatic stress disorder” (PTSD) according to Classification DSM-III, DSM-III-R and DSM-IV was „revolutionary” modified in 2013 in the new governing Classification DSM-5.

Therefore it is possible to regard nomenclature and diagnostic criteria PTSD diagnostic criteria already. A DSM-5. translation was published in 2015 in Polish. It also results from the fact of the co-occurrence of two classifications of psychic disturbances: international in ICD and American DSM, in addition the one last has a dominant position.

It is giving birth to specific, educational, diagnostic and publishing scientific problems. „Post-traumatic stress disorders” in DSM-5. diagnostic criteria taking into account also „at children aged 6 and younger” were described in the chapter entitled „The disorder post-traumatic and connected with the stress factor”.

Authors of the DSM-5. textbook are paying attention, that diagnostic criteria described in sets include, emotional, behavioral and physiological cognitive processes. Describing characteristic object and subjective syndromes is pointing out to fundamental disorders with his specific developmental, biological interview, with environmental risk factors, relations neuropsychological and physiological and with typical clinical course.

Key words

post-traumatic stress disorders, DSM-5, psychosomatic disorders

Wprowadzenie

W klasyfikacji APA do 2013 r. obowiązywała klasyfikacja DSM-IV, w której zaburzenia pourazowe i związane z czynnikiem stresowym były określane terminem Zespołu Stresu Pourazowego (PTSD – *Post Traumatic Stress Disorder*). Terminologia PTSD związana jest ściśle z psychiatrią wojskową sił zbrojnych Stanów Zjednoczonych (USA). Z punktu widzenia historycznego pojęcie PTSD ma swój początek w czasie wojny wietnamskiej (1957–1975). W 1968 r., w najgorętszym okresie wojny, wprowadzono nazewnictwo „reakcje wojenne” do drugiej wersji DSM-II (1968 r.) i umieszczono je w kategorii „przemijających zaburzeń adaptacyjnych” [1]. Zainteresowanie lekarzy wojskowych, głównie psychiatrów i opinii społecznej, odległymi skutkami działań wojennych na żołnierzy powracających z Wietnamu zwiększyło się w latach 70. ubiegłego stulecia. Dla klinicystów stało się jasne, że u dużej liczby żołnierzy wracających z Wietnamu występują przewlekłe trudności z ponownym przystosowaniem się do życia społecznego. W tym okresie klinicyści i badacze rozpoczęli ustalanie kryteriów opisujących objawy psychopatologiczne, co w późniejszym czasie doprowadziło do zdefiniowania pojęcia *Post Traumatic Stress Disorder* (PTSD), po raz pierwszy włączonego do DSM-III [2], a następnie DSM-IV [3].

Z bardzo bogatego piśmiennictwa anglosaskiego wynika, że PTSD od wojny wietnamskiej aż po czasy współczesne jest jednym z najważniejszych problemów badawczych światowej psychiatrii wojskowej, a także cywilnej i wynika z zagrożeń tzw. terroryzmu globalnego. Obecnie ludność cywilna jest bardziej narażona na skutki działania ataków terrorystycznych niż siły zbrojne i jednostki paramilitarne i wobec nich bezbronna. Należy w tym miejscu zwrócić uwagę, że kryteria diagnostyczne PTSD wg klasyfikacji APA w DSM-IV stały się dominującymi i obowiązującymi. W publikacjach anglojęzycznych renomowanych czasopism o zasięgu światowym międzynarodowa klasyfikacja ICD-10 była traktowana, delikatnie rzecz ujmując, jako marginalna, niedoceniana i niezauważalna.

Jako psychiatra wojskowy uczestniczyłem w 1994 r. w Zjeździe Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego, gdzie każdemu uczestnikowi wręczono egzemplarz klasyfikacji DSM-IV. Poprosiłem organizatorów o wypożyczenie międzynarodowej klasyfikacji ICD-10. Grzecznie i z przeprosinami mi odmówiono, gdyż nie dysponowano ani jednym podręcznikiem ICD-10.

W Polsce po raz pierwszy diagnoza PTSD stała się powszechnie rozpoznawalna w czasie trwania operacji militarnych polskich kontyngentów w Iraku. W tym czasie media publiczne, a zwłaszcza prasa, programy telewizyjne i radiowe w latach 2004–2005 alarmowały opinię publiczną o znacznej zachorowalności na PTSD u polskich żołnierzy misji pokojowej. Niektóre brzmiały bardzo groźnie i złowieszczo, stwierdzając, że prawie co trzeci żołnierz powracający do kraju ma objawy PTSD z jego skutkami zdrowotnymi, rodzinnymi i społecznymi. Badania naukowe oraz analizy dokumentacji medycznej żołnierzy odbywających służbę na misjach pokojowych w Iraku nie potwierdzały powszechnie rozpoznawanego PTSD jako niezgodnego z kryteriami diagnostycznymi zarówno klasyfikacji DSM-IV (amerykańskiej), jak i ICD-10 (międzynarodowej) [4,5].

Prawidłowo rozpoznane przypadki PTSD u polskich żołnierzy miały charakter incydentalny. Polscy psychiatry wojskowi – zarówno w okresie szkolenia przed-, jak i podyplomowego (w Wojskowej Akademii Medycznej) – byli objęci ogólnopolskim programem nauczania medycyny (w tym psychiatrii) opierającym się na klasyfikacji międzynarodowej ICD-10. W tej klasyfikacji „zaburzenia stresowe pourazowe” (odpowiednik PTSD) były i są nadal opisane lakonicznie i zajmują jedną stronę podręcznika. Dlatego brakiem doświadczenia oraz koniecznością diagnozowania zaburzeń psychicznych wg klasyfikacji DSM-IV należy tłumaczyć zamieszanie w ocenie rozpoznawania i epidemiologii zaburzeń psychicznych u żołnierzy misji pokojowych w Iraku. Trzeba zaznaczyć, że w armiach Organizacji Paktu Północnoatlantyckiego (NATO) obowiązuje amerykańska klasyfikacja DSM-IV. Przedstawione problemy dotyczące epidemiologii PTSD u żołnierzy misji pokojowych w Iraku nie występowały w czasie działań wojennych polskich kontyngentów w Afganistanie. Można to tłumaczyć wieloma czynnikami, a mianowicie: lepszym wyszkoleniem lekarzy psychiatrów, sanitariuszy i ratowników medycznych, dla których była to często kolejną misją poza granicami kraju, uczestnictwem w wojnie wyszkolonych i doświadczonych żołnierzy zawodowych oraz o wiele lepszym i sprawniejszym zabezpieczeniu logistycznym.

W Polsce po 1989 r. na skutek kryzysu ustrojowo-społeczno-ekonomicznego obserwowany jest gwałtowny wzrost zachorowalności na zaburzenia psychiczne związane ze stresem i pod postacią somatyczną (F.40-F.48 wg ICD-10) [6]. Problemy związane z PTSD były i są nadal tematem poruszonym nie tylko w publikacjach naukowych, lecz także

w mediach. Dotyczą one zwłaszcza zaburzeń psychicznych i psychosomatycznych wynikających z zespołu stresu zawodowego, w którym przeważają m.in. takie patologie społeczne jak mobbing, wypalenie zawodowe i pracoholizm [7]. Ponadto sytuacje kryzysowe w wypadku klęsk żywiołowych i katastrof (powodzie, pożary), wypadków komunikacyjnych, agresji i przemocy etc. powodują konieczność interwencji psychologicznej, a także leczenia specjalistycznego. Rozpoznanie PTSD są często diagnozowane u uczestników tych zdarzeń, jednak komisje orzecznicze ZUS oraz sądy pracy po konsultacjach specjalistycznych oraz biegłych w przeważającym odsetku weryfikują negatywnie postawioną diagnozę PTSD [7, 8].

Można zatem stwierdzić, że rozpoznanie PTSD jest nadal nadużywane i często nie spełnia kryteriów diagnostycznych w DSM-IV.

W 2013 r. Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne (APA) wydało nową klasyfikację DSM-5, która została przetłumaczona na język polski [9].

Autorzy niniejszej publikacji nie zauważyli ani w piśmiennictwie polskim, ani na zjazdach i konferencjach naukowych tej ostatniej zmiany kryteriów diagnostycznych PTSD. Fakt ten stał się inspiracją do opracowania i przedstawienia publikacji.

Cel pracy

Zasadniczym celem pracy jest przedstawienie i omówienie kryteriów diagnostycznych zaburzeń stresowych, pourazowych w DSM-5 oraz zwrócenie uwagi na dokonane zmiany w porównaniu z klasyfikacją DSM-IV. Publikacja jest adresowana szczególnie do środowiska lekarzy, psychiatrów i psychologów praktykujących w warunkach ambulatoryjnych (poradnia zdrowia psychicznego, poradnia psychologiczna).

KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE: ZABURZENIA STRESOWE POURAZOWE U DOROSŁYCH W DSM-5

Zaburzenia stresowe pourazowe DSM-5

A. Narażenie na śmierć lub groźbę śmierci, poważny uraz lub przemoc seksualna w jeden (lub większą liczbę) spośród wymienionych sposobów:

1. Bezpośrednie doświadczenie traumatycznego przeżycia (przeżyć).
2. Bycie naocznym świadkiem traumatycznych dla innych osób wydarzeń.

3. Uzyskanie informacji o tym, że członek bliskiej rodziny lub przyjaciel doświadczył traumatycznego przeżycia (przeżyć). W przypadku narażenia na śmierć lub wystąpienia groźby śmierci dotyczących członka rodziny lub przyjaciela wydarzenie (wydarzenia) to musi wynikać z aktu przemocy lub być przypadkowe.

4. Powtarzane lub bardzo duże narażenie na nieprzyjemne szczegóły danego wydarzenia (wydarzeń) traumatycznego (np. pierwsze osoby zbierające ludzkie szczątki; policjanci stale narażeni na obserwowanie krzywdzenia dzieci).

Uwaga: Kryterium A4 nie dotyczy narażenia za pośrednictwem mediów elektronicznych, telewizji ani obrazów, chyba że jest to narażenie związane z wykonywaną pracą.

B. Obecność jednego (lub większej liczby) spośród następujących natrętnych objawów, związanych z traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami), występujących po raz pierwszy po doświadczeniu traumatycznego przeżycia (przeżyć):

1. Nawracające i natrętne, dręczące wspomnienia traumatycznego i wydarzenia (wydarzeń).

Uwaga: U dzieci w wieku powyżej 6 lat powtarzające się zabawy mogą wskazać na temat lub aspekt traumatycznego doświadczenia (doświadczeń).

2. Nawracające, dręczące sny, których treść jest związana z traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami).

Uwaga: U dzieci mogą wstępować przerażające sny o treści trudnej do zidentyfikowania.

3. Reakcje dysocjacyjne (np. Flashback), które powodują, że dana osoba odczuwa lub zachowuje się, jakby ponownie doświadczała traumatycznego przeżycia (przeżyć). (Nasilenie opisanych reakcji przyjmuje formę kontinuum, z całkowitą utratą poczucia rzeczywistości jako skrajną postacią).

Uwaga: U dzieci może wystąpić ponowne odgrywanie urazu w formie zabawy.

4. Nasilone i przedłużające się cierpienie psychiczne występujące w przypadku narażenia na wewnętrzne lub zewnętrzne sygnały, symbolizujące lub przypominające pewne aspekty traumatycznego wydarzenia (wydarzeń).

5. Zaznaczona reakcja fizjologiczna występująca w odpowiedzi na wewnętrzne lub zewnętrzne sygnały, symbolizujące lub przypominające pewne aspekty traumatycznego wydarzenia (wydarzeń).

C. Utrwalone unikanie bodźców związanych z traumą, niewystępujące przed traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami), zdefiniowane jako jedno lub oba z poniższych:

1. Unikanie lub próby unikania dręczących wspomnień, myśli lub uczuć dotyczących traumatycznego wydarzenia (wydarzeń) lub blisko z nim związanych.
2. Unikanie lub próby unikania czynników (ludzi, miejsc, rozmów, czynności, przedmiotów, sytuacji, które przywołują dręczące wspomnienia, myśli lub uczucia dotyczące traumatycznego wydarzenia (wydarzeń).

D. Niekorzystne zmiany w zakresie zdolności poznawczych i w nastroju, związane z traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami), doświadczane po raz pierwszy lub nasilające się po nim, zdefiniowane jako jedno (lub większa liczba) spośród poniższych:

1. Trudności w zapamiętaniu ważnych aspektów traumatycznego wydarzenia (wydarzeń) (zwykle z powodu amnezji dysocjacyjnej, a nie innego czynnika, takiego jak uraz głowy, alkohol lub leki).
2. Uporczywe i nadmierne negatywne przekonania lub oczekiwania dotyczące samego siebie, innych osób lub świata (np. „Jestem złą osobą”, „Nikomu nie można ufać”, „Świat jest bardzo niebezpieczny”, „Mój cały układ nerwowy został trwale zniszczony”).
3. Utrwalone, zniekształcone postrzeganie przyczyn i skutków traumatycznego wydarzenia (wydarzeń), prowadzące daną osobę do obwiniania samego siebie lub innych osób.
4. Utrwalone stany negatywnych emocji (np. lęku, przerażenia, złości, winy lub wstydu).
5. Znacząco zmniejszone zainteresowanie lub chęć udziału w ważnych czynnościach.
6. Poczucie bycia odseparowanym od innych osób, oziębienia z nimi stosunków.
7. Uporczywe trudności w wyrażaniu pozytywnych uczuć (np. niezdolność do wyrażania radości, zadowolenia lub miłości).

E. Wyraźne zmiany w zakresie pobudliwości związane z traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami), doświadczane po raz pierwszy lub nasilające się po nim, zdefiniowane jako dwa (lub większa liczba) spośród poniższych:

1. Drażliwość i wybuchy gniewu (bez bycia prowokowanym), zwykle wyrażane jako agresja słowna lub agresywne zachowania w stosunku do innych osób lub przedmiotów.

2. Nieprzemyślane lub autodestruktywne zachowania.
3. Nadmierna czujność.
4. Wzmoczona reakcja na zaskoczenie.
5. Problemy z koncentracją.
6. Problemy ze snem (np. trudności w zaśnięciu lub w utrzymaniu snu albo sen niedający odpoczynku).

F. Czas trwania zakłócenia (Kryteriów B, C, D i E) wynosi więcej niż miesiąc.

G. Zakłócenie spowoduje znaczące klinicznie cierpienie lub upośledzenie funkcjonowania w sferze społecznej, zawodowej i innych ważnych obszarach.

H. Zakłócenie nie jest wywołane fizjologicznym działaniem substancji (np. nadużyciem leków, alkoholu) ani innym stanem ogólnomedycznym.

Należy określić, czy:

Z objawami dysocjacyjnymi: Spełnione zostały kryteria rozpoznania dla Zaburzenia stresowego pourazowego, a dodatkowo, w odpowiedzi na czynnik stresogeny, występują utrzymujące się lub nawracające objawy:

1. Depersonalizacja: Przewlekłe lub nawracające wrażenie bycia oddzielnym od samego siebie, dające się porównać z poczuciem bycia zewnętrznym obserwatorem swoich własnych procesów myślowych lub swojego ciała (np. poczucie bycia w swoim własnym śnie, poczucie nierealności samego siebie lub swojego ciała lub poczucie czasu płynącego powoli).
2. Derealizacja: Przewlekłe lub nawracające poczucie nierealności otoczenia (np. świat dookoła jest postrzegany jako nierealny, podobny do snu, odległy, zniekształcony).

Uwaga: W celu odnotowania tej postaci zaburzenia objawy dysocjacyjne nie mogą być wywołane fizjologicznym działaniem substancji (np. blackout, zachowanie pod wpływem alkoholu) ani innym stanem ogólnomedycznym (np. złożone częściowe napady padaczkowe). Należy określić, czy:

Z opóźnionym początkiem: Kryteria diagnostyczne nie są spełnione w okresie co najmniej 6 miesięcy od traumatycznego wydarzenia (choć początek choroby i niektóre objawy mogą wystąpić natychmiast).

KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE: ZABURZENIA STRESOWE POURAZOWE U DZIECI W WIEKU 6 LAT I MŁODSZYCH

A. *Narażenie na śmierć lub groźbę śmierci, poważny uraz lub przemoc seksualna u dzieci w wieku 6 lat lub młodszych w jeden (lub większą liczbę) spośród wymienionych sposobów:*

1. *Bezpośrednie doświadczenie traumatycznego przeżycia (przeżyć).*
2. *Bycie naocznym świadkiem traumatycznych dla innych osób, szczególnie opiekunów, wydarzeń.*

Uwaga: *Bycie świadkiem nie dotyczy narażenia za pośrednictwem mediów elektronicznych, telewizji ani obrazów.*

3. *Uzyskanie informacji o tym, że rodzic lub opiekun doświadczył traumatycznego przeżycia (przeżyć).*

B. *Obecność jednego (lub większej liczby) spośród następujących natrętnych objawów związanych z traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami), występujących po raz pierwszy po doświadczeniu traumatycznego przeżycia (przeżyć):*

1. *Nawracające i natrętne, dręczące wspomnienia traumatycznego wydarzenia (wydarzeń).*

Uwaga: *Nawracające i natrętne wspomnienia mogą nie mieć dręczącego charakteru i mogą być wyrażone poprzez ich odgrywanie w formie zabawy.*

2. *Nawracające, dręczące sny, których treść jest związana z traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami).*

Uwaga: *Ustalenie związku między przerażającą treścią snu a traumatycznym przeżyciem może nie być możliwe.*

3. *Reakcje dysocjacyjne (np. flashback), które powodują, że dziecko odczuwa lub zachowuje się, jakby ponownie doświadczało traumatycznego przeżycia (przeżyć). (Nasilenie opisanych reakcji przyjmuje formę kontinuum, z całkowitą utratą poczucia rzeczywistości jako skrajną postacią). Może wystąpić ponowne odgrywanie urazu w formie zabawy.*

4. *Nasilone i przedłużające się cierpienie psychiczne występujące w przypadku narażenia na wewnętrzne lub zewnętrzne sygnały symbolizujące lub przypominające pewne aspekty traumatycznego wydarzenia (wydarzeń).*

5. *Zaznaczona reakcja fizjologiczna występująca w odpowiedzi na wewnętrzne lub zewnętrzne sygnały symbolizujące lub przypominające pewne aspekty traumatycznego wydarzenia (wydarzeń).*

C. Jeden (lub kilka) spośród wymienionych objawów, reprezentujących albo utrwalone unikanie bodźców związanych z traumą, albo niekorzystne zmiany w zakresie zdolności poznawczych i w nastroju niewystępujące przed traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami).

Przewlekłe unikanie bodźca:

1. Unikanie lub próby unikania czynności, miejsc lub obiektów dotyczących traumatycznego wydarzenia (wydarzeń) lub blisko z nim związanych.
2. Unikanie lub próby unikania ludzi, rozmów lub sytuacji kontaktu, które przywołują dręczące wspomnienia, myśli lub uczucia dotyczące traumatycznego wydarzenia (wydarzeń).

Niekorzystne zmiany w zakresie zdolności poznawczych

3. Znacznie częstsze występowanie negatywnych emocji (np. lęku, winy, smutku, wstydu, zagubienia).
4. Znacząco zmniejszone zainteresowanie lub chęć udziału w ważnych czynnościach, w tym w zabawie.
5. Wycofanie społeczne.
6. Przewlekłe ograniczenie zdolności wyrażania pozytywnych uczuć.

D. Zmiany w zakresie pobudliwości związane z traumatycznym wydarzeniem (wydarzeniami), doświadczane po raz pierwszy lub nasilające się po nim, zdefiniowane jako dwa (lub większa liczba) spośród poniższych:

1. Drażliwość i wybuchy gniewu (bez bycia prowokowanym), zwykle wyrażane jako agresja słowna lub agresywne zachowania w stosunku do innych osób lub przedmiotów (w tym napady wściekłości).
2. Nadmierna czujność.
3. Wzmoczona reakcja na zaskoczenie.
4. Problemy z koncentracją.
5. Problemy ze snem (np. trudności w zaśnięciu lub w utrzymaniu snu albo sen niedający odpoczynku).

E. Czas trwania zakłócenia wynosi więcej niż miesiąc.

F. Zakłócenie powoduje znaczące klinicznie cierpienie lub Upośledzenie w relacjach z rodzicami, rodzeństwem, rówieśnikami oraz innymi opiekunami lub problemy z zachowaniem w szkole.

G. Zakłócenie nie jest wywołane fizjologicznym działaniem substancji (np. nadużyciem leków, alkoholu) ani innym stanem ogólnomedycznym.

Należy określić, czy:

Z objawami dysocjacyjnymi: Spełnione zostały kryteria rozpoznania dla Zaburzenia stresowego pourazowego, a dodatkowo w odpowiedzi na czynnik stre-sogenny występują utrzymujące się lub nawracające objawy:

1. **Depersonalizacja:** Przewlekłe lub nawracające wrażenie bycia oddzielnym od samego siebie, dające się porównać z poczuciem bycia zewnętrznym obser-watorem swoich własnych procesów myślowych lub swojego ciała (np. poczu-cia bycia w swoim własnym śnie, poczucie nierealności samego siebie lub swo-jego ciała lub poczucie czasu płynącego powoli).

2. **Derealizacja:** Przewlekłe lub nawracające poczucie nierealności otoczenia (np. świat dookoła jest postrzegany jako nierealny, podobny do snu, odległy, zniekształcony).

Uwaga: W celu odnotowania tej postaci zaburzenia objawy dysocjacyjne nie mogą być wywołane fizjologicznym działaniem substancji (np. blackout, za-chowanie pod wpływem alkoholu) ani innym stanem ogólnomedycznym (np. złożone częściowe napady padaczkowe).

Należy określić czy:

Z opóźnionym początkiem: Kryteria diagnostyczne nie są spełnione w okresie co najmniej 6 miesięcy od traumatycznego wydarzenia (choć początek choroby i niektóre objawy mogą wystąpić natychmiast).

Wnioski

W części podręcznika „Kryteria diagnostyczne z DSM-5 zamieszczono dwa rozdziały pt.: „Posługiwanie się podręcznikiem” i „Ostrzeżenia doty-czące posługiwania się DSM-5 na potrzeby sądownictwa”.

W Przedmowie pierwszego rozdziału stwierdza się, że „Głównym celem DSM-5 jest zapewnienie przeszkolonym lekarzom wsparcia w rozpo-znawaniu zaburzeń psychicznych. Proces ten stanowi element anamnezy, której powstanie prowadzi do stworzenia świadomego planu leczenia pacjenta. Objawy opisane w odpowiednich zestawach kryteriów diagno-stycznych nie stanowią pełnej definicji poszczególnych zaburzeń. Obejmują one procesy poznawcze, emocjonalne, behawioralne i fizjologiczne, których złożoność jest zbyt duża, by mogła zostać opisana w krótkich podsumowaniach. Ich zadaniem jest raczej przedstawienie charaktery-stycznych zespołów objawów przedmiotowych i podmiotowych, które

wskazują na zasadnicze zaburzenie, z jego swoistym wymiarem rozwojowym, biologicznymi i środowiskowymi czynnikami ryzyka, zależnościami neuropsychologicznymi i fizjologicznymi oraz typowym przebiegiem klinicznym”.

Z przedstawionych strategicznych założeń nowej klasyfikacji APA w DSM-5 wynika, że jego autorzy dążą do holistycznego ujęcia przejawów i uwarunkowań tzw. PTSD, który w obecnej klasyfikacji APA został określony jako „Zaburzenia stresowe pourazowe”. Będzie o tym mowa w dalszej części niniejszej publikacji. Omawiany obecnie Rozdział I zawiera liczne podrozdziały, z którymi winien się zapoznać każdy diagnosta przed zastosowaniem wymienionych kryteriów. Przedstawiają one następujące problemy: „Podejście do oceny przypadku klinicznego”, „Definicja zaburzenia psychicznego”, „Kryterium istotności klinicznej”, „Elementy diagnozy”, „Plany na przyszłość. Narzędzia i oceny monitorowania”.

Ograniczone ramy publikacji nie pozwalają na ich prezentację. Pragniemy jednak zwrócić uwagę na przyjętą przez autorów DSM-5 definicję zaburzenia psychicznego, gdyż obrazuje ona aspekt wieloczynnikowości. Brzmi ona następująco: „Zaburzenie psychiczne jest zespołem objawów, który charakteryzuje się znaczącym klinicznie zniekształceniem w obrębie postrzegania, regulacji emocji lub obecnością zachowań, które odzwierciedlają psychologiczną, biologiczną albo rozwojową dysfunkcję, leżącą u podstaw psychicznego funkcjonowania. Zaburzenia psychiczne są zwykle związane ze znacznym cierpieniem lub niepełnosprawnością w sferach społecznych, zdrowotnych bądź innych, równie ważnych. Zaburzenie psychiczne nie jest oczekiwaną lub akceptowaną kulturowo odpowiedzią na czynnik stresowy czy stratę, taką jak choćby śmierć bliskiej osoby. Zachowania nieakceptowane społecznie (przykładowo związane z polityką, religią czy seksualnością) i konflikty, które rodzą się między osobą a społeczeństwem, nie są zaburzeniami psychicznymi, chyba że wynikają z dysfunkcji danej osoby, jak to zostało przedstawione powyżej”.

Przedstawiona przez autorów DSM-5 definicja różni się naszym zdaniem od ogólnie przyjętych w naszym kręgu kulturowym. Zwłaszcza ostatnie zdanie pojęcia zaburzenia psychicznego w DSM-5 budzi wiele wątpliwości i jest niejasne. Z naszych doświadczeń psychiatrycznych wynika, że osoby bez tzw. „dysfunkcji psychicznych” pod wpływem przewlekłego stresu, np. zawodowego (mobbing), reagują zaburzeniami psychicznymi. Być może nasza znajomość DSM-5 jest niepełna i niekompletna,

gdyż nie dysponowaliśmy oryginalną monografią DSM-5. Przedstawione w naszej publikacji kryteria diagnostyczne w DSM-5 generalnie zawierają osiowe objawy opisane w poprzedniej klasyfikacji DSM-IV. Przede wszystkim wiążą się one z ekspozycją na zdarzenie lub sytuację stresującą (o różnym czasie trwania) szczególnie przerażającą lub katastroficzną, która wywołałaby przerażające przeżycie u prawie każdego człowieka. Musi być to zatem zdarzenie będące poważnym zagrożeniem życia, naturalne lub spowodowane przez człowieka albo przypadkowe.

W nowej klasyfikacji (DSM-5) spotykamy natomiast tzw. „uszczegółowienia” dotyczące przebiegu, ciężkości lub cech opisowych. W kryteriach diagnostycznych występują one pod postacią zaleceń, jak np.: „uwaga”, „należy określić, czy...”. Przykładowo: w kryterium A4 zaburzeń stresowych pourazowych u osób dorosłych zamieszczono „Uwagę” wskazującą, że „nie dotyczy narażenia za pośrednictwem mediów elektronicznych, telewizji ani obrazów, chyba że jest to narażenie związane z wykonywaną pracą”.

Naszym zdaniem owe uszczegółowienia niewątpliwie zbogacają psychopatologię „zaburzeń stresowych pourazowych”. Jednak z niektórymi zaleceniami w DSM-5 nie możemy się zgodzić. Dotyczy to zwłaszcza „Uwagi” zamieszczonej w diagnostyce dzieci w wieku 6 lat i młodszych, gdzie w kryterium A określającym objawy traumatycznego wydarzenia po punkcie 2 stwierdza się: „Bycie świadkiem nie dotyczy narażenia za pośrednictwem mediów elektronicznych, telewizji ani obrazów”. Jest to dla nas zaskakujące i niezrozumiałe, zwłaszcza w aspekcie tzw. „rozwoju społecznego i emocjonalnego dziecka” od urodzenia aż do 14. roku życia. Również praktyczne doświadczenia jednego z nas (Wojciecha Gruszczyńskiego) jako dziadka dwóch wnuczek w wieku 3 i 5 lat wskazują, że obrazy medialne przekazywane np. w bajkach są przez nie traktowane bardzo realistycznie, przeżywane na sposób zaburzeń stresowych pourazowych. Nasze dylematy i wątpliwości przedyskutowaliśmy z psychiatrami i psychologami dziecięcymi, którzy wyrazili podobne stanowisko. Bardziej zrozumiała i akceptowalna jest wspomniana „Uwaga” dotycząca osób dorosłych oraz osób dorastających i dzieci powyżej 6. roku życia. Brzmi ona: „Kryterium A-4 nie dotyczy narażenia za pośrednictwem mediów elektronicznych, telewizji ani obrazów, chyba że jest to narażenie związane z wykonywaną pracą”. Nie w pełni przekonuje nas drugi człon tego zdania, a mianowicie związane z wykonywanym zawodem. Naszym zdaniem oso-

by wykonujące zawód z narażeniem na ekstremalne stresory (np. medycy sądowi, strażacy, policjanci, żołnierze itp.) prezentują inną odporność psychiczną. Być może autorom DSM-5 chodzi o tzw. odżywianie stresu, ale wydaje się, że patomechanizm i obraz psychopatologiczny jest w tym wypadku odmienny niż w „klasycznych” zaburzeniach stresowych pourazowych. Czytając i analizując omawiane kryteria nie znaleźliśmy wyjaśnienia tego zagadnienia, być może zostało ono uwzględnione w oryginalnej wersji DSM-5. W piśmiennictwie anglosaskim przed wprowadzeniem DSM-5, a także w poprzedniej klasyfikacji DSM-IV funkcjonowało pojęcie złożonego Zespołu Stresu Pourazowego „Complex PTSD” lub DESONS [10]. Odpowiednikiem wymienionego rozpoznania jest ICD-10 [11]: „Trwała zmiana osobowości po katastrofach po przeżyciu sytuacji ekstremalnej”. Biorąc pod uwagę przedstawione powyżej rozważania, mamy świadomość, że pozostałe informacje i wyjaśnienia należy przestudiować w wydany w 2013 r. oryginale DSM-5. Takie postępowanie zalecają również autorzy tłumaczenia podręcznika DSM-5. Zachęcamy również Czytelników, zwłaszcza psychiatrów i psychologów, do takiego postępowania z jednego praktycznego powodu: chodzi o publikowanie prac w renomowanych anglojęzycznych czasopiśmie naukowych. We wszystkich obowiązuje klasyfikacja Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego DSM-5. Tak samo muszą być przygotowane wystąpienia na światowych kongresach, w przeciwnym razie są one dyskwalifikowane i nie przyjmuje się ich do druku. Naszym zdaniem współistnienie we współczesnej nauce i praktyce dwóch klasyfikacji – amerykańskiej (DSM) i międzynarodowej (ICD) – jest dla nas stanem swoistej „schizofrenii”. Należy również zaznaczyć, że obu tym klasyfikacjom (ICD i DSM) patronuje i koordynuje ta sama Światowa Organizacja Zdrowia, a jako konsultanci lub autorzy obu klasyfikacji figurują wybitni psychiatrzy i eksperci. Jak wspomniano, nawet w instytucjach i organizacjach o zasięgu międzynarodowym (np. NATO), które w swej działalności muszą brać pod uwagę zaburzenia psychiczne, obowiązuje klasyfikacja amerykańska (DSM), a nie międzynarodowa (ICD). Reasumując, uważamy, że Klasyfikacja DSM-5 Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego, obowiązująca od 2013 r., stanowi obecnie podstawę prawidłowego diagnozowania zaburzeń stresowych pourazowych, gdyż Międzynarodowa Klasyfikacja ICD-10 jest przestarzała i mało przydatna w działalności naukowej i praktycznej. Ten cel przyświecał nam w przygotowaniu niniejszej publikacji.

Piśmiennictwo

1. Diagnostic and Statistical.(1968) . Manual of Mental Disorders. Znded. DSM- II American Psychiatric Association. Washington D.C
2. Diagnostic and Statistical. (1968). Manual of Mental Disorders 3 rd.ed. (1980) American Psychiatric Association. Washington D.C
3. Diagnostic and Statistical. (1994). Manual of Mental Disorders. Fourth Edition(DSM-IV) American Psychiatric Association. Washington D.C
4. Gruszczyński W. Problemy psychiatryczno - psychologiczne żołnierzy polskiego kontyngentu w misji pokojowej w Iraku. Lęk i Depresja 2006; 11(3):186.
5. Gruszczyński W. Rozpoznanie reakcji na ciężki stres i zaburzenia adaptacyjne u żołnierzy w czasie wojny i pokoju. Lek Wojsk 2007; 83(2): 35.
6. Gruszczyński W. Stres- rosnący problem społeczny XXI wieku. Prewencja i Rehabilitacja ZUS. 2012; 4(3): 1-4.
7. Gruszczyński W. Trauma , a zespół stresu pourazowego W; Joško-Ochojska J. /red./ Medyczne i społeczne aspekty traumy. Śląski Uniwersytet Medyczny. Katowice, 2016, 148-170.
8. Zyss T. Orzecznictwo rentowe ze szczególnym uwzględnieniem psychiatrii. Wyd. Medyczne. Kraków, 2009, 149-151.
9. Gałęcki P, Świecicki Ł. Kryteria Diagnostyczne z DSM-5. Desk Referecje. Edra. Urban&Partner, Wrocław, 2015.
10. Luxemburg T, Spinazzolda J. von der Kolk. Complex Trauma and Disorders of Extreme Stress (DENOS). Part one : Assessment Disections in Psychiatry 2001; 21: 373-392.
11. Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zaburzeń zachowania w ICD-10 Uniwersyteckie Wyd. „Vesalius” Instytut Psychiatrii i Neurologii, Kraków, Warszawa, 1997.

Adres do kontaktu

prof. dr hab. n. med. Wojciech Gruszczyński :

wojciechgruszczyński@poczta.onet.pl

Instytut Psychologii Stosowanej

ul. gen Michała Tokarzewskiego 2

91 - 842, Łódź

tel. 42 66-46-68

CC-BY-SA 3.0 PL