# NEUROSKOP

Rok 2011 numer 13

# NEUROSKOP

**POZNAŃSKIE TOWARZYSTWO PRZYJACIÓŁ NAUK**
**THE POZNAŃ SOCIETY FOR THE ADVANCEMENT OF THE ARTS AND SCIENCES**

**GŁÓWNY REDAKTOR WYDAWNICTW PTPN / DIRECTOR OF PUBLISHING HOUSE**
Prof. dr hab. ALICJA PIHAN-KIJASOWA

**REDAKTOR NACZELNY / EDITOR IN CHIEF**
Prof. dr hab. med. STANISŁAW NOWAK

**ZASTĘPCA REDAKTORA NACZELNEGO / ASS. EDITOR IN CHIEF**
Prof. dr hab. med. RYSZARD ŻUKIEL

**SEKRETARIAT / SECRETARY**
Dr med. Bogumiła Stachowska-Tomczak • Anna Dyba-Adamska
Lek. med. Jakub Moskal

**KOMITET REDAKCYJNY / EDITORIAL BOARD**
Prof. dr hab. n. biol. Jan Barciszewski • Prof. dr hab. med. Zbigniew Czernicki
Prof. dr hab. med. Igor Gościński • Prof. dr hab. med. dr h.c. Jan Haftek
Dr hab. med. Roman Jankowski • Prof. UM dr hab. med. Robert Juszkat
Prof. dr hab. med. Włodzimierz Jarmundowicz • Prof. dr hab. med. Ireneusz Kojder
Prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski • Prof. UM dr hab. med. Włodzimierz Liebert
Prof. dr hab. med. Jerzy A. Moczko • Prof. dr hab. med. Andrzej Obrębowski
Prof. dr hab. med. Janusz Paluszak • Dr hab. med. Włodzimierz Paprzycki
Prof. dr hab. med. dr h.c. Antoni Pruszewicz • Prof. dr hab. med. Andrzej Radek
Prof. dr hab. med. Janusz Szymaś • Prof. dr hab. med. Tomasz Trojanowski

**Projekt okładki:** Maja Moskal, Romuald Świątkowski • **Skład:** Agencja Reklamowa Graffa
**Na okładce:** pomnik Karola Marcinkowskiego

**ADRES / ADDRESS**
Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii UM
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań
neurochirurg@neurochirurg.pl
http://neurochirurg.pl/neuroskop/

Copyright © by PTPN

Printed in Poland

ISSN 1509-1600

**Wydawnictwo**
Poznańskie Towarzystwo Przyjaciół Nauk
Fundacja na Rzecz Neurochirurgii im. Prof. Feliksa Tokarza

POZNAŃSKIE TOWARZYSTWO PRZYJACIÓŁ NAUK
WYDZIAŁ LEKARSKI

# NEUROSKOP

POZNAŃ 2011

# Spis treści

Umiejscowienie duszy - od klasycznych poglądów do mózgowych sieci neuronalnych wysokiej hierarchii. Część I. Od 3000 lat p.n.e. do początku naszej ery. ... 9
*Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek*

Umiejscowienie duszy - od klasycznych poglądów do mózgowych sieci neuronalnych wysokiej hierarchii. Część II. Od powstania chrześcijaństwa do XX wieku. ... 17
*Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek*

Umiejscowienie duszy - od klasycznych poglądów do mózgowych sieci neuronalnych wysokiej hierarchii. Część III. Wiek XXI. ... 31
*Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek*

Kwasy nukleinowe jako narzędzie w terapii guzów mózgu ... 47
*Katarzyna Rolle, Monika Piwecka, Olga Starosta, Stanisław Nowak, Ryszard Żukiel, Mirosława Z. Barciszewska, Jan Barciszewski*

αB-krystalina jako nowy cel terapeutyczny w glejakach złośliwych ... 55
*Monika Piwecka, Katarzyna Rolle, Eliza Wyszko, Anna-Maria Barciszewska, Stanisław Nowak, Jan Barciszewski*

Leczenie wewnątrznaczyniowe pękniętego tętniaka tętnicy tylnej dolnej móżdżku w odcinku nadmigdałkowym ... 64
*Robert Juszkat, Anna Zarzecka, Stanisław Nowak, Bartłomiej Kopaczewski*

Śmiertelne krwotoczne powikłanie po całkowitej embolizacji za pomocą spiral oraz stentu niepękniętego tętniaka tętnicy szyjnej wewnętrznej ... 68
*Robert Juszkat, Anna Zarzecka, Stanisław Nowak, Bartosz Sokół*

Całkowite wyłączenie z krążenia tętniaka odcinka A1 tętnicy przedniej mózgu po implantacji samorozprężalnego stentu Leo Plus bez użycia spiral ... 73
*Robert Juszkat, Stanisław Nowak, Anna-Maria Barciszewska, Katarzyna Stanisławska*

Otrzymywanie komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej. Badania doświadczalne. ... 78
*Wojciech Nowak, Błażej Rubiś, Dawid Michalski, Jeremi Kościński, Mateusz Skóra, Roman Jankowski, Bartosz Sokół*

Guzy mózgowia u dzieci w pierwszym roku życia ... 83
*Krzysztof Jarmusz, Katarzyna Nowakowska, Krzysztof Strzyżewski, Bogna Kaźmierczak, Anna Jażdżewska*

Urazy kręgosłupa u dzieci ... 86
*Bartłomiej Kopaczewski*

Leczenie wielomiejscowych wad mózgowia i rdzenia kręgowego u niemowląt ... 90
*Krzysztof Strzyżewski, Katarzyna Nowakowska, Krzysztof Jarmusz, Anna Jażdżewska*

Urazowe złamania kręgosłupa - zaopatrzenie przy pomocy wertebroplastyki - opis dwóch przypadków ... 95
*Bartłomiej Kopaczewski, Stanisław Nowak*

Ocena znaczenia klinicznego obecności przeciwciał anty-MAG, anty-mielina i anty-neuroendothelium ..... 100
*Sławomir Michalak, Anna Gruszczyńska, Karolina Popławska, Paulina Żurawicz, Wojciech Kozubski*

Analiza fraktalna w ocenie doświadczalnego uszkodzenia bariery krew - mózg ..... 106
*Sławomir Michalak, Katarzyna Pierzchlewicz, Anna Pietrzak, Wojciech Kozubski*

Ewolucja kryteriów diagnostycznych stwardnienia rozsianego ..... 112
*Jędrzej Ziółkiewicz, Radosław Kaźmierski*

Zastosowanie metody CFD do modelowania przepływu krwi w neurologii ..... 120
*Anna Marcinkowska-Gapińska, Sylwia Peryt-Stawiarska, Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz*

Właściwości reologiczne krwi u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym ..... 124
*Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz, Anna Marcinkowska-Gapińska*

Badania hemoreologiczne w wybranych chorobach neurologicznych ..... 128
*Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz, Anna Marcinkowska-Gapińska*

Tadeusz Markiewicz - poznański neurolog i jego koncepcja choroby Devica ..... 133
*Sławomir Michalak*

# Contents

Soul localization - from the classical concepts to the cerebral neuronal networks of high hierarchy. Part I. From 3000 BC to the beginning of CE. ..... 9
*Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek*

Soul localization - from the classical concepts to the cerebral neuronal networks of high hierarchy. Part II. From the beginning of Christian era to the XXth century. ..... 17
*Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek*

Soul localization - from the classical concepts to the cerebral neuronal networks of high hierarchy. Part III. XXI century. ..... 31
*Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek*

Nucleic acids as a tool in the therapy of brain tumors ..... 47
*Katarzyna Rolle, Monika Piwecka, Olga Starosta, Stanisław Nowak, Ryszard Żukiel, Mirosława Z. Barciszewska, Jan Barciszewski*

αB-crystallin as a new therapeutic target in high-grade gliomas ..... 55
*Monika Piwecka, Katarzyna Rolle, Eliza Wyszko, Anna-Maria Barciszewska, Stanisław Nowak, Jan Barciszewski*

Endovascular treatment of ruptured aneurysm of the supratonsillar segment of the posterior inferior cerebellar artery ..... 64
*Robert Juszkat, Anna Zarzecka, Stanisław Nowak, Bartłomiej Kopaczewski*

Fatal haemorrhagic complication after complete embolization with coils and stent of the unruptured aneurysm of the internal carotid artery ..... 68
*Robert Juszkat, Anna Zarzecka, Stanisław Nowak, Bartosz Sokół*

Complete obliteration of the A1 segment of the anterior cerebral artery aneurysm after Leo Plus stent implantation without coiling ..... 73
*Robert Juszkat, Stanisław Nowak, Anna-Maria Barciszewska, Katarzyna Stanisławska*

Obtaining stem cells from the adipose tissue. Experimental studies. ..... 78
*Wojciech Nowak, Błażej Rubiś, Dawid Michalski, Jeremi Kościński, Mateusz Skóra, Roman Jankowski, Bartosz Sokół*

Brain tumors in infants ..... 83
*Krzysztof Jarmusz, Katarzyna Nowakowska, Krzysztof Strzyżewski, Bogna Kaźmierczak, Anna Jażdżewska*

Spine injury in children ..... 86
*Bartłomiej Kopaczewski*

Treatment of multi-site brain and spine malformations in infants ..... 90
*Krzysztof Strzyżewski, Katarzyna Nowakowska, Krzysztof Jarmusz, Anna Jażdżewska*

Spinal injuries - treatment by vertebroplasty - two cases report ..... 95
*Bartłomiej Kopaczewski, Stanisław Nowak*

## SECTION OF MEDICAL SCIENCES

Clinical significance of anti-MAG, anti-myelin and anti-neuroendothelium antibodies ..... 100
*Sławomir Michalak, Anna Gruszczyńska, Karolina Popławska, Paulina Żurawicz, Wojciech Kozubski*

The fractal analysis of experimental blood-brain barrier breakdown..... 106
*Sławomir Michalak, Katarzyna Pierzchlewicz, Anna Pietrzak, Wojciech Kozubski*

Evolution of diagnostic criteria for multiple sclerosis ..... 112
*Jędrzej Ziółkiewicz, Radosław Kaźmierski*

Application of Computational Fluid Dynamics to modeling of blood flow in neurology..... 120
*Anna Marcinkowska-Gapińska, Sylwia Peryt-Stawiarska, Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz*

Rheological properties of blood in patients with multiple sclerosis..... 124
*Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz, Anna Marcinkowska-Gapińska*

Hemorheological studies in chosen neurological diseases..... 128
*Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz, Anna Marcinkowska-Gapińska*

Tadeusz Markiewicz - the neurologist from Poznań and his concept of Devic disease ..... 133
*Sławomir Michalak*

# Umiejscowienie duszy - od klasycznych poglądów do mózgowych sieci neuronalnych wysokiej hierarchii. Część I. Od 3000 lat p.n.e. do początku naszej ery.

## Soul localization - from the classical concepts to the cerebral neuronal networks of high hierarchy. Part I. From 3000 BC to the beginning of CE.

Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek

*z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

**Streszczenie**

Najbardziej wczesne idee dotyczące natury duszy i jej umiejscowienia pochodzą ze Starożytnego Egiptu, z około 3000 roku p.n.e. Sądzono wówczas, że dusza składa się z pięciu części.

W VIII w. p.n.e. poeta grecki Homer w swoich dziełach epickich wprowadził myśli i wyobrażenia, które stały się podstawą kultury oraz religii klasycznego świata greckiego. Możemy w nich doszukać się wpływów egipskich z kardiocentryczną hipotezą umiejscowienia duszy. Jednak Alkmaion z Krotony (ok. 500 r. p.n.e.) w oparciu o swoje badania anatomiczne doszedł do wniosku, że mózg jest niezbędny dla naszej percepcji i tam właśnie znajduje się siedziba duszy. Chociaż nie ma prac pisanych przez Sokratesa, to jego poglądy na temat duszy znamy z prac Platona, jego ucznia. Arystoteles, pierwszy wielki biolog i badacz środowiska, którego obserwacje i poglądy filozoficzne kształtowały europejską myśl i wpływały na nawet poza XVII-wieczną rewolucję naukową, dopatrywał się lokalizacji zmysłów oraz duszy w obrębie serca.

Pierwszy uniwersytet na świecie został założony przez Ptolemeusza I, króla Egiptu - po śmierci Aleksandra Wielkiego, w Aleksandrii. W tym uniwersytecie pracował Herophilus, którego badania ciała człowieka, celem szukania umiejscowienia duszy, pozwoliły na odkrycie splotu naczyniówkowego, pióra pisarskiego, spływu zatok oraz wprowadzenie pojęcia „duszy poruszającej", co było pierwszą koncepcją bodźca nerwowego.

**Summary**

The earliest thoughts regarding the nature and location of the soul in the body come from Egyptian societies, dating back as remote as the third millennium BCE. The Egyptians implicited the soul to be composed of 5 distinct parts.

In the eighth century BCE, the lyricist Homer, whose epics provided the foundation for the cultural and religious ideas of the classical Greek world. This idea echoes the Egyptian cardiocentric hypothesis of the setting of the spirit. Alkmaion of Kroton (ca. 500 BCE), based on anatomical evidence, proposed that the brain was essential for perception, and soul localization. Since we possess no texts written by Socrates, our information of him and his ideas derives from Plato, a disciple of Socrates, whose papers are the most widespread and discussed. Aristotle is the first great environmentalist whose philosophy shaped European thought until, and in certain respects beyond, the scientific revolution of the 17$^{th}$ century. According to Aristotle all thoughts and senses (soul) are centred in the heart. After the death of Alexander the Great - Ptolemy, first king of Egypt, set up school in Alexandria which was in the effect the first University in the world. In this university worked Herophilus. Searching for the location of the soul he discovered plexus chorioideus, calamus scriptorius, confluens sinuum and introduced the term "spiritus animalis", probably the first conception of the nervous impulse.

**Słowa kluczowe:** umiejscowienie duszy, historia starożytna, mózg, serce

**Key words:** soul localization, ancient history, brain, heart

### Klasyczna definicja duszy

Idea duszy zawarta jest w historii cywilizacji, filozofii, antropologii i religii. Niniejsza praca dotyczy koncepcji

„duszy" istniejących w obszarze basenu Morza Śródziemnego i w Europie.

Najwcześniejsze idee dotyczące natury i umiejscowienia duszy pochodzą ze Starożytnego Egiptu z ok. 3 tysiąclecia p.n.e. Greckie słowo *psyche* tłumaczymy jako dusza, umysł. Dusza oznacza wewnętrzną zasadę ruchu każdej istoty ludzkiej, wewnętrzne wcielenie pierwotnej siły napędowej (źródła ruchu) pochodzące od istoty boskiej. W łacinie termin *anima* (wiatr, powietrze) pochodzi od greckiego *psyche* i było tłumaczone rozmaicie jak dusza, żądza, życzenie, namiętność czy pasja. Platon (427-347 p.n.e.) uważał, że *psyche* pochodzi od słowa *anapneîn*, oznaczającego oddychanie oraz *anapsycho*, oznaczającego wypoczynek, doskonalenie się. *Psychomanium* (łac.) oznaczało miejsce, w którym wywoływano dusze zmarłych w celu nawiązania z nimi kontaktu. Hebrajskie słowo *nephesh*, tłumaczono jako oddychanie, duszę lub siłę życiową (30).

## Starożytni Egipcjanie a dusza

Specyficzna postawa Egipcjan wobec zmienności polegała na tym, że świat rozumieli jako równowagę przeciwieństw. Zmiana, jeżeli miała charakter regularnych następstw, jak pory roku, była istotna, stanowiła część nie zmieniającego się porządku. Natomiast zmiana przybierająca formę pojedynczego zdarzenia była uważana za mało znaczącą, pobieżną i przynoszącą zaburzenie ustalonego biegu rzeczy. Zatem w takim kontekście Egipcjanie byli zaabsorbowani problemem śmierci z powodu jej nadrzędności i nieuchronności, jako zmiany nie dającej im alternatywy. Nie jest to zdarzenie nawracające i pozostające bez znaczenia. Ludzie są zbyt zróżnicowani, aby eliminacja kogoś z nich mogła jawić się jako część powtarzającego się zjawiska, nawet gdy była wynikiem epidemii (10, 20).

Egipcjanie rozpoznawali w tym zróżnicowaniu przewagę cechy nietypowej i niekorzystnej dla człowieka w porównaniu z innymi żyjącymi istotami. W świecie zwierzęcym widzieli ciągłość, gdzie continuum istniejącego gatunku zapewniało zastępowanie jednych przez innych jego członków. Królewska boska rodzina była wolna od zmian na takiej drodze. Tron był zawsze zajęty przez Horusa, syna Ozyrysa, a inny pogląd czynił go synem Re. Dokumenty hieroglificzne uzupełnione odpowiednimi rysunkami podkreślały, że śmierć faraona powodowała tylko przemijające poruszenie, bez jakiś istotnych zmian. Faraon, podobnie jak większość świata zwierzęcego, doświadczał ciągłości boskiego porządku świata i był prawdziwym nadczłowiekiem (11). Natomiast śmierć zwykłego człowieka powodowała zaniepokojenie jego bliskich i znajomych. Było to pojedyncze, ale znaczące zdarzenie, pozostawiające Egipcjanom nadzieję na zmartwychwstanie (9).

Egipcjanie, podobnie jak większość ludzi, uważali śmierć za przerwanie - ale nie koniec życia - zmianę w uosobieniu, jednak nie unicestwienie. Ich wiarę w ciągłość istnienia podkreślają listy pisane w sytuacjach krytycznych, z prośbami kierowanymi do swoich zmarłych krewnych. W jednym z nich adresowanym do mężczyzny, który pozostawił owdowiałą żonę z małym synem, otoczonych przez pożądających ich majątku krewnych, jest prośba o jego przebudzenie, aby ratował swoją rodzinę. Możemy przyjąć, że znaczenie śmierci w życiu emocjonalnym i intelektualnym żyjących krewnych tworzyło podstawy wiary w istnienie życia po śmierci i nieśmiertelnej duszy. Egipcjanie wyobrażali sobie życie pośmiertne jako replikę ziemskiej egzystencji, chociaż niewiele wiemy o szczegółach i naturze tej egzystencji. Wyraźne deklaracje na temat przyszłego stanowiska pośmiertnego zmarłej osoby pojawiają się w czasie Pierwszego Okresu Przejściowego, obejmującego lata 2181-2055 p.n.e. Nie znamy jednak dokładnie tych oczekiwań. Naszą wiedzę możemy opierać tylko na dowodach zebranych w grobach, w tym z papirusów jak np. Papirusów Ebersa i Smitha (13, 18, 27, 37). Ciała były dokładnie mumifikowane, chowane wraz z ozdobami, ulubionymi rzeczami, niekiedy z bronią lub narzędziami, a zawsze z dużą ilością naczyń zawierających pożywienie. W niektórych grobach były wykute, dodatkowo w skale, toalety (12). Jakkolwiek nie świadczy to o tym, że Egipcjanie uważali życie pośmiertne jako zwykłą kontynuację ziemskiej egzystencji. Pokazuje tylko, że Egipcjanie nie wyobrażali sobie jakiejkolwiek formy życia, aby mogło przetrwać bez zaspokojenia ziemskich potrzeb. Inskrypcje nagrobne, jak i Teksty Piramid potwierdzają, że życie pośmiertne podtrzymuje pożywienie, które było niezbędne w życiu ziemskim, gdyż dusza przychodzi do ciała, które chwilowo opuściła.

Według Egipcjan dusza składała się z pięciu części: *Akhu*, *Ba*, *Ka*, *Sahu*, oraz *Ib*. Najważniejszą z nich było *Ib* czyli serce. Egipcjanie uważali serce za źródło myśli, uczuć, woli, a zatem było siłą ożywiającą istotę ludzką. Jednak w przeciwieństwie do tajemniczego charakteru życia - głównie tego, że jest podtrzymywane przez materię i jest niepojęte, i niematerialne w swej istocie, prowadziło Egipcjan nie do materialistycznego, ale do spirytualistycznego spojrzenia na pożywienie. To samo słowo - *Ka*, oznaczające niewyczuwalne siły życiowe człowieka, oznaczało również jego pożywienie. Egipcjanie uważali za niezbędne podtrzymywanie Ka człowieka - bo chociaż doszło do jego końca, to jednak nie znaczyło to końca samego siebie.

Człowiek rozpoczynający życie po śmierci nazywany był *Ba*, co tłumaczymy jako duszę. *Ba* nie było częścią osoby żyjącej, ale całą osobą pojawiającą się po śmierci. Słowo *Ba* oznaczało ożywienie, wzbudzenie, ujawnienie (4, 25, 35).

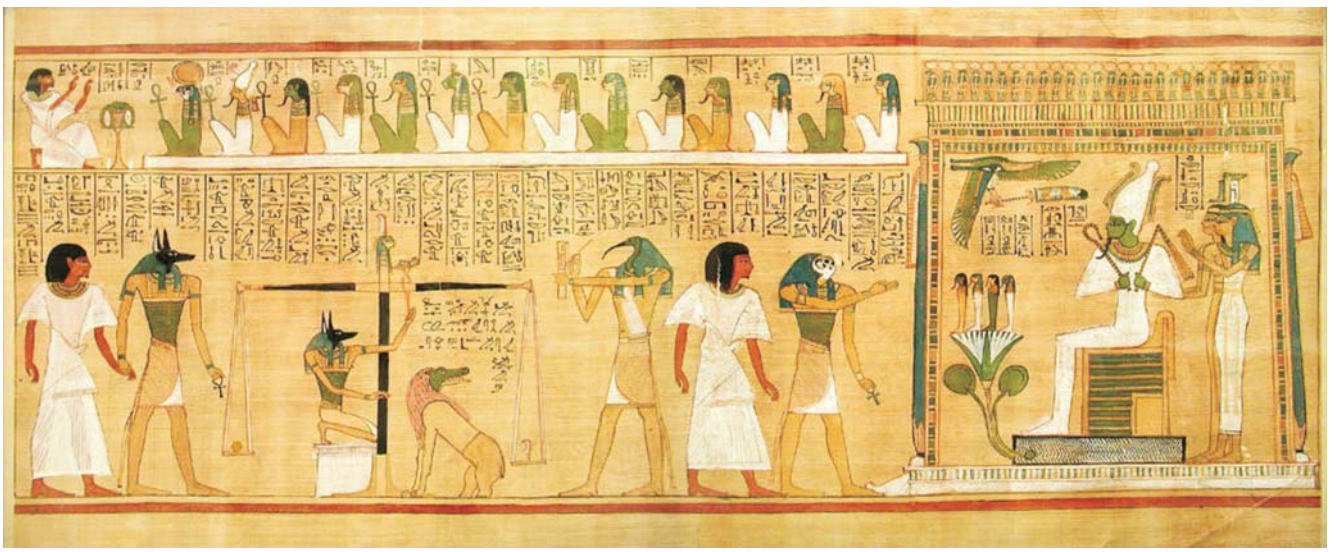
Egipcjanie wierzyli, że myśli pochodzą z serca ośrodka jego osądów i myśli, rozumu. Właściwości serca określały, czy zmarły zmartwychwstanie i wejdzie do raju. Po śmierci na zlecenie Maat, boga sprawiedliwości i prawdy, serce było umieszczane na wadze, a przeciwwagą było piórko. O zacności zmarłego świadczyło przeważenie wagi po stronie piórka (30).

Fenix (ognisty ptak) w mitologii egipskiej jest objawieniem boga Re. Egipcjanie postrzegali zmarłego w ukazaniu się ptakopodobnej zjawy o piskliwym głosie, przelatującej obok jego ulubionych miejsc. Inskrypcja nagrobne przedstawiają *Ba* w postaci ptaka z ludzką głową. Inną nieśmiertelną częścią duszy było *Akhu*, żyjące w *Sahu*, określającym intelekt, wolę i zamiary zmarłego, a który go przeobraża i wstępuje do nieba, aby żyć z bogami. *Akhu* wchodzi w ciało po śmierci, gdy odbył się sąd nad zmarłym. Wtedy *Ka* i *Ba* zostają połączone, stając się niezniszczalną gwiazdą widoczną w nocy na północnym niebie. Egipcjanie wierzyli, że zwierzęta, rośliny, woda, kamienie mają swoje własne *Ka*. Ludzkie Ka mogło wychodzić z danej osoby w czasie snu i wchodzić w rośliny, jeżeli tego chciało. Głodne i spragnione straszyło ludzi, aż naprawili swój błąd. Egipcjanie mumifikowali ciała, ponieważ ich fizyczna forma była integralną częścią pośmiertnego życia (22). Nie akceptowali egzystencji bez możliwości widzenia, dotyku, stąd nie aprobowali egzystencji bez ciała fizycznego. Zniszczenie serca zawierającego duchowe *Ib* oznaczało śmierć wszystkich części składowych istnienia, stąd konieczne było fizyczne zachowanie serca razem z fizycznym ciałem. Zatem śmierć, po odpowiednim przekształceniu duszy, oznaczała przejście pojedynczej istoty (odpowiednio przygotowanej) do trwałego życia we Wszechświecie. (24).

Po śmierci dusza przechodziła do podziemnego królestwa Ozyrysa, gdzie jej serce, a więc dusza, było ważone na wadze bogini Maat (bogini sprawiedliwości). Na przeciwwadze znajdowało się Piórko Prawdy. Przeważenie szali wagi przez Piórko Prawdy zapewniało wejście do wieczności, w której czas pobytu wyznaczał Ozyrys w zależności od osiągnięć posiadacza duszy - uczeni, jak pisarze i filozofowie, zmartwychwstać mieli po 3 tysiącach lat, natomiast ludzie niższego stanu - po 10000 lat. Dlatego balsamizacja ciała i zapewnienie właściwego grobu były konieczne (ryc. 1) (9, 23,25).

W przypadku samobójstwa, z powodu zniszczenia ciała (zamiast być zabalsamownym zgodnie z tradycją i powinnością krewnych), dusza traci swój dom, do którego wg egipskich wierzeń, musi powracać każdej nocy, aby ulec odnowie i odrodzeniu z następnym wschodem słońca, celem życia wiecznego. Egipcjanie uważali, że nie tylko *Ba* (dusza), ale też całe ciało ze swoimi narządami - nerki, serce, płuca - podlega bogom. Były w człowieku miejsca, gdzie mieszkała moc boska, wpływając na jedzenie i picie, będące obowiązkiem każdego w odniesieniu do mocy boskiej (9).

Starożytni Egipcjanie wierzyli, że zwierzęta również posiadają duszę i dlatego po śmierci, zwierzęta święte i/lub ulubione, podlegały balsamizacji w oczekiwaniu na dzień zmartwychwstania (3, 4, 17).



***Rycina 1.*** *Scena ważenia serca Hunefera, pisarza, 1310 r. p.n.e. Hunefer doprowadzany jest do wagi przez Anubisa z głową szakala. Demon Ammut przykucnął za wagą, aby połknąć serce, gdyby życie okazało się niegodziwe. Anubis dokonuje ważenia na wadze Maat (sprawiedliwości) z Piórkiem Prawdy. Thoth z głową Ibisa zapisuje wynik. Jeżeli serce jest lżejsze niż Piórko, to Hunefer przechodzi w zaświaty. Jeżeli nie, to serce zostaje zjedzone przez Ammita, będącego chimerą krokodyla, lwa i hipopotama. Cyt. wg http://en.wikipedia.org/wiki/File:BD_Hunefer.jpg*

## Dusza w Biblii

Biblia powstawała od XVI w. p.n.e. - 100 r. n.e. Wedlug Biblii połączenie martwej materii z tchnieniem życia danym od Boga stanowi *nefesz* (duszę): Genesis 2:7: „Ukształtował Pan Bóg człowieka z prochu ziemi i tchnął w jego nozdrza dech życia. Wtedy stał się człowiek istotą żywą" (hebr. *lenefesz chaiyah*).

*Nefesz* (dusza) to żywa istota, nie tylko człowiek lecz i zwierzęta.

Genesis 1:20: „Potem rzekł Bóg: Niech zaroją się wody mrowiem istot żywych (nefesz), a ptactwo niech lata nad ziemią pod sklepieniem niebios" (Pismo Święte Starego i Nowego Testamentu. Bryt. Zagr. Tow. Biblij., Warszawa 1977, Genesis).

***Rycina 2.*** *Charon przewozi przez Styks dusze do Hadesu. Pierre Subleyras (1699–1749), Luwr. Cyt. wg http://defterisk.tumblr.com/post/425143099/malebeautyinart-charon-passant-les-ombres*

## Starożytna Grecja

Homer w VIII wieku p.n.e. stworzył epickie dzieła, które stały się podstawą idei kulturalnych i religijnych świata greckiego i leżą u podstaw hellenizmu (6).

Homer sądził, że dusza znajduje się w klatce piersiowej (gr. *sthetos*) i ma trzy funkcje: myślenia, uczucia (smutek - *penthos*, gniew - *cholos*, męstwo - *menos*), woli (plan, decyzja). Wyróżnia duszę cielesną (serce), sterującą czynnościami psychofizycznymi (bicie serca) i niecielesną, sterującą czynnościami psychicznymi. Po śmierci dusza idzie do Hadesu (ryc. 2) (16, 28, 33).

Wzmianki na temat duszy można znaleźć w dziełach Homera „Iliadzie" oraz „Odysei", gdzie są echem egipskiej kardiocentrycznej teorii umiejscowienia duszy.

W „Iliadzie" czytamy: *"lecz pozostawmy go swemu losowi i niech powraca, albo zostaje. Zapewne on wtedy pójdzie do walki, kiedy nakaże mu w piersiach dusza i jakiś bóg go skłoni. Nuże więc chciejcie wysłuchać wy wszyscy tego, co powiem"* (Pieśń IX, wersy 701-713, Iliada, przekład K. Jeżewska).

Żaden z wczesnych systemów medycznych nie przypisuje mózgowi zdolności intelektualnych, względnie siedliska duszy. Co więcej, chociaż w Starożytnym Egipcie pojawia się słowo „mózg" (papirus Smitha), to jednak Egipcjanie nie przypisywali mu specjalnego znaczenia, jak świadczą ich praktyki pogrzebowe, odrzucające mózg a zachowujące w kanopach inne narządy wewnętrzne. Zatem niezwykłym wydarzeniem w historii ludzkości było, gdy Alkmaion z Krotony (ok. 500 r. p.n.e.) w oparciu o podstawy anatomiczne stwierdził, że mózg ma zasadnicze znaczenie dla percepcji i jest prawdopodobnym umiejscowieniem duszy. Powiązania idei mentalnego prymatu mózgu zostały utrwalone w nauczaniu szkoły hipokratejskiej (8).

Alkmaion z Krotony, ok. 500 r. p.n.e., w swojej pracy „O naturze" pisze, że siedzibą duszy jest mózg. Jako lekarz i anatom zauważył, że zmysły połączone są specjalnymi przewodami z mózgiem. Uważał, że życie człowieka rozwija się po linii prostej, natomiast życie bogów po linii kolistej symbolizującej byt wieczny - początek związany z końcem. Wierzył w nieśmiertelność ludzkiej duszy po śmierci (8).

Alkmaion opisuje różnicę między człowiekiem a zwierzęciem. Polega ona głównie na zdolności do rozumienia. Zwierzęta używają swoich zmysłów do postrzegania, ale nie do rozumienia, ponieważ rozum i myślenie są różnymi procesami, a nie jednakowymi.

Słyszymy dzięki uszom, ponieważ zawierają pustą przestrzeń, w której dźwięki rozbrzmiewają. Hałas powstaje we wnętrzu ucha, gdzie dźwięki odbijają się echem.

Węch związany jest z nozdrzami i aktem oddychania, gdy wciągamy powietrze do mózgu.

Językiem rozróżniamy smaki. Język rozpuszcza substancje swoim ciepłem. Z powodu swej swobody i wydajnej budowy łatwo odbiera i przenosi uroki smaków.

Oczy widzą naokoło poprzez wodę. Oko ma wewnętrzny ogień, niekiedy rozbłyskujący.

Widzenie spowodowane jest jasnością i odbiciem światła. Jest bardziej doskonałe im większa jest czystość danej substancji. Wszystkie zmysły są połączone w podobny sposób z mózgiem. Nie są zdolne do działania, gdy mózg jest zaburzony (wstrząśnięty), lub gdy doszło do przemieszczenia jego ułożenia (pozycji). Wtedy nie przechodzą przez niego działania zmysłów.

Ok. VI w. p.n.e. pojawił się reformistyczny ruch religijny zwany Orfizmem. Rozwinął się wokół poety Orfeusza, który był synem muzy Kaliope. Wierzono, że Orfeusz zstąpił do świata podziemnego, aby odzyskać swoją żonę Eurydykę, która zmarła po ukąszeniu przez węża. Wyrósł na kulcie Erosa, Fanesa - boga światłości i twórcy świata, oraz Dionizosa Wyzwoliciela. Na podstawie wypowiedzi Sokratesa wierzenia orfizmu można ująć następująco: 1 - dusza istnieje oddzielnie od ciała; 2 - może się łączyć z dowolnym ciałem; 3 - jest trwalsza od ciała, istnieje nawet gdy ciało ginie; 4 - ciało jest dla duszy więzieniem; 5 - dusza jest więziona w ciele za popełnione przez nią winy; ucieleśnienie duszy jest wynikiem jej upadku; 6 - będzie wyzwolona z ciała, gdy się oczyści, a oczyści się gdy odpokutuje za winy; pokutą dla duszy jest wcielanie się, zatem będzie wolna gdy przejdzie prze krąg wcieleń; 7 - celem życia cielesnego jest wyzwolenie duszy; 8 - nieszczęściu, jakim jest wcielenie, można zapobiec przez praktyki religijne i ascezę, a także powstrzymanie się od zabijania zwierząt i spożywania mięsa; 9 - ludzie są zobowiązani do wzajemnej dobroci i miłości. Orfizm był uważany w Atenach za religię niepożądaną, stąd też oskarżenie Sokratesa i jego samobójcza śmierć (36).

Sokrates (469-399 p.n.e.) uważał, że „człowiekiem jest jego dusza i ona odróżnia go od innych rzeczy". Dla Sokratesa dusza jest świadomym „ja", stanowiąc moralną i intelektualną osobowość. Wychowanie jest nauką, której celem jest „dusza, a ściślej dusza młodych". Praca nad sobą jest pracą ze swoją duszą (gr. *dajmon*), aby uczynić siebie doskonalszym. Po tragicznej śmierci Sokratesa w 399 r. p.n.e., jego uczeń Platon zaczyna pisać „Dialogi", aby zachować nauki swojego mistrza. Sokrates w „Dialogach" mówi do Fajdrosa o wartości duszy: „Dusza, nad którą nic cenniejszego ani ludzie, ani bogowie nie mają ani mieć nie będą" (5, 39, 40).

Hipokrates (460-370 p.n.e.) rzadko wypowiadał się na temat duszy. W „O świętej chorobie" znajdujemy następujące słowa o duszy: „Dusza jest taka sama u wszystkich stworzeń żyjących, chociaż ciało każdego z nich jest inne(…). Powinniśmy wiedzieć, że z niczego innego, jak z mózgu pochodzą żarty, radość, śmiech, sport, ale smutki, zmartwienia, zwątpienie, płacz (…) i przez niego stajemy się szaleni i majaczący, strach i przerażenie napadają na nas - jedne nocą inne dniem, przedwczesne sny błądzą oraz niepokoje niestosowne, ignorancja teraźniejszych wydarzeń, brak aktywności, niepoznawanie. Wszystkie te rzeczy pochodzą z naszego mózgu, gdy nie jest zdrowy" (20).

Platon (427-347 p.n.e.) zawarł poglądy na temat duszy w takich pracach, jak „Timaios" oraz „Fedon". Uważa, że budowa duszy jest trójczęściowa: umysł (gr. *nous*), uczucie (gr. *thymos*), ciało (gr. *pathos*). Zaburzenia między nimi wywołują chorobę, a harmonia - zdrowie.

Platon dyskutuje problem duszy, ciała i związków między nimi. Dialogi odbywają się z Sokratesem, już po jego skazaniu na śmierć. Sokrates uważa, że ten kto spędził życie studiując filozofię, nie musi obawiać się śmierci, ale powinien mieć nadzieję, że po niej „spotka wiele dobrych rzeczy". Opiera się na dwóch przesłankach, z którymi wszyscy się zgadzają: a) istnieje coś co nazywamy śmiercią; b) śmierć jest oddzieleniem duszy od ciała. Dusza ma zdolność reinkarnacji. Platon uważa, że dusza istnieje przed narodzinami ciała, w które może się wcielić. Uważa, że istnieje cykliczność duszy. Stąd każda ludzka dusza zna pewne rzeczy już przed urodzeniem. Sokrates mówi, że filozof powinien być w możliwie jak najmniejszym kontakcie ze swoim ciałem, co oznacza, że dusza jest rzeczywistym „ego". Jest ona nieśmiertelną, autonomiczną jednostką o zdolności poznawczej. Im silniejsza dusza, tym większa moc poznawcza. Składa się z trzech części, które ciągle walczą między sobą. Jedna z części związana jest z honorem, samokontrolą i rozumem, pozostałe - z bezsensem i popędami. Zatem wyobrażenie duszy przez Platona było bytem dynamicznym, a nie statycznym (14, 25, 21).

Poniżej przedstawiono fragmenty z „Timaiosa" mogące rzucić światło na poglądy Platona w sprawie duszy (26).

*„Otóż jeśli dusza jest właśnie pewnego rodzaju harmonią, to jasna rzecz, że jeśli napięcie naszego ciała osłabnie poniżej pewnej miary lub się nadmiernie zwiększy pod wpływem chorób czy innych nieszczęść, dusza musi natychmiast ginąć, chociaż jest najbardziej boska; podobnie jak i inne harmonie między dźwiękami czy w jakichkolwiek dziełach rąk ludzkich zawarte - tylko szczątki ciała w każdym wypadku trwają, póki nie spłoną lub nie zgniją. Otóż zobacz, na taką myśl co powiemy, jeżeliby ktoś uważał, że dusza jest mieszaniną tego, co się w ciele dzieje, i pierwsza ginie w chwili tak zwanej śmierci" (str. 157).*

*„Ale dusza jest niewidzialna, a ogień i woda, i ziemia, i powietrze - to wszystko są ciała widzialne. Człowiek, który kocha rozum i wiedzę, powinien przede wszystkim*

*śledzić przyczyny natury rozumnej, a na drugim miejscu dopiero te, które powstają pod wpływem ciał poruszanych przez inne ciała i poruszających inne. I myśmy tak postąpić powinni. Zatem trzeba mówić o jednym i o drugim rodzaju przyczyn.*

*Osobno o tych, które rozumem wykonują rzeczy piękne i dobre, i o tych, co pozbawione rozumu, wywołują za każdym razem to lub tamto bez planu i bez porządku (str 195).*

*„(Bogowie) Wykończyli to wszystko razem, jak konieczność wymagała, i tak śmiertelny ród zbudowali. Dlatego też, szanując pierwiastek boski i nie chcąc go splamić, o ile to nie było nieodzownie konieczne, dali śmiertelnej cząstce na mieszkanie osobną, oddzieloną okolicę ciała. Zbudowali przesmyk i granicę pomiędzy głową a piersią, kładąc pomiędzy nie szyję, aby je rozdzielić. A w piersi i w tym, co się tułowiem nazywa, kazali mieszkać śmiertelnej części duszy, i ponieważ jedna jej część jest lepsza, a druga gorsza, więc tak rozplanowują jamę tułowia, żeby oddzielić apartamenty kobiece, a męska część mieszkania żeby była osobno. Zatem przeponę w środek pomiędzy obie części kładą, aby je rozdzielała. Tę część duszy, która ma w sobie męstwo i gniew, więc łatwo w pasję wpada, osadzili bliżej głowy, między przeponą a szyją, aby rozumu słuchała i razem z nim gwałtem hordę pożądań poskramiała, ile razy ta nie zechce dobrowolnie słuchać rozkazu myśli idącej z Wysokiego Zamku. A serce, ten początek żył i źródło krwi, która z siłą po wszystkich członkach obiega, w koszarach gwardii umieścili, aby w chwili, gdy zawrze gniew temperamentu, bo myśl doniesie, że dzieje się koło nich jakaś robota niesprawiedliwa, która przychodzi z zewnątrz, albo też próbuje jej któraś z wewnętrznych żądz, aby się wtedy wszystko, co jest wrażliwe w ciele, szybko dowiedziało o tych zleceniach i groźbach i żeby się wtedy poddało i usłuchało rozumu i pozwoliło w ten sposób rządzić między nimi wszystkimi temu, co najlepsze.*

*A na bicie serca w oczekiwaniu rzeczy strasznych i w momentach, kiedy się budzi gniew, przewidując, że całe takie zapalenie części objętych gniewem będzie pochodziło od ognia, obmyślili środek zaradczy i wszczepili go w pierś w postaci płuc. Te są przede wszystkim miękkie i bez krwi, a potem mają w środku jamy puste jak gąbka, aby mogły przyjmować powietrze i napój i przez to chłodziły i przynosiły wytchnienie i ulgę w upaleniu. Dlatego i tchawicę wprowadzili do płuc i serce obłożyli płucami, jak poduszką, aby w chwili, gdy w nim gniew dojdzie do szczytu, uderzało o materiał podatny, żeby się ochładzało, nie męczyło się tak bardzo i mogło więcej słuchać rozumu, podobnie jak i temperament. A tę część duszy, która pragnie pokarmów i napojów, i tego wszystkiego, czego wymaga natura ciała, tę umieścili pomiędzy przeponą a granicą, która biegnie przez pępek - i w całym tym miejscu zbudowali jak gdyby żłób do karmienia ciała. I przywiązali do niego tę część duszy, niby zwierzę dzikie, które trzeba było przywiązać i karmić, jeżeli miał powstać jakiś ród ludzki. Żeby się więc zawsze pasło u żłobu i żeby mieszkało jak najdalej od kierownictwa i przez to jak najmniej robiło mu niepokojów i hałasów i pozwalało temu, co najlepsze, spokojnie myśleć o tym, co pożyteczne dla wszystkich części razem, z tego powodu tam mu wyznaczyli mieszkanie. A wiedzieli, że ono miało nawet nie rozumieć rozumu, chociażby nawet zdolne było do jakichś spostrzeżeń" (str. 208).*

Przed Platonem filozofowie - przyrodnicy mieli duszę za rodzaj materii, orficy - za nadziemskiego demona. Platon zmodyfikował te koncepcje i stworzył ich oryginalną syntezę. Filozofowie widzieli w duszy czynnik życia - człowiek żyje, póki ją w sobie posiada, a umiera, gdy ją traci. Pojmowali ją przy tym jako materię, tyle tylko że subtelniejszą od tej, z jakiej zbudowane jest ciało. Platon zachował ich biologiczne pojmowanie duszy. Również i dla niego była czynnikiem życia, bez którego ciało jest martwe. Życie zaś polega na tym, że istota, która je posiada, jest źródłem samorzutnego ruchu. I to właśnie stanowi istotę duszy - jest tym, co się samo wprowadza w ruch. Zachowując biologiczne rozumienie duszy Platon przestał ją rozumieć materialnie. Dusza jest, jako czynnik życia, przeciwieństwem materii, bo materia jest z natury bezwładna, a dusza jest źródłem ruchu. Jest realna, ale nie materialna. „W Platonie" - pisał Leibniz - „najdoskonalsze wydaje się mi to, że definiuje ducha jako substancję, która sama się porusza, swobodnie i samorzutnie działa, że traktuje go jako zasadę działania w przeciwieństwie do materii". Platon uważał, że dusza pełni funkcje poznawcze, ale też będąc niematerialną i nieśmiertelną stanowi czynnik nieśmiertelności w człowieku. Zatem zgodnie z poglądami Platona można o duszy powiedzieć, że: 1 - jest niematerialna; 2 - oddzielna od ciała, niezależna; 3 - w przeciwieństwie do ciała, które jest złożone z części, dusza jest niezłożona; 4 - dusza jest doskonalsza od ciała; 5 - z wyższości duszy nad ciałem wynika, że złączenie ich jest dla duszy niekorzystne. Byłaby lepsza i szczęśliwsza, gdyby była wolna od ciała; 6 - dusza w przeciwieństwie do ciała jest nieśmiertelna; choć ciało ulegnie rozkładowi i zniszczeniu, dusza, jako niezależna odeń, może trwać dalej; 7 - dusza posiada wiedzę wrodzoną, musiała więc zdobyć ją przed urodzeniem, istniała zatem przed urodzeniem; 8 - ginie od swoistego zła. Złem duszy jest niesprawiedliwość, niewstrzemięźliwość, tchórzostwo, ciemnota; ale doświadczenie uczy, że te zła nie przyprawiają duszy o śmierć; zatem nic jej już o śmierć przyprawić nie może (36). Na dziełach Platona opierał swoje poglądy Plotyn (29).

Arystoteles (384-322 p.n.e.) wyróżniał trzy rodzaje dusz. Dusza odżywiająca jest podstawową zasadą życia

biologicznego. Jest najbardziej prymitywną i szeroko rozmieszczoną mocą duszy oraz rzeczywistą zaletą żyjącej duszy. Posiada moc wzrostu, odżywiania i reprodukcji. Rośliny posiadają tylko duszę odżywiającą. Ich różne narządy (korzenie, liście, łodyga) umożliwiają prowadzenie wegetacji. Zwierzęta mają nie tylko dusze odżywiające, ale także dusze percepcji, pożądania i ruchu. Można o nich powiedzieć, że posiadają dusze czuciowe (7). Obecność duszy czuciowej zakłada posiadanie duszy odżywiającej, ale nie odwrotnie (32). Ludzie mają jedyną w swoim rodzaju właściwość posiadając nie tylko moc dusz odżywiającej i czuciowej, ale również duszę rozumną, mogącą myśleć i wyrażać własną wolę. Doczesnym miejscem nieśmiertelnej duszy jest serce (1, 5, 19, 34).

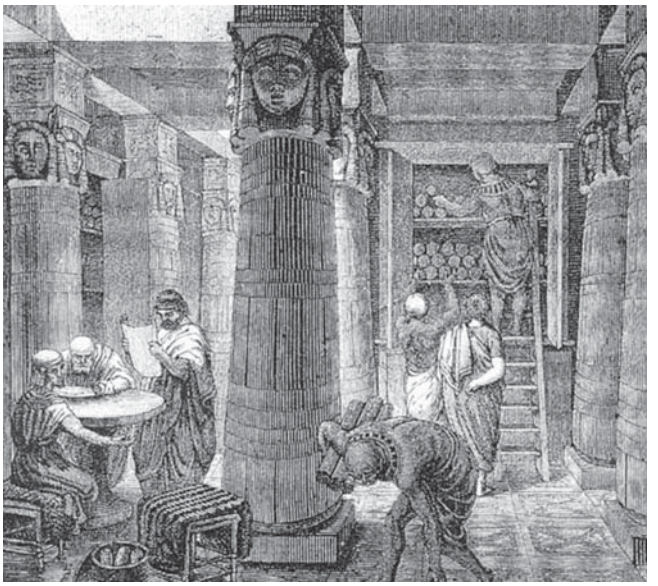
Śmierć Alexandra Wielkiego w 323 r. p.n.e., dokładnie 1 rok przed śmiercią Arystotelesa zapoczątkowuje okres znany jako wiek hellenistyczny. Wiek hellenistyczny jest przejściem od Grecji klasycznej do Imperium Rzymskiego. Najznaczniejsze szkoły filozoficzne tworzyli epikurejczycy i stoicy. Obydwie te szkoły myślenia uznawały pogląd, że dusza jest materialna (corporeal). Szkoła stoicka została założona przez Zenona z Citium (331-262 p.n.e.) i Chysippusa z Soli (277-204 p.n.e.), którzy głosili teorię, że dusza jest częścią myśli, uczuć, pragnień, którą kieruje zasada nazywana *hegemonikon*. *Hegemonikon* przenika człowieka i jest utożsamiany z mózgiem i intelektem. Aby spowodować ruch ciała, dusza musi być materialna, gdyż tylko siła materialna może wpływać na inną materię. Uważali, że jest śmiertelna, nawet jeśli przetrwa śmierć danej osoby jako delikatne części, aż intensywny ogień rozrzuci je po całym kosmosie. Stoicy myśleli, że dusza znajduje się w całym ciele i nim zarządza, umiejscawiali *hegemonikon* w sercu i w *pneuma otaczającym serce*.

Według Epikura z Samos (341-270 p.n.e.) (16, 36) człowiek złożony jest z atomów, tak jak - ziemia, zwierzęta, rośliny. Człowiek, świadomy siebie, powstaje z atomów nieforemnych, tworzących ciało oraz z atomów okrągłych i gładkich tworzących duszę.

Dusza składa się z niewielkich ciałek, rozmieszczonych jako atomy w całym ciele.

Są to ciepłe tchnienia, wnikające do wszystkich narządów ciała i krwi. Tworzą one duszę nielogiczną, natomiast w piersiach i sercu znajduje się dusza logiczna odpowiadająca za myśli, uczucia i wolę. Uważał, że pogląd o niecielesności duszy jest niedorzeczny. Dusza jest zniszczalna i śmiertelna - tak samo jak ciało. Śmierć jest faktem nieodwołalnym - szczęściem duszy nie jest zbawienie, ale życie bez cierpień i zdrowie ciała (16).

Epikur wykorzystywał obserwację i doświadczenia, odrzucał idee mitologiczne i religijne w wyjaśnieniu natury. Epikur zakładał istnienie duszy dla wyjaśnienia zdolności zmysłowo-percepcyjnych, które, jak uważał,



***Rycina 3.*** *Założony przez Ptolemeusza I, pierwszy na świecie uniwersytet w Alexandrii. Cyt. wg http://en.wikipedia.org/wiki/File:Ancientlibraryalex.jpg*

były przywilejem życia intelektualnego. Podobnie jak Demokryt przed nim, Epikur dowodził, że dusza jest zbudowana z cząsteczek materialnych rozprzestrzenionych jak oddech w całym ciele. Cząsteczki te były cienkie i okrągłe, a w konsekwencji swobodniejsze od innych cząsteczek. W chwili śmierci atomy duszy ulegały całkowitemu oddzieleniu, co powodowało brak działania zmysłów. Śmierć była „utratą zmysłów" i z tego powodu, jak mówił Epicurus, postępujemy nierozsądnie obawiając się śmierci. Pod tym względem Epikur podzielał pogląd Arystotelesa, który głosił, że dusza w ciele jest nadzwyczajnym zjawiskiem i rozbrzmiewa w nim, wyrażając wszystkie zdolności ciała i jego możliwości, wtedy znika z ciała wraz ze śmiercią.

Greccy anatomowie i lekarze, jak Herophilus z Chalcedonu (335-280 p.n.e.) i Erasistratus z Chios (310-250 p.n.e.) wierzyli, że mózg jest siedzibą duszy (41).

Pierwszy uniwersytet na świecie ufundował Ptolemeusz I Soter (367-282 p.n.e.) - Alexandria Museum (ryc. 3). Miała to być kontynuacja Liceum Arystotelesa, którego uczniami byli Alexander i Ptolemeusz. W tym uniwersytecie pracował Herophilus, znany ze szczegółowych opisów anatomicznych mózgu. Koncepcja Platona trzech komponentów czynności umysłowej mózgu, a więc duszy, została przyjęta przez Herophilusa, który identyfikował każdą z jej części z różnymi komorami mózgu, umieszczając tę kontrolującą ciało w komorze IV lub tylnej. Decyzja Herophilusa, by umiejscowić duszę w IV komorze wywodziła się z obserwacji, że wszystkie nerwy, jak twierdził, wychodzą z rdzenia kręgowego oraz z móżdżku i pozostają blisko komory IV. Ponadto

są to nerwy odpowiedzialne za ruch i czucie oraz za przenoszenie informacji od zmysłów. Zatem dusza musi być blisko rozumienia ruchu i czucia, czyli w IV komorze (38).

Jego badania ciała człowieka pozwoliły na odkrycie splotu naczyniówkowego, pióra pisarskiego, spływu zatok oraz wprowadzenie pojęcia „duszy poruszającej", co było pierwszą koncepcją bodźca nerwowego (2, 31, 41).

## Piśmiennictwo


1. *Bennett M.R., Hacker P.M.S.:* The motor system in neuroscience: a history and analysis of conceptual developments. Progr. Neurobiol. 2002, 67, 1-52
2. *Boylan P.J.:* Universities and Museums: Past, Present and Future. Museum Manag. Curator. 1999, 18, 1, 43-56
3. *Bruins H.J.:* Dating Pharaonic Egypt. Science 2010, 328, 1489-1490
4. *Buckley S.A., Clark K.A., Evershed R.P.:* Complex organic chemical balms of Pharaonic animal mummies. Nature 2004, 431, 294-299
5. *Clark W.:* Narratology and history of science. Stud. Hist. Phil. Sci. 1995, 26, 1, 1-71
6. *Crivellato E., Ribatti D.:* Soul, mind, brain: Greek philosophy and the birth of Neuroscience. Brain Res Bull 2007, 71, 327-336
7. *Dolan B.:* Soul searching: a brief history of the mind/body debate in the neurosciences. Neurosurg. Focus 2007, 23, 1, E2
8. *Doty R.W.:* Alkmeion's discovery that brain creates mind: a revolution in human knowledge comparable to that of Copernicus and Darwin. Neuroscience 2007, 147, 561-568
9. *Ezzamel M.:* Order and accounting as a performative ritual: Evidence from ancient Egypt. Account. Org. Society 2009, 34, 348-380
10. *Frankfort H.:* Ancient Religion: An Interpretation. Columbia University Press, 1975
11. *Gross C.G.:* Brain, Vision, Memory: Tales in the History of Neuroscience. MIT Press, 1998
12. *Guasch-Jane M.R., Lacueva C.A., Jauregui O., Lamuela-Ravento R.M.:* First evidence of white wine in ancient Egypt from Tutankhamun's tomb. J. Archaeol. Sci. 2006, 33, 1075-1080
13. *Haimov-Kochman R., Sciaky-Tamir Y., Hurwitz A.:* Reproduction concepts and practices in ancient Egypt mirrored by modern medicine. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2005, 123, 3-8
14. *Karasmanis V.:* Soul and body in Plato. International Congress Series 1286, 2006, 1-6
15. *Knezic D., Wubbels T., Elbers E., Hajer M.:* The Socratic Dialogue and teacher education. Teach. Teacher Educ. 2010, 26, 1104-1111
16. *Kobierzyński T.:* Filozofia osobowości. Wydawnictwo Psychologii i Kultury. Warszawa 2001
17. *Lawler A.:* Ancient Alexandria Emerges, By Land and By Sea. Science 2005, 307, 1192-1194
18. *Liritzis I., Sideris C., Vafiadou A., Mitsis J.:* Mineralogical, petrological and radioactivity aspects of some building material from Egyptian Old Kingdom monuments. J. Cult. Herit. 2008, 9, 1-13
19. *Long C.P.:* Aristotle on the Nature of Truth. Cambridge University Press, 2011
20. *Lonie I.M.:* Hippocrates the Iatromechanist. Med. Hist.1981, 25, 113-150
21. *Malone J.:* Plato and the Easter Bunny. Behav. Proc. 1997, 40, 187-192
22. *Miller R. L.:* Palaeoepidemiology, literacy, and medical tradition among necropolis workmen in New Kingdom Egypt. Med. Hist. 1991, 35: 1-24
23. *Moore E.M.:* Annual address. W: Transactions of the American Surgical Association. Red.: J.E. Myers, Philadelphia 1885, 21-34
24. *Nerlich A.G., Zink A., Szeimies U., Hagedorn H.G.:* Ancient Egyptian prosthesis of the big toe. Lancet 2000, 356, 2176-2179
25. *Okasha A.:* Mental health in the Middle East: an Egyptian perspective. Clin. Psych. Rev. 1999, 19, 8, 917-933
26. *Platon:* Dialogi. Timaios. Przekład: W. Witwicki, Tower Press, Gdańsk 2000
27. *Pollock W.B.I.:* The Antiquity of Ophthalmology. Br. J. Ophthalmol. 1945, 29, 252-259
28. Quin C.E.: The centre thought to control sensory and motor activity in the early history of medicine. J. Roy. Soc. Med. 1992, 85, 102-105
29. *Raizman-Kedar Y.:* Plotinus's conception of unity and multiplicity as the root to the medieval distinction between lux and lumen. Stud. Hist. Phil. Sci. 2006, 37, 379-397
30. *Robinson. A.:* How to behave beyond the grave. Nature 2010, 468, 632-633
31. Rosen C.: The origin of the conception of the nervous impulse. Canad. Med. Assoc. J. 1932, 66 – 70
32. *Santoro G., Wood M.D., Merlo L., Anastasi G.P.:* The Anatomic Location of the Soul from the Heart, through the Brain, to the whole Body, and beyond: a Journey through Western History, Science, and Philosophy. Neurosurgery 2009, 65, 633-643
33. *Sapounakis C., Rallis G., Mourouzis C., Konsolaki E., Tesseromatis C.:* Injuries to the head and neck in Homer's Iliad. Br. J. Oral Maxil. Surg. 2007, 45, 112-115
34. *Shoja M.M., Tubbs R.S., Loukas M., Ardalan M.R.:* The Aristotelian account of "heart and veins". Int. J. Cardiol. 2008, 125, 304-310
35. *Sullivan R.:* The identity and work of the ancient Egyptian surgeon. J. R. Soc. Med. 1996, 89, 467-473
36. *Tatarkiewicz W.:* Historia Filozofii. Część I: Filozofia starożytna. PWN, Warszawa 1978, 17-208
37. *Thekkaniyil J.K., Bishara S.E., James M.A.:* Dental and skeletal findings on an ancient Egyptian mummy. Am. J. Orthodont. Dentofac. Orthoped. 2000, 117, 10-14
38. *Tomey M.T., Komotar R.J., Mocco J.:* Herophilus, Erasistratus, Aretaeus, and Galen: ancient roots of the Bell - Magendie Law. Neurosurg. Focus 2007, 23 (1), E12
39. *Van Deusen N.:* Ensouled bodies: The continuity of the theme of 'the body as instrument'. J. Physiol. Paris 2007, 101, 280-291
40. *Williamson T.:* The good society and the good soul: Plato's Republic on leadership. Leadership Quart. 2008, 19, 397-408
41. *Wills A.:* Herophilus, Erasistratus, and the birth of neuroscience. Lancet 1999, 354, 1719-1720



**Adres do korespondencji:**
Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Umiejscowienie duszy - od klasycznych poglądów do mózgowych sieci neuronalnych wysokiej hierarchii. Część II. Od powstania chrześcijaństwa do XX wieku.

## Soul localization - from the classical concepts to the cerebral neuronal networks of high hierarchy. Part II. From the beginning of Christian era to the XXth century.

Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek

*z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

**Streszczenie**

Pogląd na umiejscowienie duszy zmieniał się poprzez wieki zarówno w religii, filozofii, jak i anatomii. Galen z Pergamonu, sławny rzymski lekarz i wybitny filozof działający w początkowym okresie chrześcijaństwa. Galen twierdził, że trzy rodzaje dusz ulegają zmieszaniu i połączeniu w jedną, w komorach mózgu, skąd przemieszcza się ona do całego ciała.

Pierwsi chrześcijańscy pisarze, Nemezjusz i św. Augustyn, twierdzili, że człowiek ma duszę, która odpowiadała za działanie zmysłów, rozum i pamięć mieszczące się w komorach mózgu. Jednakże Tomasz z Akwinu, znany włoski zakonnik, filozof, teolog, będący pod wrażeniem poglądów Arystotelesa, za siedzibę duszy uważał serce. Renesans przywrócił postrzeganie duszy w mózgu, co obserwujemy w pracach Leonardo da Vinci oraz Kartezjusza z jego neoplatońskim dualizmem ciało - dusza. W XVIII w. rozpoczęto badanie takich zdolności duszy jak umysł i wyobraźnia. Niemiecki filozof Immanuel Kant wyróżniał duszę w kategoriach filozoficznych i anatomicznych. Na przełomie wieków XVIII i XIX Freud sformułował teorię psychoanalizy oraz struktury duszy. Również najsławniejsi neurochirurdzy - Harvey Cushing, Walter Dandy, Wilder Penfield - byli zainteresowani umiejscowieniem duszy lub świadomości, którą często utożsamiano z duszą.

**Summary**

The idea of soul localization was changing through centuries in religion, philosophy and anatomy.

Galen of Pergamon was a prominent Roman physician, proficient surgeon and philosopher in the beginning of the Christian era. Galen believed that three souls were mixed in the cerebral ventricles and were propelled into nerves and muscles. First Christian writers, Nemesius and saint Augustine, thought man had an incorporeal soul including sensory activity, reason and memory resided in the brain ventricular system. Italian priest Thomas of Aquino, significant philosopher and theologian, was under Aristotle's influence and in his opinion the heart was a place of soul. Renaissance philosophical and medical concerns perceived brain as a home to the soul in works of Leonardo da Vinci and René Descartes with his neoplatonic soul - body dualism. In XVIIIth century faculties of the soul like mind and imagination were investigated. Immanuel Kant saw soul in the philosophical and anatomic categories. Freudian theory of psychoanalysis and soul organization appeared in between late 1800s and early 1900s. Most famous neurosurgeons - Harvey Cushing, Walter Dandy, Wilder Penfield - were concerned about localization of the soul or consciousness, often identified as a soul.

**Słowa kluczowe:** umiejscowienie duszy, historia, mózg, serce, anatomia

**Key words:** soul localization, history, brain, heart, anatomy

Według gnostyków śmierć Jezusa z Nazaretu była wydarzeniem radosnym, gdyż dusza była uwięziona w ciele, z którego mogła być uwolniona tylko przez jego śmierć. Gnostycyzm (gr. *gnōsis - wiedza*) pojawił się ok. III wieku p.n.e. w Aleksandrii, jako efekt kontaktów kultury hellenistycznej z judaizmem. Jednak jego rozwój nastąpił na początku naszej ery. Dlatego terminem tym określamy

wczesnochrześcijańskie grupy religijne, których prekursorami były zoroastrianizm i judaizm hellenistyczny. Wspólną ich cechą charakterystyczną było nauczanie, że pewna ezoteryczna wiedza (gnoza, dostępna tylko dla wtajemniczonych) jest niezbędna dla zbawienia duszy od świata materialnego stworzonego przez demiurga, którego oddzielali od doskonałego Boga. Istotę gnostycyzmu stanowiła skrajnie dualistyczna i pesymistyczna koncepcja świata - zło, pochodzące z materii, które jest czynnikiem równie odwiecznym jak dobro, pochodzące od Boga. Duch Zła stworzył z ziemskiego mułu człowieka, w którego Duch Dobra tchnął duszę. Doktrynę tę rozwinie następnie św. Augustyn z Hippo odrzucając z niej obecność Ducha Zła (85).

Chrześcijaństwo większość nurtów gnostycyzmu uznało za herezję. Gnostycy poszukiwali wyzwolenia od zła i uważali, że Chrystus był jednym z eonów wyzwalających ludzi od zła. Gnostycy byli przekonani o dwoistości duszy i materii. Dziełem głoszącym poglądy gnostyków, które się zachowało, jest powstałe w II w. n.e. „Pistis Sofia" (77). Pokrewny gnostycyzmowi był manicheizm, głoszony przez Persa Manesa (II w. n.e.), który głosił, że w kosmosie działają dwaj bogowie, bóg światła i bóg ciemności, a człowiek posiada dwie dusze, jedną pochodzącą ze światła i drugą - z ciemności (71, 85).

Starożytni Grecy i Rzymianie wielką wagę przykładali do spożywanych potraw. Popularne było wówczas powiedzenie, że „jesteś tym, co zjadasz" (96). Poeta rzymski Decimus Iunius Iuvenalis I/II w. n.e. znany ze swoich „Satyr", poematów pisanych heksametrem daktylowym uważał, że zdrowa dusza może być tylko w zdrowym ciele:
„Orandum est ut sit mens sana in corpore sano,
fortem posce animum mortis terrore carentem".
[Należy modlić się o zdrową duszę w zdrowym ciele,
o duszę nie czującą strachu przed śmiercią] (41).

Od dawna znano pozytywny wpływ konsumpcji ryb na *psyche*. Pochodząca z II w. n.e. grecka inskrypcja nagrobna Pectoriusa w Autun (II w. n.e.), we Francji, głosi (71):
*„Boskie pochodzenie niebiańskich ryb zachowuje*
*czyste serce otrzymane ze śmiertelnych*
*i nieśmiertelnych źródeł boskich rzek.*
*Ożyw, przyjacielu, duszę obfitymi wodami*
*obdarzającymi skarbami mądrości".*

Reis i Hibbeln piszą o kulturalnym symbolizmie ryb (71). Stwierdzają oni, że ryby są pożywieniem mającym wyjątkowe właściwości psychotropowe. Konsumpcja wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak długołańcuchowe kwasy tłuszczowe omega-3, zmniejsza depresję, agresję, stany lękowe, zwiększa dobre samopoczucie. Spożywanie ryb związane jest z poprawą stanów emocjonalnych indukowanych przez kwasy tłuszczowe omega-3. Aktywność układu limbicznego i hipokampa odpowiedzialna za tworzenie pamięci jest optymalna w kontekście diety zawierającej długie łańcuchy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Od sześciu tysięcy lat, w różnych niezależnych systemach religijnych i kulturach, spożywanie ryb było symbolem pożywienia oczyszczającego duszę i dającego dobre samopoczucie. Wyraźny związek między schizofrenią i niską zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych znajduje wielu autorów (34, 38, 49, 94, 95).

Claudius Galenus, Galen z Pergamonu (129-200 n.e.), najsławniejszy lekarz i eksperymentator Cesarstwa Rzymskiego, osobisty lekarz imperatorów rzymskich, m. in. Marcusa Aureliusa, w odniesieniu do duszy twierdził: „Tam, skąd wychodzą nerwy, tam panuje dusza". Od niego pochodzi, uznawana w Średniowieczu, doktryna 3 komór (Galen traktował obie komory boczne jako jedną) - siedliska duszy (46).

Galen nauczał, że ciało człowieka ma trzy zasadnicze funkcje: pośredniczy w działaniu duszy naturalnej (*spiritus naturalis, pneuma physicon*), duszy życiowej (*spiritus vitalis, pneuma zoicon*) oraz duszy poruszającej lub rozumnej (*pneuma psychikon vel spiritus animalis*). Przewodnictwo nerwowe wyjaśniał „przepływem mocy", za co odpowiedzialna jest pneuma psychikon, mająca swoje miejsce w nerwach. (91).

Galen wierzył, że „poprzez rozkurcz (*diastole*) mózgu, pneuma zostaje wessana do mózgu poprzez blaszkę sitową i zmieszana ze *spiritus animalis* oraz *spiritus vitalis*, które przemieszczają się naczyniami krwionośnymi w górę, od serca". Zgodnie z teorią Galena dusze po osiągnięciu mózgu zostają zmieszane w *rete mirabilis*, oczyszczone i przemieszczone do komór mózgu (ryc. 1). Następnie wypływają przez nerwy na obwód ciała, powracając wtedy do krążenia krwi. Produkty uboczne tej działalności były wydzielane przez nos, a gdy doszło do zablokowania wydzielania, pacjent doznawał udaru mózgu (74, 73, 79). W ten sposób Galen widział mózg, jako narząd oczyszczający krew z nadmiaru substancji tworzącej duszę. Uważał, że nierównowaga w tym działaniu powoduje różne choroby szczególnie depresję, melancholię, rozpacz, niekiedy śmierć (4, 44, 68, 69).

Galen sądził, że wodogłowie było spowodowane nadmiernym gromadzeniem płynu w komorach, ale nie powiększeniem komór. To jego mniemanie było przyczyną błędnych rozpoznań i niewłaściwego leczenia do XVII w. Opisał ścieńczenie miąższu mózgu i kości czaszki towarzyszące wodogłowiu. Zauważył zachowanie komunikacji między komorami wierząc, że dusza zawarta w tych komorach podlega procesowi oczyszczania a pojawiające się w ten sposób odpadki są umieszczane w przysadce (54).

Ograniczenie sekcji oznaczało, że poglądy Galena uznawano w Średniowieczu (3).

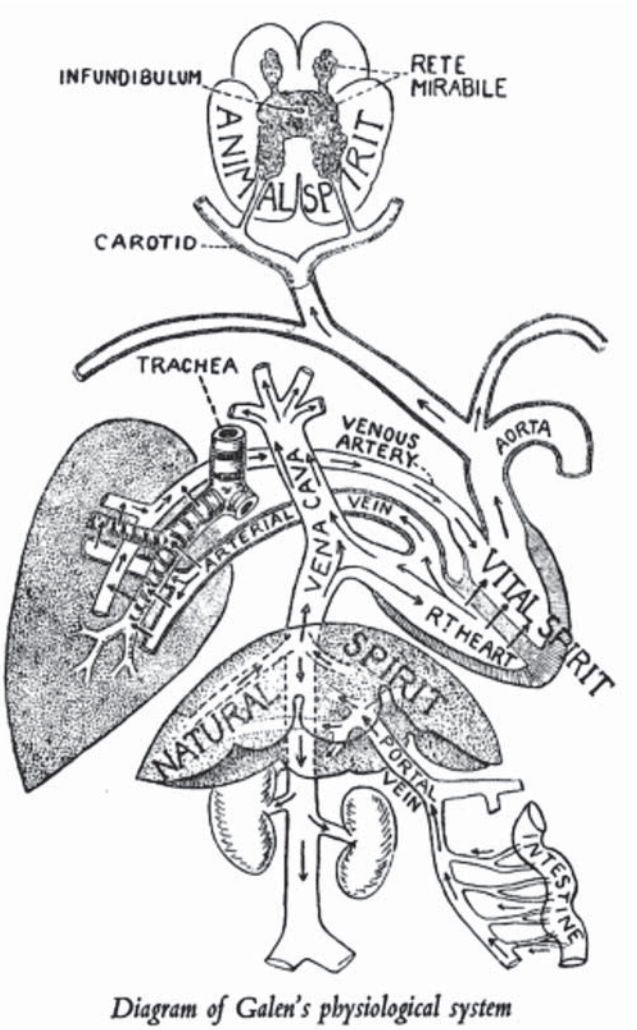
Teorię dusz wyróżnionych przez Galena ostatecznie obalił Descartes (1596-1650) i jego dualistyczna wizja *res cogitans* (dusza) i *res extensa* (materia), które tworzyły podstawę dla teorii mechanistycznej (45).

Plotyn (ok. 204-269), grecki filozof, urodzony w Lykopolis w Egipcie, uznany został za twórcę neoplatonizmu. Neoplatonizm był ostatnim wielkim systemem filozofii starożytnej. Po śmierci Plotyna rozwijał się w kilku szkołach: rzymskiej, ateńskiej, syryjskiej, pergamońskiej i aleksandryjskiej. Najbardziej znanym następcą Plotyna był Porfiriusz. W myśli chrześcijańskiej neoplatonizmem inspirowali się m. in. ojcowie kapadoccy. Plotyn nie dokończył swego dzieła „Enneady". Zrobił to jego uczeń Porfiriusz (89, 70). Czwarta część „Ennead" mówi o duszy. Dusza wg Plotyna przyjmuje tonację kobiecą. Dusza „szuka", „biega", „podskakuje", niczym żona z „Pieśni nad Pieśniami" Salomona, która poszukuje ukochanego (35).

Według Plotyna przyczyna-zasada jest Jednem, z którego wywodzi się wielość bytu, sama natomiast bytem nie jest. Jedno stanowi przyczynę kolejnych hipostaz (byt wyobcowany z Absolutu): Umysłu (*noús*) i Duszy (*psyche*) a za ich pośrednictwem świata zmysłowego, który wszelako nie stanowi odrębnej hipostazy, podobnie jak materia, nieistniejąca oddzielnie od Duszy (50). Wywodzenie wszystkiego z Jedna, określane mianem emanacji, jest pojmowane jako stawanie się hierarchicznie uszeregowanych stopni bytu, wg zasady, że poziom wyższy daje początek kolejnemu istnieniu, już mniej doskonałemu od swojej przyczyny. Dusza powstaje z Umysłu, w wyniku jego twórczego działania, jako jego naśladownictwo i obraz, jego słowo (*logos*), wylewające się z niego życie. Dusza jest ostatnią hipostazą: bytem samoistnym i zdolnym do tworzenia. Ogląda Umysł i w nim idee, a przezeń Dobro. Zachowuje jedność, nie ulega podziałowi i zawsze udziela się cała, lecz jest też wielością mocy: wyodrębnia w niej Plotyn duszę wyższą - kontemplującą Umysł, duszę wszechświata i w niej moc tworzącą, którą określa mianem natury (*physis*), oraz wielość dusz jednostkowych, w których zaznacza się podział na część wyższą - rozumną, oraz niższą - złączoną z ciałem. Dusza jest więc jednością i wielością, daje początek światu zmysłowemu, tworzy jego ciało (materię) i kształtuje je w poszczególne istnienia na wzór oglądanych przez siebie idei, urzeczywistniających się w niej w postaci wątków rozumnych (*logoi*).

Jednostkowym istnieniom, wśród nich człowiekowi, udzielają się dusze poszczególne, dając im życie i stanowiąc zasadę ich władz.

Świat zmysłowy (*kosmos aisthetós*) jest urzeczywistnionym w materii obrazem świata noetycznego (gr. *nous* - umysł), nie jest wszakże odrębnym bytem: stanowi połączenie utworzonego przez duszę, lecz rozpościerającego się już w czasie i przestrzeni - ciała, które




***Rycina 1.*** *Diagram przedstawia działanie narządów wewnętrznych według Galena, oparty na „trzech duszach". Jest on zrozumiały, gdy podążamy zgodnie z kierunkiem wyznaczonym przez strzałki. Model ten miał w Średniowieczu znaczenie kliniczne. Swoją wiedzę Galen czerpał z opisów anatomów aleksandryjskich oraz z sekcji wykonywanych na zwierzętach, gdyż badania pośmiertne u człowieka były zabronione. Cyt. wg 79.*

jako kres procesu wywodzenia z Jedna nie jest zdolne do samodzielnego istnienia, i duszy, która scala w jedność jego wielość, ożywia je, i z którą połączenie stanowi warunek jego istnienia.

Materia jest konieczna, aby mógł zaistnieć świat zmysłowy, jednak stanowi kres rozprzestrzeniania się Jedna i jako przeciwstawienie bytu, którego ostatnim wyrazem jest Dusza. Niekiedy określana przez Platona jako niebyt, rozumiany jako brak (gr. *stéresis*) bytu. Analogicznie: skoro Jedno utożsamione jest z Dobrem, materia - jego przeciwieństwo - będzie nazywana złem, pojmowanym jako pozbawienie dobra. Niemniej, jako obraz świata noetycznego, świat zmysłowy jest też na swój sposób

piękny i dobry - tym przekonaniem przeciwstawia się Plotyn gnostycyzmowi.

Dusza, jako nadrzędna wobec ciała, nie przyjmuje jego doznań. To przekonanie obejmuje także zdolność doznawania zmysłowego, stanowiące podstawę postrzegania; dotyczy ona tylko ciała, sprowadzonego do roli narzędzia. Samo postrzeganie odnosił Plotyn do duszy i pojmował jako jej świadomość doznań cielesnych. Dusza, która wywodzi się z Umysłu, pozostaje z nim w łączności i wyższą swoją mocą kontempluje tożsamy z nim świat idei, toteż przez obecne w sobie obrazy idei zdolna jest poznawać na sposób umysłowy, rozpoznając rzeczy niematerialne (gr. *eide*) w zmysłowej rzeczywistości i odnosząc je do idealnych wzorców w świecie noetycznym. Formy te stanowią podstawę rozumowania (gr. *diánoia*) i myśli (gr. *noesis*) (19, 50, 70).

W czasie Średniowiecza szeroko rozpowszechniony był wśród chrześcijan pogląd prezentujący Chrystusa jako lekarza. Datuje się on od pierwszych ewangelistów głoszących, że Chrystus był lekarzem zarówno duszy, jak i ciała. Intensywne zmagania w czasie wieków II i III między kultem Eskulapa, greckiego boga uzdrowień, i religią Chrystusa, stymulowane przez ojców wczesnego kościoła, doprowadziły do ogłoszenia Chrystusa zbawcą ludzkości przy użyciu podobieństw zaczerpniętych z medycyny (88).

Nemezjusz, biskup Emesy w Syrii (IV-V w. n.e.), był neoplatończykiem. W swojej pracy „De natura hominis" (http://marikablogs.blogspot.com/2009/02/nemesius-of-emesa-on-human-nature.html) pisał o duszy: „człowiek to dusza posługująca się ciałem". Dusza ma dwie części - racjonalną i nieracjonalną. Części nieracjonalne jak odżywianie, rodzenie, witalność tylko częściowo podlegają rozumowi. Dusza sprawuje swoją władzę poprzez: wyobrażenie działające na drodze zmysłów oraz własne wrażenia duszy (przedmiotowe i bezprzedmiotowe); intelekt, obejmujący środkową część mózgu; pamięć, która zachowuje i odtwarza wrażenia oraz umożliwia poznanie tego co jest w intelekcie. Dusza znajduje się w komorach mózgu, co jest nawiązaniem do „doktryny 3 komór" Galena (33, 50).

„O nieśmiertelności duszy" pisał św. Augustyn z Hippo (354-430), wybitny teolog chrześcijański. Poznanie należy do duszy: „Kiedy rozumujemy, czynność tę wykonuje dusza. Czyni to bowiem tylko ten, kto pojmuje. Nie pojmuje też ciało ani też dusza za pomocą ciała, ponieważ odwraca się od ciała kiedy chce pojmować". Dusza ma dwie postaci - *anima* (zasada życia) i wyższa postać - *animus* (zasada rozumu), którą posiada tylko człowiek. Sztuka i prawda nie giną ze śmiercią człowieka, bo są zawarte w nieśmiertelnej duszy. Zwierzęta mają duszę, jako *anima*, ale nie mają rozumnej części duszy pojmowanej jako obraz boski. Augustyn odnalazł w samym wnętrzu człowieka triadę władz duszy rozumnej: umysł-samopoznanie-miłość. Pamięć też należy do duszy. Czas został stworzony przez Boga w odpowiedzi na grzech pierworodny - Adama i Ewy. Czas jest dla duszy więzieniem, z którego zostaje uwolniona (przez śmierć), aby połączyć się ze swoim stwórcą. Augustyn przyjmuje neoplatońskie przekonanie, że dusza tworzy ciało i w żaden sposób nie jest zmieniana przez ciało zachowując jego czystość zarówno fizyczną jak i moralną. Bóg jest najwyższym dobrem *summum bonum* duszy, a dusza jest zatem *summum bonum* ciała. Dusza jest obecna nie tylko w całym ciele, ale także w każdej jego części. Św. Augustyn uważał, że dusza nie wchodzi do ciała aż do chwili, gdy płód zostanie całkowicie uformowany. Wejście duszy następuje w ostatnich miesiącach ciąży, co nazywano niekiedy „opóźnionym wejściem duszy". Same tkanki mózgu są zbyt ziemskie i brudne, aby mogły pośredniczyć między ciałem a duszą. Zatem dusza musi znajdować się w komorach mózgu, czyli jest to odniesienie do doktryny Galena. Augustyn wprowadził pojęcie „jaźni" na określenie pewności własnego istnienia. Podstawą „jaźni" nie jest ciało ale dusza, która ma wolę. Stąd też wyrazem jaźni jest aktywna wola (67). Do poglądów św. Augustyna nawiązują Descartes, Kant, Jung (82).

Drugi wielki system w filozofii chrześcijańskiej stworzył św. Tomasz z Akwinu, Thoma de Aquino (1225-1274). W swojej „Sumie teologicznej" pisał, że człowiek złożony jest z ciała i duszy. Dusza ludzka jest naczelną zasadą życia, nie jest ciałem, lecz aktem ciała - zasadą działania umysłu (*anima rationalis*) (87). Posiadające ją byty są obdarzone życiem, w przeciwieństwie do bytów martwych. Może istnieć bez ciała, jest niezniszczalna co ją odróżnia od dusz zwierząt i roślin. Nawiązując do Arystotelesa za siedzibę duszy uważał serce (21, 55).

Od około 1120 r. pojawiają się klasyczne teksty greckie i rzymskie, za których przyczyną dochodzi do rewitalizacji myśli europejskiej. Są to dzieła, uprzednio przetłumaczone na język arabski, a obecnie ponownie udostępnione w języku łacińskim. Pojawiły się księgi: Hipokratesa, Arystotelesa i innych starożytnych autorów (56). To wieki XII i XIII położyły kres postrzeganiu świata jako miejsca boskich symboli przeznaczonych dla duchowego doskonalenia ludzkości. Księgi te stały się źródłem wartości intelektualnych, będąc prekursorem humanizmu, z którym kojarzymy Renesans (6).

Chociaż papież Bonifacy VIII ogłosił bullę „De Sepolturis" w 1300 r., zakazującą jakichkolwiek manipulacji na ciele człowieka, w tym również sekcji, to jednak kolejni papieże uznali, że można wykonywać sekcje w czasie Wielkiego Postu (przed Wielkanocą), szczególnie u kobiet, gdyż uważano, że nie posiadają one duszy.

Człowiekiem obecnie uważanym za zwiastuna Renesansu, był Guido da Vigevano (1280-1349), włoski lekarz, anatom, wynalazca. Guido da Vigevano, uczeń

Mondino de'Liucci (1270-1326), autora „Anathomia Mondini", będącej źródłem wiedzy o anatomii i czynnościach ciała człowieka do początku XVI wieku, był lekarzem wykonującym m. in. trepanację czaszki, ale również sekcje ciała człowieka. W 1345 r. Guido da Vigevano dedykował, królowi Francji Filipowi VI, podręcznik anatomii zatytułowany *Anathomia Designata per Figures*, zawierający 24 obrazy anatomiczne, z których zachowało się tylko 6, oznaczonych od XI do XVI. Są to obrazy neuroanatomiczne wraz z opisami.

I tak Rycina XV ukazuje „nagi mózg" (*cerebrum purum et discoopertum*), bez pokrywających go opon. Na powierzchni mózgu można rozpoznać rowki, zakręty, oraz pięć otworów (dwa w okolicy czołowej dla nerwów węchowego i wzrokowego i trzy w okolicy czołowo-ciemieniowej przedstawiające trzy komory. Guido pisał: „komory zawierają duszę (*ventriculi, in quibus stat anima et spiritus*), skąd poprzez nerwy kieruje ruchem narządów i całego ciała (*dantes sensum et motum toti corpori, mediantibus nervis, et ipsum spiritum portantibus toti corpori*). W pierwszej komorze znajduje się miejsce dla nauki i wyobraźni (*virtus apresensiva sive fantastica*), natomiast druga jest miejscem dla rozsądku (*virtus raciotinativa*), w trzeciej znajduje się pamięć (*virtus memorativa*)" (ryc. 2) (22).

***Rycina 2.*** *Rycina XV w „Anathomia Designata per Figures" Guido da Vigevano ukazuje „nagi mózg" (cerebrum purum et discoopertum), bez pokrywających go opon. Na powierzchni mózgu można rozpoznać rowki, zakręty, oraz pięć otworów (dwa w okolicy czołowej dla nerwów węchowego i wzrokowego i trzy w okolicy czołowo-ciemieniowej przedstawiające trzy komory. Cyt. wg 22.*

Kościół jako miejsce duszy uznawał serce, czego wyraz znajdujemy nie tylko w filozofii (tomizm), ale również w sztuce sakralnej. W Średniowieczu serce jako księga było symbolem myśli, pamięci, uczuć (48, 63). W katedrze w Albi, w południowej Francji, znajduje się fresk namalowany, prawdopodobnie, przez Hieronima Boscha (1474 -1484). Przedstawia Sąd Ostateczny, gdzie ludzie otwierają swoje dusze jako serca w postaci otwartych ksiąg (48) (ryc. 3).

***Rycina 3.*** *„Sąd Ostateczny" w katedrze w Albi w płd. Francji pokazuje dusze z sercami w postaci otwartych ksiąg w obliczu ostatecznego wymiaru sprawiedliwości. Cyt. wg 48.*

W Renesansie nastąpił postęp w sekularyzacji wiedzy, gdzie prawda nie była odkrywana przez czytanie Biblii i wnikliwe interpretowanie boskich znaków natury, ale poprzez zastosowanie ludzkiego umysłu do obserwacji i analizy, co przyczyniało się do zrozumienia i poznawania świata (64).

Leonardo da Vinci (1452-1519), najwybitniejszy przedstawiciel Renesansu był nie tylko genialnym wynalazcą, ale również ilustratorem i badaczem duszy (64, 66).

Jego zainteresowanie układem nerwowym spowodowało powstanie wspaniałych rysunków, pierwszych tak dokładnych, w ikonografii neuroanatomicznej (ryc. 4). Leonardo upatrywał siedziby duszy w układzie komorowym mózgu. Utrzymywał się w jego przekonaniu pogląd pochodzący z II w. n.e., że komory mózgu są odpowiedzialne za większość jego czynności (84). Uważał, że układ komorowy składa się z trzech komór, traktując obie komory boczne jako jedną. I tak - w przedniej części komór znajduje się miejsce dla właściwego osądzania (*senso comune*), fantazji i wyobraźni, w drugiej - jest siedlisko dla wiedzy i poznawania, ostatnia komora jest odpowiedzialna za pamięć (75).

W oparciu o starożytne, współczesne źródła oraz własne badania anatomiczne próbował określić istotę i umiejscowienie duszy. Początkowo umiejscawiał duszę i rozum (*sensum comunis)* w środku mózgu, w komorze III. Później, nakładając na rysunek ludzkiej czaszki licz-

A B C

***Rycina 4.*** *Rysunki Leonardo da Vinci powstały ok. 1490 r. - A rysunek oczu i komór mózgu, cyt. wg 33, oraz powstałe rysunki wykonane ok. 1511 r., B coitus (w lewym dolnym rogu penis z dwoma przewodami) oraz C płód. Cyt. wg 18.*

ne linie wyznaczające przekroje czaszki, umiejscowił duszę powyżej skrzyżowania nerwów wzrokowych, blisko komory III. Jego argument dotyczący lokalizacji duszy znalazł wsparcie w obserwacjach klinicznych, że uszkodzenie przedniej części III komory i okolicy podwzgórza zmienia percepcję świata wewnętrznego i zewnętrznego (93).

Leonardo sądził, podobnie jak Avicenna (980-1037), że nasienie mężczyzny przenosi duszę przyszłej osoby (76). Nasienie jest wytwarzane w mózgu, skąd przechodzi z rdzenia kręgowego a następnie szerokim nerwem spływa do penisa. Znajdują się w nim dwie „rurki" - przez jedną przechodzi nasienie a przez drugą - mocz. Leonardo pisze o płodzie: „Oddychanie nie jest konieczne, gdyż dziecko utrzymywane jest przy życiu i żywione przez duch życia (*vital spirit*) oraz pożywienie matki,(...) a ta sama dusza służy dwom ciałom".

Przeciwko umieszczaniu duszy w komorach mózgu przeciwstawiał się Andreas Vesalius (1514-1564) flamandzki lekarz, anatom, autor epokowego dzieła „De humanis corporis fabrica libri septem". Jego zasadniczym argumentem było spostrzeżenie, że wiele zwierząt ma komory mózgu podobne do ludzkich, a mimo tego trzeba odmówić im istnienia nadrzędnej duszy. Porównał mózgi ludzkie i zwierzęce. Był przeciwny wiwisekcji zwierząt, ponieważ „mogłoby to pozbawić nieszczęsne stworzenia pamięci, rozumu, myśli, gdyż ich struktura jest taka sama jak u człowieka" (16).

Dowody wątpliwości i rozterek w znalezieniu siedziby duszy znajdują swoje odbicie w dziełach najwybitniejszego angielskiego poety i dramatopisarza Williama Shakespeare'a (1564-1616). W „Kupcu weneckim" *(The Merchant of Venice)*, tragedii z 1596 r., znajdujemy pytanie o duszę: „powiedz mi gdzie dusza się rodzi, czy w sercu, czy też w głowie"? (*Tell me where is fancy bred, Or in the heart or in the head?*). Natomiast w późniejszej o dwa lata (1596 r.) komedii „Stracone zachody miłości" *(Love's Labours Lost)*, czytamy: *„Błaznująca lekkomyślna dusza, pełna form, obrazów, kształtów, widowisk, pomysłów, spostrzeżeń, ruchu, obrotów. Rodzą się one w komorach mózgu z pamięci, żywione łonem pia mater. (A foolish extravagant spirit, full of forms, figures, shapes, objects, ideas, apprehensions, motions, revolutions. They are begat in the ventricle of memory, nourished in the womb of pia mater)"* (33).

W XVII w. pojawia się racjonalizm, którego głównymi przedstawicielami byli René Descartes, zwany Kartezjuszem (1596-1650), Johannes Kepler (1571-1630), Baruch de Spinoza (1632-1677) oraz Gottfried W. Leibniz (1646-1716). Poglądy pierwszych dwóch na znaczenie i umiejscowienie duszy były znane najszerzej.

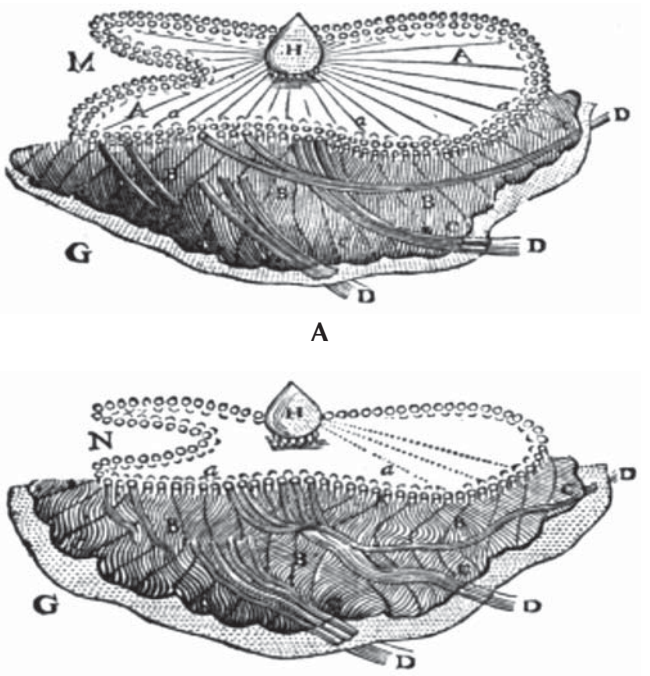
Autorem teorii duszy był Johannes Kepler (1571-1630), niemiecki astronom i matematyk, znany głównie ze swoich obserwacji i obliczeń astronomicznych. Teoria duszy wg Keplera dotyczy wiedzy ogólnej, której centralnym zagadnieniem jest to, co czyni wiedzę, nie to, co czyni

wiedzę prawdziwą. Rozważania Keplera na temat duszy zawierają teorię różnych rodzajów duszy, to jest - dusza człowieka, dusza zwierzęcia, dusza rośliny oraz dusza Ziemi. Interesują go właściwości tych dusz, różnice oraz podobieństwa między nimi, związki jakie utrzymują one z własnym ciałem oraz ze światem, a także jakie jest wyróżnienie między duszą a ciałem. Kepler uważa, że oglądając ciała na niebie otrzymujemy w mózgu najpierw ich (bierną) emanację, którą dusza (biernie) porównuje z innymi informacjami dostarczonymi przez ciało, a które z duszą współdziałają harmonicznie w uzyskaniu właściwego obrazu. Kepler był kreacjonistą (29).

W społeczeństwie przedkartezjańskim ciało i dusza rozpatrywane były jako istoty zjednoczone. Zatem jedna wpływała na drugą, grzech mógł być wynikiem choroby, a zdrowie fizyczne było bezpośrednio związane z wiarą i jej oczyszczającym efektem. Połączenia między zdrowiem fizycznym i zdrową duszą zostały wzmocnione przez poglądy papieża Grzegorza VII (1073-1085), a następnie IV Sobór Laterański (1215 r.).

Descartes uważał, że człowiek składa się z substancji rozumnej, myślącej, świadomej i wolnej (*res cogitans*) oraz z substancji materialnej (*res extensa*), podzielonej na określone części. Człowiek był dla niego maszyną biologiczną obdarzoną duszą w przeciwieństwie do zwierząt, które jej nie miały i np. nie odczuwały bólu (następstwa tej fałszywej opinii Kartezjusza nie pozwalają o niej zapomnieć nawet do chwili obecnej). Descartes twierdził, że krew dochodziła do mózgu tętnicami szyjnymi przechodząc przez stopniowo się zwiększające, małe tętnice w splocie naczyniówkowym, osiągając szyszynkę, gdzie *res cogitans* i *res extensa* mogły ze sobą współdziałać (81, 90) (ryc. 5).

Akcentując dualizm wskazał na istotę zależności między umysłem i ciałem, których łącznikiem była szyszynka. Dlatego Kartezjusz sądził, ze to właśnie szyszynka jest siedliskiem duszy (1). W *Passions de l'âme* „Namiętności duszy" z 1649 r. (57) Descartes opisuje w jaki sposób doszedł do tej konkluzji. Uważa, że aby zrozumieć tor jego myślenia niezbędna jest wiedza o tym, że dusza musi być połączona z całym ciałem. Warunek ten spełnia „małe ziarno" (*glandula pinealis*) zawieszone w środku substancji mózgu, przez które dusza z komór przednich mózgu może komunikować się z duszą w komorach tylnych (7): *„Przyczyną, która każe mi uważać, że to kernel (centrum działania) stanowi siedlisko duszy jest to, że inne części mózgu są parzyste poza szyszynką"*. Wybrał szyszynkę, pojedynczy twór w środku mózgu, jako siedzibę duszy i myślał, że krew przepływając przez pory tkankowe jest przesyłana do ciała poprzez nerwy i naczynia krwionośne, w zależności od wyboru samej szyszynki (57). W myśl jego teorii dusza poruszająca, czyli *spiritus animalis,* powstaje z ciemnego




**A**

**B**

***Rycina 5 A-B.*** *Rysunki mózgu wg Descartesa: czuwającego (A) oraz w czasie snu (B). Szyszynka kontroluje cały ten fizjologiczny proces. Descartes uważał, że imaginacja znajduje się w szyszynce będącej ogniwem między maszyną ciała a duszą. Cyt. wg 90.*

ognia serca i zostaje oczyszczona przechodząc przez chłodne struktury mózgu. W szyszynce ulega wtłoczeniu do komory (37). Porusza się ciągle jak wiatr i nawet na chwilę się nie zatrzymuje. Po śmierci komory mózgu się zapadają stając się bardzo wąskie. Za życia za ich kształt odpowiada *spiritus animalis* (72).

René Descartes, jako kreacjonista (2), był głęboko przekonany o dualizmie ciała i duszy o czym może świadczyć, wypowiedziane przed śmiercią, zdanie: *Ça, mon âme, il faut partir* „Duszo moja, teraz musisz mnie opuścić" (90).

Kartezjusza interesowała droga wzrokowa, stanowiąca bezpośredni dostęp do duszy. Wyobrażenia Kartezjusza na temat procesu widzenia znalazły potwierdzenie we współczesnych badaniach fMRI *(functional Magnetic Resonance Imaging)* (53).

Poglądy Kartezjusza stały się głównym konceptem neurologii i neuroanatomii rzymskiej odkąd papież Paweł III ustanowił Katedrę Anatomii (wraz z Katedrą Chirurgii) w 1539 r. (24).

Descartes i Rembrandt zawarli znajomość podczas pobytu Descartesa w Amsterdamie. Rembrandt znał kartezjański pogląd na temat dualizmu ciała i duszy, ale nie podzielał go (83, 95).

***Rycina 6.*** *Rembrandt Harmensz van Rijn (1606-1669). Abraham i Izaak: Poświęcenie Izaaka, 1635, State Hermitage Museum, St. Petersburg. Biblia Genesis 22, 10: „…wyciągnął Abraham swoją rękę i wziął nóż, aby zabić syna swego". Cyt. wg 95.*

Na obrazie „Poświęcenie Izaaka" (ryc. 6), przedstawiającym biblijną scenę opisaną w Genesis 22, Rembrandt kieruje naszą uwagę na nieuchronność śmierci i ludzki strach przed nią. Opóźniona interwencja anioła, którego delikatna ręka wydaje się pozbawioną mocy w porównaniu z silną ręką Abrahama, na której anioł opiera swoją dłoń, podkreśla egzystencjalny przełom, do którego dochodzi w naszym życiu. Rozum przeciwstawia się śmierci a jego opór związany jest ze strachem i lękiem. Artystyczna próba Rembrandta przezwyciężenia śmierci albo przez boską interwencję, albo przez ucieczkę duszy i jej późniejszy powrót do swej natury nie dodaje otuchy, gdyż współczesna dusza nie może uciec przed swoją śmiercią. Nawet niezmaterializowana dusza nie uniknie śmierci. Rembrandt sugeruje, że strach przed śmiercią jednoczy nasze ciała i dusze, unifikując dualistyczną hipotezę Kartezjusza (5, 95).

Teoria Kartezjusza budziła kontrowersje (31, 57, 58). Uczniowie Descartesa, jak Giovanni Alfonso Borelli w pracy „De motu animalium" (1680) oraz Charles Perrault w pracy „Mecanique de animaux" (1680-1688, Vol. 3) proponują różne mechaniczne wyjaśnienia dla działania zwierząt, nie zgadzając się z kartezjańskim zaprzeczeniem istnienia duszy u zwierząt (12).

Umiejscowieniu duszy w szyszynce przeciwstawiał się również angielski anatom Thomas Willis (1621-1675), autor dzieł „Cerebri Anatome" (1664), „Pathologiae Cerebri" (1667), „De Anima Brutorum" (1672). Opartych na jego własnych obserwacjach i koncepcji duszy poruszającej *spiritus animalis*, co może być analogiczne ze współczesnym rozumieniem impulsu nerwowego. Willis podzielił *spiritus animalis* na dwie kategorie: pierwsza - o właściwościach wybuchowych (padaczka, histeria) a druga - niewybuchowych (delirium, melancholia, obłęd, głupota). Natomiast miejsce *sensus communis*, gdzie wrażenia zmysłowe łączyły się z intelektem było, wg Willisa, prążkowie (*corpus striatum*), gdyż otrzymywało wszystkie czuciowe informacje z ciała i to właśnie ono musi być podstawowym miejscem rozumnej duszy (26). Uznając, że *corpus callosum* jest związane z wyobraźnią, a kora mózgowa z pamięcią Willis odnowił trzyczęściową teorię duszy, czyniąc ją odpowiedzialną za różne rozmiary mózgu i funkcjonowanie ciała. Tak postępując wracał do wersji Platona i Plotyna, że różne aspekty duszy są odpowiedzialne za różne funkcje. Thomas Willis był pierwszym badaczem, który stworzył fizjologię duszy jako życiowego ognia (niewidzialnego) w anatomii (widzialnej) zmieniającego swoje anatomiczne położenie (13). Willis wierzył, że dusza człowieka odpowiada za myśli, wolę, osąd, jest nieśmiertelna i niematerialna (60).

Teoria Descartesa nie była wiarygodna także dla Nicolo Stenone (1638-1686), włoskiego anatoma, który twierdził, że nie jest możliwe takie umiejscowienie, gdyż szyszynka jest przytwierdzona do otaczających struktur mózgu. Również Marcello Malpighi (1628-1694), w pracy „De Cerebro" i „De cerebri cortice" nie daje wiary poglądom Descartesa. Sądził, że miejscem wyższych czynności nerwowych była kora mózgu. Pojawia się inna teoria dotycząca umiejscowienia duszy w mózgu, której autorem jest Giovanni Maria Lancisi (1654-1720), upatrujący siedziby duszy w ciele modzelowatym (*corpus callosum*) (23).

Giovanni Maria Lancisi był profesorem chirurgii i anatomii Uniwersytetu w Rzymie oraz osobistym lekarzem trzech kolejnych papieży w XVII/XVIII wieku. Papież Innocenty XII, w uznaniu naukowych zasług Lancisiego, nadał mu szlachectwo w 1700 r.

Lancisi, w „Dissertatio de sede cogitantis animae", zgadzał się z Kartezjuszem, że miejscem duszy kontrolującej wyższe czynności nerwowe powinien być pojedynczy

organ leżący w linii środkowej, ale jako siedzibę duszy widział *corpus callosum*, a nie szyszynkę.

Z drugiej strony myślał, że szyszynka odgrywa istotną rolę, gdyż była połączona do wzgórza przez uzdeczki (*habenulae*). Interesujące jest, że teoria Lancisiego została odrzucona w 1749 r. przez Johann'fa Gottfrieda Zinna (1727-1759), który przeprowadził serię doświadczeń przecięcia *corpus callosum* na psach.

Trzeba podkreślić, że anatomiczne badania Lancisiego były bardzo dokładne (ryc. 7), umożliwiając mu perfekcyjny opis *corpus callosum* zawarty w „Dissertatio de sede cogitantis animae":

*„Przez corpus callosum oznaczamy środkową powierzchnię mózgu podobną do białego prążka leżącą na głębokości półtora palca, która w swojej górnej części biegnie prawie poziomo poniżej szwu strzałkowego. Jest węższa w przedniej, a szersza w tylnej części. Ukształtowana jest jak sklepienie a kolumnami przyjmuje kształt eliptyczny, łącząc półkule mózgu".*

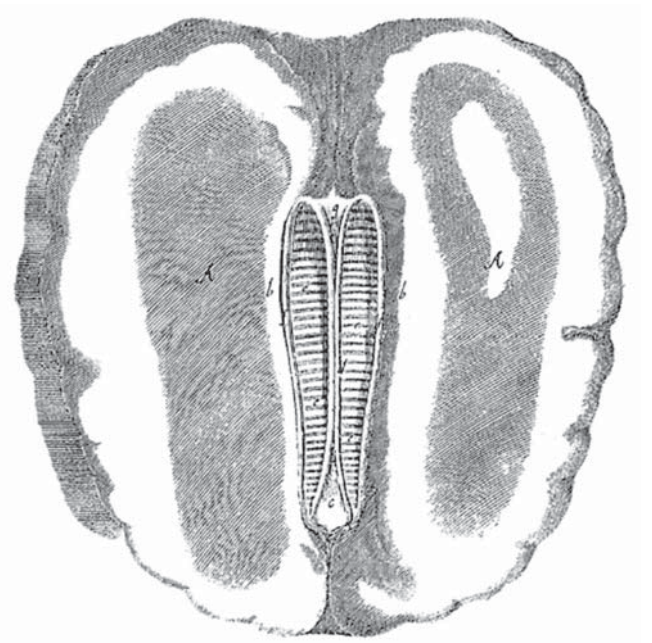
*„(...) W górnej części corpus callosum,(...) zauważam nieznaną dotychczas rzecz: są to włókna dwóch nerwów, okrągłe o zmiennej średnicy. Nie są pokryte oponą twardą, ale tylko błonami pajęczynówki rozciągającymi się wzdłuż corpus callosum do przodu i ku tyłowi".*

Lancisi opisał *nervali longitudinales ab anterioribus ad posteriora excurrentes*, które są nazywane „prążkami podłużnymi *corpus callosum*" lub nerwami Lancisiego.

W wykonywanych przez siebie sekcjach mózgu zauważał, że prążki podłużne boczny i przyśrodkowy „raczej nie były właściwymi nerwami, ale brzegami corpus callosum wystającymi nieco powyżej jego powierzchni". Wyjaśnił także, dlaczego te „nerwy" nie są pokryte przez oponę twardą. Sądził, że dusza płynąc w tak niezwykle ważnej okolicy powinna ulec spowolnieniu, zdolność do stymulacji winna być niższa lub umiarkowana, aby nie spowodować uszkodzenia poprzez pociąganie pokrywających mózg opon.

Opis Lancisiego był bardziej anatomiczny niż czynnościowy. W swojej koncepcji *corpus callosum*, jako siedziby duszy i przewodzących ją nerwów, interpretował prążek środkowy jako „drogę" strumienia duszy (lub może świadomości) pomiędzy przednią częścią *corpus callosum* a przednimi słupami sklepienia, a także pomiędzy tylną częścią *corpus callosum* i wzgórzem. Ciało modzelowate traktował jako łącze pomiędzy duszą a ciałem.

Obecnie nerwy Lancisiego, nazywane są także odnogami spoidła wielkiego mózgu. Podłużne prążki złożone są z włókien zmielinizowanych łączących obszar przegrody (*septum pellucidum*) z płatami czołowym i skroniowym. W dodatku aksony z nawleczki szarej (*induseum griseum*) przechodzą w prążkach podłużnych, skręcają w dół, aby połączyć się ze sklepieniem (*fornix*)



**A**

**B**

***Rycina 7.*** *Corpus callosum: A - rysunek z „Dissertatio de sede cogitantis animae"Giovanni Maria Lancisiego przedstawiający przekrój mózgu z corpus callosum oraz prążkami (striae); B - preparat anatomiczny z nerwami Lancisiego. Cyt. wg 23.*

i spoidłem przednim (*commisura anterior*). Nawleczka szara i prążki podłużne są grzbietowymi pozostałościami starej kory (*archicortex*) hipokampa i sklepienia, które zaliczamy do układu limbicznego. Z formacji hipokampa włókna efferentne wchodzą do układu limbicznego wewnętrznego (obwód Papeza) a dalej do sklepienia ciał suteczkowatych, przednich jąder wzgórza, zakrętu obręczy, jąder migdałowatych. Poza tymi są też włókna projekcyjne do nowe kory. Prawdopodobnie włókna tworzące te obwody są niezbędne w tworzeniu nowej

pamięci, a szczególnie zachowań emocjonalnych. Nerwy Lancisiego związane są z kontrolowaniem zachowań agresywnych.

Angielski empiryzm rozwinął się w wiekach XVII i XVIII. John Locke (1632-1704), uważany za ojca brytyjskiego empiryzmu występował przeciwko racjonalistom i spekulacyjnym teoriom Kartezjusza. Uważał, że cała wiedza pochodzi z doświadczenia a to, z kolei, od zmysłów, które swoją wiedzę czerpią ze świata otaczającego. Locke twierdził, że pochodzenie wiedzy nie zależy od istnienia wrodzonych idei istniejących *a priori*. Przyjmując umysł jako *tabula rasa*, Locke argumentował, że wiedza jest wynikiem gromadzenia prostych idei pochodzących z doświadczenia nabytego przez zmysły i refleksją nad tymi doświadczeniami. W swojej krytyce dotyczącej Descartesa, kierujący się w kierunku materializmu John Locke podkreśla, że przyczyną odrzucenia teorii Descartesa był pogląd, że myślenie jest istotą duszy. Natomiast Izaak Newton (1643-1727) pisał, że „siła grawitacji wyjaśnia ruchy planet, ale nie tłumaczy kto wprawił je w ruch. Bóg rządzi wszystkim i wie jak wszystko zostało zrobione (20). Wspaniały układ słońca, planet i komet mógł rozwinąć się w następstwie zamiarów i dominacji Inteligentnej Istoty *(Intelligent Being)*. Ta Istota rządzi wszystkimi rzeczami, nie jako dusza świata, ale jako Pan ponad wszystkim. Ta Istota jest wieczna, nieskończona i absolutnie doskonała" (40, 86).

W poszukiwaniu duszy anatomowie badali części oraz całe narządy ciała. Podstawowe znaczenie słowa *organ* w języku greckim to „instrument", narządom ciała początkowo dano określenie *organ*, ponieważ były one instrumentami, na których dusza wykonywała swoje czynności w ciele, ale także ciało jako całość było także instrumentem duszy. Sens słowa „organ" oraz związanych z nim terminów pochodnych, jak „organiczny" oraz „zorganizowany", zachowywały swoje pierwotne znaczenie prawie do końca wieku XVIII. Poglądy te znajdujemy w 1760 r. u francusko - szwajcarskiego naturalisty i filozof Charlesa Bonneta (1720-1793). Opublikował on analityczny esej o możliwościach duszy „Essai analytique sur les faculte´s de l'aime". Posiadanie duszy jest tym, co czyni jakiekolwiek stworzenie żywym, natomiast powstanie, utrzymanie, rozwój i reprodukcja zorganizowanych ciał było jedną z funkcji duszy, wliczając w to owady i robaki, co Bonnet szczególnie podkreślał (42).

Mówienie o narządach (organach) poszczególnych gatunków i jak one funkcjonowały było dyskusją o duszy różnych stworzeń i w tym sensie dusza była podstawą dla wyjaśnienia międzygatunkowych różnic anatomicznych. Różnicowanie pomiędzy rzeczami stworzonymi - obdarzonymi życiem i rzeczami pozbawionymi życia było wyrażane terminami *animate* oraz *inanimate*, to jest posiadające duszę *(possessed-of-soul)* oraz nie posiadające duszy *(not-possessed-of-soul)* (16).

Niemiecki filozof i antropolog Immanuel Kant (1724-1804) twierdził, że dusza istnieje poprzez swoje działanie, które jest fundamentalną siłą świadomości. Świadomość ma stopnie (albo jasność) zmieniające się przez nieskończenie wiele odcieni, aż do jej utraty. Dusza może zanikać poprzez stopniowy upływ jasności świadomości, jednak bez naruszenia jej naturalnego charakteru. Uważał, ze dusza nie jest nieśmiertelna, ale stanowi pierwszorzędną siłę dla procesów myślowych (15).

Samuel Thomas Soemmerring (1755-1830), niemiecki lekarz i anatom urodzony w Thorn (Toruń), w traktacie „Ueber das Organ der Seele" („O organie duszy") z 1796 r. miejsce duszy *sensorium commune* ustanawiał w płynie m-rdzeniowym zawartym w komorach mózgu (36). Soemmerring poprosił Kanta o napisanie posłowia do swej pracy o duszy. Odpowiedź Kanta nie była jednoznaczna. Odniósł się do Soemmerringa jako do „pierwszego filozofa - anatoma rzeczy widzialnych u człowieka" (Kant uważał siebie za „anatoma rzeczy niewidzialnych"), jednak uważał za wysoce problematyczne umieszczenie duszy w płynie mózgowo-rdzeniowym. Stwierdził, że Soemmerring wszedł pomiędzy identyfikację narządu duszy a umiejscowienie samej duszy (będącej przedmiotem tylko w sensie wewnętrznym a zatem jest niewłaściwie poszukiwana przez anatomów, gdyż może być immanentnie sprzeczna, ponieważ ktoś próbuje umiejscawiać w przestrzeni duszę, która w przestrzeni tej nie ma swej rezydencji). Kant pominął metafizyczny problem duszy, przeznaczając swoje uwagi (zamiast nt. fizjologii płynu w komorach mózgu) zasadności określenia na czym polega łączenie naszych odczuć zmysłowych w pojedyncze doświadczenie. Kant pojmował duszę głównie w sensie filozoficznym czemu dał wyraz w swojej „Krytyce czystego rozumu" (15, 30).

Rozwojowi spirytyzmu jako „naukowej religii" w XIX w. towarzyszyły nowe idee dotyczące kształtu życia po śmierci. Do XVIII wieku (65) przedstawiano je jako teocentryczne i wieczne, a bóg znajdował się w centrum skąd jego światło oświetlało dusze zmarłych, gromadzące się wokół niego. To światło przewyższało blaskiem wszystkie więzy przyjaźni pomiędzy duszami, wszystkie powiązania jakie miały i mają ze światem żywych. W czasie późnego Oświecenia (XVIII w.) pojawiły się nowe koncepcje „życia po śmierci" nierozerwalnie związane z Emanuelem Swedenborgiem (98). Według Swedenborga dusza znajdowała się za życia w korze mózgu a po śmierci szła do nieba. W imaginacji Swedenborga niebo było całkowicie antropocentryczne. Godność duszy w „życiu po śmierci" była całkowicie zdeterminowana sposobem życia, jaki jej właściciel prowadził w czasie pobytu ziemskiego. W niebie dusza mogła podlegać procesom rozwoju oraz

doskonalenia, doświadczając emocji i wszystkich form przyjaźni. Ten niebiański świat duszy nie był odległy i niedostępny dla mieszkańców ziemi. Dusze wszystkich ludzi żyjących były zawsze w kontakcie z niebiańskim królestwem dusz i niektórzy, bardziej wrażliwi ludzie, byli zdolni otrzymywać wiadomości z zaświatów. Pod koniec Oświecenia obraz rozwoju danej osoby obejmował projekcję poza śmierć. Nowa koncepcja „życia po śmierci" łączyła sprzeczne poglądy wywodzące się z teologii, powstającej socjologii, astronomii i okultyzmu (34, 92).

Wewnętrzne życie człowieka tradycyjnie było przedstawiane jako obszar duszy. Do zmiany doszło w XIX w., gdy naukowcy chcieli zreformować przesądy na temat duszy utrzymywane przez Kościół. Pragnęli uwolnić wewnętrzne życie człowieka od tajemniczości i podporządkować je prawom przyczynowości. Stopniowo rezygnowano z użycia słowa „dusza" na korzyść słów „ja" lub „jaźń". Rozpoczęto badania myśli, językowe, moralności jako wytworów społeczeństwa, a nie boskiej interwencji (80). Było to wielkim przełomem w nauce z punktem kulminacyjnym w pracach Sigmunda Freuda (1856-1939) (28, 39).

Początkowo Sigmund Freud, austriacki neurolog, twórca psychoanalizy, pozostawał pod wpływem idei Ludwiga von Feuerbacha (1804-1872), bawarskiego filozofa i antropologa. Feuerbach argumentował, że ludzie wierzą w Boga, który wynagradza ich cierpienia zarówno w sensie materialnym jak i duchowym - nieśmiertelnej duszy oraz sensie moralnym - bezwzględnej i doskonałej sprawiedliwości. Innymi słowy Freud, zgodnie z Feuerbachem, podkreślał, że Bóg reprezentuje spełnienie najgłębszych życzeń ludzkości. Na zmianę poglądów Freuda istotnie wpłynął Friedrich Nietzsche (1844-1900), niemiecki filozof, filolog, poeta. Nietzsche w swojej pracy „O genealogii moralności" (1887 r.) pisał, że nie istnieją przedmioty metafizyczne. „Tylko słabe istoty potrzebują iluzji duszy do swojego działania". Użyte przez Nietzsche'go określenia *das Es*, (Id - trend instynktowny), *Ueber-ich* (super-ego - konstytucja moralna) staną się centralnymi pojęciami w teorii umysłu (duszy) Freuda. Nietzsche miał znaczący wpływ na Freuda twierdząc, że instynkty nie wyładowujące się zewnętrznie zwracają się do wnętrza, co nazwał internalizacją *(Verinnerlichung)* człowieka, a więc tym co poprzedza jego „duszę". Nietzsche opisywał „cywilizowane" moralne zachowanie jako spowodowane poprzez „internalizację" (*Verinnerlichung* oznaczało też, wg Nietzsche'go, przyjmowanie jako swoje standardów lub poglądów innych) kary, która nie tylko została deifikowana w chrześcijaństwie, ale także przyjęta przez naszą „duszę" jako wina (59).

Freud, będąc pod wrażeniem przemyśleń Nietzsche'go, wprowadził do psychologii pojęcie sublimacji. Sublimacja jest nieświadomym mechanizmem obronnym, w którym nieakceptowalne instynktowne popędy i życzenia zostają zmodyfikowane do form społecznie bardziej akceptowanych. W korespondencji z Jamesem Putnamem (1846-1918), amerykańskim neurologiem, z 5.X.1911 r. Freud zauważył, że Putnam opisuje siebie jako „bardzo zły charakter" dodając, że „daleko gorszy człowiek zostałby w nim odkryty, gdybyś ty (Freud) przeprowadził psychoanalizę. Twoja szczerość wskazuje na wielkość twojej duszy" (10).

W 1917 r. Freud pisząc do Głównego Rabina Wiednia list gratulacyjny z okazji 75. urodzin użył następującego sformułowania: *„W pewnych częściach duszy, w jej najbardziej ukrytym rogu, pozostaję fanatycznym Żydem"* (43).

Freud uważał, że dusza składa się z trzech elementów. Najstarszy z nich to „id" zawierający czynniki wrodzone i dziedziczne przenoszone genetycznie, jak popęd, energia seksualna, agresja. Drugim - jest „ego" decydujące o wyobrażeniach. Łączy percepcje zmysłowe z odpowiedzią organizmu (np. drogą układu mięśniowego), ale jest też instancją obronną poprzez rozpoznawanie zewnętrznych bodźców i ich zapamiętywanie. „Ego" ma zdolność do uczenia się, a poprzez swoje celowe działania zmienia świat zewnętrzny. W stosunku do „id" pełni rolę kontrolną poprzez sterowanie popędami. „Super-ego" kształtuje się w czasie dzieciństwa i wczesnej młodości wskutek wychowania (rodzice, szkoła) i nabycia wzorców kulturowych. „Super-ego" jest wysoko w hierarchii duszy spełniając rolę kontrolującą, wydającą zakazy i tworzącą ideały. W większej części te trzy czynniki działają w sposób nieświadomy (27, 32).

W „Project for a Scientific Psychology" (1895 r.) (11), Freud próbował opisać duszę w terminach, na jakie pozwalał stan wiedzy o fizjologii mózgu, dostępnych w tym czasie. Freud znał prace Camillo Golgi i Ramon y Cajal, dotyczące teorii neuronu, za które otrzymali Nagrodę Nobla w 1906 r. Jednakże w 1931 r. Freud napisał, że rozważając dotychczasowy wynik badań mózgu, aktywność duszy była związana z czynnością mózgu bardziej niż z jakimkolwiek innym narządem. Jednocześnie podkreślał, że wszystkie próby rozwiązania zagadki lokalizacji pracującej duszy nie powiodły się. W świetle dzisiejszego stanu wiedzy o układzie nerwowym i metodach badania, takich jak PET *(proton emission tomography)* oraz fMRI *(functional magnetic resonance imaging)* zaczynamy rozumieć wizjonerski charakter prac Freuda i konieczność połączenia procesów psychologicznych z sekwencjami wydarzeń neurofizjologicznych w zrozumieniu umysłu i/lub duszy (9, 43).

W 1906 r., w Wiedniu, Freud poznał Carla Gustava Junga (1875-1961), szwajcarskiego psychiatrę, którego traktował jako swojego młodego i innowacyjnego następcę. Korespondencja między Freudem a Jungiem trwała od 1906 r. do 1913 r. obejmując 358 listów.

Jej zakończenie było spowodowane niesłusznym przypuszczeniem Junga, że psychoanaliza ma zastąpić religię co było głównym zarzutem skierowanym do Freuda.

Carl Gustav Jung, twórca „psychologii głębi" uważał „libido" za podstawę życia psychicznego przeciwstawiając Freudowi nie tylko seksualne pojmowanie „libido", ale rozszerzając je na żądzę władzy (97). W swojej teorii archetypów i symboli twierdził, że człowiek stanowi całość psychofizyczną, z częścią niższą (ciało) i wyższą (dusza) (47). Ciało ciągnie go do przyjemności, a dusza - do wyższej rzeczywistości (52).

Dusza ludzka zamieszkuje całe ciało jako *vitalis intentio* (bodziec życiowy), realizuje się poprzez: ożywianie - utrzymywanie symetrii ciała, pobudzenie go do rozmnażania i rozwoju. Dusza działa na zmysły oraz na otoczenie poprzez wiedzę i sztukę. Wpływa na samą siebie przez oczyszczenie i utrzymanie czystości. Poznaje najwyższą prawdę jaką jest Bóg, a najwyższym dobrem są idee Boże (25).

Jung był przekonany, że nieświadomość była pomostem do duszy, pełnej mistycznego wymiaru, stanowiącego o ludzkiej osobowości (51). Zawartość nieświadomości przesądzała o życiu lub śmierci duszy w jej drodze do osiągnięcia najwyższego dobra jakim jest całkowita integracja z Bogiem. W przeciwieństwie do Freuda uważał, że podświadomość może być kreatywna (14). Jung pisał: „Głównym celem moich zainteresowań nie jest leczenie neuroz, ale raczej doprowadzenie do bóstwa". Jung sądził, że w swoich pracach prowadzony był niewidzialną ręką, w większości nieświadomą *spiritus rector* (duszą przewodnią). Ta przewodnia dusza usilnie nakłaniała go do wyleczenia chrześcijaństwa, co skłaniało go do pogłębienia wiedzy o najgłębszych żądzach, aby znając „psychologię głębi" zaoferować właściwą pomoc. Przed ośmiu wiekami Hildegarda z Bingen (1098-1179), mistyczka i filozof niemiecki była motywowana podobnym impulsem i prowadzono podobną mocą duszy *umbra viventis lucis („cieniem żyjącego światła")* Żyjące Światło w Duszy (niekiedy określane cieniem cienia Żyjącego Światła) widoczne duchowo tylko w pełnej świadomości, czemu towarzyszą wielokolorowe, świetlne olśnienia i *„usłyszenie odgłosów z wnętrza duszy"* (14).

W 1959 r. Jung przekonywał: „Właściwie wszystko zależy od duszy, gdyż jest ona przyszłością człowieczeństwa, na którą nie będą miały wpływu ani atak dzikich zwierząt, ani niebezpieczeństwo światowej epidemii, ale tylko i głównie zmiany psychiczne w głowach naszych przywódców, ponieważ to oni mogą zanurzyć świat we krwi, ogniu lub wypełnić go radioaktywnością" (47).

Nawet w XX wieku poglądy Kartezjusza budzą polemikę. Współczesne odrzucenie kartezjańskiego dualizmu ciało - dusza zawarte jest w pracy brytyjskiego filozofa Gilberta Ryle'a „The concept of Mind" (1949 r.). Wprowadza w niej pojęcie „duch w maszynie" *(„ghost in the machine")*, którym podkreśla absurdalność układu dualistycznego, gdzie aktywność umysłowa biegnie równolegle do działań fizycznych, ale gdzie sposoby ich interakcji nie są znane lub tylko spekulatywne (78).

Neurochirurdzy, operując mózg, zastanawiali się nad umiejscowieniem duszy lub świadomości, którą często, za Kartezjuszem, utożsamiali z duszą.

Harvey Cushing (1869-1939), twórca specjalizacji neurochirurgicznej, był charakteryzowany jako osoba „wykuwająca drogę do duszy" *(forging the path to the soul)*, gdyż wzrastające zrozumienie struktury i czynności mózgu ugruntowało jego znaczenie jako siedziby duszy (24).

Kolega Cushinga, Walter E. Dandy (1886-1946), neurochirurg pracujący w Uniwersytecie w Pittsburgu, twórca nowych technik operacyjnych i badań diagnostycznych (PEG, VEG) umiejscowienie duszy znajdował, podobnie jak przed prawie 350 laty Thomas Willis, w *corpus striatum* (17).

Kanadyjski neurochirurg, Wilder Penfield (1891-1976), usuwał ogniska padaczkorodne, które znajdował śródoperacyjnie, wybudzając chorego i stymulując korę mózgu prądem elektrycznym. Określił w ten sposób *homunkulus* ruchowy i czuciowy, ale duszy nie znalazł (8).

Interesującą sugestię i wskazówkę dotyczącą dalszych badań nad duszą przedstawił Francis Crick (1916 - 2004). Crick w 1962 r. wraz z Mauriceem Wilkinsem i Jamesem Watsonem otrzymali nagrodę Nobla za przedstawienie helisy DNA. Po tym wydarzeniu Crick poświęcił się neurobiologii poszukując substratu świadomości. Uważał, że dusza powstaje na podstawie materialnego mózgu. W pracy „The Astonishing Hypothesis. The Scientific Search for the Soul" (1996 r.), Crick argumentuje, że tradycyjna koncepcja duszy jako istoty niematerialnej powinna być pozostawiona religii i filozofii, natomiast obecnie idea duszy musi być rozpatrywana na podstawie materialistycznego rozumienia umysłu (61, 62).

## Piśmiennictwo


1. *Albuquerquea J., Deshauera D., Grofa P.:* Descartes' passions of the soul-seeds of psychiatry? J. Affect. Disord. 2003, 76, 285-291
2. *Apuzzo L.J.:* Thoughts on originality, innovation and the genesis of the creative idea. Neurosurgery 2004, 55, 2, 271-272
3. *Baig M.N., Karas C.S.:* The Eastern heart and Galen's ventricle: a historical review of the purpose of the brain. Neurosurg. Focus 2007, 23, 1, E3 1-6
4. *Balabana C.D., Jacob R.G.:* Background and history of the interface between anxiety and vertigo. J. Anxiety Disord. 2001, 15, 27-51
5. *Baljet B.:* The painted Amsterdam anatomy lessons: Anatomy performances in dissecting room? Ann. Anat. 2000, 182, 3-11
6. *Ball P.:* Triumph of the medieval mind. Nature 2008, 452, 816-818

7. *Barrera-Mera B., Barrera-Calva E.:* The Cartesian clock metaphor for pineal gland operation pervades the origin of modern chronobiology Neurosci. Biobehav. Rev. 1998, 23, 1-4
8. *Bennett M.R., Hacker P.M.S.:* The motor system in neuroscience: a history and analysis of conceptual developments. Progr. Neurobiol. 2002, 67, 1-52
9. *Bergmann M.:* Freud/Jung: Enlightenment/ Romanticism, and the Irrational. Psychoanal. Psychol. 2008, 30, 1, 43-58
10. *Capps D., Carlin N.:* Sigmund Freud and James Putnam: Friendship as a Form of Sublimation. Pastoral. Psychol. 2010, 59, 265-286
11. *Centonze D., Siracusano A., Calabresi P., Bernardi G.:* The Project for a Scientific Psychology (1895): a Freudian anticipation of LTP-memory connection theory. Brain Res. Rev. 2004, 46, 310-314
12. *Chene D.D.:* Mechanisms of life in the seventeenth century: Borelli, Perrault, Regis. Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci. 2005, 36, 245-260
13. *Choudhari K.A., Sharma D., Leyon J.J.:* Thomas Willis of the „Circle of Willis. Neurosurgery 2008, 63, 1185-1191
14. *Clendenen A.:* Hildegard, Jung, and the Dark Side of God. Magistra 2010, 16, 2, 26-76
15. *Cohen A.A.:* Kant on epigenesis, monogenesis and human nature: The biological premises of anthropology. Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci. 2006, 37, 675-693
16. *Cunningham A.:* The pen and the sword: recovering the disciplinary identity of physiology and anatomy before 1800 II: Old anatomy - the sword. Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci. 2003, 34, 51-76
17. *Dandy W:* The location of the conscious center in the brain: The corpus striatum. Bull. Johns Hopkins Hosp. 1946, 79, 34-58
18. *Del Maestro R.F.:* Leonardo da Vinci: the search for the soul. J. Neurosurg. 1998, 89, 874-887
19. *Dembińska-Siury D.:* Plotyn. Polskie Towarzystwo Tomasza z Akwinu, Warszawa 1995 http://www.ptta.pl/pef/pdf/p/plotyn.pdf
20. *Dempsey L.:* Written in the flesh: Isaac Newton on the mind-body relation. Stud. Hist. Phil. Sci. 2006, 37, 420-441
21. *Dewan L.:* Is Truth a Transcendental for St.Thomas Aquinas? Nova et Vetera 2004, 2, 1, 1-20
22. *Di Ieva A., Tscabitscher M.: Prada F., Gaetani P., Aimar E., Pisano P., Levi D., Nicasso N., Serra S., Tancioni F., Arosio M., Baena R.R.:* The neuroanatomical plates of Guido da Vigevano. Neurosurg. Focus 2007, 23, 1, E15
23. *Di Ieva A., Tschabitscher M., Baena R.:* Lanci's nerves and the seat of the soul. Neurosurgery 2007, 60, 563-568
24. *Dolan B.:* Soul searching: a brief history of the mind/body debate in the neurosciences. Neurosurg. Focus 2007, 23 (1), E2, 1-7
25. *Donati M.:* Beyond synchronicity: the worldview of Carl Gustav Jung and Wolfgang Pauli. J. Analyt. Psychol. 2004, 49, 707-728
26. *Eadie M.J.:* A pathology of the animal spirits - the clinical neurology of Thomas Willis (1621-1675). Part II - Disorders of intrinsically abnormal animal spirits. J. Clin. Neurosci. 2003, 10 (2), 146-157
27. *Edwards S. D., Edwards D.J.:* Sigmund Freud: Pioneer in Energy Healing J. Alternat. Complemen. Med. 2010, 16, 2, 219-222
28. *Epstein J., Stern E., Silbersweig D.:* Neuropsychiatry at the millenium: the potential for mind/brain integration through emerging interdisciplinary research strategies. Clin. Neurosci. Res. 2001, 1, 10-18
29. *Escobar J.M.:* Kepler's theory of the soul: a study on epistemology. Stud. Hist. Phil. Sci. 2008, 39, 15-41
30. *Falkenstein L.:* A Double Edged Sword? Kant's Refutation of Mendelssohn's Proof of the Immortality of the Soul and its Implications for His Theory of Matter. Stud. Hist. Phil. Sci. 1998, 29, 4, 561-588
31. *Fara P.:* Cartesian visions. Endeavour 2008, 32, 4, 126-128
32. *Greer S.:* Freud's „gbad conscience": the case of Nietzsche's genealogy. J. Hist. Behav. Sci. 2002, 38(3), 303-315
33. *Gross C.G.:* Brain, Vision, Memory. Tales in the history of eurosciencе. Massachusets Institute of Technology, 1999
34. *Gross C.G.:* Three before their time: neuroscientists whose ideas were ignored by their contemporaries. Exp. Brain Res. 2009, 192 (3), 321-334
35. *Hadot P.:* Plotyn albo prostota spojrzenia. Wyd. Antyk 2004
36. *Hagner M.:* The soul and the brain between anatomy and natural philosophy in the early nineteenth century. Med. Hist. 1992, 36, 1-33
37. *Hatfield G.:* The Passions of the soul and Descartes's machine psychology. Stud. Hist. Phil. Sci. 2007, 38, 1-35
38. *Hedelin M., Löf M., Olsson M., Lewander T., Nilsson B., Hultman C.M., Weiderpass E.:* Dietary intake of fish, omega-3, omega-6 polyunsaturated fatty acids and vitamin D and the prevalence of psychotic-like symptoms in a cohort of 33 000 women from the general population. BMC Psychiatry 2010, 10:38, 1 - 13
39. *Heisel P.B.:* Enjoyment and Its Discontents: Ecclesiastes in Dialogue with Freud on the Stewardship of Joy. J. Relig. Health 2010, 49, 105-116
40. *Ilifee B.:* „That puzzleing Problem": Isaac Newton and the Political Physiology of Self. Med. Hist. 1995, 39, 433-458
41. *Juvenalis D.I.:* Satura. cyt. wg http://www.thelatinlibrary.com/juvenal/10.shtml
42. *Kaitaro T.:* Brain-mind identities in dualism and materialism: a historical perspective. Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci. 2004, 35, 627-645
43. *Kaplan R.:* Soaring on the wings of the wind: Freud, Jews and Judaism. Aust. Psychiatry 2009, 17, 4, 318-325
44. *Keele D.K.:* Three Early Masters of Experimental Medicine - Erasistratus, Galen and Leonardo da Vinci. Proc. Roy. Soc. Med. 1961, 54, 577-588
45. *Kempf E.J.:* From Hippocrates to Galen. Med. Libr. Hist. J. 1904, 2(4), 282-307
46. *Kerr P.B., Caputy A.J., Horwitz N.H.:* A history of cerebral localization. Neurosurg. Focus 2005, 18 (4), E1, 1-3
47. *Kesson K.:* Jung's Archetypal Psychology and the Spiritual Development of Teachers. Encounter 2003, 16, 4, 23-33
48. *Khalili M., Shoja M.M., Tubbs R.S., Loukas M., Alakbarli F., Newman A.J.:* Illustration of the heart and blood vessels in medieval times. Int. J. Cardiol. 2010, 143, 4-7
49. *Kinney D.K., Teixeira P., Hsu D., Napoleon S.C., Crowley D.J., Miller A., Hyman W., Huang E.:* Relation of Schizophrenia Prevalence to Latitude, Climate, Fish Consumption, Infant Mortality, and Skin Color: A Role for Prenatal Vitamin D Deficiency and Infections. Schizophr. Bull. 2009, 35(3), 582-595
50. *Kobierzyński T.:* Filozofia osobowości. Wydawnictwo Psychologii i Kultury. Warszawa 2001
51. *Krippner S., Feinstein D.:* Psychotherapy in a Mythic Key: The Legacy of Carl Gustav Jung. ReVision 2006, 28, 4, 2-16
52. *Lamborn A.B.:* Psychoanaliysis And Religion: Revisiting Jung's: "A Psychological Approach To The Dogma Of The Trinity". Psychoanal. Psychol. 2010, 32, 37-52
53. *Leopold D.A., Maier A.:* Neuroimaging: Perception at the Brain'fs Core. Curr. Biol. 2006, 16, 3, R95-R98
54. *Lifschutz J.I., Johnson W.D.:* History of hydrocephalus and its treatments. Neurosurg. Focus 2001, 11 (2), Article 1, 1-5

55. *Long C.P.:* Aristotle on the Nature of Truth. Cambridge University Press, 2011
56. *Lonie I.M.:* Hippocrates the Iatromechanist. Med. Hist. 1981, 25, 113-150
57. *Machamer P., McGuire J.E.:* Descartes's changing mind. Stud. Hist. Phil. Sci. 2006, 37, 398-419
58. *Melo-Martín I.:* The art of medicine. Vulnerability and ethics: considering our Cartesian hangover. Lancet 2009, 373, 1244-1245
59. *Meryn S.:* In search of the ''seat'' of the soul - and an increased open-mindedness in medical science. Lancet 2006, 3, 2, 121-122
60. *O'Connor J.P.B.:* Thomas Willis and the background to Cerebri Anatome. J. Roy. Soc. Med. 2003, 96, 139-143
61. *Orgel L.:* From Magnetic Mines to DNA and Consciousnes. Science 2006, 313, 1891-1892
62. *Pennisi E.:* A Hothouse of Molecular Biology. Science 2003, 300, 278-282
63. *Perloff J.K.:* The Metaphoric and Morphologic Heart: Symbol and Substance. Am. J. Cardiol. 2010, 105, 10, 1502-1503
64. *Pevsner J.:* Leonardo da Vinci's contributions to neuroscience. Trends Neurosci. 2002, 25, 4, 217-220
65. *Pilloud S., Louis-Courvoisier M.:* The Intimate Experience of the Body in the Eighteenth Century: Between Interiority and Exteriority. Med. Hist. 2003, 47, 451-472
66. *Pyle C.A.:* Art as science: scientific illustration, 1490-1670 in drawing, woodcut and copper plate. Endeavour 2000, 24, 2, 69-75
67. *Quasten J., Burghardt W.J., Lawler T.:* Ancient Christian Writers. The Literal Meaning of Genesis Vol.2. Paulist Press, 1982
68. *Quin C.E.:* The soul and the pneuma in the function of the nervous system after Galen J. Roy. Soc. Med. 1994, 87, 393-395
69. *Quin C.E.:* The centre thought to control sensory and motor activity in the early history of medicine. J. Roy. Soc. Med. 1992, 85, 102-105
70. *Raizman-Kedar Y.:* Plotinus'fs conception of unity and multiplicity as the root to the medieval distinction between lux and lumen. Stud. Hist. Phil. Sci. 2006, 37, 379-397
71. *Reis L.C., Hibbeln J.R.:* Cultural symbolism of fish and the psychotropic properties of omega-3 fatty acids. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids 2006, 75, 227-236
72. *Riese W.:* Descartes as a psychotherapist. The uses of rationale philosophy in the treatment of discomfort and disease; its limitations. Med Hist. 1966, 10, 3, 237-244
73. *Rocca R.:* Galen on the Brain: Anatomical Knowledge and Physiological Speculation in the Second Century AD. Brill, Leiden, Boston, 2003
74. *Rosen C.:* The origin of the conception of the nervous impulse. Canad. Med. Assoc. J. 1932, 66-70
75. *Santoro G., Wood M.D., Merlo L., Anastasi G.P.:* The Anatomic Location of the Soul from the Heart, through the Brain, to the whole Body, and beyond: a Journey through Western History, Science, and Philosophy. Neurosurgery 2009, 65, 633-643
76. *Sarrafzadeh A.S., Sarafian N., von Gladis A., Unterberg A.W., Lanksch W.R.:* Ibn Sina (Avicenna). Neurosurg. Focus 2001, 11 (2), Article 5, 1-4
77. *Schwartze M.G., Peterman J.H.:* Pistis Sophia: Opus gnosticum, Valentino adjudicatum. Berolini 1851 cyt. wg http://www.bookprep.com/read/mdp.39015005368405
78. *Sills J.:* Neuroscience and the Soul. Science 2009, 323, 1168
79. *Singer C.:* How medicine became anatomical. Br. Med. J. 1954, dec. 25, 4903-1503
80. *Smith R.:* The history of psychological categories. Stud. Hist. Phil. Biol. & Biomed. Sci. 2005, 36, 55-94
81. *Smith C.U.M.:* Descartes' Pineal Neuropsychology. Brain Cogn. 1998, 36, 57-72
82. *Somos M.:* Saint Augustine of Hippo, step-father of liberalism. Hist. Europ. Ideas 2010, 36, 237-250
83. *Tanaka S., Kurumizawa J., Inokuchi S., Iwadate Y.:* Composition Analyzer: support tool for composition analysis on painting masterpieces. Knowledge-Based Syst. 2000, 13, 459-470
84. *Tascioglu A.O., Tascioglu A.B.:* Ventricular anatomy: illustrations and concepts from antiquity to Renaissance. Neuroanatomy 2005, 4, 57-63
85. *Tatarkiewicz W.:* Historia Filozofii. Część I: Filozofia średniowiecza. PWN, Warszawa 1978, 173-179
86. *Tatarkiewicz W.:* Historia Filozofii. Część II: Filozofia nowożytna do roku 1830. PWN, Warszawa 1978, 41-228
87. *Tomasz z Akwinu:* Suma teologiczna. http://www.katedra.uksw.edu.pl/suma/suma_indeks.htm
88. *Turl J.:* Substance Dualism or Body-Soul Duality? Sci. Christ. Belief 2010, 22, 1, 57-80
89. van Deusen N.: Ensouled bodies: The continuity of the theme of 'the body as instrument'. J. Physiol. - Paris 2007, 101, 280-291
90. *Vermeir K.:* The 'physical prophet' and the powers of the imagination. Part I: a case- study on prophecy, vapours and the imagination (1685-1710). Stud. Hist. Phil. Biol.&Biomed. Sci. 2004, 35, 561-591
91. *Wallace W.:* The vibrating nerve impulse in Newton, Willisand Gassendi: First steps in a mechanical theory of communication. Brain and Cognition 2003, 51, 66-94
92. *Weber T.P.:* Carl du Prel (1839-1899): explorer of dreams,the soul, and the cosmos. Stud. Hist. Phil. Sci. 2007, 38, 593-604
93. *Weiss G.:* The genius of Leonardo da Vinci. Lancet 2002, 359, 5, 85
94. *Wong A.H.C., Van Tol H.H.M.:* Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. Neuroscie. Biobehav. Rev. 2003, 27, 269-306
95. *Wright J.L.:* Reading Rembrandt: The influence of Cartesian dualism on Dutch art. Hist. Eur. Ideas 2007, 33, 275-291
96. *Yoshikawa N.K.:* Holy Medicine and Diseases of the Soul: Henry of Lancaster and Le Livre de Seyntz Medicines. Med. Hist. 2009, 53, 397-414
97. *Zepf S.:* Libido and psychic energy - Freud's concepts reconsidered. Int. Forum Psychoanal. 2010, 19, 3-14
98. Zuber D.: The Buddha of the North: Swedenborg and Transpacific Zen. Region&Arts 2010, 14, 1-33

**Adres do korespondencji:**
Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Umiejscowienie duszy - od klasycznych poglądów do mózgowych sieci neuronalnych wysokiej hierarchii. Część III. Wiek XXI.

## Soul localization - from the classical concepts to the cerebral neuronal networks of high hierarchy. Part III. XXI century.

Ryszard Żukiel, Stanisław Nowak, Roman Jankowski, Stanisław Chlebek

*z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

**Streszczenie**

Koncepcja mózgowych sieci neuronalnych pojawiła się w XIX wieku wraz z nadejściem „zespołu rozłączenia" postulowanego przez Wernicke'go, Dejerine'a i innych neurologów na podstawie korelacji klinicznych i patologicznych. Sieci neuronalne zbudowane są z grupy lub wielu grup neuronów związanych anatomicznie lub czynnościowo. Pojedynczy neuron może być połączony z wieloma innymi neuronami, a całkowita ilość neuronów i ich połączeń stanowi rozległą sieć. Aksony i dendryty łączą się przez synapsy i połączenia półścisłe, chociaż inne rodzaje są też możliwe. Badania neuroobrazowe wykazały, że sieci neuronalne posiadają topologię typu sieci wielkiej skali, „mały świat" oraz organizację modularną umożliwiającą sprawny przekaz informacji między okolicami mózgu. Sieci neuronalne są niezwykle skomplikowane i dla ich przedstawienia stosowane są wykresy graficzne. Sieci neuronalne badamy przy pomocy EEG, MEG, PET, dyfuzyjnego MRI, czynnościowego MRI. Zgodnie z graficzną teorią wykresów sieć jest zredukowana do zestawu węzłów połączonych drogami neuronalnymi. Krawędzie sieci mogą być jedno lub dwukierunkowe, obciążone lub nieobciążone czynnościowo. Autorzy opisują sieci wielkiej skali (wysokiej hierarchii) takie jak DAN, VAN, DMN oraz sieci mniejszej skali jak sieć „mały świat".

**Summary**

The concept of brain neural networks originated in the XIXth century with the advent of the "disconnection syndromes" hypothesis by Wernicke, Dejerine and others mainly on the basis of medical and pathological correlations. Neural network is composed of a group or groups of neurons connected anatomically or functionally associated. A single neuron may be connected to many other neurons and the total number of neurons and connections in a network may be extensive. Connections such as synapses and tight junctions are usually formed from axons and dendrites though other connections are possible. Recent neuroimaging studies have demonstrated that human brain networks have small-world topology, large-scale networks and modular organization, enabling efficient information transfer among brain regions. Neural networks are extremely complex and for their presentation graph theory is employed. Neural networks are examined by different examinations such as EEG, MEG, diffusion MRI, functional MRI. According to the graph theory a network is reduced to a set of nodes connected by edges. The edges can be directed or undirected, and weighted or unweighted functionally. Authors describe large scale networks (high hierarchy) like DAN, VAN, DMN and small ones like "small world network".

**Słowa kluczowe:** struktura, sieć neuronalna wysokiej hierarchii, sieć typu „mały świat"

**Key words:** structure, neural high hierarchy network, "small world network"

Koncepcja sieci neuronalnych mózgu pochodzi z drugiej połowy XIX w. Związana jest z zespołem odłączenia *(disconnection syndrome)* sformułowanym m. in. przez Wernicke'go, Dejerine'a na podstawie korelacji klinicznych i patologicznych. Opierała się ona na znajomości dróg istoty białej i rozumieniu działalności mózgu na podstawie połączeń różnych okolic, co było podstawą teorii asocjacyjnej (4, 26).

Jednak ówczesne możliwości badawcze dla poznania organizacji mózgowej istniały tylko na podstawie badań *post mortem*. W latach 1960-tych Jerzy Konorski (52) zwraca uwagę na konieczność eksploracji połączeń korowo-korowych i zwojów podstawy poprzez *„subtelne metody neurochirurgiczne, polegające na wybiórczym usuwaniu lub niszczeniu ściśle zlokalizowanych części mózgu. Za pomocą testów behawioralnych i na podstawie obserwacji zaburzeń występujących w ich rozwiązywaniu pod wpływem określonej lezji możemy wyciągać wnioski o znaczeniu funkcjonalnym odpowiednich struktur"*. Natomiast bliższe poznanie połączeń neuronalnych *in vivo* stało się możliwe dopiero dzięki wprowadzeniu nieinwazyjnych technik neuroobrazowania, w latach 1980-tych (14).

Odkrycie w 1973 r. długoterminowego wzmocnienia w obrębie hipokampa (*hippocampal long-term potentiation,* LTP) wykazało, że podłoże neuronalne wielu czynności psychicznych, w tym procesu uczenia, polega na stałym wzmacnianiu efektywności synaptycznej komunikacji między neuronami (70).

Rozumienie działania mózgu oparte było, przez ostatnich 100 lat, na doktrynie neuronu, do której obecnie dołącza teoria sieci neuronalnych.

Współczesne badania wykonane przy pomocy czynnościowego rezonansu magnetycznego (fMRI) wskazują, że adaptacje neuronowe związane ze zmianami pojawiającymi się podczas realizacji zadań występują nie tylko w istocie szarej ale także we włóknach istoty białej łączącej różne jej okolice. Po raz pierwszy sieci (obwody) anatomiczne połączeń wielkiej skali *(large-scale network)* łączące się z odrębnymi czynnościami poznawczymi opisał Mesulam (63). Według Mesulam'a ludzki mózg zawiera co najmniej 5 głównych sieci połączeń czynnościowych: 1 - przestrzenna sieć czynnościowa uwagi znajdująca się w tylnej korze ciemieniowej i w polach czołowych ocznych (*Frontal Eye Fields*, FEF); 2 - sieć językowa w polach Wernicke'go oraz Broca; 3 - sieć pamięci obejmującą korę hipokampa, węchową oraz korę dolnego płacika ciemieniowego; 4 - sieć rozpoznawania twarzy w korze środkowo-skroniowej i skroniowo-biegunowej; 5 - sieć czynnościowa pamięci operacyjnej w korze przedczołowej i ciemieniowej. W badaniach sieci połączeń wykorzystywał nieinwazyjne metody neuroobrazowania jak fMRI z funkcją BOLD *(Blood-Oxygen-Level-Dependent)*. Sygnał BOLD jest pomiarem aktywności metabolicznej mózgu opartym na różnicy pomiędzy oksyhemoglobiną a deoksyhemoglobiną wynikającą ze zmian w miejscowym przepływie krwi wskazującym na metabolizm mózgu (9).

Ostatnie badania zweryfikowały pogląd Mesulama i według Kima (48) od 2010 r. wyróżniamy trzy główne mózgowe sieci neuronalne wielkiej skali. Są to: grzbietowa sieć uwagi DAN *(Dorsal Attention Network)*, brzuszna sieć uwagi *(ventral attention network)*, sieć stanu spoczynku DMN *(Default-Mode Network)*. Odgrywają istotną rolę w skomplikowanych zadaniach poznawczych wysokiego szczebla, jak np. nauka, podejmowanie decyzji, planowanie, uczenie itp. (48). Sieci neuronalne wielkiej skali są określane sieciami neuronalnymi wysokiej hierarchii ze względu na swoją specyficzną właściwość. Sieci neuronalne niższej skali są wrażliwe na zakłócenia, które są tłumione przez sieci wysokiej hierarchii (95).

Bressler i Menon (9) wśród sieci wielkiej skali wyróżniają centralną sieć wykonawczą (*Central-Executive Network*, CEN), czyli sieć włókien odpowiedzialnych za złożone czynności poznawcze, w tym uwagę i pamięć operacyjną (working memory). Pamięć operacyjna jest zdolnością do aktywnego przechowania informacji potrzebnej do złożonych operacji, takich jak argumentowanie, rozumienie i uczenie (10).

Poznanie połączeń mózgu wielkiej skali umożliwiło zrozumienie ogólnej struktury połączeń anatomicznych oraz zwróciło uwagę na pojedyncze drogi neuronalne i połączenia małych części macierzy istoty białej, a także na mechanizmy wymuszające powstawanie danych połączeń (9).

Podczas rozwoju osobniczego liczne czynnościowe połączenia w badaniach spoczynkowych fMRI wykazały zmiany zależne od stopnia dojrzałości mózgu. Na podstawie badań grupy ochotników, w wieku od 7 do 30 lat, ustalono wskaźnik czynnościowej dojrzałości mózgu *(functional connectivity maturation index)*. Wskaźnik ten jest pomocny w diagnozowaniu rozwojowego opóźnienia umysłowego oraz w zaburzeniach neuropsychiatrycznych (23).

Neuronalne połączenia anatomiczne nie są niezmienne i wytworzone na cały okres życia, ale zmieniają się w czasie rozwoju mózgu, wraz z wiekiem, ale również podczas choroby, rehabilitacji i treningu (3).

## Budowa sieci neuronalnych

Przed stu laty niemiecki lekarz Korbinian Brodmann opublikował pracę „Localisation in the Cerebral Cortex", w której szczegółowo podzielił korę na 52 pola (ryc. 1), każde oznaczając liczbą na podstawie rodzaju komórek i struktury laminarnej. Chociaż liczby Brodmanna stanowiły pierwszą mapę lokalizacyjną i czynnościową obszarów kory mózgu to nadal są używane. Współcześni Brodmannowi berlińscy lekarze Oskar Vogt oraz Cécile Vogt badali architekturę połączeń mózgu przez zmielinizowane włókna neuronalne różnych pól korowych oraz ich czynność stymulując elektrycznie mózg doświadczalnego zwierzęcia. Wykonali też pierwszą analizę topograficzną kory mózgu człowieka opartą całkowicie na strukturze komórkowej (cytoarchitektura), wykorzystu-

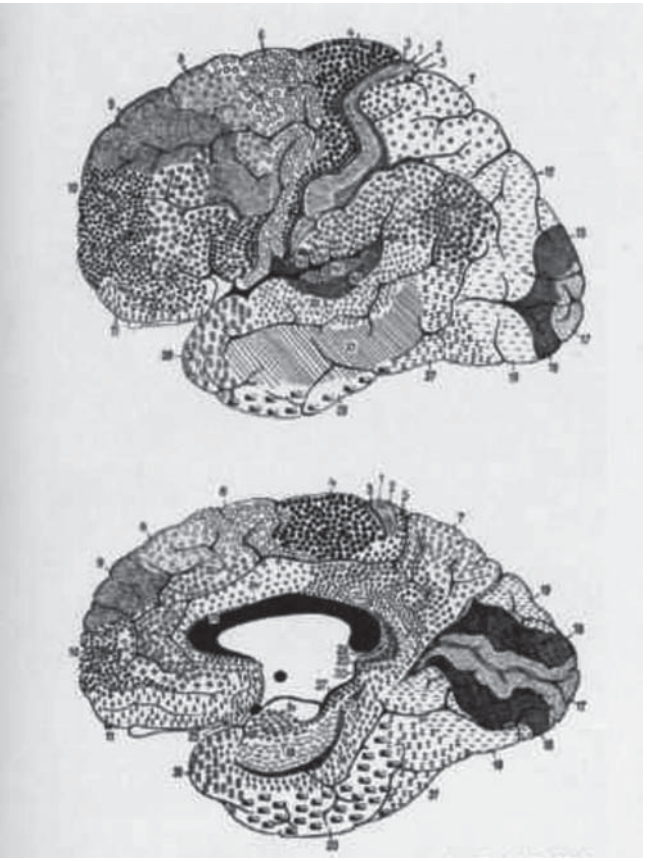
jąc barwienie tkankowe metodą opracowaną przez ich kolegę Franza Nissla (1).

Obecnie badania sieci neuronalnych i czynnościowych mózgu wykonuje się głównie poprzez elektroencefalografię (EEG), magnetoencefalografię (MEG), protonową emisyjną tomografię PET *(proton emission tomography)*, dyfuzyjny MRI *(diffusion magnetic resonance imaging)*, czynnościowy rezonans magnetyczny *(functional MRI)* (74). Czynnościowe połączenia regionalne oznaczano określając ich strukturę i wzajemne korelacje. W badaniu funkcji poznawczych wykorzystywane jest mapowanie konstrukcji percepcyjnych podkreślające czynność części mózgu działających wspólnie jako sieci wielkiej skali a także ich składowych - podsieci *(subnetworks)* wykazujących zgodność aktywności (czyli sprzężenie sieci) w czasie spoczynku i w czasie wykonywania zadania (73).

Organizacja sieci oparta jest na połączeniach anatomicznych jej neuronów, zarówno miejscowo, jak i odlegle poprzez synapsy pomiędzy aksonami, dendrytami oraz przez połączenia półścisłe *(gap junctions)* i inne. Chociaż neurony w całym mózgu mają rozmaite wewnętrzne konfiguracje połączeń, to mogą być reprezentowane jako węzły sieci, jeżeli mają identyfikującą, wyjątkową budowę oraz połączenia strukturalne i czynnościowe pozwalające wyróżnić je z otoczenia. Neurony projekcyjne mają długie aksony tworzące synapsy odlegle od ciała komórki wpływając m.in. na zapewnienie właściwej synchronizacji bioelektrycznej odpowiadającej za utrzymanie świadomości (2, 18, 80).

Długie neurony projekcyjne od jednego skupiska neuronów (węzeł) do innej gromady neuronów są przedstawiane jako krawędzie sieci neuronalnej. Charakteryzacja sieci czynnościowych w mózgu wymaga identyfikacji węzłów czynnościowych, chociaż nie ma wspólnej definicji węzła czynnościowego oraz ich krawędzi. Węzeł, początkowo, określano na podstawie zaburzeń funkcji poznawczych: gdy uszkodzenie poszczególnej części mózgu osłabiało czynność poznawczą, wtedy pole to określano węzłem w sieci za nią odpowiedzialnej. Od czasu wprowadzenia zaawansowanych metod elektrofizjologicznych i neuroobrazowych zaczęto węzły precyzyjniej definiować. Węzły są obszarami mózgu określonymi przez cytoarchitektonikę i miejscowy obwód neuronalny. Węzłem, może być ograniczony obszar mózgu wykazujący wzmożony metabolizm w obrazach PET, podwyższoną perfuzję krwi w fMRI lub zsynchronizowaną czynność impulsowo - oscylacyjną w miejscowych zapisach potencjału elektrycznego (*Local Field Potential*, LFP) (30).

W skład sieci neuronalnych mózgu wchodzą sieci wielkiej skali i sieci mniejsze. Sieć wielkiej skali składa się z sieci neuronalnych typu „małego świata" *(small world network)*, która została opisana pierwotnie u c*aenorhabditis elegans*. Odkrycie sieci „small world" umożliwiło opisanie topologii strukturalnych i czynnościowych sieci mózgowych (43, 87).



***Rycina 1.*** *Klasyczne rysunki Brodmanna z 1909 r. Cyt. wg 1.*

Udział obszarów mózgu w działaniu sieci czynnościowych wielkiej skali jest często definiowany na podstawie aktywacji lub deaktywacji w odniesieniu do funkcji poznawczej.

Grupa obszarów mózgu połączona i aktywowana lub deaktywowana w czasie funkcji poznawczej w odniesieniu do stanu podstawowego reprezentuje węzły sieci wielkiej skali charakterystyczne dla tej funkcji. Czynności poznawcze są wykonywane w czasie rzeczywistym w sieciach ze współdziałającymi węzłami.

Zwiększona pobudliwość neuronów określonych obszarów powoduje zwiększenie ich aktywności metabolicznej, przyczyniając się do wzrostu miejscowego przepływu krwi oraz gotowości tlenu do działania *(oxygen availability)*. Zwiększona pobudliwość powoduje wzrost interakcji między neuronami w danym obszarze mózgu. Wzajemne oddziaływania między różnymi grupami komórek są przyczyną aktywności oscylacyjnej, stając się istotnymi dla konsekwencji czynnościowych, np. interakcje prowadzą do zwiększonej wrażliwości

neuronów w obszarze wejścia przeznaczonych dla niego impulsów. Badania BOLD fMRI wykazały aktywację węzłów zaangażowanych w czynności poznawcze takie jak uwaga, pamięć operacyjna, język, emocje, kontrola ruchu, poczucie czasu (9, 45, 91).

Krawędzie sieci łączące obszary mózgu w wielkoskalowych strukturach połączeń neuronalnych stanowią włókna aksonalne o dalekim zasięgu. Krawędzie sieci są ukierunkowane, ponieważ włókna aksonalne prowadzą od ciała komórkowego do synaps, chociaż mogą przenosić sygnały dwukierunkowo. Każdy region mózgu ma jedyny w swoim rodzaju zestaw połączeń z innymi obszarami. Krawędzie sieci mają rozmaite obciążenie oparte na liczbie, mocy i rozmiarze aksonów (57). Gdy droga pomiędzy dwoma grupami komórek (A i B) zawiera aksony tylko z A do B lub tylko z B do A, wtedy krawędź można uznać za ukierunkowaną. Jeżeli droga zawiera aksony w obu kierunkach, wtedy krawędź uważana jest za dwukierunkową. Jeżeli nie zostanie ustalony kierunek to krawędzie należy traktować jako nieukierunkowane. Czynnościowe współzależności węzłów sieci neuronalnych odnoszą się do aktywności połączeń w różnych strukturach mózgu będącej współzależną od różnych odmian parametrów czynnościowych lub behawioralnych. Każdy obszar mózgu posiada charakterystyczny układ wzajemnych połączeń z innymi okolicami oraz skupiska neuronalne pobudzające i hamujące (węzły) wraz z drogami łączącymi (krawędzie) (87).

## Schematy graficzne połączeń neuronalnych mózgu

Graficzna wizualizacja połączeń neuronalnych mózgu wyraża i precyzuje zależności obszarów istoty szarej mózgu (węzłów) oraz łączących je sieci neuronalnych. Do wykazania tych zależności użyteczna jest technika graficzna SEV (SEV, *Spring Embedded Visualization*). Wykres SEV jest graficznym modelem, przedstawiającym działające połączenia między węzłami oraz krawędzie sieci, uwzględniającym zakrzywienie powierzchni mózgu (35). Współczesne badania koncentrują się na połączeniach anatomicznych i czynnościowych między obszarami mózgu oraz ich organizacji pozwalającej na optymalne przetwarzanie informacji. W szczególności interesująca jest segregacja jak i integracja informacji w kontekście pojedynczej sieci neuronalnej mózgu. Synchronizacja neuralnej aktywności, zarówno miejscowo, jak i między odległymi obszarami mózgu, jest decydującym czynnikiem wzajemnego oddziaływania. Synchronizacja pobudzenia i hamowania zarówno w komórkach, jak i obwodach neuronalnych odpowiada za różne procesy behawioralne, a zwiększenie lub obniżenie któregoś z tych procesów prowadzi do zaburzeń psychicznych, np. autyzm (93).

Topologia sieci jest dziedziczna i na jej podstawie można wnioskować o funkcjach poznawczych. Krótka droga neuralna implikuje, że jeden obszar mózgu może szybciej osiągać inny, co jest związane z większą pamięcią operacyjną i z IQ *(intelligence quotient)* (6). W różnych sieciach mózgowych rozciągających się od prostych układów połączonych neuronów do sieci wielkiej skali, czy wysokiej hierarchii, występują typowe cechy złożonych sieci neuronalnych: znaczne grupowanie węzłów, różny stopień ich dystrybucji, krótkie drogi (typowe dla sieci „small world"), asortatywność węzłów (preferencja do łączenia się z innymi - podobnymi lub różnymi - sieciami), obecność modułów. Topologia sieci jest dość typowa dla funkcji poznawczych (77). Modele połączeń sieci strukturalnych zmieniają się w zależności od gatunku zwierząt (44). Natomiast ostatnie badania na małpach wykazały, że są one zdolne do zwiększania lub obniżania aktywności nawet pojedynczych neuronów podczas procesu widzenia (72).

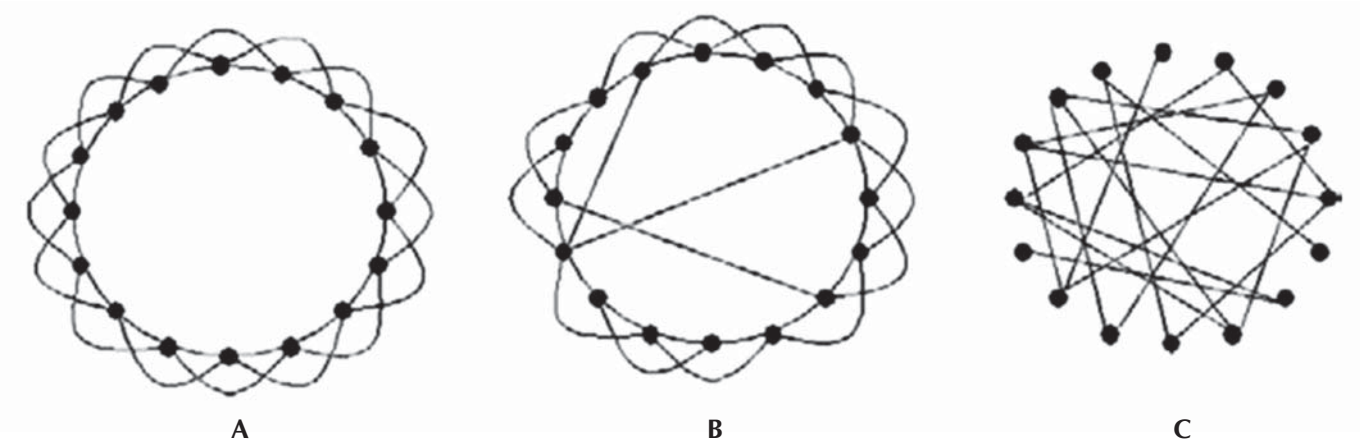
Pierwsze doniesienie o właściwościach sieci „small-world" i stopniu dystrybucji sieci anatomicznych u człowieka dokonano na podstawie pomiarów grubości kory mózgu w badaniu MRI (41).

Nie wiemy dokładnie w jaki sposób rozwija się modularna organizacja sieci mózgowych wielkiej skali oraz sieci typu „small brain network" (65, 37).

Jednak należy przyjąć, że w rozwoju mózgu pojawia się konkurencyjna selekcja w obrębie tych sieci, tak aby uzyskać ich szybką synchronizację i najbardziej sprawny przekaz informacji przy zapewnieniu jednocześnie odpowiedniego ich zrównoważenia. Prawdopodobnie zachodzą podobne zmiany w rozwijającym się mózgu człowieka sterowane mikroglejem, polegające na usuwaniu i tworzeniu nowych synaps, jak to ostatnio wykazano u myszy (64).

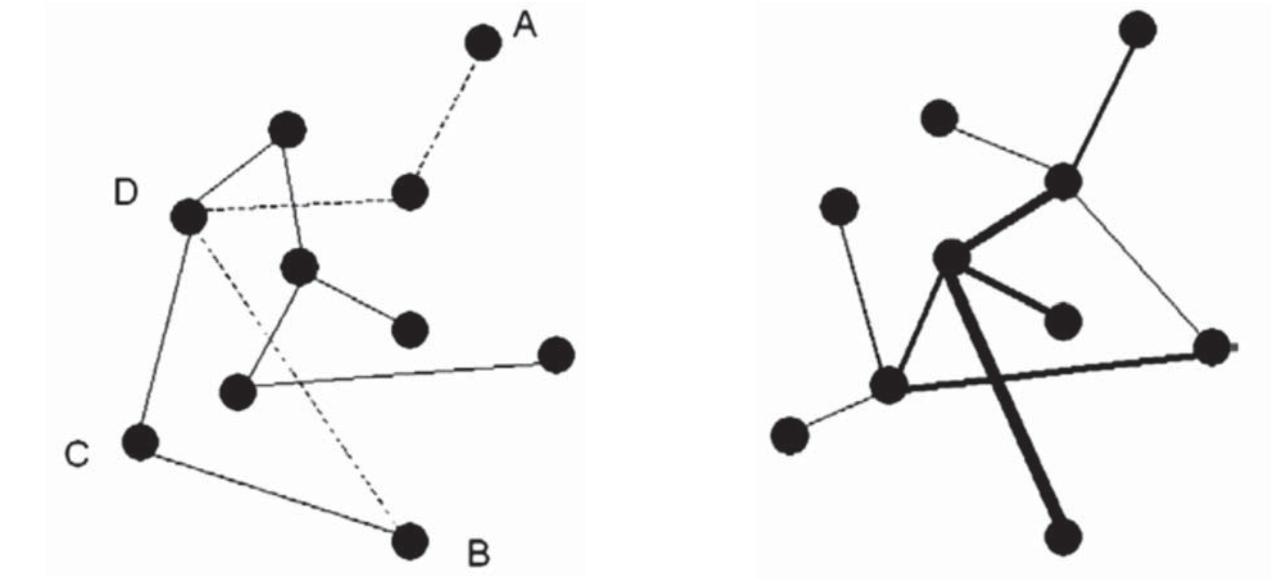
Rodzaje sieci neuronalnych przedstawili Watts i Strogatz (78) (ryc. 2), natomiast autorem graficznego zobrazowania działania sieci jest Stam (77) (ryc. 3).

Porównanie właściwości sieci obejmujące długość dróg, współczynnik zgrupowania węzłów sieci. Połączenia regionalne wykazały, że u dzieci i młodzieży mózgi posiadają podobną organizację typu „small world" w sieciach wielkiej skali, różniąc się znacznie w organizacji hierarchicznej i połączeniach międzyregionalnych (28). Neuralne drogi podkorowe są bardziej intensywne łącząc pierwotne pola czuciowe i limbiczne u dzieci, podczas gdy u młodzieży przedstawiają znaczniejszą intensywność w zakresie dróg korowo-korowych oraz w obszarach paralimbicznych i limbicznych. Analiza połączeń czynnościowych mierzona długością włókien istoty białej wykazała, że rozwój sieci wielkiej skali charakteryzują krótkie połączenia czynnościowe oraz wzmocnienie długich połączeń czynnościowych. Pro-



A B C

***Rycina 2.*** *Rodzaje sieci neuronalnych na podstawie modelu Watts i Strogatz (78). A – sieć regularna, B – sieć losowa, C - sieć „mały świat" (small world). Cyt. wg 6.*




A B

***Rycina 3.*** *Graficzna reprezentacja sieci. A - w przypadku nieobciążonej sieci czarne kropki wskazują węzły sieci a linie je łączące są drogami lub krawędziami. Krótsza droga pomiędzy punktami A i B zawiera trzy krawędzie wskazane przez linie kropkowane. Obciążenie krawędzi przedstawia wykres b (pogrubione linie). Cyt. wg 77.*

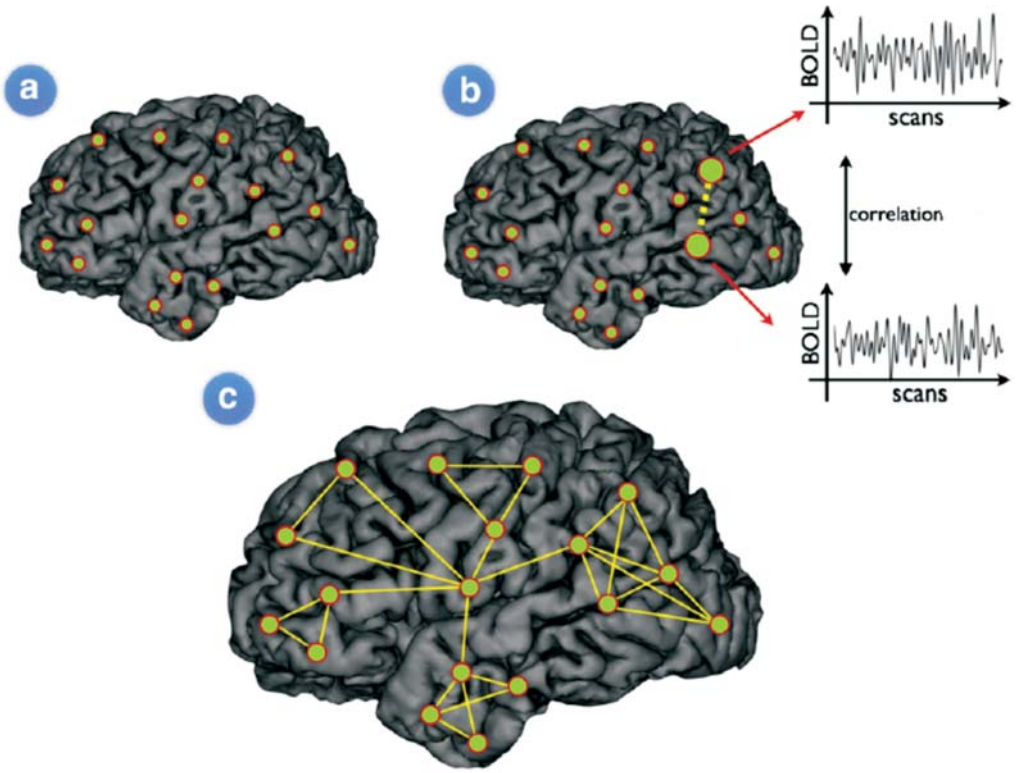
ces ich przedstawienia nazwano modelowaniem sieci czynnościowych mózgu (ryc. 4). Obserwacje wykazują, że dynamiczny proces łączenia, po którym następuje przycinanie krótkich połączeń i wymiana połączeń na dłuższe, działa na różnych poziomach wspomagając rekonfigurację połączeń podkorowych i paralimbicznych w rozwijającym się mózgu (79).

Dynamiczny (wczesny i późniejszy) rozwój sieci mózgowych został przedstawiony przez Fan i wsp. (28) na podstawie obrazów fMRI u człowieka, wykonanych w 1 miesiącu, w 1 roku życia, w 2 roku życia oraz u dorosłego na podstawie algorytmu SEV. Sieć zawiera 90 węzłów wraz z oznaczeniem objętości okolicy badanej oraz zmienną ilość modułów, zależną od wieku. Badania wykonywano przy pomocy fMRI, opierając się na atlasie neuroanatomicznym Talairach z koordynatami poszczególnych okolic nazywanych zgodnie z nim (82).

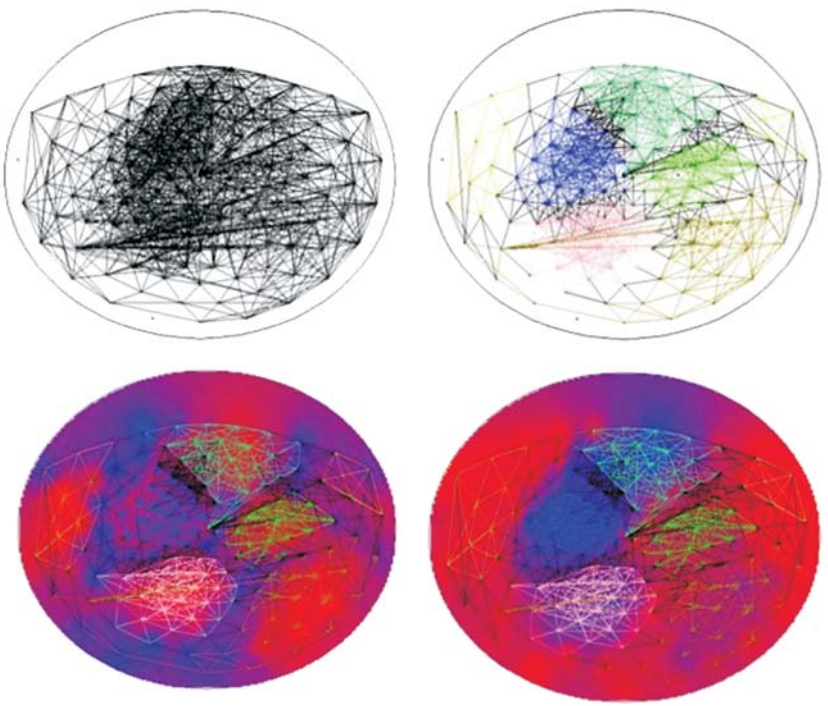
Sieci neuronalne mózgu można przedstawić w postaci modułów na podstawie fMRI.

Modułowa lub modularna sieć neuronalna (ryc. 5) zawiera układ niezależnych dróg działających pod wpływem określonego bodźca i wykonujących określone zadania wycinkowe w obrębie danej sieci (np. kolor lub kształt w neuralnej sieci wzrokowej) (4).

Topologiczna organizacja neuronalnych sieci czynnościowych u człowieka, w zależności od płci, została przedstawiona przez Tian i wsp. Dokonali badań fMRI każdej półkuli mózgu u 86 młodych, zdrowych, prawo-




***Rycina 4.*** *Modelowanie sieci czynnościowej mózgu. Połączenia są przedstawione w postaci wykresu, zawierającego węzły i krawędzie między okolicami czynnościowo powiązanymi. W tym celu: po pierwsze - należy zdefiniować zbiór węzłów, na podstawie wstępnie wybranego szablonu, np. pola Brodmann'fa (panel a). Po drugie* - istnienie funkcjonalnych połączeń między węzłami w sieci musi być zdefiniowane poziomem interakcji (BOLD fMRI) pomiędzy węzłami sieci. *Na podstawie fMRI zostaje obliczony poziom interakcji pomiędzy wszystkimi możliwymi parami węzłów (panel b). Wynikiem modelowania jest wykres sieci połączeń pomiędzy badanymi regionami (panel c). Cyt. wg 64.*



***Rycina 5.*** *Ilustracja architektury modularnej złożonej sieci czynnościowej mózgu. Wzrokowa sieć neuronalna wykazuje czynnościowe połączenia określone synchronizacją faz. Górny lewy panel przedstawia czynnościowe połączenia sieci dla optymalnego widzenia. Górny prawy panel pokazuje podział sieci w modułach. Połączenia w każdym module są kolorowe, połączenia między modułami są przedstawione na czarno. Dolny lewy panel przedstawia te same moduły i kolorową mapę (niebieski niskie wartości, czerwony wysokie wartości) modułów. Dolny prawy panel demonstruje kolorową mapę projekcji modułu poprzez określenie współczynnika udziału (participation coefficient, PC), wykazujący ilościowo połączenia wierzchołka w kierunku zewnętrznym do własnego modułu. Cyt. wg 77.*

ręcznych osób (38 mężczyzn i 48 kobiet). Sieci półkulowe wykazywały cechy obwodów „small world" ze znaczną ilością węzłów i krótkimi drogami, ale zgodne z sieciami czynnościowymi wielkiej skali całego mózgu. Wykazali, że w porównaniu z kobietami u mężczyzn jest większy współczynnik grupowania *(clustering coefficient)* sieci w prawej półkuli mózgu niż w lewej półkuli. Obserwowano również znaczne różnice w regionalnej charakterystyce węzłów szczególnie w okolicach czołowych, skroniowych i potylicznych związane z płcią i półkulą mózgu (81).

Natomiast Bell i wsp. (5) badali regionalną aktywność mózgu, w zależności od płci, przy pomocy fMRI w czasie zadań ruchowych i trzech zadań poznawczych: generacji słowa, zadania wymagającego uwagi przestrzennej a także pamięci operacyjnej u 33 zdrowych ochotników (23 mężczyzn i 10 kobiet). U mężczyzn stwierdzili znacznie większą aktywację, w porównaniu z kobietami, w przypadkach wykorzystywania pamięci operacyjnej ze znaczniejszą aktywacją w prawym zakręcie ciemieniowym górnym i prawym zakręcie potylicznym dolnym oraz lewej dolnej części płata ciemieniowego. Jednak, pomimo tych zmian w fMRI nie było statystycznie istotnych różnic między mężczyznami a kobietami w czasie wykonywania zadań poznawczych. Natomiast, zadanie wymagające uwagi przestrzennej było lepiej wykonywane przez mężczyzn niż kobiety. W zadaniu generacji słowa w fMRI mężczyźni mieli statystycznie większą aktywację od kobiet, w prawej przedczołowej korze grzbietowo - bocznej, prawej dolnej części płata ciemieniowego i prawym zakręcie obręczy. W żadnym z zadań ruchowych (prawa lub lewa ręka) nie było różnic między oboma płciami. Badania fMRI podczas zadania ruchowego wykazały większy sygnał BOLD u mężczyzn w porównaniu z kobietami w prawym dolnym zakręcie ciemieniowym i lewym dolnym zakręcie czołowym.

Topologia sieci neuralnych typu sieci regularnej, sieci losowej i sieci „mały świat" ma wpływ na dynamikę uczenia co wykazano poprzez oznaczenie połączenia neuronów wchodzących *(input neuron)* i wychodzących *(output neuron)* z analizowanego regionu w tym samym przedziale czasu. Analizowano dynamikę uczenia dla różnych parametrów numerycznych licząc liczbę dróg w sieci, które są dostępne dla rozwiązania problemu. Wykazano, że proces ten zależy od wyboru aktywacji neuronów wchodzących i wychodzących (25).

Przykładem zaburzenia działania sieci "small world" jest choroba Parkinsona, charakteryzująca się zmniejszeniem dopaminy w prążkowiu a szczególnie w tylnej części skorupy. Helmich i wsp. badali u 41 chorych z chorobą Parkinsona i wpływ zmniejszenia dopaminy w prążkowiu na sieć korowo - prążkowiową, porównując profil połączeń czynnościowych tylnej części skorupy, przedniej części skorupy oraz jądra ogoniastego obrazów fMRI z 36-osobową grupą kontrolną. Każda z okolic miała wyraźny zarys połączeń podobnie wyrażony u chorych oraz osób grupy kontrolnej: tylna część skorupy była jednoznacznie sprzężona z korą ruchową, przednia część skorupy - z ruchowym polem dodatkowym oraz przednią częścią kory obręczy, natomiast jądro ogoniaste - z grzbietową korą przedczołową. Różnice między grupami były specyficzne w obrębie skorupy: chorzy z chorobą Parkinsona wykazywali mniejszą ilość połączeń między tylną częścią skorupy a dolną korą ciemieniową. Zatem obniżenie stężenia dopaminy u pacjentów z chorobą Parkinsona powoduje zmianę mapy połączeń neuralnych między różnymi pętlami korowo –prążkowiowymi. Zmienione właściwości sieci „small world" mogą leżeć u podstaw nieprawidłowej integracji czuciowo-ruchowej w przypadkach choroby Parkinsona (42).

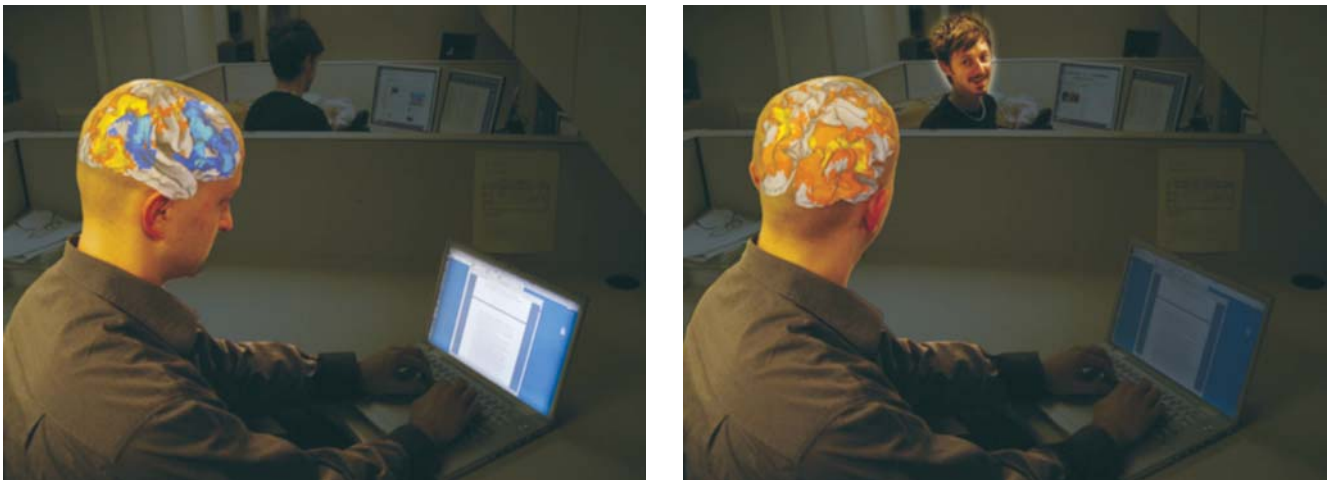
## Sieci neuronalne wielkiej skali (large-scale brain networks)

W mózgu istnieje równowaga między lokalnymi procesami (tj. występującymi w przestrzennie wyodrębnionych zbiorach neuronów) i procesami ogólnymi (czyli procesami na dużą skalę obejmującymi większe zbiory połączonych między sobą neuronów w całym mózgu). W odniesieniu do ważnego narządu poznania jakim jest kora mózgowa, istotnym odkryciem jest to, że chociaż elementarne operacje poznawcze znajdują umiejscowienie w poszczególnych polach korowych, to złożone czynności poznawcze wymagają wspólnych działań wielu rozproszonych okolic. Sieci korowe wielkiej skali są dynamicznymi neuronalnymi jednostkami poznawczymi wykonującymi czynności miejscowe i ogólne (8).

### a/ Sieci neuronalne uwagi DAN (dorsal attention network) i VAN (ventral attention network)

Badania fMRI wykazały, że współistnieją dwa układy sieci neuronalnych wielkiej skali odpowiadające za uwagę: obustronny grzbietowy system uwagi (*dorsal attention network*, DAN) obejmujący orientację analityczną (top-down) uwagi i prawoboczny brzuszny system uwagi (*ventral attention network*, VAN) zaangażowany w uwagę syntetyczną *(bottom - up)* w reakcji na wyraźny bodziec sensoryczny (29, 75).

DAN zawiaduje orientacją analityczną wykazując wzrost aktywności po przedstawieniu wskazań - gdzie, kiedy, lub jaki podmiot/przedmiot - miałby być obiektem uwagi. Umiejscowienie anatomiczne DAN obejmuje, w każdej półkuli, wewnętrzny rowek ciemieniowy (między płacikiem ciemieniowym górnym a dolnym) oraz płat czołowy wraz z czołowym polem ruchu gałek ocznych. Brzuszna sieć uwagi (VAN) adresuje uwagę w kierunku odrębności, wyraźnych różnic w stosunku do otoczenia



A B

***Rycina 6.*** *A - Koncentracja uwagi na obiekcie powoduje dłuższą aktywację w grzbietowych okolicach czołowo-ciemieniowych w rowku międzyciemieniowym, w górnym płaciku ciemieniowym, czołowych polach ocznych, okolicy potylicznej (kolory żółte i pomarańczowe), oraz deaktywację w okolicach brzusznych - zakręt nadbrzeżny i skroniowy górny (temporo-parietal junction, TPJ), przedczołowa kora dolna i środkowa (niebieski, zielony). B - niespodziewane wydarzenie powoduje reorientacją uwagi aktywując oba układy DAN i VAN. Cyt wg 16.*

oraz wybitnych cech (np. ważny tekst). Odpowiada również za działania nieświadome, mimowolne. Obejmuje prawą półkulę wraz z brzuszną korą czołową (9, 48).

Wolicjonalne przeniesienie uwagi zależy od wiadomości o charakterze analitycznym *(top-down)* uzyskanych z wiedzy o bieżącym zadaniu (np. znajdź zagubione klucze), natomiast uwaga syntetyczna *(bottom-up)* jest włączona przez właściwości tkwiące w samym bodźcu, tj. przez jego wybitną cechę (np. migający alarm pożarowy) (12, 17).

W codziennym życiu, uwaga wzrokowa jest kontrolowana zarówno przez czynniki poznawcze analityczne (top-down) takie jak przewidywanie oraz kierunek celu, oraz czynniki syntezy *(bottom-up)* odzwierciedlające stymulację sensoryczną. Wzajemne oddziaływanie pomiędzy wpływami poznawczymi i zmysłowymi jest nieprzewidywalne.

DAN jest zaangażowany w wybór informacji sensorycznych i odpowiednich reakcji.

VAN jest szczególnie aktywny w czasie wykrycia istotnego wydarzenia.

Zachowanie odpowiedniej konfiguracji uwagi obejmuje pamięć operacyjną, a sieci neuralne mogą się czynnościowo pokrywać. Do uczynnienia okolic ciemieniowych dochodzi w procesie przewidywania pewnych działań fizycznych, jak np. ruch (12, 20).

Obie sieci uwagi DAN i VAN są związane z większą aktywnością w czasie wykonywania zadań pamięciowych, co jest zgodne z poglądem, że szczególnie DAN pośredniczy w kontroli procesów poznawczych a VAN wspomaga procesy przypominania. Te odkrycia wyjaśniają rozmaity udział sieci wielkiej skali w pamięci epizodycznej. Przeżycie może zależeć od zdolności do zmiany bieżącego działania w reakcji na bodźce pożyteczne lub stanowiące zagrożenie. Ta reakcja „reorientacji" obejmuje skoordynowane działanie w prawej półkuli sieci czołowo-ciemieniowej, przerywa i ponownie przywraca bieżącą aktywność, a sieć VAN wyspecjalizowana jest w wyborze i łączeniu reakcji odpowiednich do bodźca. W spoczynku każda sieć jest odrębna i wewnętrznie skorelowana, ale gdy dochodzi do skupienia uwagi, sieć brzuszna zostaje przytłumiona, aby zapobiec reorientacji skierowanej do wydarzeń rozpraszających. Ostatnie dowody fMRI wskazują, że przełączanie sieci uwagi znajduje się w płacie czołowym poprzez drogi neuralne pomiędzy środkową częścią kory płata czołowego (*Middle Frontal Cortex*, MFC), przednią częścią zakrętu obręczy (*Anterior Cingulate Cortex*, ACC), dolnym zakrętem czołowym (*Interior Frontal Gyrus*, IFG) oraz polem ruchu gałek ocznych (*Frontal Eye Field*, FEF) (16) (ryc. 6).

Zidentyfikowano jeszcze jedną sieć neuronalną wpływającą na skierowanie uwagi na wydarzenia wyjątkowe, którą nazwano „siecią wydatną" *(salience network)* (62). Sieć ta łączy pola korowe przedniej części wyspy oraz przedniego zakrętu obręczy z jądrami podkorowymi obejmującymi jądro migdałowate, wzgórze, istotę czarną, obszar brzuszny nakrywki *(ventral tegmental area). Salience network* uczestniczy w kierowaniu uwagi na istotne wydarzenia międzypersonalne. Jest siecią identyfikującą najbardziej ważne wśród licznych bodźców wewnętrznych organizmu i międzypersonalnych tak, aby kierować naszym zachowaniem (82).

Obszary mózgu aktywizowane zadaniem wymagającym uwagi wzrokowo-przestrzennej wykazały połączenia okolic czołowych i skroniowo - ciemieniowych tworzących sieć dróg neuronalnych z DAN i VAN. Grzbietowe połączenia kory skroniowo-ciemieniowej dochodziły do FEF oraz do pola 44 (Brodmann) dolnego zakrętu czołowego. Przechodząc wzdłuż pęczków podłużnego górnego i łukowatego włókna odgrywały rolę podczas zadań wymagających uwagi przestrzennej, podobnie jak drogi łączące wyspę, IFG oraz skorupę (83).

Pojemność pamięci operacyjnej współdziałającej z uwagą jest maksymalną liczbą pozycji, które możemy czasowo przechowywać w pamięci operacyjnej. Jest dobrym wskaźnikiem naszych ogólnych zdolności poznawczych. Neuralna aktywność w grzbietowo-bocznej korze przedczołowej oraz w tylnej części kory ciemieniowej związana jest z zachowaniem engramów pamięciowych w czasie wykonywania zadań wymagających pamięci operacyjnej wizualno - przestrzennej. Kora ciemieniowa jest odpowiedzialna za zachowywanie tych pamięci. Jednakże rola grzbietowo - bocznej kory przedczołowej, obszaru kontrolnego dla uwagi analitycznej, nie jest znana chociaż uważamy, że zwiększa pojemność pamięci kory ciemieniowej. Uwaga analityczna *(top-down)* oraz odpowiedzialna za syntezę *(bottom-up)* są strategiami przetwarzania informacji oraz porządkowania wiedzy, jak np. tworzenie teorii naukowych (24).

Połączenia sieci uwagi z prążkowiem oraz z siecią przetwarzania emocji w układzie limbicznym *(emotion-processing network)* zostały potwierdzone badaniami BOLD fMRI odzwierciedlając w istotnym stopniu zależność od stanu aktywności (36).

Nie znamy mechanizmów neuronalnych wspomagających naszą uwagę i świadomą percepcję krótko prezentowanych bodźców. Niektóre teorie postulują kluczową rolę pętli wzmocnienia analitycznego *(top-down)* obejmującej korę przedczołową, co obserwowano u chorych z uszkodzeniem ogniskowym przedczołowym (22). Było to szczególnie wyraźne w uszkodzeniu sieci kory przedczołowej po lewej stronie. Badania sieci neuronalnych zwracają się w kierunku poznawania świadomości, doszukując się jej neuronalnych substratów w połączeniach okolic czołowych i ciemieniowych (7, 19).

W czasie wykonywania zadań poznawczych wymagających uwagi pewne regiony mózgu zwiększają aktywność, podczas gdy inne ją obniżają, co wykazano na podstawie fMRI (91). Dotyczy to również sieci wysokiej hierarchii, jak i „small world" (31).

Liczne obszary mózgu współdziałają w czasie zadań poznawczych, jak i w spoczynku, porządkując oraz regulując aktywność mózgu, a przez to wpływając na wynikające z tego zachowanie. Struktury komórkowe przedniej części zakrętu obręczy i wyspy wykazują intensywne połączenia z odległymi obszarami mózgu odpowiadając za samokontrolę, np. podczas zadań konfliktowych, gdy aktywność przedniego zakrętu obręczy jest skorelowana z aktywnością w odległych polach sensorycznych i emocjonalnych. Od dzieciństwa następuje wzrost projekcji komórkowych zaangażowanych w odległe połączenia zakrętu obręczy z korą przedczołową i ciemieniową wchodząc w skład sieci wykonawczej *(executive network)*, gdzie krótsze połączenia zastępują dłuższe.

Jednak mechanizmy pozwalające zrozumieć komórkową i molekularną podstawę samokontroli nie są dokładnie poznane. Poza czynnikami genetycznymi wpływ mają rodzice i czynniki kulturowe. W badaniach fMRI wykazano, że konfliktowe zadania aktywują sieci uwagi i sieć wykonawczą, odpowiedzialną za stan czuwania (połączenia w zakresie tylnego podwzgórza, jądra podstawy, wzgórza) (67).

Istota biała odgrywa ważną rolę w różnych sferach funkcji poznawczych i uwagi. Przerwanie dróg istoty białej dotyczy wielu sfer zachowania i poznania. Zdolność do nabycia prawidłowości gramatycznych związana jest z lewą półkulą, prawdopodobnie z powodu zależności od bodźców językowych. Rola prawej półkuli w nabyciu gramatycznych wzorców nie jest dokładnie poznana (27, 56).

Zaburzenia uwagi zwane zespołem ADHD (*attention-deficit/hyperactivity disorder*, ADHD) dotyczą sieci uwagi, ale wskazują na jej związek z DMN, bowiem spontaniczna aktywność w tej sieci jest wysoka w czasie spoczynku u osób z ADHD. Jednak koherencja w spontanicznej aktywności w obrębie DMN nasila się z wiekiem. Zatem można przyjąć, że patofizjologia ADHD obejmuje opóźnienie lub przerwanie dojrzewania DMN (45).

Wzrastająca zmienność wewnątrzosobnicza postępująca wraz ze starzeniem organizmu jest oznaką zaburzeń uwagi. Spowodowana jest nieprawidłowościami w DMN, obejmującymi okolice mózgu rutynowo deaktywowane w czasie zadań poznawczych skierowanych na cel. Obserwacje sugerują, że konkurujące zależności pomiędzy sieciami uwagi są potencjalnym miejscem dysfunkcji osobniczej. Badania fMRI w spoczynku wykazały, że ten współzawodniczący związek jest wewnętrznie reprezentowany w mózgu w postaci pozytywnych lub negatywnych korelacji w sieciach uwagi oraz DMN.

**b. Sieć stanu spoczynku (default mode network DMN)**

Hans Berger w 1929 r. wykonując badania elektroencefalograficzne zaobserwował, że istnieją koherentne oscylacje neuronalne o częstotliwości mniejszej niż 0,1 Hz (jedna co 10 sekund). Obecne są one szczególnie podczas odpoczynku, jednak odkrycie to zostało potraktowane jako błędne. Dopiero w 2001 r. Marcus Raichle (68) na podstawie fMRI wykazał, że za te oscylacje odpowiada

sieć neuronalna, którą nazwał siecią (obwodem) stanu spoczynku (*Default Mode Network*, DMN) (69). Jednakże pochodzenie ich nie jest dokładnie poznane.

Obrazowanie sieci neuronalnych, wykorzystując fMRI, w stanie spokoju wykazuje wolne (<0.1 Hz), spontaniczne fluktuacje w sygnale BOLD, w regionalnej aktywności mózgu. Te spontaniczne fluktuacje są spójne, tj. skorelowane w swej wielkości, w większości korowych i podkorowych sieci neuronalnych, również w DMN (84).

Na podstawie badań fMRI wykazano, że pewne okolice mózgu obejmujące tylną część kory zakrętu obręczy (*Posterior Cingulate Cortex*, PCC) a także brzuszną część kory przedniego zakrętu obręczy (*Ventral Anterior Cingulate Cortex*, VACC), niezmiennie wykazują większą aktywność w czasie spoczynku niż działań poznawczych. Obie te okolice są mocno ze sobą sprzężone mając też połączenia z innymi regionami DMN, jak płaty czołowe i ciemieniowe. Jądra podstawy mózgu biorą udział w czynnościach ruchowych, poznawczych, motywacyjnych oraz emocjonalnych. W obrębie DMN wykryto połączenia czynnościowe między dolną brzuszną częścią prążkowia a środkową częścią kory oczodołowo - czołowej. Badanie fMRI pozwala wykryć dysfunkcje w jądrach podstawy w różnych zaburzeniach psychicznych (21, 74).

Odpoczywający mózg wykazuje spójne formy spontanicznych oscylacji niskiej częstotliwości BOLD. Ten tzw. spoczynkowy stan sieci połączeń czynnościowych (*Resting-State Functional Connectivity*, RSFC) jest odzwierciedleniem wewnętrznej reprezentacji układu czynnościowego oraz sieci biorących udział w czynnościach poznawczych (61).

Badania fMRI wykazały zmienną aktywację (aktywacja na przemian z deaktywacją) różnych węzłów DMN: tylna część zakrętu obręczy jest aktywna w czasie zadań wymagających pamięci autobiograficznej i myślenia o sobie, środkowa kora przedczołowa - w procesach poznawczych związanych ze sobą ale też z innymi osobami, środkowa część płata skroniowego - w pamięci epizodycznej, zakręt kątowy - w procesach semantycznych (38).

Zadania semantyczne stymulują węzły sieci wykonawczej, także w obrębie DMN. Analiza połączeń czynnościowych w tylnej części zakrętu obręczy oraz grzbietowo - bocznej korze przedczołowej wykazała, że aktywność w tych okolicach była sprzężona w czasie stymulacji (wykonywanie zadania) z obwodami neuronalnymi w przyśrodkowej korze przedczołowej, środkowych częściach płatów skroniowych oraz w okolicach ciemieniowych (32).

DMN jest postrzegana jako sieć zawierająca zintegrowany układ dla czynności autobiograficznych, samokontroli oraz czynności społecznych. Koncepcja integralnej czynności DMN popiera fakt, że dynamiczne wytłumienie całej sieci jest niezbędne dla dokładnego wykonania zadania poznawczego (40). Zawiera trzy główne okolice: przyśrodkową korę przedczołową, korę tylnej części zakrętu obręczy oraz korę płatów ciemieniowych. Przyśrodkowa kora przedczołowa pozwala na wyobrażenie siebie a także na myśli i uczucia do innych; tylna część kory obręczy przywołuje pamięć personalną deklaratywną (długotrwałą); kora ciemieniowa ma większość połączeń z hipokampem i odpowiada za pamięć epizodyczną.

Według Carhart-Harris i Friston podstawą neuronalną (w oparciu o badania fMRI) opisanych przez Freuda procesów psychicznych, a szczególnie przedstawienie „ego", „super ego", skłonność do myślenia magicznego, zabobonnego („13" przynosi nieszczęście) są zgodne z czynnościami DMN, w której dochodzi do wzajemnej wymiany informacji z podporządkowanymi sieciami neuronalnymi mózgu (13).

Czynności sieci neuronalnych w spoczynku (*Resting State Networks*, RSNs) pojawiają się równolegle z rozwojem funkcji poznawczych. Obserwujemy ich szybki wzrost przed terminem normalnego czasu narodzenia, tj. ok. 40 tyg. ciąży. Doria i wsp. (22) wykonali serie badań fMRI w celu mapowania rozwoju różnych sieci neutralnych u 70 dzieci urodzonych pomiędzy 29 a 43 tyg. ciąży. Przedstawili rozwój RSNs, od rozpoznawalnych ale często fragmentarycznych elementów w 30 tyg. ciąży, do pełnych wzorów sieci u dojrzałych dzieci rodzonych we właściwym terminie. Sieci wykonawcze (executive networks), wzrokowe, słuchowe, somatosensoryczne, DMN rozwijały się w różnych zakresach, jednakże we właściwym terminie porodu obecne były całkowite sieci. Badania te wskazują, że DMN pojawia się w czasie okresu szybkiego wzrostu neuronalnego, czyli w trzecim trymestrze ciąży.

Elementy układu DMN, nie tak intensywnie rozbudowane jak u człowieka, istnieją również u innych naczelnych (86). Użyto badania PET wykorzystując fluorek deoksyglukozy do oceny aktywności odpoczywającego mózgu u szympansów i porównano te obrazy z otrzymanymi u ludzi. Podobnie jak u człowieka, u szympansów zanotowano wysoki poziom aktywności w polach DMN, takich jak środkowa kora przedczołowa oraz kora okolic ciemieniowych. W obrazie czynnościowym mózgu szympansy różnią się od ludzi, wykazując większą aktywność w brzuszno - środkowej korze przedczołowej i niższy poziom aktywności w polach korowych obejmujących język oraz myślenie koncepcyjne (71).

Rozkład glikolizy tlenowej mózgu również może być wyznacznikiem DMN (ryc. 7).

Spoczynkowa glikoliza tlenowa mózgu wzrasta miejscowo w czasie zwiększenia aktywności neuronalnej.

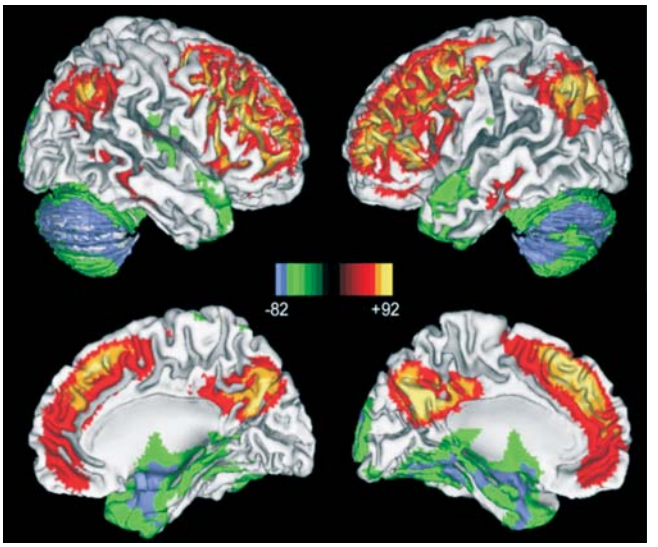
Vaishnavi i wsp. (85) wykonali pomiary regionalnej dystrybucji glikolizy przy użyciu PET u 33 młodych dorosłych osób, bez ubytkowych objawów neurologicznych, w czasie spoczynku. Szczególne podwyższenie glikolizy tlenowej zanotowano w korze przedczołowej oraz środkowej korze ciemieniowej. Natomiast móżdżek i środkowe płaty skroniowe miały tlenowy metabolizm niższy od średniego dla całego mózgu. Glikoliza nie jest ściśle związana z poziomem metabolizmu energetycznego mózgu. Np. kora czuciowa ma większy metabolizm glukozy i wykorzystania tlenu, ale niższy zakres glikolizy tlenowej. Różnice te wskazują na zróżnicowanie komórek mózgu w ścisłej specjalizacji czynnościowej (ryc. 7).

DMN ulega zmniejszeniu (ryc. 8), tak pod względem aktywności, jak i rozległości, wraz ze starzeniem się na co wskazują porównawcze badania fMRI u ludzi młodych i starszych (49).

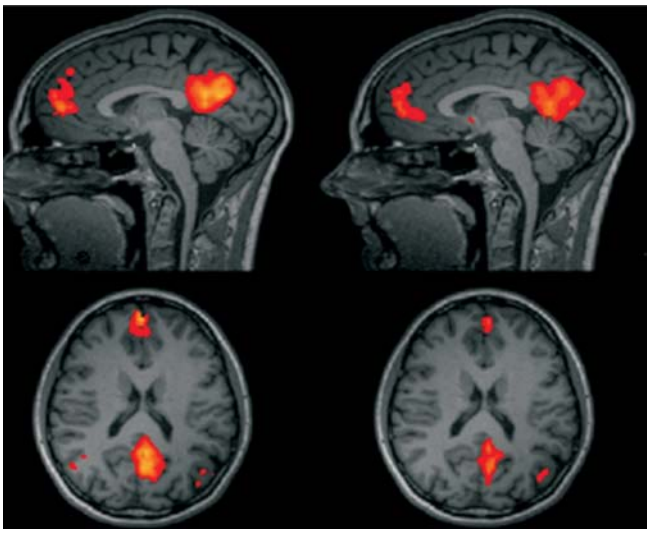
Zadania wymagające orientacji w otaczającym świecie prowadzą do supresji aktywności DMN ze zwiększeniem czynności DAN. W tych sieciach istnieje wewnętrzna konkurencyjna współzależność - aktywacja jednej powoduje supresję drugiej. Wskutek tego, można przyjąć, że czynność DMN jest hamowana w czasie percepcji. Badania fMRI wiążą aktywność DMN z percepcją wewnętrzną, jak wyobrażenie przyszłych wydarzeń, wskazując na rolę w planowaniu, a szczególnie autobiograficznym (89). Sieci neuronalne czołowo-ciemieniowe ulegają uczynnieniu w procesie planowania łącząc się czynnościowo z DMN. Elastyczne sprzężenie DMN z DAN zgodnie z zakresem wykonywanego zadania, działa jak kontrolny mediator wiążący dwie sieci w procesach poznawczych (76).

W badaniach fMRI porównano połączenia DMN w różnych stanach pobudzenia aby pokazać zależność między przytomnością a DMN. Porównanie między DMN w śnie z REM (rapid eye movement) ze snem non-REM (NREM) jest korzystne dla wykazania zależności pomiędzy poziomem pobudzenia a DMN, ponieważ stan pobudzenia jest najniższy w czasie głębokiego NREM, a w czasie snu REM jest tak wysoki jak w czasie czuwania (50).

Obrazy fMRI wykazały zgodną obustronną aktywację w zakresie środkowej kory przedczołowej oraz tylnej części kory zakrętu obręczy sięgającą do przedklinka w czasie zadań odnoszących się do siebie oraz w czasie spoczynku. Badana neuroobrazowe wykazały liczne okolice DMN z mniejszym poziom utlenowania krwi w sygnale BOLD. Do obniżenia sygnału dochodzi w czasie wykonywania zadania, ale przyczyna tego zjawiska nie została ostatecznie wyjaśniona. Może to być przypisane efektom neuronalnym (wyładowania neuronalne) lub nawet wzrost aktywności neuronalnej z nietypową reakcją krwi (54).




***Rycina 7.*** *Rozkład glikolizy tlenowej w odpoczywającym ludzkim mózgu (n =33). Szczególne obszary z wysoką glikolizą obejmują obustronnie korę przedczołową, obustronnie boczne części płatów ciemieniowych, tylną obręcz i przedklinek (posterior cingulate/precuneus), zakręt prosty, obustronnie płaty skroniowe, obustronnie jądro ogoniaste. Cyt wg 85.*



***Rycina 8.*** *Obrazy fMRI aktywacji DMN u osób zdrowych: A - młodych (17 osób), B - starszych (21 osób), u których aktywacja i rozległość DMN są mniejsze. Cyt wg 49.*

Czynności regionów mózgowych w obszarze DMN są niezbędne dla aktywności umysłowej człowieka (ryc. 9) (55). Inaczej niż inne zwierzęta, człowiek spędza wiele czasu na myśleniu - co w jego otoczeniu poszło nie tak jak chciałby, kontemplując wydarzenia przeszłe lub te, które wydarzą się w przyszłości. Myśli niezależne od bodźca związane są z działaniem DMN, gdy pozytywne jak też negatywne usposobienia powodują „wędrowanie" (mind-wandering) umysłu (47). Badania połączeń DMN

***Rycina 9.*** *Większość ludzi spędza 30% czasu czuwania oddając się „wędrówce umysłu", fantazjom lub oglądając swoje mentalne obrazy. Cyt. wg 34.*

oraz regionalnej spontanicznej aktywności neuronalnej, w stanie odpoczynku, wykonano u ludzi z otwartymi oczami oraz w czasie ich zamknięcia. Osoby z otwartymi oczami doświadczały więcej epizodów „wędrowania umysłu" w porównaniu z uczestnikami mającymi oczy zamknięte, co wskazuje na wysoką aktywność umysłową w obrębie DMN (92).

Pomimo dowodów wskazujących na wszechobecną tendencję ludzkiego mózgu do „wędrowania" niewiele wiadomo o działaniach neuralnych wspierających główne składniki ludzkiego poznania. Na podstawie fMRI stwierdzono, że „wędrówka umysłu" jest związana z aktywnością w obszarze okolic korowych DMN, w spoczynku (58).

DMN wydaje się być zasadniczą siecią neuronalną w tworzeniu poczucia własnej wartości, oraz w naszej integracji z innymi i światem zewnętrznym (89). DMN odpowiada za tworzenie marzeń. Marzenia *(daydreaming)* możemy podzielić na dwie kategorie: pozytywne - konstrukcyjne obejmujące myśli pozytywne i fantazje, oraz dysforyczne (nieprzyjemne, smutne), w skład których wchodzą wizje niepowodzenia i kary. Większość ludzi doświadcza tych obu kategorii w różnym stopniu. Można wyróżnić *mind wandering* („umysł wędrujący"), który zawiera myśli niezwiązane z wykonaniem danego zadania. W tym względzie „umysł wędrujący" jest kategorią bardzo szeroką. *Daydreaming* nie zawsze nasuwa bezpośrednio właściwe rozwiązania ale umożliwia dostęp do nieuświadomionych idei, umożliwiając większą kreatywność.

Możemy nawet być nieświadomi tych marzeń, które okazują się być niezbędnymi w procesie tworzenia. Albert Einstein miał wyobrażenie poruszania się na fali światła z szukaniem własnego odbicia w lusterku. Wyobrażenie to doprowadziło go do opracowania teorii względności (34). Myślenie fantazyjne nie ogniskuje zamierzeń umysłowych i jest rozpatrywane jako proces ewolucyjny - gdy jesteśmy zaangażowani w jedno zadanie „umysł wędrujący" (niekiedy określany jako błądzący), może wyzwolić wspomnienia inne wraz z celami konkurującymi.

DMN jest siecią wypełnioną ogromną ilością różnych engramów pamięciowych i obrazów, z którymi jesteśmy związani i w które jesteśmy zaangażowani. „Kiedy marzymy *(daydream)*, to jesteśmy w centrum wszechświata" mówi Marcus Raichle, który jako pierwszy badał przy pomocy fMRI i opisał tę sieć (69).

DMN ulega aktywizacji, gdy przestawiamy się z zadnia wymagającego uwagi na płynące, bez szczególnego celu, wspomnienia, względnie, gdy ludzie angażują się w monotonne zadania werbalne (rozmowa telefoniczna) lub ograniczające uwagę (długotrwała jazda samochodem), wtedy jesteśmy skłonni do „wędrówki umysłu".

Badania fMRI dowiodły większej aktywności DMN, gdy dana osoba była nieświadoma, że przestała zastanawiać się nad swoim zadaniem. Niekiedy występują przymusowe marzenia (daydreaming) będące wyjątkowym zaburzeniem, które charakteryzuje brak zdolności do ich kontrolowania (15).

Dzięki DMN epizody przeszłe mogą pojawić się w naszej świadomości bez podejmowania próby ich uzyskania, pobudzone bodźcem w naszym otoczeniu (32). Epizod może być przypomniany przez intencyjne poszukiwanie pewnych informacji. Badania fMRI u młodych, zdrowych osób wykonywane w czasie przypadkowych wspomnień były wybiórczo związane z większą aktywacją okolic ciemieniowych bocznych i przyśrodkowych, a także z obustronną brzuszno - przyśrodkową korą czołową, a zatem z okolicami wchodzącymi w skład DMN (51). Nasza empatia w odniesieniu do osoby odczuwającej ból dotyczy aktywacji połączeń wchodzących w skład sieci DMN, a szczególnie tylnej części kory obręczy, przyśrodkowej ciemieniowej, obejmujący pola Brodmann'fa 7, 23, 29, 30, 31 (39). Hipnoza może zmniejszyć aktywność przedniej części DMN bez zwiększania aktywności w innych regionach korowych DMN (60).

Anomalie połączeń w obrębie DMN, stanowiących spójną sieć mózgową, aktywną w czasie spoczynku

z obecnością wyładowań neuralnych charakterystycznych dla podstawowej aktywności neuralnej, występują w wielu chorobach neurologicznych i psychiatrycznych, a także u osób z genetycznym ryzykiem takiej choroby, gdyż czynniki genetyczne wpływają na czynnościowe połączenia DMN oraz gęstość połączeń neuronalnych. W szczególności, lewe pole przyhipokampowe jest genetycznie skorelowane z DMN i pozostałymi sieciami wielkiej skali (33).

Do poważnego zaburzenia działania DMN dochodzi po urazach głowy, u chorych w stanie wegetatywnym (59). Wykazano wpływ na stan DMN zaburzeń po urazie głowy związanych ze stresem pourazowym (*Posttraumatic Stress Dis Order*, PTSD). Lanius i wsp. wykonali badania fMRI u 11 osób, które niedawno doznały urazu głowy. Badania prowadzone w stanie spoczynku wykazały zaburzenia połączeń neuronalnych pomiędzy tylną częścią zakrętu obręczy a jej częścią przednią oraz prawym jądrem migdałowatym (53).

DMN odgrywa rolę w patofizjologii czynności poznawczych oraz zaburzeń umysłowych. Polegają one na interferencji działających sieci w czasie wykonywania zadania, zmienności połączeń oraz integralność DMN. Dysfunkcja DMN jest łączona z otępieniem, schizofrenią, niepokojem, depresją, autyzmem, ADHD (11).

Schizofrenia powoduje zaburzenia sieci DMN w zakresie połączeń obwodów korowo - wzgórzowych oraz w obu sieciach uwagi co wykazano na podstawie BOLD fMRI. Osoby ze schizofrenią miały uszkodzone połączenia neuronalne w przyśrodkowej korze przedczołowej, co było związane z brakiem zdolności do introspekcji. Nieprawidłowości w DMN odpowiedzialne są za skargi pacjentów dotyczące „czytania przez kogoś w ich umyśle", lub że „ktoś wkłada myśli do ich głowy" (90).

Autyzm związany jest z zaburzeniami połączeń neuronalnych DMN badanych z użyciem fMRI w czasie spoczynku. U 16 badanych młodych osób z autyzmem stwierdzono nadmierną czynność w tylnej części zakrętu obręczy, w tylnej części ciała modzelowatego oraz w obustronnych okolicach ciemieniowych wraz z zakrętem kątowym, a także w płatach skroniowych. U chorych z autyzmem wykazano słabsze połączenia w 9 z 11 pól DMN. Co więcej, analiza objawów wskazała na słabsze zachowania społeczne i gorszą komunikację (werbalną, a także niewerbalną) korelującą z intensywniejszymi połączeniami obszarów DMN (88).

Zaburzenia lękowe, często spotykane w praktyce klinicznej charakteryzują się występowaniem niesprowokowanego niepokoju. Kora przedczołowa przyśrodkowa i kora tylnej części zakrętu obręczy, a więc aktywne obszary DMN, są ściśle zaangażowane w procesy emocjonalne. Na podstawie badań fMRI stwierdzono słabszą czynność w środkowej części kory przedczołowej oraz w tylnej części kory zakrętu obręczy. Świadczy to o zaangażowaniu DMN w czasie stanów lękowych (94).

Choroba Alzheimer'a jest najczęstszą formą otępienia u starszych osób charakteryzująca się osłabieniem pamięci epizodycznej, zwłaszcza dotyczącej wydarzeń autobiograficznych (czas, miejsce, związane z tym emocje). W obrazach fMRI u chorych obserwowano zmiany w dystrybucji sieci neuralnych mózgu w okolicach związanych z pamięcią, włącznie z DMN. Badania PET u starszych ludzi z ryzykiem choroby Alzheimer'a wykazały obniżony metabolizm okolic korowych, podobnie jak u chorych z chorobą Alzheimera (66).

## Podsumowanie

Według Carhart-Harris i Friston podstawą neuronalną (w oparciu o badania fMRI) opisanych przez Freuda procesów psychicznych, a szczególnie przedstawienie „ego", „super ego", skłonność do myślenia magicznego, zabobonnego („13" przynosi nieszczęście), są zgodne z czynnościami DMN, w której dochodzi do wzajemnej wymiany informacji z podporządkowanymi sieciami neuronalnymi mózgu. DMN jest obrazem sieci mózgu hierarchicznie podporządkowanych obwodów neuronalnych, które zgodnie z oczekiwaniami Freuda, a także Cricka mogą odpowiadać mózgowemu umiejscowieniu duszy (13).

Poznanie rozmieszczenia sieci neuronalnych i ich czynności, istotne z powodu poznawczego i terapeutycznego, pozwala nam zbliżyć się do zrozumienia świadomości (2, 18, 80).

Jest też niezbędnym krokiem do stworzenia modelu sztucznej inteligencji i emocji użytecznych w komputerach oraz innych maszynach wspomagających działalność *Homo sapiens* (46).

## Piśmiennictwo


1. *Annese J.:* In Retrospect: Brodmann's brain map. Nature 2009, 461, 884
2. *Arthuis M., Valton L., Regis J., Chauvel P., Wendling F., Naccache L., Bernard C., Bartolomei F.:* Impaired consciousness during temporal lobe seizures is related to increased long-distance cortical–subcortical synchronization. Brain 2009, 132, 2091-2101
3. *Bassett D.S., Brown J.A., Deshpande V., Carlson J.M., Grafion S.T.:* Conserved and variable architecture of human white matter connectivity. NeuroImage 2011, 54, 1262-127
4. *Bassett D.S., Bullmore E.T.:* Human Brain Networks in Health and Disease. Curr. Opin. Neurol. 2009, 22, 340-347
5. *Bell E.C., Willson M.C., Wilman A.H., Dave S., Silverstone P.H.:* Males and females differ in brain activation during cognitive tasks. NeuroImage 2006, 30, 529-538
6. *Bohland J.W., Minai A.A.:* Efficient associative memory using small-world architecture. Neurocomputing 2001, 38-40, 489-496
7. *Boly M., Garrido M.I., Gosseries O., Bruno M.A., Boveroux P., Schnakers C., Massimini M., Litvak V., Laureys S., Friston K.:* Preserved Feedforward But Impaired Top-Down Processes in the Vegetative State. Science 2011, 332, 358-362

8. *Bressler S.L.:* Understanding Cognition Through Large-Scale Cortical Networks. Curr. Dir. Psych. Sci. 2002, 11, 58-61
9. *Bressler S.L., Menon V.:* Large-scale brain networks in cognition: emerging methods and principles. Trends Cogn. Sci. 2010, 14, 277-290
10. *Bressler S.L., Tognoli E.*: Operational principles of neurocognitive networks. Int. J. Psychophysiol. 2006, 60, 139-148
11. *Broyd S.J., Demanuele C., Debener S., Helps S.K., James C.J., Sonuga-Barke E.J.S.:* Default-mode brain dysfunction in mental disorders: A systematic review. Neurosci. Biobehav. Rev. 2009, 33, 279-296
12. *Buschman T.J., Miller E.K.:* Top-Down Versus Bottom-Up Control of Attention in the Prefrontal and Posterior Parietal Cortices. Science 2007,11, 1860-1862
13. *Carhart-Harris R.L., Friston K.J.:* The default-mode, ego-functions and free-energy: a neurobiological account of Freudian ideas. Brain 2010, 133, 1265-1283
14. *Centonze D., Siracusano A., Calabresi P., Bernardi G.:* The Project for a Scientific Psychology (1895): a Freudian anticipation of LTP-memory connection theory. Brain Res. Rev. 2004, 46, 310-314
15. *Christoff K., Gordon M.A., Smallwood J., Smith R., Schooler J.W.:* Experience sampling during fMRI reveals default network and executive system contributions to mind wandering. PNAS 2009, 106, 21, 8719-8724
16. *Corbetta M., Patel G., Shulman G.L.*:The Reorienting System of the Human Brain: From Environment to Theory of Mind. Neuron 2008, 58, 306-324
17. *Corbetta M., Shulman G.L.:* Controls of Goal-Directed and Stimulus-Driven Attention in the Brain. Nature Neurosci. 2002, 3, 201-215
18. *Dehaene S., Reyes P., Bravo E., Slachevsky A.:* Causal role of prefrontal cortex in the threshold for access to consciousness. Brain 2009, 132, 2531-2540
19. *Del Cul A., Epstein J., Stern E., Silbersweig D.:* Neuropsychiatry at the millenium: the potential for mind/brain integration through emerging interdisciplinary research strategies. Clin. Neurosci. Res. 2001, 1, 10-18
20. *Desmurget M., Reilly K.T., Richard N., Szathmari A., Mottolese C., Sirigu A.:* Movement Intention After Parietal Cortex Stimulation in Humans. Science 2009,324, 811-813
21. *Di Martino A., Scheres A., Margulies D.S., Kelly A.M.C., Uddin L.Q., Shehzad Z., Biswal B., Walters J.R., Castellanos F.X., Milham M.P.:* Functional Connectivity of Human Striatum: A Resting State fMRI Study. Cerebral Cortex 2008, 18, 2735-2747
22. *Doria V., Beckmann C.F., Archi T., Merchant N., Troppo M., Turkheimer F.E., Counsell S.J., Murgasova M., Aljabar P., Nunes R.G., Larkman D.J., Rees G., Edwards A..D.:* Emergence of resting state networks in the preterm human brain. PNAS 2010, 107, 46, 20015-20020
23. *Dosenbach N.U.F., Nardos B., Cohen A.L., Fair D.A., Power J.D., Church J.A., Nelson S.M., Wig G.S., Vogel A.C., Lessov-Schlaggar C.N., Barnes K.A., Dubis J.W., Feczko E., Coalson R.C., Pruett J.R., Barch D.M., Petersen S.E., Schlagga B.L.:* Prediction of Individual Brain Maturity Using fMRI. Science 2010, 329, 1358-1361
24. *Edin F., Klingberg T., Johansson., McNab F., Tegner J., Compte A.:* Mechanism for top-down control of working memory capacity. PNAS 2009, 106, 16, 6802-6807
25. *Emmert-Streib F.:* Influence of the neural network topology on the learning dynamics. Neurocomputing 2006, 69, 1179-1182
26. *Epstein J., Stern E., Silbersweig D.:* Neuropsychiatry at the millenium: the potential for mind/brain integration through emerging interdisciplinary research strategies. Clin. Neurosci. Res. 2001, 1, 10-18
27. *Fair D.A., Posner J., Nagel B.J., Bathula D., Costa Dias T.G., Mills K.L., Blythe M.S., Giwa A., Shmitt C.F., Nigg J.T.:* Atypical Default Network Connectivity in Youth with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. Biol. Psychiatry 2010, 68, 1084-1091
28. *Fan Y., Shi F., Smith J.K., Lin W., Gilmore J.H., Shen D.:* Brain anatomical networks in early human brain development. NeuroImage 2011, 54, 1862-18710
29. *Fox M.D., Corbetta M., Snyder A.Z., Vincent J.L., Raichle M.E.:* Spontaneous neuronal activity distinguishes human dorsal and ventral attention systems. PNAS 2006, 103, 26, 10046-10051
30. *Fox M.D., Raichle M.E.:* Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. Nature 2007, 8, 700-711
31. *Fox M.D., Synder A.Z., Vincent J.L., Corbetta M., Van Essen D.C., Raichle M.E.:* The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. PNAS 2005, 102, 27, 9673-9678
32. *Gerlach K.D., Spreng R.N., Gilmore A.W., Schacter D.L.:* Solving future problems: Default network and executive activity associated with goal-directed mental simulations. NeuroImage 2011, 55, 1816-1824
33. *Glahn D.C., Winkler A.M., Kochunov P., Almasy L., Duggirala R., Carless M.A., Curran J.C., Olvera R.L., Laird A.R., Smith S.M., Beckmann C.F., Fox P.T, Blangero J.:* Genetic control over the resting brain. PNAS 2010, 107, 3, 1223-1228
34. *Glausiusz J.:* Living in a Dream World. Scientific American Mind 2011, 3-4, 25-31
35. *Golbeck J., Mutton P.:* Spring-Embedded Graphs for Semantic Visualization. W.: Visualizing the Semantic Web. XML – Based Internert and Information Visualization. Red.: V. Geroimenko, C.Chen, Springer 2006, 172-182
36. *Gopinath K., Ringe W., Goyal A., Carter K., Dinse H.R., Haley R., Briggs R.:* Striatal functional connectivity networks are modulated by fMRI resting state conditions. NeuroImage 2011, 54, 380-388
37. *Gray R.T., Fung C.K.C., Robinson P.A.:* Stability of small-world networks of neural populations. Neurocomputing 2009, 72, 1565-1574
38. *Greicius M.D., Krasnow B., Reiss A.L., Menon V.:* Functional connectivity in the resting brain: network analysis of the default mode hypothesis. PNAS 2003, 100, 1, 253-258
39. *Gu X., Liu X., Guise K.G., Naidich T.P., Hof P.R., Fan J.:* Functional Dissociation of the Frontoinsular and Anterior Cingulate Cortices in Empathy for Pain. J. Neurosci. 2010, 30, 3739-3744
40. *Harrison B.J., Pujol J., Lopez-Sola M., Hernandez-Ribas R., Deus J., Ortiz H., Soriano-Mas C., Yucel M., Pantelis C., Cardoner N.:* Consistency and functional specialization in the default mode brain network. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2008, 105, 9781-9786
41. *He Y., Chen Z.J., Evans A.C.:* Small-World Anatomical Networks in the Human Brain Revealed by Cortical Thickness from MRI. Cerebral Cortex 2007, 17, 2407-2419
42. *Helmich R.C., Derikx L.C., Bakker M., Scheeringa R., Bloem B.R., Ton I.:* Spatial Remapping of Cortico-striatal Connectivity in Parkinson's Disease. Cerebral Cortex 2010, 20, 1175-1186
43. *Humphries M.D., Gurney K.:* Network 'Small-World-Ness': A Quantitative Method for Determining Canonical Network Equivalence. PLoS ONE 2008, 3, 4, e0002051
44. *Kaas J.H.:* Evolution of the neocortex. Current Biology 2006, 16, 21, R910-914
45. *Kelly A.M.C., Uddin L.Q., Biswal B.B., Castellanos F.X., Milhama M.P.:* Competition between functional brain networks mediates behavioral variability NeuroImage 2008, 39, 527-537

46. *Khashman A.:* Modeling cognitive and emotional processes: A novel neural network architecture. Neural Netw. 2010, 23, 1155-1163

47. *Killingsworth M.A., Gilbert D.T.:* A Wandering Mind Is an Unhappy Mind. Science 2010, 330, 932

48. *Kim H.:* Dissociating the roles of the default-mode, dorsal, and ventral networks in episodic memory retrieval. NeuroImage 2010, 50, 1648-1657

49. *Koch W., Teipel S., Mueller S., Buerger K., Bokde A.L.W., Hampel H., Coates U., Reiser M., Meindl T.:* Effects of aging on default mode network activity in resting state fMRI: Does the method of analysis matter? Neuroimage 2010, 51, 1, 280-287

50. *Koike T., Kana S., Misaki M., Miyauchi S.:* Connectivity pattern changes in default-mode network with deep non-REM and REM sleep. Neurosci. Res. 2011, 69, 322-330

51. *Kompus K.:* Default mode network gates the retrieval of task-irrelevant incidental memories. Neurosci. Lett. 2011, 487, 318-321

52. *Konorski J.:* Integracyjna działalność mózgu. PWN Warszawa 1969, 5-68

53. *Lanius R.A., Bluhm R.L., Coupland N. J., Hegadoren K. M., Rowe B., Theberge J., Neufeld R.W.J., Williamson P.C., Brimson M.:* Default mode network connectivity as a predictor of post-traumatic stress disorder symptom severity in acutely traumatized subjects. Acta Psychiatr. Scand. 2010, 121, 33-40

54. *Lin P., Hasson U., Jovicich J., Robinson S.:* A Neuronal Basis for Task-Negative Responses in the Human Brain. Cerebral Cortex 2011, 21, 821-830

55. *Long X.Y., Zuo X.N., Kiviniemi V., Yang Y., Zou Q.H., Zhu C.Z., Jiang T.Z., Yang H., Gong Q.Y, Wang L., Li K.C., Xie S., Zang Y.F.:* Default mode network as revealed with multiple methods for resting-state functional MRI analysis. J. Neurosci. Meth. 2008, 171, 349-355

56. *Loui P., Li H.C., Schlaug G.:* White matter integrity in right hemisphere predicts pitch-related grammar learning. Neuroimage 2011, 55, 2, 500-507

57. *Mahon B.Z., Caramazza A.:* What drives the organization of object knowledge in the brain? Trends Cogn. Sci. 2011, 15, 3, 97-103

58. *Mason M.F., Norton M.I., Van Horn J.D., Wegner D.M., Grafton S.T., Macrae C.N.:* Wandering Minds: The Default Network and Stimulus-Independent Thought Science 2007, 315, 393-395

59. *Maxwell W.L., Pennington K., MacKinnon M.A., Smith D.H., McIntosh T.K., Wilson L., Graham D.I.:* Differential responses in three thalamic nuclei in moderately disabled, severely disabled and vegetative patients after blunt head injury. Brain 2004, 127, 2470-2478

60. *McGeown W.J., Mazzoni G., Venneri A., Kirsch I.:* Hypnotic induction decreases anterior default mode activity. Conscious. Cogn. 2009, 18, 848-855

61. *Mennes M., Kelly C., Zuo X.N., Di Martino A., Biswal B.B., Castellanos X.F., Milham M.P.:* Inter-individual differences in resting-state functional connectivity predict task-induced BOLD activity. NeuroImage 2010, 50, 1690-1701

62. *Menon V., Uddin L.Q.:* Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. Brain Struct. Funct. 2010, 214, 655-667

63. *Mesulam M.M.:* Large-scale neurocognitive networks and distributed processing for attention, language, and memory. Ann. Neurol. 1990, 28, 597-613

64. *Paolicelli R.C., Bolasco G., Pagani F., Maggi L., Scianni M., Panzanelli P., Giustetto M., Guiducci T.A., Dmas L., Ragozzino D., Gross C.T.:* Synaptic Pruning by Microglia Is Necessary for Normal Brain Development. Science 2011,333, 1456-1458

65. *Park C.H., Kim S.Y., Kim Y.H., Kim K.:* Comparison of the small-world topology between anatomical and functional connectivity in the human brain. Physica A 2008, 387, 5958-5962

66. *Pihlajamaki M., Sperling R.A.:* Functional MRI assessment of task-induced deactivation of the default mode network in Alzheimer'fs disease and at-risk older Individuals. Behav. Neurol. 2009, 21, 77-91

67. *Posner M.I., Rothbart M.K.:* Toward a physical basis of attention and self-regulation. Physics of Life Reviews 2009, 6, 103-120

68. *Raichle M.E., MacLeod A.M., Snyder A.Z., Powers W.J., Gusnard D.A., Shulman G.L.:* A default mode of brain function. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2001, 98, 676-682

69. *Raichle M.E., Snyder A.Z.:* A default mode of brain function: A brief history of an evolving idea. NeuroImage 2007, 37, 1083-1090

70. *Rasch M., Logthetis N.K., Kreiman G.:* From Neurons to Circuits: Linear Estimation of Local Field Potentials. J. Neurosci. 2009, 29(44), 13785-13796

71. *Rilling J.K., Barks S.K., Parr L.A., Preuss T.M., Faber T.L., Pagnoni G., Bremner J.D., Votaw J.R.:* A comparison of resting-state brain activity in humans and chimpanzees. PNAS 2007, 104, 43, 17146-17151

72. *Roelfsema P.R.:* Attention-Voluntary Control. of Brain Cell. Science 2011, 332, 1512-1513

73. *Schmahmann J.D., Pandya D.N., Wang R.W., Dai G., D'Arceuil H.E., de Crespigny A.J., Wedeen V.J.:* Association fibre pathways of the brain: parallel observations from diffusion spectrum imaging and autoradiography. Brain 2007, 130, 630-653

74. *Shelinea Y.I., Priced J.L., Yan Z., Mintuna M.A.:* Resting-state functional MRI in depression unmasks increased connectivity between networks via the dorsal nexus. PNAS 2010, 107, 14, 11020 -11025

75. *Spoormaker V.I., Schroter M.S., Gleiser P.M., Andrade K.C., Dresler M., Wehrle R., Samann P.G., Czisch M.:* Development of a Large-Scale Functional Brain Network during Human Non-Rapid Eye Movement Sleep. J. Neurosci. 2010, 30, 11379-11387

76. *Spreng R.N., Stevens W.D., Chamberlain J.P., Gilmore A.W., Schacter D.L.:* Default network activity, coupled with the frontoparietal control network, supports goal-directed cognition. NeuroImage 2010, 53, 303-317

77. *Stam C.J.:* Characterization of anatomical and functional connectivity in the brain: A complex networks perspective. Int. J. Psychophysiol. 2010, 77, 186-194

78. *Strogatz S.H.:* Exploring complex networks. Nature 2001, 410, 268-276

79. *Supekar K., Musen M., Menon V.:* Development of Large-Scale Functional Brain Networks in Children. PLoS Biol. 2009, 7,7, e1000157

80. *Teipel S.J., Bokde A.L.W., Meindl T., Amaro E., Soldner J., Reiser M.F., Herpertz S.C., Möller H.J., Hampel H.:* White matter microstructure underlying default mode network connectivity in the human brain. NeuroImage 2010, 49, 2021-2032

81. *Tian L., Wang J., Yan C., He H.:* Hemisphere- and gender-related differences in small-world brain networks: A resting-state functional MRI study. NeuroImage 2011, 54, 191-202

82. *Tzourio-Mazoyer N., Landeau B., Papathanassiou D., Crivello F., Etard O., Delcroix N., Mazoyer B., Joliot M.:* Automated Anatomical Labeling of Activations in SPM Using a Macroscopic Anatomical Parcellation of the MNI MRI Single-Subject Brain. NeuroImage 2002, 15, 273-289

83. *Umarova R.Z., Saur D., Schnell S., Kaller C.P., Vry M.S., Glauche V., Rijntjes M., Hennig J., Kiselev V., Weiller C.:* Structural Connectivity for Visuospatial Attention: Significance of Ventral Pathways. Cerebral Cortex 2010, 20, 121-129

84. *Van den Heuvel M.P., Hulshoff Pol H.E.:* Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. Eur. Neuropsychopharm. 2010, 20, 519-534

85. *Vaishnavi S.N., Vlassenko A.G., Rundle M.M., Snyder A.Z., Mintun M.A., Raichle M.E.:* Regional aerobic glycolysis in the human brain. PNAS 2010, 107, 41, 17757-17762

86. *Vincent J.L., Patel G.H., Fox M.D., Snyder A.Z., Baker J.T., Van Essen D.C., Zempel J.M., Snyder L.H., Corbetta M., Raichle M. E.:* Intrinsic functional architecture in the anaesthetized monkey brain. Nature 2007, 447, 83-88

87. *Watts D.J., Strogatz S.H.:* Collective dynamics of 'small-world' networks. Nature 1998, 393, 440-442

88. *Weng S.J., Wiggins J.L.. Peltier S.J., Carrasco L., Risi S., Lord C., Monk C.S.:* Alterations of resting state functional connectivity in the default network in adolescents with autism spectrum disorders. Brain Res. 2010, 1313, 202-214

89. *Whitfield-Gabrieli S., Moran J.M., Nieto-Castańón A., Triantafyllou C., Saxe R., Gabrieli J.D.E.:* Associations and dissociations between default and self-reference networks in the human brain. NeuroImage 2011, 55, 225-232

90. *Williamson P.:* Are Anticorrelated Networks in the Brain Relevant to Schizophrenia? Schizophr. Bull. 2007, 33, 4, 994-1003

91. *Wu S.S., Chang T.T., Majid A., Caspers S., Eickhoff E.B., Menon V.:* Functional Heterogeneity of Inferior Parietal Cortex during Mathematical Cognition Assessed with Cytoarchitectonic Probability Maps. Cerebral Cortex 2009, 19, 2930-2945

92. *Yan C., Liu D., He Y., Zou Q., Zhu C., Zuo X., Long X., Zang Y.:* Spontaneous Brain Activity in the Default Mode Network Is Sensitive to Different Resting-State Conditions with Limited Cognitive Load. PLoS One. 2009, 29, 4, 5, e5743

93. *Yizhar O., Fenno L.E., Prigge M., Schneider F., Davidson T.J., O'Shea D.J., Sohal V.S., Goshen I., Finkelstein J., Paz J.T., Stehfest K., Fudim R., Ramakrishnan C., Huguenard J.R., Hegemann P., Deisseroth K.:* Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. Nature 2011, 477, 171-178

94. *Zhao X.H., Wang P.J., Li C.B., Hud Z.H., Xi Q., Wu W.Y., Tang X.W.:* Altered default mode network activity in patient with anxiety disorders: An fMRI study. Eur. J. Radiol. 2007, 63, 373-378

95. *Zhou L., Wang Y., Li Y., Yap P.T., Shen D.:* and the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): Hierarchical Anatomical Brain Networks for MCI Prediction: Revisiting Volumetric Measures. PLoS ONE 2011, 6, 7, e21935

**Adres do korespondencji:**
Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Kwasy nukleinowe jako narzędzie w terapii guzów mózgu

## Nucleic acids as a tool in the therapy of brain tumors

Katarzyna Rolle[1], Monika Piwecka[1], Olga Starosta[1], Stanisław Nowak[2], Ryszard Żukiel[2], Mirosława Z. Barciszewska[1], Jan Barciszewski[1]

[1] *z Instytutu Chemii Bioorganicznej*
*Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu*
*kierownik Pracowni Epigenetyki: prof. dr hab. Jan Barciszewski*

[2] *z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

**Streszczenie**

Nowotworowe komórki glejowe mózgu dają początek guzom glejowym, z których najbardziej złośliwym, opornym na leczenie i źle rokującym jest glejak wielopostaciowy (ang. *glioblastoma multiforme, GBM*). Chociaż GBM rzadko dają przerzuty poza centralny układ nerwowy, są bardzo inwazyjne i niszczą przylegające tkanki, co utrudnia lub uniemożliwia całkowitą resekcję guza i przyczynia się do szybkiego postępu choroby, niskiej jakości życia oraz, ostatecznie, bardzo wysokiej śmiertelności. Brak wrażliwości glejaka wielopostaciowego na konwencjonalne metody leczenia, duża umieralność pacjentów oraz wyjątkowo skomplikowane podłoże molekularne tego nowotworu skłaniają do poszukiwania nowych metod terapii. Jednym z najciekawszych i obiecujących zagadnień znajdujących się w centrum zainteresowań medycyny molekularnej jest zastosowanie kwasów nukleinowych, a w szczególności niskocząsteczkowych RNA oraz krótkich fragmentów DNA (oligonukleotydy) do leczenia nowotworów.

**Summary**

Malignant glial cells give rise to brain tumors, the most malignant, refractory and poorly promising is glioblastoma multiforme (GBM). Although rarely metastasizing outside the central nervous system, GBM are highly invasive and destroy adjacent tissues, making it difficult or impossible to completely resect the tumor and contributes to the rapid progression of the disease, poor quality of life and ultimately, a very high mortality. Lack of sensitivity of glioblastoma multiforme to conventional treatment, high mortality of patients and extremely complex molecular basis of that tumor lead to the seek of new therapies.

One of the most interesting and promising issues in molecular medicine is therapeutical application of nucleic acids, in particular, low molecular weight RNA and short DNA fragments (oligonucleotides) for the treatment of cancer.

**Słowa kluczowe:** katalityczne kwasy nukleinowe, rybozymy, oligonukleotydy antysensowe, RNAi, mikro RNA (miRNA)

**Key words:** catalytic nucleic acids, ribozymes, antisense oligonucleotides, RNAi, microRNA (miRNA)

### Wstęp

Glejaki są nie tylko najczęstszymi, ale również najbardziej złośliwymi nowotworami Centralnego Układu Nerwowego. Średnia życia pacjentów wynosi od 12 do 14 miesięcy od momentu rozpoznania, a pięcioletnie przeżycie odnotowuje się tylko w 5% przypadków (41, 46). Ze względu na bardzo agresywny i naciekający charakter glejaków, współczesny schemat leczenia obejmujący resekcję guza oraz radio- i chemioterapię, nie daje zadowalających efektów. Dodatkowo mała selektywność stosowanych obecnie metod może prowadzić do bardzo ciężkich powikłań. Istnieje więc potrzeba opracowania nowych metod, które będą się charakteryzowały:

- większą selektywnością i bezpieczeństwem,
- szybkim i efektywnym działaniem na komórki nowotworowe poprzez aktywację kilku mechanizmów komórkowych jednocześnie,
- zahamowaniem wzrostu oraz apoptozą komórek pozostałych po wcześniejszych etapach leczenia, zapobieganie wznowom.

Nie ma obecnie leków spełniających wszystkie te wymagania, jednak badania prowadzone nad terapią opartą na kwasach nukleinowych są bardzo obiecujące. Metody te wykorzystują trzy główne grupy cząsteczek: antysensowne oligonukleotydy, rybozymy i siRNA, które redukują powstawanie patologicznych białek w szlakach kancerogenezy.

## Glejaki - biologia i genetyka

W klasyfikacji WHO glejaki charakteryzują się III lub IV stopniem złośliwości i w ponad 90% pojawiają się nagle jako guzy pierwotne. Około 10% glejaków to guzy wtórne, powstałe w wyniku progresji z mniej złośliwych nowotworów (WHO II, III). Objawy neurologiczne takie jak afazja, parestezje, zaburzenia widzenia, zaburzenia zachowania i nastroju, drgawki oraz związane ze wzrostem ciśnienia śródczaszkowego - bóle głowy, nudności, wymioty towarzyszą pacjentom zarówno z pierwotnymi, jak i wtórnymi glejakami. Agresywny wzrost guzów i trudności w opracowaniu skutecznego schematu leczenia spowodowały, że prowadzone są intensywne badania w celu poznania i zrozumienia zmian zachodzących na poziomie molekularnym, które mogłyby stać się podstawą dla nowych terapii (41).

Liczne badania profilu ekspresji genów wykazały znaczne różnice pomiędzy poszczególnymi guzami i pozwoliły podzielić glejaki na podtypy, które w tradycyjnych metodach histopatologicznych niczym się od siebie nie różnią. Na podstawie zaburzeń w poziomie ekspresji czynników takich jak EGFR, NF1, PDGFR i IDH1 wydzielono cztery podtypy molekularne glejaków: proneuralny, mezenchymalny, klasyczny i neutralny. Ponadto wykazano, że mutacje IDH1 występują w ponad 80% przypadków guzów wtórnych (41).

Zmiany w profilu ekspresji genów mogą być związane między innymi z zaburzeniami chromosomalnymi liczby kopii. Wykazano, że w podtypie klasycznym występuje utrata chromosomu 10, natomiast powieleniu ulega chromosom 7. Dochodzi także do amplifikacji w genie *EGFR* przy jednoczesnej delecji w obrębie *TP53* oraz licznych zaburzeń w genach dla takich kinaz jak *CDK4* czy białka *RB1*. Również w typie proneuralnym zaobserwowano utratę chromosomu 10 i amplifikację chromosomu 7 (42).

Ze zmianami w poziomie ekspresji genów bezpośrednio powiązane są również zmiany na poziomie mikro RNA (miRNA) - krótkich, niekodujących RNA, modyfikujących ekspresję informacji genetycznej na poziomie posttranskrypcyjnym. Biorą one udział m.in. w kontroli i regulacji szlaków komórkowych związanych z proliferacją, różnicowaniem, dojrzewaniem i apoptozą komórek. Najlepiej do tej pory poznany miR-21 ulega w komórkach glejaka ponad stukrotnie silniejszej ekspresji niż w komórkach zdrowych. Prowadzi to do zahamowania apoptozy przez wpływ na szlak PTEN/Akt i zaburza kontrolę podziałów komórkowych poprzez inhibicję szlaku białek p53. Podobny efekt prowadzący do rozwoju nowotworu wywołują w komórkach glejowych zaburzenia poziomu takich miRNA jak miR-26a, miR-19b, miR-128, miR-17-92 (17, 42, 51). Wykazano również zależność pomiędzy poziomami poszczególnych miRNA a rokowaniem (tab. 1) (17).

W glejaku zaobserwowano również zmiany epigenetyczne obejmujące zarówno metylację DNA jak i modyfikacje w obrębie histonów. Hipermetylacja długich odcinków genomu jest częsta w wielu rodzajach nowotworów i występuje w ponad 80% przypadków glejaka wielopostaciowego (17). Obecność metylacji w obrębie promotora genu DNA metylotransferazy 6-metyloguaniny (*MGMT*) ma znaczący wpływ na odpowiedź komórek glejaka na chemioterapię i stanowi pozytywny marker prognostyczny. Aktywna MGMT skutecznie chroni komórki nowotworowe przed działaniem leków alkilujących usuwając grupy alkilowe z pozycji 6-metyloguaniny. Redukcja stężenia enzymu w wyniku metylacji promotora prowadzi do lepszej odpowiedzi na chemioterapię

**Tabela 1.** Zależność pomiędzy poziomem ekspresji miRNA a rokowaniem w guzach mózgu (17).

| MiRNA | Charakterystyka | Rokowanie kliniczne |
|---|---|---|
| miR-26a | miR-26a zlokalizowany w obrębie amplikonu często zawierającego dwa onkogeny | Obecność amplikonu miR26a prowadzi do spadku długości życia |
| miR-196a | Polimorfizm w regionie miR-196 | Obecność polimorfizmu - spadek ryzyka choroby |
| miR-196 a/b | Brak danych | Stały poziom miR196a wraz z obniżeniem poziomu miR196b jest wskaźnikiem dobrego rokowania; wzrost poziomu miR196 - wskaźnik złego rokowania |

i skutkuje wydłużeniem średniej długości życia pacjentów (17, 41).

Działając na konkretne białko pełniące określone funkcje można wpływać na poszczególne etapy nowotworzenia, takie jak:
- kontrola cyklu komórkowego i apoptozy;
- migracja komórek, adhezja i inwazyjność;
- angiogeneza.

Do tego celu wykorzystywane są obecnie technologie oparte na interferencji RNA, katalitycznych kwasach nukleinowych oraz oligonukleotydach antysensowych.

## Technologie kwasów nukleinowych w medycynie

Jednym z najciekawszych i obiecujących zagadnień znajdujących się w centrum zainteresowań medycyny molekularnej jest zastosowanie kwasów nukleinowych, a w szczególności niskocząsteczkowych RNA oraz krótkich fragmentów DNA (oligonukleotydy) do leczenia nowotworów. Do niedawna sądzono, że RNA jest wyłącznie nośnikiem i przekaźnikiem informacji genetycznej od DNA do białka, zaproponowanego przez F.H.C. Cricka i nazwanego Centralnym Dogmatem Biologii Molekularnej. Wskazuje on, że podstawową rolą RNA w cyklu życiowym komórki jest jego udział w biosyntezie białka, gdzie RNA jest matrycą do syntezy peptydów (mRNA), składnikiem rybosomów (rRNA) oraz transporterem aminokwasów do rybosomów (tRNA) (31).

Obecnie wiadomo, że rola RNA nie ogranicza się jedynie do pełnienia wspomnianych wyżej funkcji. Wykazano, że cząsteczki RNA mogą katalizować reakcje składania (splicing) oraz dojrzewania RNA (29). Zdolność RNA do przyjmowania różnych form strukturalnych w zależności od warunków środowiska jest czynnikiem decydującym o właściwościach katalitycznych RNA (52).

Inna grupa cząsteczek RNA to rybozymy, które katalizują specyficzną hydrolizę/ligacji wiązania fosfodwuestrowego w RNA po związaniu do odpowiedniej nici mRNA. Strategia hydrolizy RNA ukierunkowana jest głównie na geny białek onkogennych, czynniki wzrostu, ich receptory powierzchniowe oraz na cząsteczki przekazujące sygnały komórkowe (rys.1).

Podobnie jak wspomniane wcześniej rybozymy, również tzw. deoksyrybozymy (DNAzymy) mogą pełnić funkcje potencjalnych terapeutyków. Tworzą one dwuniciowy heterodupleks z odpowiednim fragmentem RNA, który ulega w efekcie hydrolizie. Ta właściwość czyni z DNAzymów wysoce specyficzne narzędzia, zdolne do ukierunkowanej degradacji wybranego RNA ze sprawnością porównywalną do działania enzymów białkowych (38).

Kolejnym przykładem praktycznego zastosowania RNA w medycynie są aptamery (rys.1) (23). Są to krótkie fragmenty kwasów nukleinowych, które wykazują wysokie powinowactwo i specyficzność wiązania do ściśle określonych białek. Aptamery RNA są bardzo obiecującym narzędziem w walce z chorobami nowotworowymi, autoimmunizacyjnymi czy układu krążenia (33).

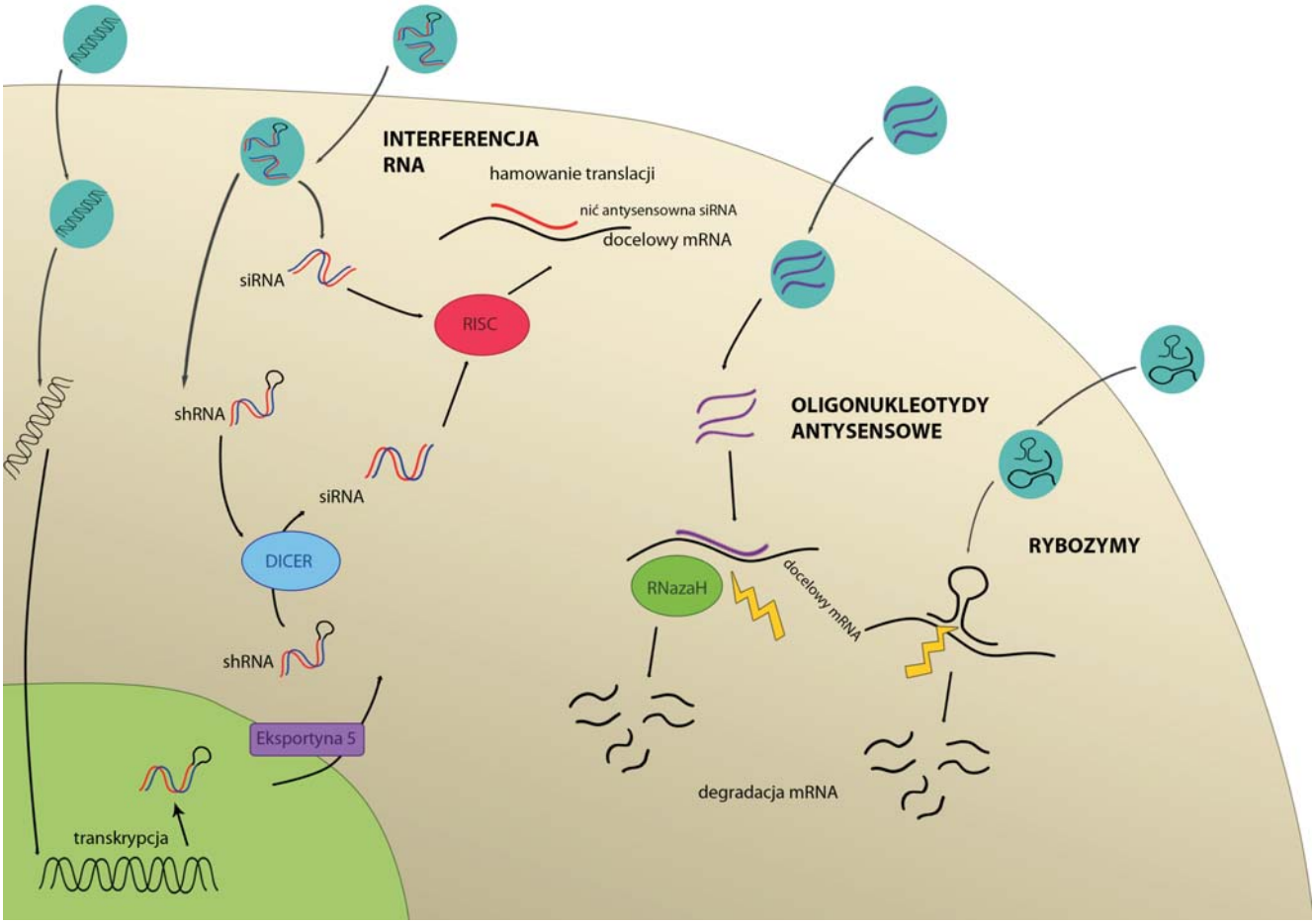
Perspektywicznym narzędziem terapeutycznym mogą być również antysensowe (AS) oligodeoksynukleotydy (ODN) (ryc.1). Powodują one obniżenie lub zahamowanie ekspresji wybranego genu poprzez wiązanie krótkiego fragmentu DNA (zwykle o długości 12-25 nukleotydów) do specyficznego fragmentu RNA blokując ekspresję informacji genetycznej. Cząsteczki te, w celu stabilizacji i wzmocnienia ich oddziaływań z sekwencją docelową są modyfikowane chemicznie. Cząsteczki ODN znalazły już zastosowanie w terapii niektórych schorzeń, jak np. Vitraven stosowany w zapaleniu siatkówki wywołanym przez wirus cytomegalii u pacjentów chorych na AIDS (8). Trzy tego typu preparaty, mające stanowić potencjalny terapeutyk w leczeniu GBM znajdują się obecnie w fazie badań klinicznych (Affinitak, AP 12009, Trabedersen) (1, 47-48, 61).

Ostanie kilka lat to okres rozkwitu technologii interferencji RNA (RNAi), w której krótkie dwuniciowe RNA, komplementarne do sekwencji docelowego mRNA, wywołują w komórkach efekt wyciszania ekspresji docelowego genu (3). Interferencja RNA (ang. *RNA interference, RNAi*) polega na degradacji swoistego mRNA dwuniciowym RNA, dsRNA (ang. *double-stranded RNA*) o homologicznej sekwencji. dsRNA może mieć wielkość od 30 do ponad 500 par zasad. Proces ten prowadzi do zahamowania ekspresji odpowiedniego genu i może brać w nim udział kilka rodzajów RNA m. in. dsRNA, siRNA (ang. *short interference RNA*). Do badań wykorzystuje się krótkie syntetyczne siRNA, otrzymywane metodą chemiczną lub w wyniku transkrypcji *in vitro* (11, 25).

Elementem kluczowym w procesie RNAi jest enzym Dicer, nukleaza specyficznie hydrolizująca dsRNA do krótszych 21-26 nukleotydowych fragmentów (siRNA). Mechanizm ich działania polega na inicjacji degradacji docelowego RNA za pomocą kompleksu białkowo-nukleinowego RISC (ang. *RNA Induced Silencing Complex*), którego składnikami są siRNA oraz swoista nukleaza. Głównym zadaniem siRNA jest rozpoznanie docelowego fragmentu mRNA, który ma ulec degradacji. Mechanizm interferencji RNA przebiega dwustopniowo - pierwszy etap obejmuje powstanie, a następnie fragmentację dsRNA, w wyniku czego powstają siRNA oraz drugi, w którym cząsteczki te wchodzą do kompleksu RISC i w oparciu o homologię sekwencyjną doprowadzają do degradacji mRNA (11, 25).

## RNAi w terapii guzów mózgu

Mechanizm RNAi był dotychczas wielokrotnie wykorzystywany w terapii eksperymentalnej guzów mózgu na różnych modelach zwierzęcych oraz liniach




***Rycina 1.*** *Kwasy nukleinowe jako potencjalne narzędzia terapeutyczne.*

komórkowych. Wiele doniesień pokazuje wykorzystanie RNAi jako narzędzia w procesie ograniczenia ekspresji receptorów powierzchniowych, genów zaangażowanych w transdukcję sygnału, angiogenezy, czynników transkrypcyjnych, związanych z inwazyjnością komórek czy białek antyapoptotycznych. Szeroka lista potencjalnych celów terapeutycznych badanych w liniach komórkowych oraz modelach zwierzęcych obejmuje m.in. receptor EGFR i jego warianty, kinazę FAK, telomerazę, czynnik transkrypcyjny ATF5, fascynę, surwiwinę, kaspazę -3, autotaksynę i wiele innych RNA kodujących białka pełniące kluczową rolę w transformacji nowotworowej (tab. 2).

W rozwoju wielokomórkowego organizmu ważną rolę odgrywa macierz zewnątrzkomórkowa (ang. *extracellular matrix, ECM*). Nie tylko spaja ona komórki, ale poprzez różnorodne wzajemne oddziaływania kontroluje ich zachowanie i morfologię, jak również wpływa na wzrost i różnicowanie. Jednym z ważnych komponentów ECM jest grupa multimetrycznych, glikozylowanych białek o nazwie tenascyny. Jednym z nich jest tenascyna-C (TN-C). Obecnie białko to określane jest również jako: cytotaktyna, glikoproteina JI 220/200, tenascyna lub neuronektyna (6).

## Nowoczesna terapia guzów mózgu

Ograniczenie proliferacji komórek nowotworowych poprzez obniżenie aktywności białka antyapoptotycznego - tenascyny-C ma na celu zmniejszenie ryzyka wznowy, jak również poprawę rokowania pacjentów w związku z przeżyciem i wyleczeniem.

Śródoperacyjne, bezpośrednie podanie do nacieczonego nowotworem mózgu inhibitora syntezy tenascyny mogłoby zahamować angiogenezę i zmniejszyć zdolność nowotworu do proliferacji.

Terapia ta opiera się na podaniu długich (200 nukleotydów) dwuniciowych cząsteczek RNA (dsRNA) o sekwencji homologicznej do tenascyny-C (ang. *anti-tenascin RNA, ATN-RNA*), stanowiących substrat dla nukleazy Dicer hydrolizującej dsRNA do krótkich siRNA. Efektem prowadzonej terapii jest inhibicja ekspresji TN-C w komórkach guza mózgu i zahamowanie rozwoju nowo-

**Tabela 2.** Nowe cele terapeutyczne w leczeniu guzów mózgu.

| | Białko patogenne | Rola w procesie nowotworzenia | Referencje |
|---|---|---|---|
| Czynniki transkrypcyjne specyficzne dla glejaków | Gli1 (ang. *glioma associated oncogene 1*) | Nadekspresja w wysokozłośliwych guzach mózgu. | (26, 53) |
| | | Aktywacja genów aktywujących proliferację, zaangażowanych w przyleganie komórek, transdukcję sygnałów oraz regulację apoptozy. | (59) |
| | ATF5 (ang. *actiavtion transcription factor*) | Wpływ na proliferację komórek nowotworowych. | (12) |
| | | Czynnik wpływający na przeżywalność komórek. Jego usunięcie prowadzi do indukcji apoptozy komórek nowotworowych. | (2) |
| | FoxM1B (ang. *forkhead box M1*) | Niezbędne w trakcie przebiegu cyklu komórkowego i mitozy. | (9, 28) |
| | | Zahamowanie ekspresji supresora $p27^{Kip1}$. | (40) |
| | | Aktywacja genów promujących proliferację (Skp2, cyclin D1 and Cks1). | (35, 40) |
| | | Ekspresja powoduje obniżoną przeżywalność pacjentów. | (35) |
| | | Udział w inwazyjności, angiogenezie oraz metastazie. | (4, 9, 57) |
| | Hey1 | Uczestniczy w szlaku sygnalnym z udziałem białek Notch. Indukuje proliferację. | (16) |
| Inwazja i infiltracja | Fascyna | Zaangażowane w migrację komórek oraz formowanie filopodiów. | (18) |
| | | Poziom ekspresji ściśle związany ze stopniem złośliwości nowotworu. | (12) |
| | Autotaksyna (ATX) | Zwiększona ruchliwość komórek. | (27) |
| | | Synteza LPA, aktywacja receptora LPA1 oraz autokrynowa indukcja migracji. | (15) |
| | | Stymulacja efektu ruchliwości parakrynowej w oligodendrocytach. | (15) |
| Czynniki anty-apoptotyczne | Surwiwina | Hamowanie aktywności proteaz związanych ze szlakiem śmierci komórkowej: kaspazy-3, -7 i -9. | (56) |
| | | Podwyższona ekspresja w tkankach płodowych oraz nowotworowych. | (60) |
| | αB-krystalina | Białka opiekuńcze, zapobiegają agregacji nowopowstających białek. | (7) |
| | | Supresor aktywacji kaspazy-3. | (21, 22) |
| | | Inhibicja apoptzy zależnej od mitochondriów poprzez wiązanie białek z rodziny Bcl2. | (37) |
| | | Wpływ na migrację komórek oraz inwazję. | (39) |
| | | Poziom regulowany przez białko Bcl2L12. | (45, 54) |
| | | Wpływa na zwiększoną angiogenezę. | (10) |

tworu. Technologię tę nazwano interwencją interferencyjnym RNA (ang. *intervention with RNAi, iRNAi*). Terapia eksperymentalna leczenia guzów mózgu opierająca się o mechanizm interferencji RNA (RNAi) jest pierwszym przypadkiem stosowania tego typu terapeutyków bezpośrednio u ludzi (44, 58, 62).

Jednym z narzędzi wykorzystywanych do obniżenia poziomu ekspresji wybranych genów mogą być również rybozymy. Są to katalityczne cząsteczki RNA, które po hybrydyzacji do docelowej cząsteczki mRNA powodują jej hydrolizę w ściśle określonym miejscu, uniemożliwiając tym samym prawidłową ekspresję białka. Taka strategia została zastosowana dla wyciszania ekspresji białka kinazy-3 (PKC, *ang. protein kianse-C*). Należy ona do rodziny kinaz serynowo-treoninowych, zaangażowanych we wzrost oraz różnicowanie komórek nowotworowych. Zastosowanie rybozymu PKC prowadzi do zmian w morfologii komórek, a w efekcie do apoptozy (32, 50).

Cząsteczką docelową w terapii z wykorzystaniem rybozymów jest również nabłonkowy receptor wzrostu HER1/EGFR, ulegający podwyższonej ekspresji w wielu typach nowotworów, w tym także w wysokozłośliwych guzach mózgu. Najczęściej badany wariant EGFR- EGFRvIII był dotychczas celem terapeutycznym wielu strategii, takich jak np. terapia z użyciem przeciwciał monoklonalnych, niskocząsteczkowych inhibitorów kinazy tyrozynowej lub nawet szczepionek. Niestety, dotychczas żadna z zastosowanych terapii w kierunku wyciszenia EGFRvIII nie przyniosła spodziewanych efektów, a największe nadzieje związane są obecnie z najnowszym podejściem z wykorzystaniem katalitycznych kwasów nukleinowych (24).

Rybozymy zostały także wykorzystane w próbach wyciszenia czynnika HIF-1 zaangażowanego w proces angiogenezy indukowany niedotlenieniem. Pierwsze wyniki prac prowadzonych na nowotworowych liniach komórkowych pochodzenia glejowego oraz na modelu mysim pokazują, iż zastosowanie tego narzędzia terapeutycznego prowadzi do ograniczenia proliferacji oraz migracji komórek nowotworowych (5).

## Perspektywy

Wykorzystanie wiedzy na temat molekularnych zmian w komórkach glejaka dla celów terapeutycznych, chociaż jeszcze we wczesnej fazie, już teraz pozwala jednak na identyfikację potencjalnych cząsteczek docelowych dla terapii genowej, której rozwój stanowi obiecującą alternatywę dla konwencjonalnych metod leczenia tego typu nowotworów.

Terapia genowa stanowić może prawdopodobnie najbardziej selektywną terapię antynowotworową, a przykłady eksperymentalnego zastosowania nowych narzędzi opartych o kwasy nukleinowe pozwalają przypuszczać, że mogą się one stać niezwykle perspektywicznymi czynnikami terapeutycznymi.

Projekt finansowany z grantów badawczych dla KR (MNiSW „Juventus Plus" IP2010035170) oraz SN (MNiSW N N403 219637) oraz MB (UDA-POIG.01.03.01-30-050/09-01).

## Piśmiennictwo

1. *Andrews D.W., Resnicoff M., Flanders A.E., Kenyon L., Curtis M., Merli G., Baserqa R., Iliakis G., Aiken R.D.:* Results of a pilot study involving the use of an antisense oligonucleotide directed against the insuline-like growth factor type I receptor in malignant astrocytomas. J. Clin. Oncol. 2001, 19, 2189-2200
2. *Angelastro J.M., Canoll P.D., Kuo J., Weicker M., Costa A., Bruce J.N., Greene L.A.:* Selective destruction of glioblastoma cells by interference with the activity or expression of ATF5. Oncogene 2006, 25, 907-916
3. *Brower V.:* RNA interference advances to early stage-stage clinical trials. J. Natl. Cancer Inst. 2010, 19, 1456-1461
4. *Chandran U.R., Ma C., Dhir R., Bisceglia M., Lyons-Weiler M., Liang W., Michalopoulos G., Becich M., Monzon F.A.:* Gene expression profiles of prostate cancer reveal involvement of multiple molecular pathways in the metastatic process. BMC Cancer 2007, 7, 64
5. *Chen M., Sun J., Lu C., Yu R.:* Inhibitory effect of hypoxia-induses factor-1alpha ribozyme on the growth of glioma in nude mice. Res. Essays 2011, 6, 3045-3048
6. *Chiquet-Erismann R.:* Tenascin. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 2004, 36, 986-990
7. *Clark J.I., Muchowski P.J.:* Small heat-shock proteins and their potential role in human disease. Curr. Opin. Struct. Biol. 2000, 10, 52-59
8. *Crooke S.T.:* Vitravene-another piece in the mosaic. Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 1998, 8, vii-viii
9. *Dai B., Kang S.H., Gong W., Liu M., Aldape K.D., Sawaya R., Huang S.:* Aberrant FoxM1B expression increases matrix metaloproteinase-2 transcription end enhances the invasion of glioma cells. Oncogene 2007, 26, 6212-6219
10. *Dimberg A., Rylova S., Dieterich L.C., Olsson A.K., Schiller P., Winker C., Bohman S., Botling J., Lukinius A., Wawrousek E.F., Cleasson-Welsh L.:* alpha-B crystallin promotes tumor angiogenesis by increasing vascular survival during tube morphogenesis. Blood 2008, 111, 2015-2023
11. *Fire A., Xu S., Montgomery M.K., Kostas S.A., Driver S.E., Mello C.C.:* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans. Nature 1999, 39, 66-69
12. *Greene L.A., Lee H.Y., Angelastro J.M.:* The transcription factor ATF5: role in neurodevelopment and neural tumors. J. Neurochem. 2009, 108, 11-22
13. *Gunal A., Onguru O., Safali M., Beyzadeoglu M.:* Fascin expression in glial tumors and its prognostic signifficance in glioblastomas. Neuopathology 2008, 28, 382-386
14. *Guo D., Wang B., Han F., Lei T.:* RNA interference therapy for glioblastoma. Expert Opin. Biol. Ther. 2010, 10, 927-936
15. *Hoelzinger D.B., Nakada M., Demuth T., Rosensteel T., Reavie L.B., Berens M.E.:* Autotaxin: a secreted autocrine/paracrine factor that promotes glioma invasion. J. Neurooncol. 2008, 86, 297-309

16. *Hulleman E., Quarto M., Vernell R., Masserdotti G., Colli E., Kros J.M., Levi D., Gaetani P., Tunici P., Finocchiaro G., Baena R.R., Capra M., Helin K.:* A role for the transcription factor HEY1 in glioblastoma. J.Cell. Mol. Med. 2008, 13, 136-146

17. *Hummel R., Maurer J., Haier J.:* MicroRNAs in Brain Tumors : A New Diagnostic and Therapeutic Perspective? Mol. Neurobiol. 2011

18. *Hwang J.S., Smith C.A., Salhia B., Rutka J.T.:* The role of fascin in the migration and invasiveness of malignant glioma cells. Neoplasia 2008, 10, 149-159

19. *Isaacs F.J., Dwyer D.J., Collins J.J.:* RNA synthetic biology. Nature Biotechnology 2006, 24, 545-554

20. *Juliano R., Alam R., Dixit V., Kang H.:* Mechanism and strategies for effective delivery of antisense and siRNA oligonucleotides. Nucleic Acid Res. 2008, 36, 4158-4171

21. *Kamradt M.C., Chen F., Sam S., Cryns V.L.:* The small heat shock protein alpha B-crystalin negatively regulates apoptosis during myogenic differentiation by inhibiting caspase-3 activation. J. Biol. Chem. 2002, 277, 38731-38736

22. *Kamradt M.C., Lu M., Werner M.E., Kwan T., Chen F., Strohecker A., Oshita S., Wlikinson J.C., Yu C., Oliver P.G., Duckett C.S., Buschsbaum D.J., LoBuglio A.F., Jordan V.C., Cryns V.L.:* The small heat shock protein alpha-B crystalin is a novel inhibitor of TRAIL-induced apoptosis that suppresses the activation of caspase-3. J. Biol. Chem. 2005, 280, 11059-11066

23. *Kanwar J.R., Mohan R.R., Kanwar R.K., Roy K., Bawa R.:* Applications of aptamers in nanodelivery systems in cancer, eye and inflamatory disease. Nanomedicine (Lond) 2010, 5, 1435-1445

24. *Karpel-Massler G., Wirtz C.R., Halatsch M.E.:* Ribozyme-mediated inhibition of 801-bp deletion-mutant epidermal growth factor receptor mRNA expression in glioblastoma multiformme. Molecules 2010, 15, 4670-4678

25. *Kawasaki H., Taira I.:* Induction of DNA methylation and gene silencing by short interfering RNAs in human cells. Nature 2004, 431, 211-217

26. *Kinzler K.W., Bigner S.H., Bigner D.D., Trent J.M., Law M.L., O'Brien S.J., Wong A.J., Vogelstein B.:* Identification of an amplified, highly expressed gene in human glioma. Science 1987, 236, 70-73

27. *Kishi Y., Okudaira S., Tanaka M., Hama K., Shida., Kitayama J., Yamori T., Aoki J., Fujimaki T., Arai H.:* Autotaxin is overexpressed in glioblastoma multiforme and contributes to cell motility of glioblastomaa by converting lysophosphatidylcholine to lysophosphatidic acid. J. Biol. Chem. 2006, 281, 17492-17500

28. *Korver W., Roose J., Clevers H.:* The winged-helix transcription factor Trident is expressed in cycling cells. Nucleic Acids Res. 1997, 25, 1715-1719

29. *Kruger K., Grabowski P.J., Zaug A.J.:* Self-splicing RNA: autoexscision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of Tetrahymena. Cell 1982, 31, 147-157

30. *Laquintana V., Trapani A., Denora N., Wang F., Gallo J.M., Trapani G.:* New strategies to deliver anticancer drugs to brain tumors. Expert Opin. Drug Deliv. 2009, 6, 1017-1032

31. *Laursen B.S., Sirensen H.P., Mortensen K.K.:* Initiation of protein synthesis in bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2005, 69, 101-123

32. *Leidarl M., Sioud M.:* Ribozyme inhibition of the protein kinase Ca triggers apoptosis in glioma cells. Br. J. Cancer 1999, 80, 1558-1564

33. *Liu C.C., Arkin A.P.:* Cell biology. The case for RNA. Science 2010, 330, 1185-1186

34. *Liu J., Xu X., Feng X., Zhang B., Wang J.:* Adenovirus-mediated delivery of bFGF small interfering RNA reduces STAT3 phosphorylation and induces the depolarization of mitochondria and apoptosis in glioma cells U251. J. Exp. Clin. Cancer Res. 2011, 30, 80

35. *Liu M., Dai B., Kang S.H., Ban K., Huang F.J., Lang F.F., Aldape K.D., Xie T.X., Pelloski C.E., Xie K., Sawaya R., Huang S.:* FoxM1B is overexpressed in human glioblastomas and critically regulates the tumorigenicity of glioma cells. Cancer Res. 2006, 66, 3593-3602

36. *Loew S., Schmidt U., Unterberg A., Halatsch M.E.:* The epidermal growth factor receptor as a therapeutic target in glioblastoma multiforme and other malignant neoplasms. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry 2009, 9, 703-715

37. *Mao Y., Liu J., Xiang H., Li D.W.:* Human alphaA- and aplhaB-crystallins bind to Bax and Bcl-X(S) to sequester their translocation during staurosporine-induced apoptosis. Cell Death Differ. 2004, 11, 512-526

38. *Mastroyiannopoulus N.P., Uney J.B., Phylactou L.A.:* The application of ribiztmes and DNAzymes in muscle and brain. Molecules 2010, 15, 5460-5472

39. *Moyano J.W., Evans J.R., Chen F., Lu M., Werner M.E., Yehiely F., Diaz L.K., Turbin D., Karaca G., Wiley E., Nielsen T.O., Perou C.M., Cryns V.L.:* AlphaB-crystallin is a novel oncoprotein that predicts poor clinical outcome in breast cancer. J. Clin. Invest. 2006, 116, 261-270

40. *Petrovic V., Costa R.H., Lau L.F., Raychaudhuri P., Tyner A.L.:* FoxM1 regulates growth factor-induced expression of kinase-interacting stathsmin (KIS) to promote cell cycle progression. J. Biol. Chem. 2008, 283, 453-460

41. *Preusser M., de Ribaupierre S., Wohrer A., Erridge S.C., Hegi M., Weller M., Stupp R.:* Current concepts and management of glioblastoma. Ann. Neurol. 2011, 70, 9-12

42. *Riddic G., Fine H.A.:* Integration and analysis of genome-scale data from gliomas. Nat. Rev. Neurol. 2011, 7, 439-450

43. *Rolle K., Nowak S., Wyszko E., Nowak M., Żukiel R., Piestrzeniewicz R., Gawrońska I., Barciszewska M.Z., Barciszewski J.:* Promissing human brain tumors therapy with interference RNA intervention (iRNAi). Cancer Biol. Ther. 2010, 9, 396-406

44. *Rolle K., Nowak S., Wyszko E., Nowak M., Żukiel R., Piestrzeniewicz R., Gawrońska I., Barciszewska M.Z., Barsiszewski J.:* Interference RNA intervention in brain tumors. In: Therapeutic ribonucleic acids in brain tumors. V.A. Erdmann, G. Reifenberg, J. Bariszewski (eds). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 2009, 221-255

45. *Segh A.H., Chil L., Louis D.N., DePinho R.A.:* What drives intense apoptosis resistance and propensity for necrosis in glioblastoma? A role for Bcl2L12 as a multifunctional cell death regulator. Cell Cycle 2008, 7, 2833-2839

46. *Shir A., Levitzki A., Wagner E., Orgis M.:* Nucleic acid-based therapeutics for glioblastoma. Anticancer Agents Med. Chem., In: Medicinal Chemistry, 2011, 6, 563-570

47. *Schlenska-Lange A., Knüpfer H., Lange T.J., Kiess W., Knüpfer M.:* Cell proliferation and migration in glioblastoma multiforme cell lines are influenced by insulin-like growth factor I in vitro. Anticancer Res. 2008, 28, 1055-1060

48. *Schlingensiepen K.H., Schlingensiepen R., Steinbrecher A., Hau P., Bogdahn U., Fischer-Blass B., Jachimczak P.:* Targeted tumor therapy with the TGF-beta 2 antisense compound AP 12009. Cytokine Growth Factor Rev. 2006, 17, 129-139

49. *Sioud M.:* RNA interference below the immune radar. Nature Biotechnology 2006, 24, 521- 522

50. *Sioud M., Sorensen D.R.:* A nuclease-resistant protein kinase C alpha ribozyme blocks glioma cell growth. Nat. Biotech. 1998, 16, 556-561

51. *Spence T., Nguyen J., Bouffet E., Huang A.:* MicroRNAs in Brain Tumors. In: MicroRNAs in Cancer Translational Research 2011; W.C.S.Cho (eds) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 2011, 437-556

52. *Spirin A.S.:* Omnipotent RNA. FEBS Lett. 2002, 530, 4-8

53. *Stecca B., Ruiz i Altaba A.:* Brain as a padagrim of organ growth: Hedgehoge-Gli signaling in neural stem cell and brain tumors. J. Neurobiol. 2005, 64, 476-490

54. *Stegh A.H., Kesari S., Mahoney J.E., Jenq H.T., Forloney K.L., Protopopov A., Louis D.N., Chin L., DePinho R.A.:* Bcl2L12 mediated inhibition of effector caspase-3, caspase-7 via distinct mechanism in glioblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 2008, 105,10703-10708

55. *Suryawanshi H., Scaria V., Maiti S.:* Modulation of microRNA function by synthetic ribozymes. Mol. BioSyst. 2010, 6, 1807-1809

56. *Tamm I., Wang Y., Sausville E., Scudiero D.A., Vigna N., Oltersdorf T., Reed J.C.:* IAP- family proteinsurvivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. Cancer Res. 1998, 58, 5315-5320

57. *Wang Z., Benerjee S., Kong D., Li Y., Sarkar F.H.:* Down-regulation of Forkhead Box M1 transcription factor leads to the inhibition of invasion and angiogenesis of pancreatic cancer cells. Cancer Res. 2007, 67, 8293-8300

58. *Wyszko E., Rolle K., Nowak S., Żukiel R., Nowak M., Piestrzeniewicz R., Gawrońska I., Barciszewska M.Z., Barciszewski J.*: A multivariate analysisof patients with brain tumors treated with ATN-RNA. Acta Pol. Pharm. 2008, 65, 677-684

59. *Yoon J.W., Kita Y., Frank D.J.,Majewski R.R., Konicek B.A., Nobrega M.A., Jacob H., Walterhause D., Iannaccone P.:* Gene expression profiling leads to identification of GLI1-binding elements in target genes and a role for multiple downstream pathways in GLI1-induced cell transformation. J. Biol. Chem. 2002, 277, 5548-5555

60. *Zaffaroni N., Pennati M., Daidone M.G.:* Survivin as a target for new anticancer intervensions. J. Cell. Mol. Med. 2005, 9, 360-372

61. *Zellner A., Fetell M.R., Bruce J.N.:* Disparity in expression of protein kinase C alpha in human glioma versus glioma-derived primary cell lines: therapeutic implications. Clin. Cancer. Res. 1998, 4, 1797-1802

62. *Żukiel R., Nowak S., Wyszko E.,Rolle K., Gawrońska I., Barciszewska M.Z., Barciszewski J.:* Suppresion of human brain tumor with interference RNA specyfic for tenascin-C. Cancer Biol. Ther. 2006, 5, 1002-1007

**Adres do korespondencji:**
Instytut Chemii Bioorganicznej
Polskiej Akademii Nauk
ul. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań
e-mail: jan.barciszewski@ibch.poznan.pl

# αB-krystalina jako nowy cel terapeutyczny w glejakach złośliwych

## αB-crystallin as a new therapeutic target in high-grade gliomas

Monika Piwecka[1], Katarzyna Rolle[1], Eliza Wyszko[1], Anna-Maria Barciszewska[2], Stanisław Nowak[2], Jan Barciszewski[1]

[1] *z Instytutu Chemii Bioorganicznej*
*Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu*
*kierownik Pracowni Epigenetyki: prof. dr hab. Jan Barciszewski*

[2] *z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

**Streszczenie**

Cechą charakterystyczną komórek glejaków, zwłaszcza fenotypów złośliwych, jest duża oporność na działanie bodźców stymulujących śmierć komórkową, w tym radio- i chemioterapię. Ta własność wiąże się ze zmianami genetycznymi oraz epigenetycznymi w genach kodujących białka regulujące procesy proliferacji oraz apoptozy w komórkach nowotworowych. Nowym czynnikiem anty-apoptotycznym zidentyfikowanym w komórkach glejaków złośliwych jest αB-krystalina (CRYAB). Białko to należy do rodziny małych białek szoku cieplnego (sHsp) i ulega nadekspresji w glejaku wielopostaciowym. CRYAB jest białkiem opiekuńczym pełniącym różnorodne funkcje komórkowe. Jego udział w kancerogenezie i powstaniu fenotypów złośliwych jest obecnie intensywnym obszarem badań. Pokazano, iż αB-krystalina przeciwdziała uruchomieniu procesu apoptozy w komórkach nowotworowych poprzez inhibicję kaspazy-3, jak również sugeruje się udział tego anty-apoptotycznego czynnika w procesie transformacji nowotworowej oraz inwazyjności i angiogenezy.

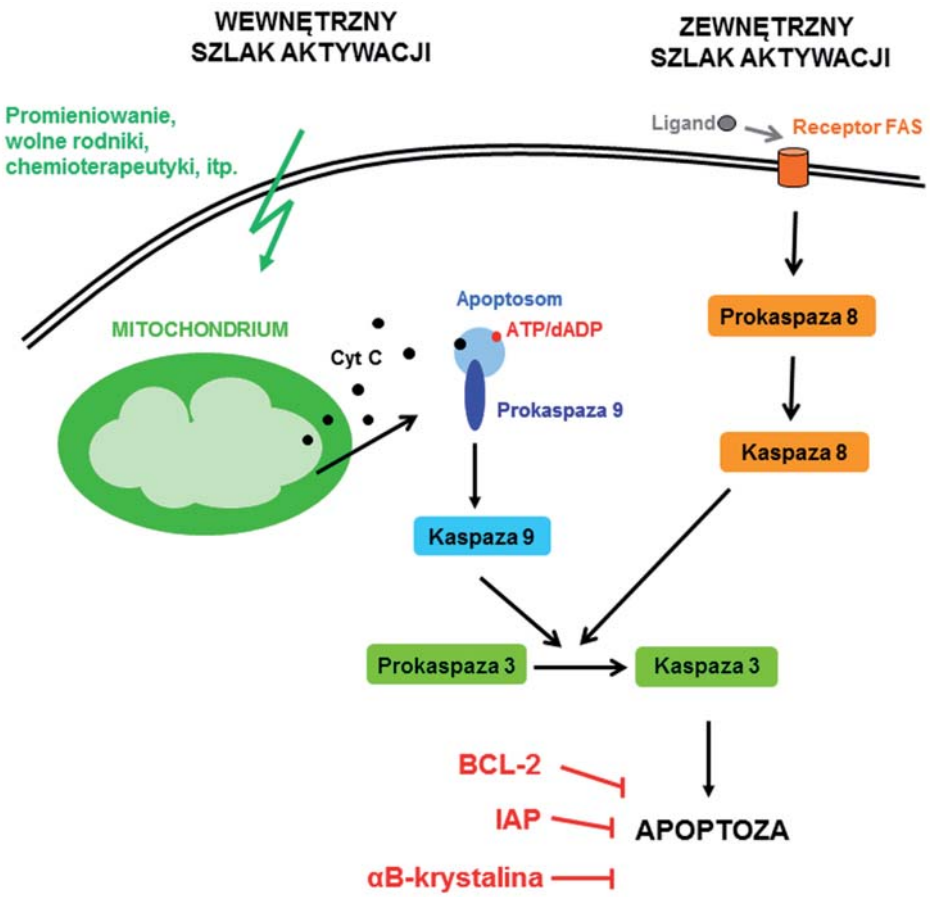
**Summary**

A hallmark feature of malignant glioma cells is an intense resistance to death-inducing stimuli such as radiotherapy and chemotherapy. This biological property has been linked to genetic and epigenetic alterations of regulatory molecules involved in both proliferation and apoptotic pathways. Recently a new anti-apoptotic protein has been identified in high-grade gliomas. It is αB-crystallin (CRYAB), a member of the mammalian small heat shock protein (sHsp) superfamily. CRYAB was shown to be highly overexpressed in glioblastoma multiforme and other types of cancers. It is a molecular chaperon with a plethora of highly diverse activities, ranging from cytoprotective effects against misfolded/denatured proteins to tumorigenic functions. The molecular understanding of αB-crystallin's role in cancer is beginning to emerge. It was shown that CRYAB anti-apoptotic activity in part relies on its ability to bind and inhibit caspase-3 activation, but it is also suggested to participate in such tumorigenesis-relevant activities as transforming, invasive and pro-angiogenic properties.

**Słowa kluczowe:** glejaki, αB-krystalina, apoptoza.
**Key words:** gliomas, αB-crystallin, apoptosis.

**Wstęp**

Glejaki złośliwe charakteryzują się występowaniem niekontrolowanej i intensywnej proliferacji, naciekającym wzrostem, tendencją do powstawania ognisk martwicy, występowaniem dynamicznej angiogenezy i niestabilności genetycznej. W przypadku glejaka wielopostaciowego (GBM, ang. *glioblastoma multiforme*) obserwuje się heterogenność, która jest obserwowana na poziomie cytologicznym, histologicznym oraz genetycznym w obrębie tego samego guza. Jedną z cech, która charakteryzuje wszystkie złośliwe nowotwory, również neoplastyczne guzy mózgu, jest wewnętrzna odporność na apoptozę. Brak skłonności komórek nowotworowych do uruchamiania apoptozy przyczynia się do wzmożenia proliferacji, osłabienia wrażliwości na bodźce pro-apoptotyczne (np. radio- i chemioterapię) oraz wzrostu masy guza. Coraz szersza wiedza z zakresu biologii molekularnej glejaków




***Rycina 1.*** *Schemat szlaku apoptozy aktywowanej zewnętrznie lub wewnętrznie. Kolorem czerwonym oznaczono białka działające anty-apoptotycznie.*

pozwala na identyfikację czynników oraz zjawisk, które leżą u podstaw wewnętrznej, intensywnej odporności na apoptozę tworzących je komórek.

Apoptoza jest naturalnym procesem regulującym organogenezę oraz uczestniczącym w kontrolowanym usuwaniu z organizmu niepożądanych komórek, tj. starzejących się, tracących integralność genomu lub poddanych silnemu stresowi. Proces apoptozy może być aktywowany zewnętrznie poprzez wiązanie ligandów do receptorów śmierci (ang. *death receptors*) na powierzchni komórek lub wewnętrznie na drodze aktywacji tzw. apoptozy mitochondrialnej, np. w wyniku działania wolnych rodników, promieniowania jonizującego lub chemioterapeutyków (ryc. 1). Duża oporność komórek glejaków złośliwych na bodźce stymulujące apoptozę wiąże się ze wzmocnieniem szlaków pro-proliferacyjnych aktywowanych przez PI3K (kinazę 3-fosfatydyloinozytolu, *ang. phosphoinositide 3'-kinase*) oraz MAPK (kinazę aktywowaną mitogenami, ang. *mitogen-activated protein kinase*), jak również ze zmianami genetycznymi w regulatorowych i efektorowych czynnikach uczestniczących w apoptozie. Dotyczy to m.in. receptorów śmierci, do których zaliczamy m.in. TNFR1 (DR1), TRAILR1(DR4/APO-2), TRAILR2 (DR5/KILLER) czy CD95 (Fas/DR2/APO-1) oraz ekspresji antagonistycznych do nich receptorów (ang. *decoy receptors*), które wiążą ligand, lecz nie indukują apoptozy. Innym zjawiskiem związanym z opornością na apoptozę jest aktywacja i/lub nadekspresja białek anty-apoptotycznych m. in. z rodziny Bcl-2 oraz IAP (ang. *Inhibitor of Apoptosis*). Rodzina białek Bcl-2 skupia szereg anty-apototycznych czynników (Bak, Bad, Bid, Bax, Bcl-XL, Mcl-1) modulujących apoptozę na poziomie mitochondriów poprzez zabezpieczanie błony mitochondrialnej przed utratą integralności i uwolnieniu cytochromu c. Stwierdzono, że istnieje korelacja pomiędzy stopniem złośliwości glejaków a poziomem ekspresji białek z rodziny Bcl-2. Do najlepiej poznanych białek anty-apoptotycznych z rodziny IAP w glejaku wielopostaciowym należy surwiwina (ang. *survivin*), która działa jako inhibitor kaskady kaspaz.

Innym czynnikiem anty-apoptotycznym zidentyfikowanym w komórkach glejaków złośliwych jest białko αB-krystalina (CRYAB, ang. *αB-crystallin*). Do 1989 roku αB-krystalina postrzegana była wyłącznie, jako białko strukturalne występujące specyficznie w soczewce oka,

gdzie wraz z αA-krystaliną (CRYAA, ang. *αA-crystallin*) tworzą hetero-oligomeryczne struktury nazywane α-krystaliną. Stanowi ona ponad 50% wszystkich białek soczewki oka ludzkiego, zapewnia jej przezroczystość i odpowiada za współczynnik załamania światła na źrenicy. W 1989 r. pokazano, że u szczurów i myszy CRYAB występuje w niewielkich ilościach w innych tkankach i narządach tj. sercu, mięśniach poprzecznie-prążkowanych i nerce. Przełomem była jednak obserwacja, iż w komórkach NIH3T3 CRYAB funkcjonuje podobnie do małych białek szoku cieplnego (sHsp, ang. *small Heat Shock Proteins*). sHsp są zróżnicowaną grupą komórkowych chaperonów (ang. *molecular chaperones*) uczestniczącą w regulacji homeostazy komórkowej poprzez wiązanie białek będących w nie-natywnych konformacjach, co zapobiega ich agregacji i degradacji. W odróżnieniu od grupy białek szoku cieplnego (Hsp), sHsp charakteryzują się małą masą molekularną (12-42 kDa) oraz obecnością zachowawczej ewolucyjnie domeny α-krystaliny przy końcu karboksylowym białka (90 reszt aminokwasowych). Inną cechą wyróżniającą tę grupę jest struktura oligomeryczna, tj. zdolność tworzenia zarówno homooligomerów o masie do 700-800 kDa, jak i heterooligomerów. Dynamiczna oligomeryzacja sHsp jest jednym z głównych czynników, który warunkuje i kontroluje aktywność tych białek. Część białek z grupy sHsp ulega aktywacji tylko w stanach wywołanych stresem komórkowym (termicznym, oksydacyjnym, itd.). Inne natomiast ulegają konstytutywnej ekspresji na niskim poziomie w niektórych tkankach (np. mięśniowej) działając jako białka opiekuńcze wspierając proces wewnątrzkomórkowego transportu, funkcjonowanie cytoszkieletu, regulację translacji, utrzymywanie równowagi redox, stanowiąc ochronę przed spontaniczną lub stymulowaną śmiercią komórki. Ilość i lokalizacja sHsp ulega zmianie w warunkach patologicznych. U człowieka rodzina sHsp posiada dziesięciu przedstawicieli oznaczanych, jako HspB1-10, spośród których najlepiej poznane są α-krystaliny tj. CRYAA (HspB4) oraz CRYAB (HspB5), a także Hsp27 (HspB1) i Hsp22 (HspB8).

## Ekspresja αB-krystaliny

Określono sekwencję nukleotydową genu kodującego αB-krystalinę u człowieka, myszy, szczura, chomika, kury, królika. Ludzki CRYAB zlokalizowany jest na długim ramieniu chromosomu 11 (11q22.3-q23.1).

W odróżnieniu od αA-krystaliny, αB-krystalinę znaleźć można w innych niż soczewka oka organach i tkankach. U myszy i szczurów CRYAB ulega konstytutywnej ekspresji w tkankach i narządach o szybkim metabolizmie oksydacyjnym, tj. sercu, mięśniach poprzecznie-prążkowanych, mózgu czy niektórych częściach nerki.

Informacje na temat występowania CRYAB w normalnym, zdrowym mózgu człowieka są nieliczne. Immunohistochemiczną detekcję CRYAB prowadzono u szczura, psów, a także w pośmiertnych mózgach ludzkich. Wykazano pozytywną immunoreaktywność CRYAB dla oligodendrocytów w niektórych rejonach istoty białej, bardzo słabe barwienie dla niektórych astrocytów istoty białej oraz brak barwienia neuronów. Dla porównania, silną detekcję immunohistochemiczną CRYAB obserwowano w oligodendrocytach, astrocytach oraz rzadziej neuronach w mózgach pacjentów cierpiących na choroby neurodegeneracyjne (choroba Parkinsona, Alzheimera, Huntingtona i inne), infekcje mózgu (choroba Creutzfeldta-Jacoba, infekcje CMV, toksoplazmoza), stany zapalne mózgu czy encefalopatie.

W normalnych warunkach fizjologicznych CRYAB jest rozpuszczalnym białkiem zlokalizowanym w cytoplazmie. W warunkach stresu lub w patologiach takich, jak choroba Alzheimera, Parkinsona, Alexandra czy zwyrodnienie siatkówki związane z wiekiem (AMD, ang. *age-related macular degeneration*), CRYAB migruje do jądra i współtworzy inkluzje np. ciała Lewe'go, Drusena i inne. W hodowlach komórek ludzkich zwiększoną ekspresję CRYAB obserwowano pod wpływem czynników stresogennych: podwyższonej temperatury, stresu osmotycznego czy promieniowania UV.

Dotychczas u człowieka opisano dziewięć mutacji w sekwencji kodującej CRYAB. Zmutowane formy białka są czynnikiem uczestniczącym w patogenezie zaćmy, desminopatii oraz kardiomiopatii (tab. 1).

## Struktura αB-krystaliny

Struktura przestrzenna monomerów αB-krystaliny (175 reszt aminokwasowych) nie jest w pełni poznana. Polidyspersyjny charakter CRYAB utrudnia krystalizację natywnego białka, natomiast tworzenie struktur oligomerycznych jest własnością utrudniającą badania struktury metodą spektroskopii NMR (magnetyczny rezonans jądrowy, ang. *Nuclear Magnetic Resonance*). Dostępne są struktury krystaliczne innych białek z grupy sHsp, które posiadają właściwości monodyspersyjne oraz struktury krystaliczne domeny α-krystalinowej.

Struktura CRYAB charakteryzuje się:

- obecnością zachowawczej domeny α-krystaliny składającej się z 90 reszt aminokwasowych i w strukturze przypominającej pofałdowanie immunoglobulin, tj. tworzącej β-harmonijkę składającą się z 7 ułożonych antyrównolegle struktur β (β2-β9). Domeny monomeru CRYAB zlokalizowane przy końcach cząsteczki mają konfigurację typu „random coil" i są eksponowane na zewnątrz cząsteczki, do rozpuszczalnika,
- tworzeniem struktur oligomerycznych. Tendencję αB-krystaliny do oligomeryzacji wykazały wyniki analiz mikroskopii elektronowej. CRYAB obserwowano, jako białko o zmiennej i dynamicznej strukturze czwarto-

**Tabela 1.** Lokalizacja i wpływ mutacji w obrębie sekwencji kodującej αB-krystalinę.

| Pozycja nt[1] | Zmiana sekwencji | Pozycja AA | Zamiana AA[3] | Zmiana fenotypowa |
|---|---|---|---|---|
| 58 | C→T | 20 | Pro→Ser | Dominująca zaćma biegunowa tylna (50) |
| 358 | A→G | 120 | Arg→Gly | Desminopatia oraz zaćma (71) |
| 418 | G→A | 140 | Asp→Asn | Dominująca zaćma warstwowa (52) |
| 450 | ΔA | 150 | F[2] | Dominująca zaćma biegunowa tylna (7) |
| 451 | C→T | 151 | Gln→stop | Desminopatia (63) |
| 460 | G→A | 154 | Gly→Ser | Opóźniona kardiomiopatia (60) |
| 464 | ΔCT | 155 | F[2] | Desminopatia (63) |
| 470 | G→A | 157 | Arg→His | Opóźniona kardiomiopatia (32) |
| 514 | G→A | 171 | Ala→Thr | Dominująca zaćma warstwowa (15) |

[1] liczona od początku sekwencji kodującej (od kodonu START)
[2] F - przesunięcie ramki odczytu (ang. *frameshift*)
[3] AA - reszty aminokwasowe

rzędowej, która przypomina kształtem kulę z centralnie usytuowaną wnęką o średnicy ~10 nm. Obrazy mikroskopowe z rozdzielczością 20 pokazały, iż dominującą populację stanowi forma, w której αB-krystalina tworzy sferyczną i pustą w środku strukturę składającą się z 24 podjednostek o tetraedrycznej symetrii,

- przy końcu N αB-krystaliny znajdują się trzy potencjalne reszty seryny, które mogą ulegać fosforylacji (Ser19, Ser45 i Ser59). Znane są dwie ścieżki fosforylacji CRYAB: kinazy MAPKAP2 fosforylują CRYAB w pozycji Ser59, natomiast pozycja Ser49 pozostaje pod kontrolą kinazy p42/p44 MAPK. Do tej pory nie poznano kinazy odpowiedzialnej za fosforylację w pozycji Ser19.

## Funkcje αB-krystaliny

Najlepiej scharakteryzowaną funkcją αB-krystaliny jest aktywność chaperonowa, która obejmuje rozpoznanie, wiązanie i rozfałdowanie wielu niezwiązanych ze sobą strukturalnie białek-substratów w warunkach stresu komórkowego. Molekularny mechanizm związany z realizacją funkcji opiekuńczych przez CRYAB oraz inne białka z grupy sHsp oraz jego regulacja nie są w pełni poznane. Stwierdzono, iż aktywność opiekuńcza sHsp jest procesem niezależnym od ATP, jednakże istnieją przesłanki popierające hipotezę, że w ostatecznym uwolnieniu substratu i jego prawidłowym zwinięciu uczestniczą inne, zależne od ATP, białka opiekuńcze. Ważnym zagadnieniem jest udział i zachowanie dynamicznych struktur oligomerycznych tworzonych przez CRYAB w realizacji funkcji opiekuńczych oraz znaczenie modyfikacji potranslacyjnych, zwłaszcza fosforylacji seryny 59. Pokazano, iż w warunkach *in vitro* fosforylacja CRYAB prowadzi do ograniczenia ilości substruktur dimerycznych. Rola fosforylacji CRYAB i dynamiki strukturalnej w odniesieniu do pełnionych funkcji opiekuńczych CRYAB jest dyskusyjna. Istnieją dane pokazujące silne wiązanie CRYAB do białek substratowych pod wpływem wprowadzenia tzw. mutacji naśladującej fosforylację (ang. *phosphorylation-mimicking mutation*, zamiana Ser na Asp). W innych badaniach zaobserwowano podobną aktywność ochronną ufosforylowanej i nieufosforylowanej formy CRYAB, które izolowano z soczewki szczura. Lepiej poznany został mechanizm działania innego białka z rodziny sHsp - Hsp27. Oba białka, CRYAB i Hsp27, posiadają szereg podobieństw w odniesieniu do struktury, funkcji, jak i występowania. Hsp27 posiada również trzy reszty seryny potencjalnie ulegające fosforylacji (Ser15, 78 i 82). Zaobserwowano, iż zwiększenie stopnia ufosforylowania Hsp27 koreluje z ograniczeniem ilości dużych struktur oligomerycznych do mniejszych tetra- i dimerów. Ponadto stwierdzono, iż duże nieufosforylowane oligomery (>300 kDa) mają większy potencjał ochronny i aktywność chaperonową, natomiast małe nieufosforylowane oligomery mają wpływ na dynamikę filamentów aktynowych.

Oddziaływania CRYAB z różnymi typami białek świadczy o różnorodności pełnionych przez nią funkcji. CRYAB oddziałuje m. in. z filamentami aktynowymi, mikrotubulami, filamentami pośrednimi i jest uznawana za czynnik stabilizujący sieć cytoszkieletu. Ponadto uważa się, iż CRYAB uczestniczy w adhezji komórkowej oraz migracji, które są regulowane przez fosforylację. Pokazano, że w warunkach stresu oraz w obecności czynników destabilizujących mikrotubule i mikrofilamenty aktynowe, aktywacji ulega ścieżka kinaz p38/MAPKAP2, co prowadzi do fosforylacji CRYAB w pozycji Ser59

i jej lokalizacji ze strukturami cytoszkieletu. Taką samą kolejność zdarzeń zarejestrowano w przypadku dezorganizacji mikrofilamentów pośrednich. Innym składnikiem cytoszkieletu, z którym oddziałuje CRYAB jest desmina, składnik filamentów pośrednich występujący obficie w mięśniu sercowym. Szereg prac poświęcono oddziaływaniu CRYAB z mikrotubulami.

W analizie „protein pin array" opierającej się na technice ELISA i specyficznych przeciwciałach pokazano, iż αB-krystalina posiada sekwencje oddziałujące z takimi czynnikami wzrostu jak FGF-2 (ang. *fibroblast growth factor*), NGF-β (ang. *nerve growth factor*), VEGF oraz innymi białkami i peptydami, jak insulina czy β-katenina. Rejon CRYAB oddziałujący z tymi peptydami został zidentyfikowany we wcześniejszych badaniach strukturalnych, jako odpowiedzialny za wypełnianie funkcji opiekuńczych. Sugeruje się, iż αB-krystalina, jako białko opiekuńcze może brać udział w zwijaniu niektórych czynników wzrostu oraz insuliny i β-kateniny *in vivo*. Identyfikacja rejonów αB-krystaliny oddziałujących z β-kateniną jest zbieżna z wcześniej opisaną funkcją αB-krystaliny w stabilizacji sieci cytoszkieletu oraz kolokalizacją obu białek. Ponadto ochrona β-kateniny przed degradacją w stresie komórkowym może mieć implikacje związane z sygnalizacją β-kateniny w ścieżce Wnt, która reguluje proliferację i różnicowanie komórek. Obserwacją popierającą hipotezę o bezpośrednim udziale αB-krystaliny w post-translacyjnym dojrzewaniu czynników wzrostu jest asocjacja αB-krystaliny ze strukturami aparatu Golgiego i jej powinowactwo do pęcherzyków fosfolipidowych. Obie obserwacje wskazują na związek αB-krystaliny z sekrecją komórkową, więc nie jest wykluczone, iż dotyczy ona również czynników wzrostu.

## Rola w procesie kancerogenezy

Funkcje ochronne CRYAB wobec innych białek często określane są jako funkcje anty-apoptotyczne. Istotnie, stabilizacja struktury białek i peptydów w warunkach stresu i działania czynników patologicznych, jest jednym z mechanizmów zabezpieczających przed uruchomieniem procesów programowanej śmierci komórkowej. O ile realizacja funkcji anty-apoptotycznych może mieć pozytywny wpływ poprzez ochronę komórek „zdrowych" przed śmiercią, o tyle uruchomienie procesów anty-apoptotycznych w komórkach nowotworowych będzie prowadzić do nadmiernej proliferacji i zabezpieczać je przed indukcją apoptozy. W komórkach ssaczych pokazano, iż nadekspresja CRYAB powoduje wzmocnienie ochrony przed działaniem czynników pro-apoptotycznych, natomiast wyciszenie lub ograniczenie ekspresji CRYAB uwrażliwia komórki na apoptozę. Aktywność CRYAB nie ogranicza się do niespecyficznego wiązania i ochrony innych białek przed degradacją. Pokazano, że CRYAB przeciwdziała uruchomieniu zdarzeń apoptotycznych w komórce poprzez działanie na kilku poziomach:

- Wiązanie pro-apoptotycznych czynników Bax, Bcl-xS oraz białka p53, zabezpieczenie przed ich translokacją do mitochondriów i uruchomieniem tzw. apoptozy mitochondrialnej (czyli wewnętrznego szlaku apoptozy);

CRYAB wpływa na dezaktywację kaskady kaspaz, tj. proteaz cysteinowych syntetyzowanych w formach nieaktywnych zymogenów, których indukcja jest kluczowym etapem zarówno w wewnętrznym, jak i zewnętrznym szlaku apoptozy. Eksperymenty *in vitro* oraz ko-imunoprecypitacja pokazały, że CRYAB wiąże produkt pośredni p24 tworzący się na etapie autoprotolitycznego dojrzewania prokaspazy-3 do kaspazy-3, tym samym uniemożliwiając powstanie funkcjonalnego białka, kaspazy-3. W linii komórkowej z raka piersi wykazano, iż CRYAB zapobiega apoptozie indukowanej ligandem TRAIL, natomiast wyciszenie ekspresji CRYAB prowadzi do uwrażliwienia komórek na apoptozę indukowaną TRAIL;

- αB-krystalina hamuje przekazywanie sygnałów na szlaku RAS oraz inaktywację apoptozy na ścieżce kinaz RAF/MEK/ERK, indukowanej poprzez zastosowanie czynników stresogennych, np. aplikację kalcymycyny. Mechanizm ten tłumaczy ograniczenie aktywacji apoptozy w komórkach traktowanych kalcymycyną, jako skutek inaktywacji RAS i supresji translokacji RAS-GFT2 do błony komórkowej w wyniku wiązania αB-krystaliny.

Pokazano indukcję ekspresji CRYAB pod wpływem jądrowego białka Bcl2L12 (ang. *Bcl2-Like12*), które zostało zaproponowane, jako białko onkogenne specyficzne dla złośliwych guzów glejowych. Bcl2L12 działa anty-apoptotycznie na poziomie inhibicji kaspazy-3 oraz kaspazy-7, a funkcje te realizowane są poprzez m. in. aktywację ekspresji CRYAB jako inhibitora kaspazy-3. Obserwowano wspólną lokalizację CRYAB z pro-kaspazą-3 oraz ko-immunoprecypitację białka opiekuńczego z niedojrzałymi formami kazpazy-3, natomiast nie odnaleziono takich zależności dla oddziaływań z kazpazą-7 oraz kaspazą-9. Ponadto obserwowano aktywację ekspresji αB-krystaliny indukowaną Bcl2L12 w hodowlach linii komórkowych oraz heteroprzeszczepach mysich.

Oddziaływanie αB-krystaliny z czynnikami wzrostu, a zwłaszcza VEGF (czynnik wzrostu śródbłonka naczyń, ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*) rozpatrywane jest w kontekście rozwoju nowych naczyń krwionośnych. Wzmożoną ekspresję αB-krystaliny w nowotworach powiązano z rozwojem i regulacją procesu angiogenezy. Analiza mutantów mysich CRYAB -/- (mutanty ang. *knock-out*) wykazała, iż rozwijające się w myszach guzy nowotworowe były słabiej unaczynione i charakteryzowały się zwiększonym poziomem apoptozy w porównaniu do kontroli „dzikich", niezmutowanych.

Ponadto odnotowano aktywację ekspresji αB-krystaliny w stymulowanej angiogenezie *in vitro* oraz inhibicję morfogenezy naczyń krwionośnych w kulturach komórek nabłonkowych transfekowanych siRNA specyficznymi dla αB-krystaliny. Wskazano na udział αB-krystaliny w regulacji angiogenezy poprzez realizację jej funkcji opiekuńczych w utrzymywaniu integralności cytoszkieletu noworozwijających się naczyń oraz funkcji anty-apoptotycznych, jako inhibitora dojrzewania kaspazy-3. Jednak precyzyjny mechanizm działania αB-krystaliny, jako potencjalnego białka pro-angiogennego nie został dotychczas wyjaśniony.

Wysoką ekspresję CRYAB obserwowano w następujących chorobach nowotworowych człowieka: glejaki złośliwe, rak piersi, gruczolak nerki, niedrobnokomórkowy rak płuc, rak wątroby, rak płaskonabłonkowy głowy i szyi, siatkówczak. W większości przypadków wysoki poziom ekspresji w tych nowotworach identyfikowany był za pomocą metod immunohistochemicznych w skrawkach tkanek nowotworowych. Szeroko analizowano ekspresję CRYAB oraz udział w kancerogenezie nowotworów piersi. Analizie z zastosowaniem mikromacierzy tkankowych poddano ponad 600 różnych skrawków tkanek nowotworowych, które pochodziły z różnych histologicznie podtypów raka piersi, w tym przerzutujących i nieprzerzutujących do węzłów chłonnych. Podwyższony poziom ekspresji CRYAB korelował z obniżonym całkowitym przeżyciem pacjentek, ponadto zaobserwowano znacznie więcej guzów z ekspresją CRYAB wśród pacjentów z przerzutami do węzłów chłonnych. Podobną korelację ekspresji CRYAB oraz gorszej prognostyki znaleziono wśród pacjentów chorujących na niedrobnokomórkowego raka płuc, raka wątroby oraz raka płaskonabłonkowego głowy i szyi.

Analiza ekspresji CRYAB wśród pacjentek z rakiem piersi o różnym pochodzeniu histologicznym pokazała, iż białko to ulega znaczącej nadekspresji szczególnie w podtypie podstawnopodobnym raka piersi (ang. *basal-like breast carcinoma*). Ta grupa nowotworów piersi pod względem histologicznym charakteryzuje się brakiem receptorów estrogenowych (ER-), progesteronowych (PR) oraz HER2 (Her2-), co rzutuje na agresywny przebieg choroby, brak odpowiedzi na hormonoterapię oraz złe rokowaniu pacjentek (76). Analiza pacjentek z podstawnopodobnym rakiem piersi poddanych chemioterapii przedoperacyjnej oraz pooperacyjnej pokazała słabszą odpowiedź na neoadjuwantową terapię przedoperacyjną lub brak odpowiedzi wśród pacjentek z nowotworami CRYAB-pozytywnymi. Zaproponowano, że CRYAB może stanowić nowy biomarker do oceny oporności na chemioterapię w „potrójnie" negatywnym podtypie raka piersi.

Dane kliniczne w grupie pacjentek z podstawnopodobnym rakiem piersi stanowiły podstawę dla analizy roli CRYAB w rozwoju tego agresywnego nowotworu. Aktywacja i nadekspresja CRYAB w unieśmiertelnionych komórkach nabłonkowych piersi prowadziła do transformacji nowotworowej komórek, które wykazywały szereg anormalnych właściwości: utrata polarności i zmiana morfologii komórek, zwiększona proliferacja i obniżony poziom apoptozy. Ponadto komórki z aktywowaną ekspresją CRYAB wykazywały cechy neoplastyczne, zwiększoną migrację i tendencję do inwazyjności. Implantacja ortotopowa komórek do organizmów mysich (heteroprzeszczep) powodowała rozwój inwazyjnych nowotworów sutków. Obserwacja, iż CRYAB jest wystarczającym czynnikiem do wywołania transformacji nowotworowej zarówno w hodowli komórek ludzkich, jak i heteroprzeszczepch mysich, była przesłanką do zaklasyfikowania αB-krystaliny, jako białka onkogennego.

## αB-krystalina w glejakach złośliwych

Analizy immunohistochemiczne w skrawkach glejaków oraz innych typów guzów mózgu (oponiaki, nerwiaki, struniaki) wskazują na specyficzną aktywację i nadekspresję αB-krystaliny w wysokozłośliwych guzach glejowych. αB-krystalina została również zidentyfikowana jako czynnik ulegający znaczącej nadprodukcji w glejaku wielopostaciowym w odróżnieniu do gwiaździaków niższego stopnia złośliwości biologicznej (WHO II) w wysokoskalowych analizach proteomicznych badających globalną ekspresję białek. Niezależnie od wyżej wymienionych badań, silna nadekspresja CRYAB w GBM została rozpoznana w badaniach własnych z zastosowaniem rozdziału elektroforetycznego ekstraktów białkowych otrzymanych z tkanek glejaków oraz identyfikacji metodą spektrometrii masowej.

Badania nad rolą αB-krystaliny w guzach glejowych potwierdziły wyniki uzyskane dla raka piersi. CRYAB działa jako czynnik anty-apoptotyczny, zapobiegając uruchomieniu procesów programowanej śmierci w komórkach nowotworowych, tym samym przyczyniając się do wzmożonej proliferacji i nabycia odporności na bodźce stymulujące śmierć komórkową (66). Ponadto, CRYAB odgrywa rolę w powstaniu nowych naczyń krwionośnych w GBM działając pro-angiogennie (16). Badania udziału CRYAB w transformacji do fenotypów złośliwych są kontynuowane, a dotychczasowe wyniki pozwalają na zaliczenie tego czynnika do grupy białek onkogennych mających udział w generowaniu glejaków (66).

## Perspektywy

Wydaje się, że αB-krystalina może być nowym celem terapeutycznym w złośliwych guzach glejowych mózgu. Skuteczna redukcja aktywności tego anty-apoptotycznego białka w komórkach nowotworowych może prowadzić

do uruchomienia szlaku apoptozy oraz ograniczenia proliferacji, co w konsekwencji będzie miało przełożenie na zmniejszenie ryzyka wznowy, jak również poprawi rokowanie pacjentów co do przeżycia i wyleczenia.


## Podziękowania

Praca powstała w trakcie realizacji projektów badawczych N N403 219637 oraz N N401 375939.


## Piśmiennictwo


1. *Aoyama A., Steiger R.H., Frohli E., Schafer R., von Deimling A., Wiestler O.D., Klemenz R.:* Expression of alpha B-crystallin in human brain tumors. Int. J. Cancer 1993, 55, 760-764
2. *Aquilina J.A., Benesch J.L., Ding L.L., Yaron O., Horwitz J., Robinson C.V.:* Phosphorylation of alphaB-crystallin alters chaperone function through loss of dimeric substructure. J. Biol. Chem. 2004, 279, 28675-28680
3. *Arrigo A.P., Simon S., Gibert B., Kretz-Remy C., Nivon M., Czekalla A., Guillet D., Moulin M., Diaz-Latoud C., Vicart P.*: Hsp27 (HspB1) and alphaB-crystallin (HspB5) as therapeutic targets. FEBS Lett. 2007, 581, 3665-3674
4. *Augusteyn R.C.:* alpha-crystallin: a review of its structure and function. Clin. Exp. Optom. 2004, 87, 356-366
5. *Bagneris C., Bateman O.A., Naylor C.E., Cronin N., Boelens W.C., Keep N.H., Slingsby C.:* Crystal structures of alpha-crystallin domain dimers of alphaB-crystallin and Hsp20. J. Mol. Biol. 2009, 392, 1242-1252
6. *Bennardini F., Wrzosek A., Chiesi M.:* Alpha B-crystallin in cardiac tissue. Association with actin and desmin filaments. Circ. Res. 1992, 71, 288-294
7. *Berry V., Francis P., Reddy M.A., Collyer D., Vithana E., MacKay I., Dawson G., Carey A.H., Moore A., Bhattacharya S.S., Quinlan R.A.:* Alpha-B crystallin gene (CRYAB) mutation causes dominant congenital posterior polar cataract in humans. Am. J. Hum. Genet. 2001, 69, 1141-1145
8. *Bhat S.P., Nagineni C.N.:* alpha B subunit of lens-specific protein alpha-crystallin is present in other ocular and non-ocular tissues. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989, 158, 319-325
9. *Chelouche-Lev D., Kluger H.M., Berger A.J., Rimm D.L., Price J.E.:* alphaB-crystallin as a marker of lymph node involvement in breast carcinoma. Cancer 2004, 100, 2543-2548
10. *Cherneva R., Petrov D., Georgiev O., Trifonova N.:* Clinical usefulness of alpha-crystallin antibodies in non-small cell lung cancer patients. Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg. 2010, 10, 14-17
11. *Chin D., Boyle G.M., Williams R.M., Ferguson K., Pandeya N., Pedley J., Campbell C.M., Theile D.R., Parsons P.G., Coman W.B.:* Alpha B-crystallin, a new independent marker for poor prognosis in head and neck cancer. Laryngoscope 2005, 115, 1239-1242
12. *Cobb B.A., Petrash J.M.:* Factors influencing alpha-crystallin association with phospholipid vesicles. Mol. Vis. 2002, 8, 85-93
13. *Dasgupta S., Hohman T.C., Carper D.:* Hypertonic stress induces alpha B-crystallin expression. Exp. Eye Res. 1992, 54, 461-470
14. *Deretic D., Aebersold R.H., Morrison H.D., Papermaster D.S.:* Alpha A- and alpha B-crystallin in the retina. Association with the post-Golgi compartment of frog retinal photoreceptors. J. Biol. Chem. 1994, 269, 16853-16861
15. *Devi R.R., Yao W., Vijayalakshmi P., Sergeev Y.V., Sundaresan P., Hejtmancik J.F.:* Crystallin gene mutations in Indian families with inherited pediatric cataract. Mol. Vis. 2008, 14, 1157-1170
16. *Dimberg A., Rylova S., Dieterich L.C., Olsson A.K., Schiller P., Wikner C., Bohman S., Botling J., Lukinius A., Wawrousek E.F., Claesson-Welsh L.:* alphaB-crystallin promotes tumor angiogenesis by increasing vascular survival during tube morphogenesis. Blood 2008, 111, 2015-2023
17. *Dubin R.A., Wawrousek E.F., Piatigorsky J.:* Expression of the murine alpha B-crystallin gene is not restricted to the lens. Mol. Cell Biol. 1989, 9, 1083-1091
18. *Duguid J.R., Rohwer R.G., Seed B.:* Isolation of cDNAs of scrapie-modulated RNAs by subtractive hybridization of a cDNA library. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 1988, 85, 5738-5742
19. E*croyd H., Meehan S., Horwitz J., Aquilina J.A., Benesch J.L., Robinson C.V., Macphee C.E., Carver J.A.:* Mimicking phosphorylation of alphaB-crystallin affects its chaperone activity. Biochem. J. 2007, 401, 129-141
20. *Fujita Y., Ohto E., Katayama E., Atomi Y.:* alphaB-Crystallin-coated MAP microtubule resists nocodazole and calcium-induced disassembly. J. Cell Sci. 2004, 117, 1719-1726
21. *Furnari F.B., Fenton T., Bachoo R.M., Mukasa A., Stommel J.M., Stegh A., Hahn W.C., Ligon K.L., Louis D.N., Brennan C., Chin L., DePinho R.A., Cavenee W.K.:* Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. Genes. Dev. 2007, 21, 2683-2710
22. *Gangalum R.K., Schibler M.J., Bhat S.P.:* Small heat shock protein alphaB-crystallin is part of cell cycle-dependent Golgi reorganization. J. Biol. Chem. 2004, 279, 43374-43377
23. *Ghosh J.G., Estrada M.R., Clark J.I.:* Interactive domains for chaperone activity in the small heat shock protein, human alphaB crystallin. Biochemistry 2005, 44, 14854-14869
24. *Ghosh J.G., Estrada M.R., Clark J.I.:* Structure-based analysis of the beta8 interactive sequence of human alphaB crystallin. Biochemistry 2006, 45, 9878-9886
25. *Ghosh J.G., Estrada M.R., Houck S.A., Clark J.I.:* The function of the beta3 interactive domain in the small heat shock protein and molecular chaperone, human alphaB crystallin. Cell Stress Chaperones 2006, 11, 187-197
26. *Ghosh J.G., Houck S.A., Clark J.I.:* Interactive domains in the molecular chaperone human alphaB crystallin modulate microtubule assembly and disassembly. PLoS One 2007, 2, e498
27. *Ghosh J.G., Shenoy A.K., Jr., Clark J.I.:* Interactions between important regulatory proteins and human alphaB crystallin. Biochemistry 2007, 46, 6308-6317
28. *Gruvberger-Saal S.K., Parsons R.:* Is the small heat shock protein alphaB-crystallin an oncogene? J. Clin. Invest. 2006, 116, 30-32
29. *Haley D.A., Horwitz J., Stewart P.L.:* The small heat-shock protein, alphaB-crystallin, has a variable quaternary structure. J. Mol. Biol. 1998, 277, 27-35
30. *Hanahan D., Weinberg R.A.:* The hallmarks of cancer. Cell 2000, 100, 57-70
31. *Haslbeck M., Franzmann T., Weinfurtner D., Buchner J.:* Some like it hot: the structure and function of small heat-shock proteins. Nat. Struct. Mol. Biol. 2005, 12, 842-846
32. *Inagaki N., Hayashi T., Arimura T., Koga Y., Takahashi M., Shibata H., Teraoka K., Chikamori T., Yamashina A., Kimura A.:* Alpha B-crystallin mutation in dilated cardiomyopathy. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2006, 342, 379-386
33. *Ivanov O., Chen F., Wiley E.L., Keswani A., Diaz L.K., Memmel H.C., Rademaker A., Gradishar W.J., Morrow M., Khan S.A., Cryns V.L.:* alphaB-crystallin is a novel predictor of resistance to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. Breast Cancer Res. Treat. 2008, 111, 411-417

34. *Iwaki T., Kume-Iwaki A., Goldman J.E.:* Cellular distribution of alpha B-crystallin in non-lenticular tissues. J. Histochem. Cytochem. 1990, 38, 31-39

35. *Iwaki T., Wisniewski T., Iwaki A., Corbin E., Tomokane N., Tateishi J., Goldman J.E.:* Accumulation of alpha B-crystallin in central nervous system glia and neurons in pathologic conditions. Am. J. Pathol. 1992, 140, 345-356

36. *Jehle S., Rajagopal P., Bardiaux B., Markovic S., Kuhne R., Stout J.R., Higman V.A., Klevit R.E., van Rossum B.J., Oschkinat H.:* Solid-state NMR and SAXS studies provide a structural basis for the activation of alphaB-crystallin oligomers. Nat. Struct. Mol. Biol. 2010, 17, 1037-1042

37. *Kamradt M.C., Chen F., Cryns V.L.:* The small heat shock protein alpha B-crystallin negatively regulates cytochrome c- and caspase-8-dependent activation of caspase-3 by inhibiting its autoproteolytic maturation. J. Biol. Chem. 2001, 276, 16059-16063

38. *Kamradt M.C., Lu M., Werner M.E., Kwan T., Chen F., Strohecker A., Oshita S., Wilkinson J.C., Yu C., Oliver P.G., Duckett C.S., Buchsbaum D.J., LoBuglio A.F., Jordan V.C., Cryns V.L.:* The small heat shock protein alpha B-crystallin is a novel inhibitor of TRAIL-induced apoptosis that suppresses the activation of caspase-3. J. Biol. Chem. 2005, 280, 11059-11066

39. *Kase S., He S., Sonoda S., Kitamura M., Spee C., Wawrousek E., Ryan S.J., Kannan R., Hinton D.R.:* alphaB-crystallin regulation of angiogenesis by modulation of VEGF. Blood 2010, 115, 3398-3406

40. *Kase S., Parikh J.G., Rao N.A.:* Expression of alpha-crystallin in retinoblastoma. Arch. Ophthalmol. 2009, 127, 187-192

41. *Khalil A.A.:* Biomarker discovery: a proteomic approach for brain cancer profiling. Cancer Sci. 2007, 98, 201-213

42. *Kikuchi A., Kishida S., Yamamoto H.:* Regulation of Wnt signaling by protein-protein interaction and post-translational modifications. Exp. Mol. Med. 2006, 38, 1-10

43. *Kim K.K., Hung L.W., Yokota H., Kim R., Kim S.H.:* Crystal structures of eukaryotic translation initiation factor 5A from Methanococcus jannaschii at 1.8 A resolution. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 1998, 95, 10419-10424

44. *Klemenz R., Frohli E., Steiger R.H., Schafer R., Aoyama A.:* Alpha B-crystallin is a small heat shock protein. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88, 3652-3656

45. *Koteiche H.A., McHaourab H.S.:* Mechanism of chaperone function in small heat-shock proteins. Phosphorylation-induced activation of two-mode binding in alphaB-crystallin. J. Biol. Chem. 2003, 278, 10361-10367

46. *Krajewski S., Krajewska M., Ehrmann J., Sikorska M., Lach B., Chatten J., Reed J.C.:* Immunohistochemical analysis of Bcl-2, Bcl-X, Mcl-1, and Bax in tumors of central and peripheral nervous system origin. Am. J. Pathol. 1997, 150, 805-814

47. *Launay N., Goudeau B., Kato K., Vicart P., Lilienbaum A.:* Cell signaling pathways to alphaB-crystallin following stresses of the cytoskeleton. Exp. Cell Res. 2006, 312, 3570-3584

48. *Li D.W., Liu J.P., Mao Y.W., Xiang H., Wang J., Ma W.Y., Dong Z., Pike H.M., Brown R.E., Reed J.C.:* Calcium-activated RAF/MEK/ERK signaling pathway mediates p53-dependent apoptosis and is abrogated by alpha B-crystallin through inhibition of RAS activation. Mol. Biol. Cell 2005, 16, 4437-4453

49. *Liao J.H., Lee J.S., Chiou S.H.:* Distinct roles of alphaA- and alphaB-crystallins under thermal and UV stresses. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2002, 295, 854-861

50. *Liu M., Ke T., Wang Z., Yang Q., Chang W., Jiang F., Tang Z., Li H., Ren X., Wang X., Wang T., Li Q., Yang J., Liu J., Wang Q.K.:* Identification of a CRYAB mutation associated with autosomal dominant posterior polar cataract in a Chinese family. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2006, 47, 3461-3466

51. *Liu S., Li J., Tao Y., Xiao X.:* Small heat shock protein alphaB-crystallin binds to p53 to sequester its translocation to mitochondria during hydrogen peroxide-induced apoptosis. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007, 354, 109-114

52. *Liu Y., Zhang X., Luo L., Wu M., Zeng R., Cheng G., Hu B., Liu B., Liang J.J., Shang F.:* A novel alphaB-crystallin mutation associated with autosomal dominant congenital lamellar cataract. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2006, 47, 1069-1075

53. *Maddala R., Rao V.P.:* alpha-Crystallin localizes to the leading edges of migrating lens epithelial cells. Exp. Cell Res. 2005, 306, 203-215

54. *Mao Y.W., Liu J.P., Xiang H., Li D.W.:* Human alphaA- and alphaB-crystallins bind to Bax and Bcl-X(S) to sequester their translocation during staurosporine-induced apoptosis. Cell Death Differ. 2004, 11, 512-526

55. *Morrison L.E., Hoover H.E., Thuerauf D.J., Glembotski C.C.:* Mimicking phosphorylation of alphaB-crystallin on serine-59 is necessary and sufficient to provide maximal protection of cardiac myocytes from apoptosis. Circ. Res. 2003, 92, 203-211

56. *Mounier N., Arrigo A.P.:* Actin cytoskeleton and small heat shock proteins: how do they interact? Cell Stress Chaperones 2002, 7, 167-176

57. *Moyano J.V., Evans J.R., Chen F., Lu M., Werner M.E., Yehiely F., Diaz L.K., Turbin D., Karaca G., Wiley E., Nielsen T.O., Perou C.M., Cryns V.L.:* AlphaB-crystallin is a novel oncoprotein that predicts poor clinical outcome in breast cancer. J. Clin. Invest. 2006, 116, 261-270

58. *Odreman F., Vindigni M., Gonzales M.L., Niccolini B., Candiano G., Zanotti B., Skrap M., Pizzolitto S., Stanta G., Vindigni A.:* Proteomic studies on low- and high-grade human brain astrocytomas. J. Proteome Res. 2005, 4, 698-708

59. *Peschek J., Braun N., Franzmann T.M., Georgalis Y., Haslbeck M., Weinkauf S., Buchner J.:* The eye lens chaperone alpha-crystallin forms defined globular assemblies. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2009, 106, 13272-13277

60. *Pilotto A., Marziliano N., Pasotti M., Grasso M., Costante A.M., Arbustini E.:* alphaB-crystallin mutation in dilated cardiomyopathies: low prevalence in a consecutive series of 200 unrelated probands. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2006, 346, 1115-1117

61. *Pinder S.E., Balsitis M., Ellis I.O., Landon M., Mayer R.J., Lowe J.:* The expression of alpha B-crystallin in epithelial tumours: a useful tumour marker? J. Pathol. 1994, 174, 209-215

62. *Rogalla T., Ehrnsperger M., Preville X., Kotlyarov A., Lutsch G., Ducasse C., Paul C., Wieske M., Arrigo A.P., Buchner J., Gaestel M.:* Regulation of Hsp27 oligomerization, chaperone function, and protective activity against oxidative stress/tumor necrosis factor alpha by phosphorylation. J. Biol. Chem. 1999, 274, 18947-18956

63. *Selcen D., Engel A.G.:* Myofibrillar myopathy caused by novel dominant negative alpha B-crystallin mutations. Ann. Neurol. 2003, 54, 804-810

64. *Soling A., Plugge E.M., Schmitz M., Weigle B., Jacob R., Illert J., Holzhausen H.J., Rainov N.G.:* Autoantibodies to the inhibitor of apoptosis protein survivin in patients with brain tumors. Int. J. Oncol. 2007, 30, 123-128

65. *Stamler R., Kappe G., Boelens W., Slingsby C.:* Wrapping the alpha-crystallin domain fold in a chaperone assembly. J. Mol. Biol. 2005, 353, 68-79

66. *Stegh A.H., Chin L., Louis D.N., DePinho R.A.:* What drives intense apoptosis resistance and propensity for necrosis in glioblastoma? A role for Bcl2L12 as a multifunctional cell death regulator. Cell Cycle 2008, 7, 2833-2839

67. *Stegh A.H., Kesari S., Mahoney J.E., Jenq H.T., Forloney K.L., Protopopov A., Louis D.N., Chin L., DePinho R.A.:* Bcl2L12-mediated inhibition of effector caspase-3 and caspase-7 via distinct mechanisms in glioblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 2008, 105, 10703-10708

68. *Steinbach J.P., Weller M.:* Apoptosis in gliomas: molecular mechanisms and therapeutic implications. J. Neurooncol. 2004, 70, 245-254

69. *Tang Q., Liu Y.F., Zhu X.J., Li Y.H., Zhu J., Zhang J.P., Feng Z.Q., Guan X.H.:* Expression and prognostic significance of the alpha B-crystallin gene in human hepatocellular carcinoma. Hum. Pathol. 2009, 40, 300-305

70. *van Montfort R.L., Basha E., Friedrich K.L., Slingsby C., Vierling E.:* Crystal structure and assembly of a eukaryotic small heat shock protein. Nat. Struct. Biol. 2001, 8, 1025-1030

71. *Vicart P., Caron A., Guicheney P., Li Z., Prevost M.C., Faure A., Chateau D., Chapon F., Tome F., Dupret J.M., Paulin D., Fardeau M.:* A missense mutation in the alphaB-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. Nat. Genet. 1998, 20, 92-95

72. *Wang K., Ma W., Spector A.:* Phosphorylation of alpha-crystallin in rat lenses is stimulated by H2O2 but phosphorylation has no effect on chaperone activity. Exp. Eye Res. 1995, 61, 115-124

73. *Wang X., Klevitsky R., Huang W., Glasford J., Li F., Robbins J.:* AlphaB-crystallin modulates protein aggregation of abnormal desmin. Circ. Res. 2003, 93, 998-1005

74. *Weller M., Malipiero U., Aguzzi A., Reed J.C., Fontana A.:* Protooncogene bcl-2 gene transfer abrogates Fas/APO-1 antibody-mediated apoptosis of human malignant glioma cells and confers resistance to chemotherapeutic drugs and therapeutic irradiation. J. Clin. Invest. 1995, 95, 2633-2643

75. *Xi J.H., Bai F., McGaha R., Andley U.P.:* Alpha-crystallin expression affects microtubule assembly and prevents their aggregation. FASEB J. 2006, 20, 846-857

76. *Zmorzyński S., Karczmarek-Borowska B., Filip A.:* Molekularne markery kancerogenezy wykorzystywane w diagnostyce i planowaniu terapii nowotworu gruczołu piersiowego. Współczesna Onkologia 2008, 12, 205-211

**Adres do korespondencji:**
Instytut Chemii Bioorganicznej
Polskiej Akademii Nauk
ul. Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań
e-mail: jan.barciszewski@ibch.poznan.pl

# Leczenie wewnątrznaczyniowe pękniętego tętniaka tętnicy tylnej dolnej móżdżku w odcinku nadmigdałkowym

## Endovascular treatment of ruptured aneurysm of the supratonsillar segment of the posterior inferior cerebellar artery

Robert Juszkat[1,2], Anna Zarzecka[2], Stanisław Nowak[1], Bartłomiej Kopaczewski[1]

[1] *z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

[2] *z Katedry Radiologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Bogdan Pawlak*

**Streszczenie**

Tętniaki dystalnych odcinków tętnicy tylnej dolnej móżdżku są niezwykle rzadkie. W niniejszej pracy przedstawiamy chorą lat 41, która została przyjęta do Kliniki z powodu krwawienia podpajęczynówkowego. Cyfrowa angiografia subtrakcyjna wykazała tętniaka tętnicy tylnej dolnej móżdżku o wym. 5,2 x 2,1 mm w odcinku nadmigdałkowym. Wykonano embolizację tętniaka za pomocą 3 spiral hydrożelowych. Okres okołozabiegowy przebiegł bez powikłań.

**Summary**

Aneurysms of the distal segments of the posterior interior cerebellar artery are very rare. We present a case of a 41-year-old woman admitted to the hospital due to subarachnoid haemorrhage. A digital subtraction angiography revealed an aneurysm of the supratonsillar segment of the posterior inferior cerebellar artery, 5.2 x 2.1 mm in diameter. A procedure of endovascular embolization of the aneurysm with the use of 3 hydrogel-coated coils was performed. Periprocedural course was uneventful.

**Słowa kluczowe:** tętnica tylna dolna móżdżku, embolizacja, krwawienie podpajęczynówkowe

**Key words:** posterior inferior cerebellar artery, embolization, subarachnoid haemorrhage

### Wstęp

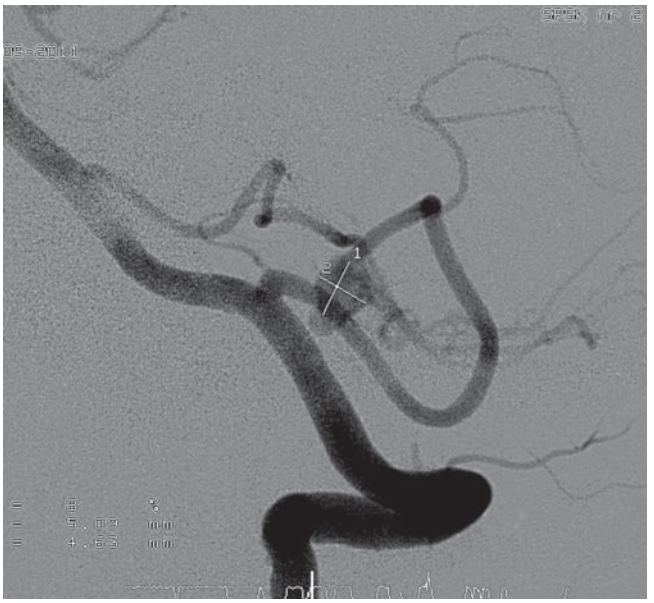
Tętniaki tętnicy tylnej dolnej móżdżku (posterior inferior cerebellar artery, PICA) są rzadkie, stanowią zaledwie 0,49-3% wszystkich tętniaków wewnątrzczaszkowych (1, 10, 12). Tętniaki te najczęściej występują w okolicy odejścia PICA od tętnicy kręgowej (5, 6), zlokalizowane na dalszych odcinkach naczynia stanowią ok. 30% tętniaków PICA (6). Tętnica tylna dolna móżdżku ma najbardziej złożony i zróżnicowany przebieg ze wszystkich tętnic mózgowych, jej odejście może przebiegać od poziomu poniżej otworu wielkiego do wysokości połączenia kręgowo-podstawnego (11). Przebieg PICA dzieli się na 5 odcinków:

1) przednio-rdzeniowy - rozpoczynający się od odejścia naczynia od tętnicy kręgowej do wyniosłości oliwki;
2) boczno-rdzeniowy - do wyjścia nerwów czaszkowych IX, X, XI;
3) migdałkowo-rdzeniowy - do poziomu migdałków, zawiera pętlę doogonową (caudal loop);
4) nadmigdałkowy - do korowej powierzchni móżdżku, obejmuje pętlę dogłowową;
5) korowy - do robaka móżdżku i półkuli (10, 11, 12).

Tętniaki małe (do 10 mm średnicy) mają większą tendencję do pękania, w porównaniu z tętniakami małymi w innych lokalizacjach (8).

W przypadku pękniętych tętniaków PICA, częściej niż w przypadku innych lokalizacji, dochodzi do krwawienia do komór i wtórnego wodogłowia. Wyjaśnieniem może być lokalizacja PICA. W jej bliskim sąsiedztwie znajdują się otwory: Lushki i Magendiego, przez które wstecznie przedostaje się wynaczyniona krew do komory czwartej (8).

Tętniaki PICA stanowią duży problem leczniczy. Ich lokalizacja sprawia, że są bardzo dużym wyzwaniem dla neurochirurgii. Jednak wraz z pojawieniem się leczenia wewnątrznaczyniowego, pojawiła się szansa dla chorych z tętniakami w tej niekorzystnej lokalizacji, zabezpieczenia wady przed krwawieniem lub ponownym krwawieniem, w sposób minimalnie inwazyjny, bez konieczności wykonania kraniotomii.



***Rycina 1.*** *Selektywna cyfrowa angiografia subtrakcyjna lewej tętnicy kręgowej - tętniak tętnicy tylnej dolnej móżdżku o wym. 5,1 x 4,6mm w odcinku nadmigdałkowym.*

***Rycina 2.*** *Road-mapping tuż po umieszczeniu końca mikrocewnika w worku tętniaka. Zwraca wagę dystalna lokalizacja tętniaka i kręty przebieg naczynia.*

***Rycina 3.*** *Road-mapping podczas umieszczania spiral w worku tętniaka.*

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie przypadku, wewnątrznaczyniowego leczenia pacjentki w ostrej fazie krwawienia podpajęczynówkowego, z powodu pękniętego tętniaka PICA odcinka nadmigdałkowego.

## Opis przypadku

Chora lat 41 została przyjęta do Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii Szpitala Klinicznego H. Święcickiego w Poznaniu, z powodu krwawienia podpajęczynówkowego zdiagnozowanego w badaniu tomografii komputerowej (TK), w pierwszej dobie od początku pojawienia się objawów klinicznych. Przy przyjęciu stan chorej określono na stopień IV w skali Hunta-Hessa, rozległość krwawienia w TK oceniono na stopień IV wg skali Fishera - rozległe krwawienie podpajęczynówkowe z przebiciem do komór. Cyfrowa angiografia subtrakcyjna (DSA) obu tętnic szyjnych wspólnych oraz lewej tętnicy kręgowej, wykazała tętniaka PICA w odcinku nadmigdałkowym, o wym. 5,2 x 2,1mm. W znieczuleniu ogólnym wykonano embolizację z zastosowaniem cewnika prowadzącego

***Rycina 4.*** *Cyfrowa angiografia subtrakcyjna tuż po zakończeniu embolizacji - prawie całkowita embolizacja tętniaka za pomocą spiral z zachowaniem drożności naczynia.*

Casasco 6F oraz mikrocewnika Vaco 10+ (Balt, Francja). Do worka tętniaka wszczepiono 3 spirale hydrożelowe (HydroCoil, Microvention). W przebiegu około zabiegowym nie odnotowano powikłań. W trzeciej dobie pacjentkę przekazano do oddziału neurologicznego innego szpitala, celem dalszego leczenia. Jej stan kliniczny przy przekazaniu oceniono na stopień III wg skali Glasgow Outcome Scale.

## Omówienie

Pierwszy przypadek tętniaka PICA opublikował Fernet w 1864 roku (2). To, co wyróżnia chorych z pękniętym tętniakiem tej lokalizacji w porównaniu z chorymi z tętniakami w innej lokalizacji, to średnia wieku, która jest niższa i wynosi 44,7 roku oraz równe występowanie zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn (10). U znakomitej większości przypadków pierwszym objawem jest krwawienie podpajęczynówkowe (10). Tętniaki zlokalizowane w dystalnych odcinkach PICA są bardzo rzadkie. W porównaniu do tętniaków zlokalizowanych w odcinku proksymalnym naczynia, częściej dają krwawienie podpajęczynówkowe z przebiciem do komór; z kolei tętniaki odcinków korowego oraz nadmigdałkowego, częściej dają krwawienie śródmóżdżkowe z przebiciem do komór (10).

Skomplikowana i bardzo zmienna anatomia PICA stanowi duży problem dla lekarzy zabiegowców. Do czasu wprowadzenia technik embolizacji wewnątrznaczyniowej, jedyną metodą leczniczą było operacyjne leczenie tętniaków w postaci klipsowania tętniaka lub zamykania całego naczynia.

Pierwsze chirurgiczne leczenie tętniaka PICA przypisuje się Olivecronie w 1932 roku (3). Od tego czasu rozwinięto i opisano różne techniki chirurgiczne oraz wewnątrznaczyniowe.

Ze względu na sąsiadujące z naczyniem struktury, takie jak nerwy czaszkowe oraz bardzo trudny dostęp operacyjny, leczenie chirurgiczne wiąże się ze znacznym ryzykiem powikłań. Horowitz i wsp. opisali, że aż u 66% chorych doszło do powikłań neurologicznych związanych z zabiegiem klipsowania tętniaka PICA, z czego 50% dotyczyła porażeń nerwów czaszkowych (5).

Celem leczenia wewnątrznaczyniowego jest wyłączenie tętniaka z krążenia poprzez wszczepienie do jego worka spiral platynowych, z zachowaniem drożności naczynia. Ze względu na fakt, że PICA ma kręty przebieg, a tętniaki na niej zlokalizowane mają często skomplikowaną morfologię, zabieg embolizacji jest trudny technicznie (13). W opisywanym przypadku udało się skutecznie całkowicie zembolizować tętniaka pozostawiając naczynie macierzyste drożne. W przypadku niekorzystnej morfologii tętniaka można zastosować dodatkowe techniki, jak remodeling balonowy lub implantację stentu, jednak w przypadku tętniaków odcinków dystalnych PICA jest to często niemożliwe. Ponadto implantacja stentu u chorych w ostrej fazie krwawienia podpajęczynówkowego nadal budzi wiele kontrowersji.

W dostępnym piśmiennictwie znaleźć można opracowania dotyczące zamykania PICA. Odcinki proksymalne PICA (przednio- i boczno-rdzeniowy) oraz przejściowe (migdałkowo-rdzeniowy) oddają liczne perforatory do pnia mózgu, dlatego zamknięcie proksymalnego odcinka PICA może spowodować niedokrwienie zaopatrywanych przez nie obszarów. Odcinki dystalne (nadmigdałkowy oraz korowy) potencjalnie nie zawierają perforatorów, stąd w sytuacjach koniecznych można zamknąć dystalny odcinek PICA (10). Wykazano, że u ok. 50% chorych PICA nie oddaje gałęzi przeszywających do rdzenia przedłużonego i że im bardziej grzbietowo odchodzi PICA, tym mniej prawdopodobne są perforatory rdzeniowe (9).

Do metod leczenia tętniaków w tej lokalizacji zalicza się także i stosuje, częściej niż zamykanie samej PICA, zamykanie tętnicy kręgowej w odcinku proksymalnym do jej odejścia (14). Wg Songa i wsp. zamykanie tętnicy kręgowej ma służyć zmniejszeniu przepływu przez PICA, co w konsekwencji ma spowodować wykrzepnięcie tętniaka (14). Wg części autorów zamykanie tętnicy kręgowej wiąże się z małym ryzykiem udaru pnia, z powodu dobrze rozwiniętej sieci połączeń pomiędzy PICA,

a innymi naczyniami - przeciwstronnej PICA, tętnicy przedniej dolnej móżdżku, czy tętnicy móżdżku górnej (7). Wg autorów niniejszej pracy, doświadczenie wskazuje, że u osób młodych należy dążyć do zachowania PICA, a tętniaki jej dystalnego odcinka mimo ich złożonej morfologii oraz krętości samej tętnicy, można zaopatrzyć wewnątrznaczyniowo z zachowaniem drożności naczynia macierzystego.

## Piśmiennictwo


1. *Bradac G.B., Bergui M.:* Endovascular treatment of the posterior inferior cerebellar artery aneurysms. Neuroradiology 2004, 46, 1006-1011
2. *Fernet:* Bull Soc Anat Paris 1864, 39, 495. Cyt. w: Dernbach P., Sila C.A., Little J.R.: Giant and multiple aneurysms of the distal posterior inferior cerebellar artery. Neurosurgery 1988, 22, 309-312
3. *Höök O., Norlén G., Guzmán J.:* Saccular aneurysms of the vertebral- basilar arterial system. A report of 28 cases. Acta Neurol Scand 1963, 39, 271–304
4. *Horiuchi T., Tanaka Y., Hongo K., Nitta J., Kusano Y., Kobayashi S.:* Characteristics of distal posteroinferior cerebellar artery aneurysms. Neurosurgery 2003, 53, 589-95
5. *Horowitz M., Kopitnik T., Landreneau F., Krummerman J., Batjer H.H., Thomas G., Samson D.:* Posteroinferior cerebellar artery aneurysms: Surgical results for 38 patients. Neurosurgery 1998, 43, 1026-1032
6. *Hudgins R.J., Day A.L., Quisling R.G., Rhoton A.L. Jr, Sypert G.W., Garcia-Bengochea F.:* Aneurysms of the posterior inferior cerebellar artery: A clinical and anatomical analysis. J Neurosurg 1983, 58, 381-387
7. *Isokangas J.M., Siniluto T., Tokkakoski T., Kumpulainen T.:* Endovascular treatment of peripheral aneurysms of the posterior inferior cerebellar artery. AJNR Am J Neuroradiol 2008, 29, 1783-1788
8. *Kallmes D.F., Lanzino G., Dix J.E., Dion J.E., Do H., Woodcock R.J., Kassell N.F.:* Patterns of hemorrhage with ruptured posterior inferior cerebellar artery aneurysms: CT findings in 44 cases. AJR Am J Roentgen 1997, 169, 1169-1171
9. *Lasjaunias P., Berenstein A., TerBrugge K.G.:* Clinical vascular anatomy and variations. In: Surgical Neuroangiography. Vol.1, 2nd ed. Berlin, Heidelberg, New York. Springer-Verlag, 2002, 249
10. *Lewis S.B., Chang D.J., Peace D.A., Lafrenz P.J., Day A.L.:* Distal posterior inferior cerebellar artery aneurysms: clinical features and management. J Neurosurg 2002, 97, 756-766
11. *Lister J.R., Rhoton A.L. Jr, Matsushima T., Peace D.A.:* Microsurgical anatomy of the posterior inferior cerebellar artery. Neurosurgery 1982, 10, 170-199
12. *Mericle R.A., Reig A.S., Burry M.V., Eskioglu E., Firment C.S., Santra S.:* Endovascular surgery for proximal posterior inferior cerebellar artery aneurysms: an analysis of Glasgow Outcome Score by Hunt-Hess grades. Neurosurgery 2006, 58, 619-625
13. *Peluso J.P., van Rooij W.J., Służewski M., Beute G.N., Majoie C.B.:* Posterior inferior cerebellar artery aneurysms: incidence, clinical presentation, and outcome of endovascular treatment. AJNR Am J Neuroradiol 2008, 29, 86-90
14. *Song H.H., Won Y.D., Kim Y.J., Kim B.S.:* The endovascular management of saccular posterior inferior cerebellar artery aneurysms. Korean J Radiol 2008, 9, 396-400



**Adres do korespondencji:**
Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Śmiertelne krwotoczne powikłanie po całkowitej embolizacji za pomocą spiral oraz stentu niepękniętego tętniaka tętnicy szyjnej wewnętrznej

## Fatal haemorrhagic complication after complete embolization with coils and stent of the unruptured aneurysm of the internal carotid artery

Robert Juszkat[1,2], Anna Zarzecka[2], Stanisław Nowak[1], Bartosz Sokół[1]

[1] *z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

[2] *z Katedry Radiologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Bogdan Pawlak*

**Streszczenie**

Tętniaki olbrzymie stanowią 3-5% wszystkich tętniaków wewnątrzczaszkowych. W niniejszej pracy przedstawiamy chorą lat 42, która została przyjęta do Kliniki z rozpoznaniem tętniaka tętnicy szyjnej wewnętrznej w badaniu tomografii komputerowej. Cyfrowa angiografia subtrakcyjna potwierdziła obecność tętniaka. U chorej, po przygotowaniu lekami hamującymi czynność płytek krwi (75 mg klopidogrelu oraz 150 mg kwasu acetylosalicylowego przez 5 dni), wykonano embolizację tętniaka wszczepiając 8 spiral oraz implantując stent. Następnego dnia doszło do nagłej utraty przytomności. Badanie tomografii komputerowej wykazało krwiaka śródmózgowego w lewej półkuli mózgu. Podczas próby dojścia do krwawiącego tętniaka, w trakcie ewakuacji krwiaka doszło do masywnego krwawienia, którego nie można było opanować dostępnymi metodami hemostatycznymi. Odstąpiono od zabiegu operacyjnego. Dobę po zabiegu stwierdzono śmierć mózgu.

**Summary**

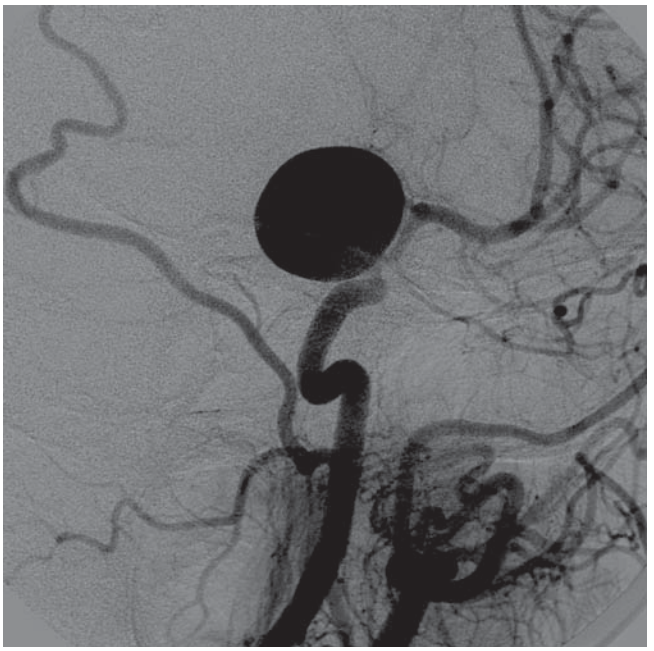
Giant aneurysms comprise 3-5% of all intracranial aneurysms. We present a case of a 42-year-old female admitted to the hospital due to the giant aneurysm of the internal carotid artery diagnosed in the computed tomography. Digital subtraction angiography confirmed the aneurysm. The patient was preloaded on 75 mg of clopidogrel and 150 mg of acetylsalicylic acid daily through 5 days. The procedure of aneurysm embolization with the use of 8 platinum coils and stent implantation was performed. Periprocedural course was uneventful. The next day the patient suddenly lost consciousness. She was sedated and intubated. A CT scan revealed a huge intracerebral haematoma. During the procedure of evacuation of the intracerebral haematoma, a massive bleeding from the internal carotid artery appeared. An attempt to stop the bleeding failed. The next day the patient was considered brain dead.

**Słowa kluczowe:** embolizacja wewnątrznaczyniowa, tętniak olbrzymi, powikłanie krwotoczne, implantacja stentu

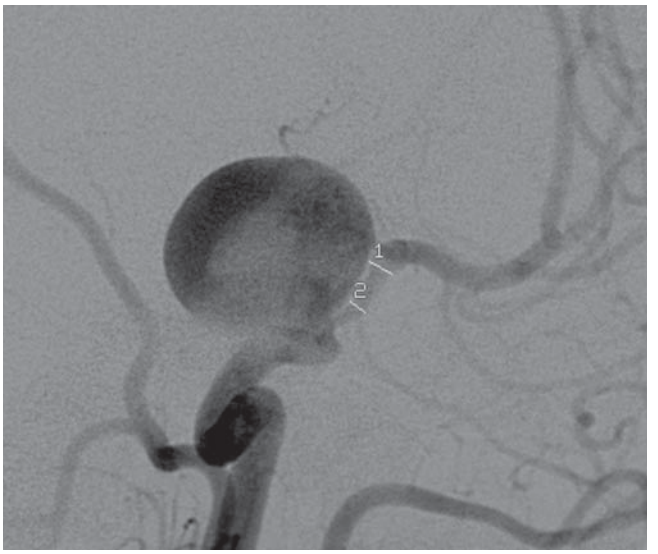
**Key words:** endovascular embolization, giant aneurysm, haemorrhagic complication, stent implantation

**Wstęp**

Tętniaki olbrzymie (o średnicy >2,5 cm), choć stanowią ok. 3-5% wszystkich tętniaków wewnątrzczaszkowych, są unikalną grupą - wiążą się z dużą chorobowością i śmiertelnością (4). Łączne, pięcioletnie ryzyko pęknięcia tętniaka olbrzymiego u pacjentów bez historii krwawienia podpajęczynówkowego ocenia się na 40% w przypadku tętniaków na przednim krążeniu i aż 50% w przypadku tętniaków na krążeniu tylnym (10). Są trudnym problemem zarówno dla neurochirurgów, jak i dla neuroradiologów zabiegowych - mają często nieregularną morfologię, szeroką szyję oraz nierzadko z ich worka wychodzi mniejsze naczynie. Tętniaki niepęknięte mogą objawiać się w różny sposób - od odkryć przypadkowych poprzez incydenty zakrzepowo-zatorowe kończąc na poważnym efekcie masy (4). Stąd cele leczenia tętniaków olbrzymich



A



B

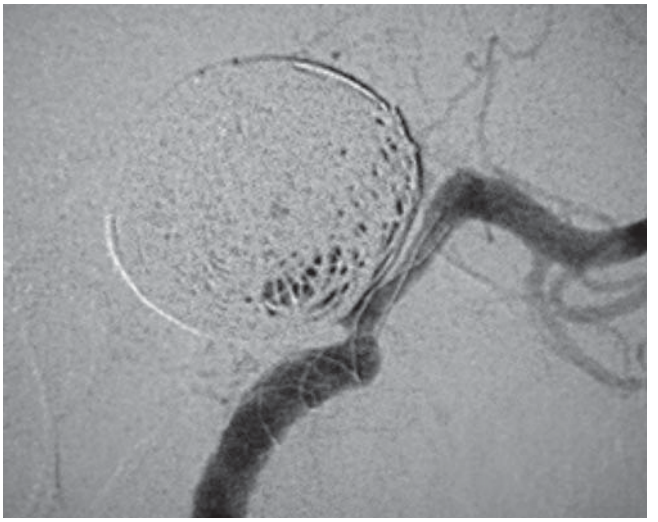
***Rycina 1.*** *Selektywna cyfrowa angiografia subtrakcyjna tętnicy szyjnej wspólnej lewej - tętniak tętnicy szyjnej wewnętrznej lewej.*

są 3 - zapobieżenie pęknięciu, redukcja objętości tętniaka w celu zmniejszenia efektu masy oraz prewencja powikłań zakrzepowo-zatorowych.

Celem pracy jest przedstawienie przypadku śmiertelnego powikłania krwotocznego niepękniętego tętniaka 42-letniej pacjentki po całkowitej embolizacji za pomocą spiral platynowych i stentu.

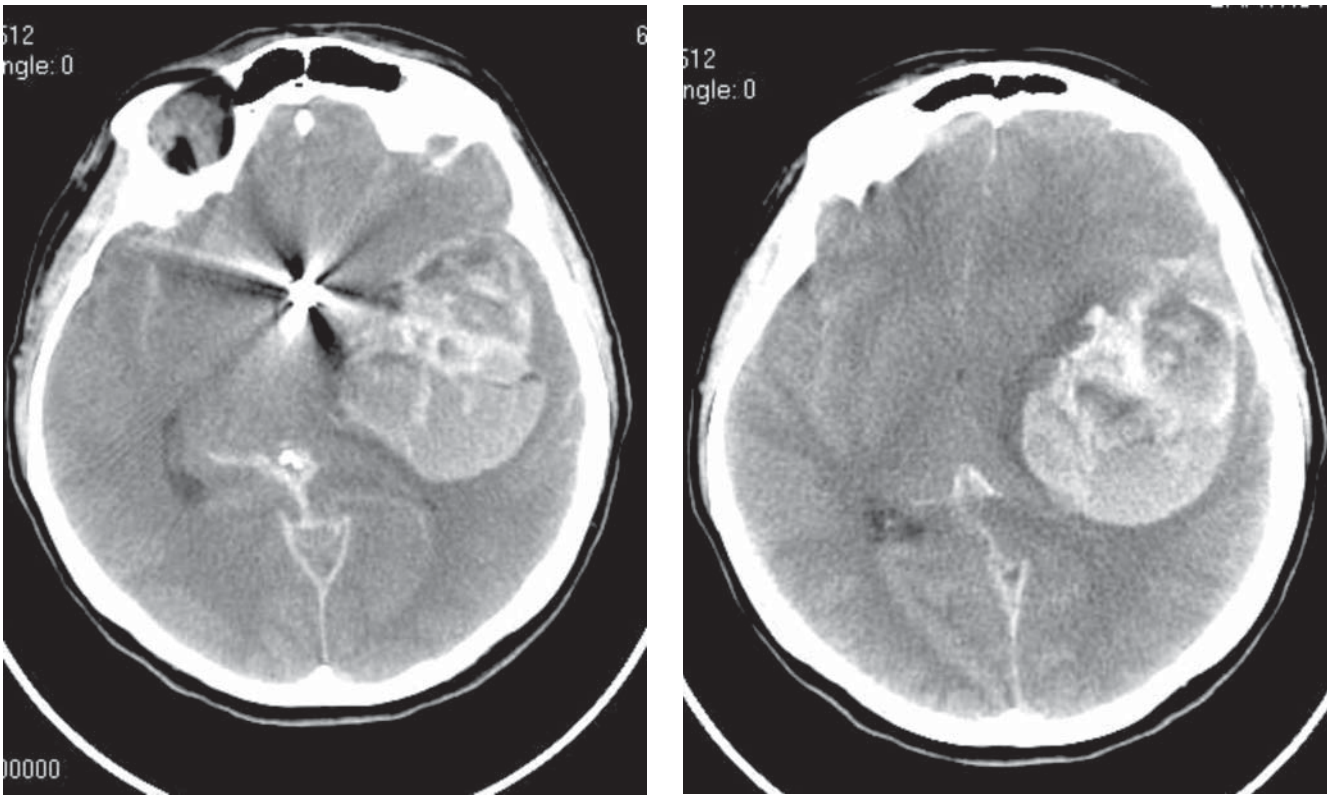
## Opis przypadku

Chora lat 42 została przyjęta do Kliniki Neurochirugii i Neurotraumatologii Szpitala Klinicznego H. Święcickiego w Poznaniu z powodu tętniaka tętnicy szyjnej wewnętrznej zdiagnozowanego w badaniu angiografii tomografii komputerowej (angioTK). Badanie angioTK zostało wykonane u pacjentki z powodu wieloletnich bólów głowy. Przy przyjęciu chora bez ubytkowych objawów neurologicznych. Dotychczas nie chorowała. Cyfrowa angiografia subtrakcyjna (DSA) obu tętnic szyjnych wspólnych wykazała tętniaka tętnicy szyjnej wewnętrznej lewej o szerokiej szyi. Ze względu na duży rozmiar tętniaka oraz szeroką szyję zadecydowano o konieczności implantacji stentu u pacjentki. Po pięciodniowym farmakologicznym przygotowaniu chorej (75 mg klopidogrelu oraz 150 mg kwasu acetylosalicylowego dziennie) w znieczuleniu ogólnym pacjentki, wykonano zabieg embolizacji. Zabieg wykonano z zastosowaniem cewnika prowadzącego Casasco 6F (Balt, Francja) oraz mikrocewników Vasco 10+ i Vasco 21+ (Balt, Francja). Przed implantacją stentu zadecydowano o próbie implantacji spiral do worka tętniaka. W worku tętniaka ułożono skutecznie 8 spiral platynowych (MDS, Balt, Francja). Ze względu na duże



***Rycina 2.*** *Angiografa kontrolna po embolizacji za pomocą spiral oraz po implantacji stentu - prawie całkowita embolizacja tętniaka.*

ryzyko rekanalizacji, jakie ma miejsce w przypadku wewnątrznaczyniowego leczenia tętniaków dużych, zaimplantowano chorej stent Leo 3,5 x 25 mm (Balt, Francja). Podczas zabiegu chorej podano dożylnie 5000 jednostek heparyny niefrakcjonowanej. Przebieg okołozabiegowy i bezpośrednio po zabiegu i znieczuleniu bez powikłań. Trzydziestominutowa obserwacja angiograficzna, wykonywana rutynowo u chorych po implantacji stentu, nie wykazała cech zakrzepicy w obrębie stentu. Chora po zabiegu w stanie ogólnym dobrym, bez neurologicznych



A B

***Rycina 3.*** *Badanie tomografii komputerowej - krwiak śródmózgowy w lewej półkuli mózgu na pograniczu skroniowo-ciemieniowym o wymiarach 70 x 41 mm oraz przyśrodkowo od wyżej wymienionej zmiany widoczna hypodensyjną strefę o szerokości 8 mm odpowiadająca zmianom niedokrwienno-obrzękowym; masywny obrzęk mózgu.*

objawów ubytkowych. Następnego dnia rano u chorej doszło do napadu padaczkowego i nagłej utraty przytomności z poszerzeniem źrenicy lewej. Chora została sedowana i zaintubowana. Wdrożono leczenie przeciwpadaczkowe. Badanie KT wykonane w krótkim czasie po utracie przytomności wykazało stan po implantacji stentu do tętnicy szyjnej wewnętrznej lewej powodujący liczne artefakty utrudniające ocenę mózgowia, krwiaka śródmózgowego w lewej półkuli mózgu na pograniczu skroniowo ciemieniowym o wymiarach 70 x 41 mm oraz przyśrodkowo od wyżej wymienionej zmiany widoczną hypodensyjną strefę o szerokości 8 mm odpowiadającą zmianom niedokrwienno-obrzękowym. Pomimo włączonych leków hamujących aktywność płytek krwi, z uwagi na poszerzenie źrenicy pacjentka została zakwalifikowana do zabiegu operacyjnego odbarczenia krwiaka. Wykonano kraniotomię czołowo-skroniowo-ciemieniową lewostronną, śródoperacyjnie stwierdzono masywny obrzęk mózgu z towarzyszącym wgłobieniem mózgowia w kraniotomię, co uniemożliwiło proksymalną kontrolę tętniaka. W trakcie ewakuacji krwiaka celem dojścia do krwawiącego tętniaka doszło do masywnego krwawienia, którego nie można było opanować dostępnymi metodami hemostatycznymi. Tętniak pozostawiono niezabezpieczony. Po zabiegu stwierdzono obustronnie poszerzone, niereagujące źrenice. Kontrolne badanie angiograficzne wykonane 24h po zabiegu wykazało brak przepływu krwi przez naczynia mózgowe, co było potwierdzeniem śmierci mózgu.

## Omówienie

W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest opisów przypadków powikłań krwotocznych związanych z embolizacją tętniaków niepękniętych, nie będących wynikiem perforacji tętniaka w trakcie zabiegu.

W celu podjęcia próby wytłumaczenia co stało się w opisywanym przypadku, trzeba zrozumieć procesy patofizjologiczne, do których dochodzi po embolizacji tętniaka za pomocą spiral platynowych. Służewski i wsp. dowiedli, że nie więcej niż 20-25% objętości tętniaka jest wypełniona spiralami nawet w sytuacjach, gdy angiograficznie wydaje się być on całkowicie zembolizowany (7). Pozostała przestrzeń zostaje wypełniona, w zależności od długości czasu jaki upłynął od embolizacji, przez różne elementy morfotyczne krwi. Do piątego dnia od embolizacji za pomocą spiral

platynowych mikroskopowe badanie histopatologiczne ujawniło skrzeplinę zwierającą dużą ilość erytrocytów oraz fibrynę, pomiędzy skrzepliną a ścianą naczynia znaleziono niewielką ilość makrofagów i fibroblastów (5). W 13 dniu od embolizacji, preparat tętniaka embolizowanego za pomocą spiral ujawnił pomiędzy zwojami spiral skrzeplinę, która wystawała do światła naczynia macierzystego, całkowicie pokrytą warstwą podłużnych komórek przypominających śródbłonek (5). W obrębie skrzepliny znajdowały się duże makrofagi piankowate, zwłaszcza w okolicy zwojów spiral (5). Preparat tętniaka tętnicy łączącej przedniej wykonany w 20 dniu od embolizacji wykazał świeżą skrzeplinę w obrębie tętniaka składającą się z fibryny oraz erytrocytów. Ponadto wykazał w obrębie początkowych odcinków obu tętnic przednich mózgu proliferację błony wewnętrznej złożoną z kolagenu, fibrocytów oraz niewielkiej ilości makrofagów - przewężającą światło naczyń ok. 50% (5). Preparat histologiczny wykonany z tętniaka podziału tętnicy podstawnej 272 dni po embolizacji wykazał bardzo cienką ścianę tętniaka- o grubości zaledwie od 60 do 400 μm, składającą się jedynie z kilku warstw kolagenu. Tkanka łączna zawierająca mikronaczynia całkowicie wypełniała worek tętniaka i obejmowała spirale. W okolicy spiral ujawniono niewielką ilość dużych komórek wielojądrowych. Okolica szyi tętniaka była całkowicie pokryta warstwą podłużonych komórek przypominających endotelium (5). Umieszczenie spiral w worku tętniaka zmienia nagle napływ krwi do worka tętniaka pozwalając na wstępne wykrzepianie (3). Dodatkowo implantacja stentu znacznie zmienia napływ krwi do worka tętniaka - po przepłynięciu przez oczka stentu strumień płynu traci swoją koherencję, uderza już niewielką, jeśli jakąkolwiek, siłą na ścianę tętniaka. Wpływający strumień pozostaje w centrum worka tętniaka, a następnie opuszcza worek tętniaka w znacznie rozproszonej formie (8). Zatem umieszczenie spiral w worku tętniaka i stentu na wysokości szyi tętniaka znacznie zmniejsza napływ do worka tętniaka, co sprzyja stagnacji i tworzeniu się skrzepliny. Wyżej wymienione czynniki w połączeniu z reakcją ściany naczynia na ciało obce (spirala) inicjują proces formowania rany w początkowo niezorganizowanej skrzeplinie. Ma to jednak miejsce w kilka - kilkanaście dni po embolizacji. W opisywanym przypadku u chorej doszło do krwawienia kilkanaście godzin od embolizacji - worek tętniaka wypełniony był w tym czasie prawdopodobnie jedynie świeżą, czerwoną skrzepliną. Kluczowy jest w tym przypadku fakt, że chora w ramach przygotowania do implantacji stentu przez 5 dni otrzymywała klopidogrel oraz kwas acetylosalicylowy - w celu zahamowania czynności agregacyjnej płytek krwi. Opis przypadku śmiertelnego krwawienia podpajęczynówkowego 20 dni po implantacji stentu kierunkującego przepływ krwi Silk (Balt) opisali Turowski i wsp. (8). Badanie TK głowy wykonane 3 dni po zabiegu z powodu zaburzeń widzenia wykazało izodensyjność tętniaka, wskazującą na brak obecności skrzepliny w obrębie tętniaka. AngioTK wykazało całkowite zakontrastowanie tętnicy szyjnej wewnętrznej oraz worka tętniaka - bez cech ubytku wypełnienia. Zaburzenia widzenia minęły po trzydniowej terapii kortykosteroidami. Badanie TK głowy wykonane 11 dni po zabiegu wykonane z powodu nawracających bólów głowy wykazało prawie całkowitą hyperdensyjność worka tętniaka (66 HU) wskazującą na formowanie skrzepliny w obrębie tętniaka - bogatą w hemoglobinę - tzw. skrzeplinę czerwoną (8). Dwadzieścia dni od implantacji stentu Silk doszło do nagłej utraty przytomności pacjenta. TK głowy wykazało masywne krwawienie podpajęczynówkowe z przebiciem do układu komorowego. Implantacja stentu kierunkującego napływ krwi powoduje stagnację krwi w worku tętniaka, co z kolei prowadzi do formowania się skrzepliny wynikającej z zastoju krwi - skrzepliny czerwonej. Taki rodzaj skrzepliny jest niestabilny, ponadto z powodu dużej zawartości leukocytów, ma znacznie wyższą aktywność lityczną enzymów takich jak elastaza w porównaniu ze skrzepliną białą - bogato płytkową (8, 9). Autorzy uznali, że brak zorganizowanej, stabilnej skrzepliny stał się przyczyną pęknięcia tętniaka (8). W prezentowanym przypadku, połączone zostały dwie techniki wewnątrznaczyniowe - stent oraz spirale. W tak krótkim czasie w worku tętniaka mogła powstać jedynie skrzeplina czerwona. Znaczne wydłużenie procesu organizacji skrzepliny bądź całkowita eliminacja formowania skrzepliny białej spowodowane jest tym, że czynność płytek jest znacznie obniżona ze względu na pięciodniowe przygotowanie klopidogrelem oraz kwasem acetylosalicylowym. Autorzy prac podkreślają znaczenie spiral bioaktywnych - wywołujących odpowiedź biologiczną, a co za tym idzie szybszą organizację stabilnej skrzepliny (8). U omawianej chorej, drugim czynnikiem przyczyniającym się do krwawienia wewnątrzczaszkowego mogła stać się nagła zmiana warunków hemodynamicznych w samej tętnicy szyjnej wewnętrznej. Do momentu embolizacji znaczny prąd krwi wpływał do worka tętniaka i wypływał z niego ze znacznie mniejszą siłą. Po embolizacji większa część prądu krwi została przekierowana przez światło naczynia macierzystego ze znacznie większą siłą. Co więcej, tętnica szyjna wewnętrzna tuż poniżej szyi tętniaka była istotnie przewężona, co także mogło mieć wpływ na panujące w naczyniu warunku hemodynamiczne.

Istotnym problem jest również decyzja odnośnie kwalifikacji chorych do zabiegu operacyjnego ewakuacji krwiaka śródmózgowego zażywających kwas acetylosalicylowy i klopidogrel. Leki te powodują trwałe zahamowanie aktywności funkcji płytek krwi, które trwa do 5 dni od zaprzestania podawania leku. W pilnych przypadkach

można rozważyć podanie świeżych płytek krwi, jednak klopidogrel utrzymuje się w krążeniu krwi przez kilka dni od ostatniej dawki przez co może zahamować również aktywność świeżo przetoczonych płytek (1). Czas półtrwania kwasu acetylosalicylowego jest krótszy i efekt ten powinien już być nieobecny po 1 dniu od zaprzestania podawania kwasu acetylosalicylowego. Proponowanym sposobem odwrócenia aktywności klopidogrelu może być podawanie rekombinowanego aktywowanego czynnika krwi VIIa i ciągła transfuzja świeżych płytek krwi (6).

Prezentowany w niniejszej pracy przypadek chorej pokazuje, że nawet w tętniakach prawie całkowicie zabezpieczonych - wypełnionych spiralami i po implantacji stentu może dojść to tak poważnego powikłania jakim jest pęknięcie worka tętniaka. Ryzyko pęknięcia tętniaka należy mieć na uwadze przy planowaniu leczenia wewnątrznaczyniowego.

## Piśmiennictwo


1. *Altenburg A., Haage P.:* Antiplatelet and anticoagulant drugs in interventional radiology. Cardiovasc Intev Radiol 2011, DOI 10.1007/s00270-011-0204-0
2. *Bendszus M., Hagel C., Maurer M., Schutz A., Vince G.H., Monoranu M.C., Solymosi L.:* Fatal recurrent subarachnoid hemorrhage after complete endovascular aneurysm occlusion. AJNR Am J Neuroradiol 2006, 27, 2058-2060
3. *Gobin YP, Counord JL, Flaud P, Duffaux J.:* In vitro study of haemodynamics in a giant saccular aneurysm model: influence of flow dynamics in the parent vessel and effects of coil embolisation. Neuroradiology 1994, 36, 530-536
4. *Gonzalez N.E., Duckwiler G., Jahan R., Murayama Y., Vinuela F.:* Challenges of the endovascular treatment of giant intracranial aneurysms. Neurosurgery 2006, 59, S3-113-S3-126
5. *Groden C., Hagel C., Delling G., Zeumer H.:* Histological findings in ruptured aneurysms treated with GDCs: six examples at varying times after treatment. AJNR Am J Neuroradiol 2003, 24, 579-584
6. *Masotti L., Di Napoli M., Godoy D.A., Rafanelli D., Liumbruno G., Koumpouros N., Landini G., Pampana A., Cappelli R., Poli D., Prisco D.:* The practical management of intracerebral hemorrhage associated with oral anticoagulant therapy. Int J Stroke 2011, 6, 228-240
7. *Sluzewski M., van Rooij W.J., Slob M.J.:* Relation between aneurysm volume, packing, and compaction in 145 cerebral aneurysms treated with coils. Radiology 2004, 231, 653-658
8. *Turowski B., Macht S., Kulcsar Z., Hanggi D., Stummer W.:* Early fatal hemorrhage after endovascular cerebral aneurysm treatment with flow diverter (SILK-stent). Neuroradiology 2011, 53, 37-41
9. *Weisel J.W., Litvinov R.I.:* The biochemical and physical process of fibrynolysisb and effects of clot structure and stability on the lysis rate. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem 2008, 6, 161-180
10. *Wiebers D.O., Whisnant J.P., Huston J. 3rd, Meissner I., Brown R.D., Piepgras D.G., Forbes G.S.*: Unruptured intracranial aneurysms: Natural history, clinical outcome, and risks of surgical and ndovascular treatment. Lancet 2003, 362, 103-110



**Adres do korespondencji:**
Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Całkowite wyłączenie z krążenia tętniaka odcinka A1 tętnicy przedniej mózgu po implantacji samorozprężalnego stentu Leo Plus bez użycia spiral

## Complete obliteration of the A1 segment of the anterior cerebral artery aneurysm after Leo Plus stent implantation without coiling

Robert Juszkat[1,2], Stanisław Nowak[1], Anna-Maria Barciszewska[1], Katarzyna Stanisławska[2]

[1] *z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

[2] *z Katedry Radiologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Bogdan Pawlak*

**Streszczenie**

Tętniaki tętnicy przedniej mózgu w odcinku A1 występują niezwykle rzadko i są wyzwaniem terapeutycznym zarówno dla neurochirurgów, jak i neuroradiologów zabiegowych ze względu na duże ryzyko zabiegu. W poniższej pracy przedstawiamy przypadek leczenia wewnątrznaczyniowego 65-letniej pacjentki, u której zdiagnozowano tętniaka o szerokiej szyi tętnicy przedniej mózgu prawej w odcinku A1. Tętniak został całkowicie wyłączony z krążenia poprzez zastosowanie stentu Leo Plus bez konieczności wszczepienia spiral do worka tętniaka. Dwa kolejne badania angiograficzne, po 6 i 20 miesiącach od zabiegu, wykazały swobodny przepływ krwi przez tętnicę przednią mózgu, bez cech napływu krwi do worka tętniaka.

**Summary**

Anterior cerebral artery (ACA) aneurysms in A1 segment occur rarely and are a challenge to treat both for neurosurgeons and interventional neuroradiologists, because of high risk of the procedure. We report the case of 65-year-old woman who was admitted to our hospital due to a diagnosed wide neck aneurysm of right ACA in A1 segment. The aneurysm was treated successfully with Leo Plus stent implantation without coiling. Follow-up angiography performed after six and twenty months demonstrated complete aneurysm occlusion.

**Słowa kluczowe:** tętniak, tętnica przednia mózgu, stent, embolizacja

**Key words:** aneurysm, anterior cerebral artery, stent, embolization

**Wstęp**

Tętniaki tętnicy przedniej mózgu w odcinku A1 są bardzo rzadkie i stanowią mniej niż 1% wszystkich tętniaków wewnątrzczaszkowych, a ich leczenie, zarówno neurochirurgiczne, jak i endowaskularne, uważa się za trudne ze względu na duże ryzyko krwawienia z tętniaka oraz częste występowanie naczyń odchodzących z worka tętniaka lub jego bezpośredniego sąsiedztwa (tętnica soczewkowo - prążkowiowa oraz tętnica Hubnera) (13, 14).

W ostatnich latach nastąpił ogromny postęp w zakresie metod leczenia, które można zaproponować pacjentom z tętniakami wewnątrzczaszkowymi. Wraz z pojawieniem się stentów wewnątrzczaszkowych tętniaki o niekorzystnym współczynniku worek - szyja, których klasyczna embolizacja z użyciem spiral wiązała się z ryzykiem ich wypadnięcia do naczynia, nie są już przeciwwskazaniem do interwencji endowaskularnej. Dość powszechną metodą leczenia takich tętniaków jest embolizacja z remodelingiem balonowym lub implantacją stentu z następowym wprowadzeniem spiral. Jednak niewiele jest doniesień na temat wyłączenia z krążenia tętniaka za pomocą samego stentu (5). Przedstawiany przez nas przypadek jest, według naszej wiedzy, pierwszym opisem dotyczącym tętniaka odcinka A1 tętnicy przedniej mózgu leczonym taką metodą.

Postępowanie terapeutyczne dotyczyło 65-letniej pacjentki z niekrwawiącym tętniakiem odcinka A1 tętnicy

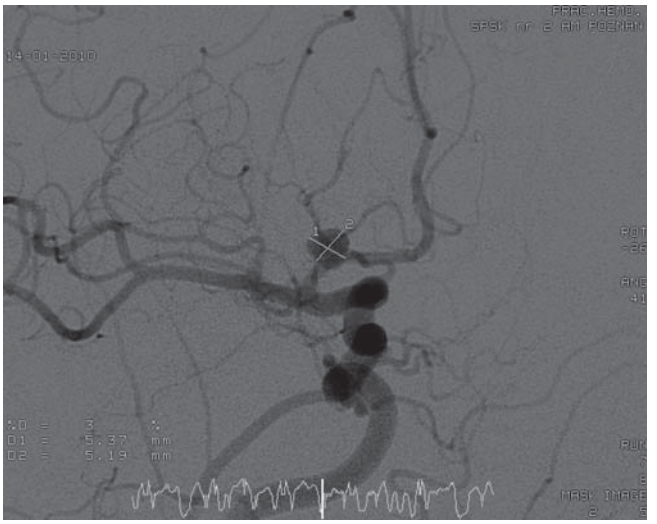
przedniej mózgu prawej, skutecznie leczonym poprzez implantację stentu Leo Plus, bez konieczności wszczepienia spiral w kolejnym etapie leczenia. Kontrolne angiografie, kolejno po 6 i 20 miesiącach od zabiegu, wykazały całkowite wyłączenie tętniaka z krążenia.

## Opis przypadku

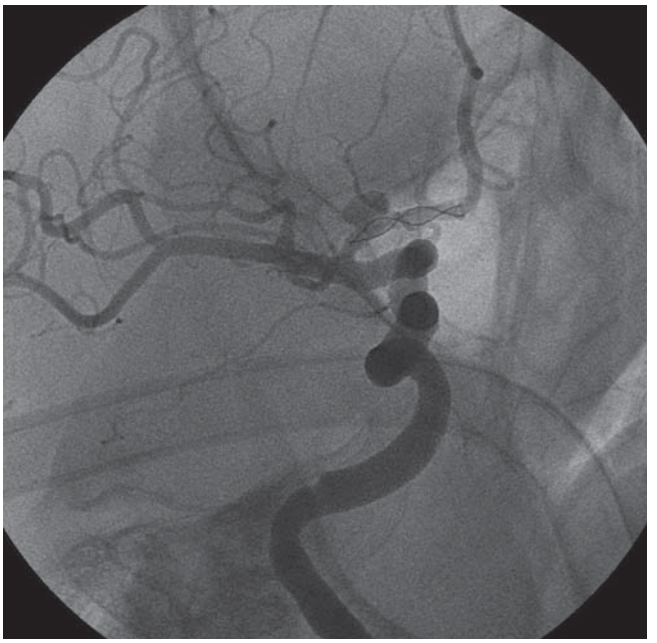
Pacjentka w wieku 65 lat została przyjęta do Kliniki Neurochirurgii celem poszerzenia diagnostyki i leczenia wewnątrznaczyniowego niekrwawiącego tętniaka tętnicy przedniej mózgu prawej w odcinku A1, stwierdzonego w badaniu MRI głowy. Badanie obrazowe wykonano z powodu wieloletnich bólów głowy. Poza tętniakiem tętnicy przedniej mózgu, badanie MR wykazało również obecność guza przysadki. Przy przyjęciu do Kliniki pacjentka była przytomna, w logicznym kontakcie słownym, wydolna krążeniowo i oddechowo, w badaniu neurologicznym nie stwierdzono istotnych odchyleń od stanu prawidłowego (poza zaburzeniami ostrości wzroku). W wywiadzie: nadciśnienie tętnicze, angiopatia nadciśnieniowa (II°), choroba niedokrwienna serca (CCS II), niewydolność krążenia (NYHA II), zaburzenia rytmu serca, hiperlipidemia mieszana, cukrzyca insulinoniezależna, przewlekłe zapalenie tarczycy typu Hashimoto w stanie wyrównanej hipotyreozy, zapalenie błony śluzowej żołądka, zespół jelita drażliwego, przepuklina rozworu przełykowego, żylaki odbytu (II°), stłuszczenie wątroby, choroba zwyrodnieniowa kręgosłupa, obustronny zespół cieśni nadgarstka, zaćma obu oczu, cholecystektomia z powodu kamicy (1990), apendektomia (1968), tonsilektomia (1975), histerektomia bez przydatków z powodu mięśniaków macicy (1987).

Podczas angiografii naczyń mózgowych stwierdzono obecność tętniaka tętnicy przedniej mózgu prawej w odcinku A1 o wymiarach: 5.4 x 5.2 mm i szerokiej szyi, który zakwalifikowano do implantacji stentu (ryc. 1). Pacjentka została przygotowana farmakologicznie za pomocą dwóch leków przeciwpłytkowych - klopidogrel 75 mg/dobę oraz kwas acetylosalicylowy 75 mg/dobę przez 5 dni - jest to w naszym ośrodku rutynowe postępowanie, w przypadkach niekrwawiących tętniaków zakwalifikowanych do planowanego zabiegu implantacji stentu wewnątrzczaszkowego i, według nas, pozwala ono na optymalne przygotowanie pacjenta i zminimalizowanie ryzyka powikłań zakrzepowych.

Z uwagi na niekorzystny stosunek wymiaru szyi do średnicy worka tętniaka, podjęto decyzję o embolizacji z użyciem stentu i ewentualnym późniejszym wypełnieniu worka tętniaka spiralami wprowadzonymi przez oczka stentu. Zabieg został przeprowadzony w znieczuleniu ogólnym. Po wprowadzeniu introduktora do tętnicy udowej podano dożylnie 5000 j. heparyny. Następnie cewnik prowadzący 6 Fr Casasco (Balt, Montmorency, Francja)

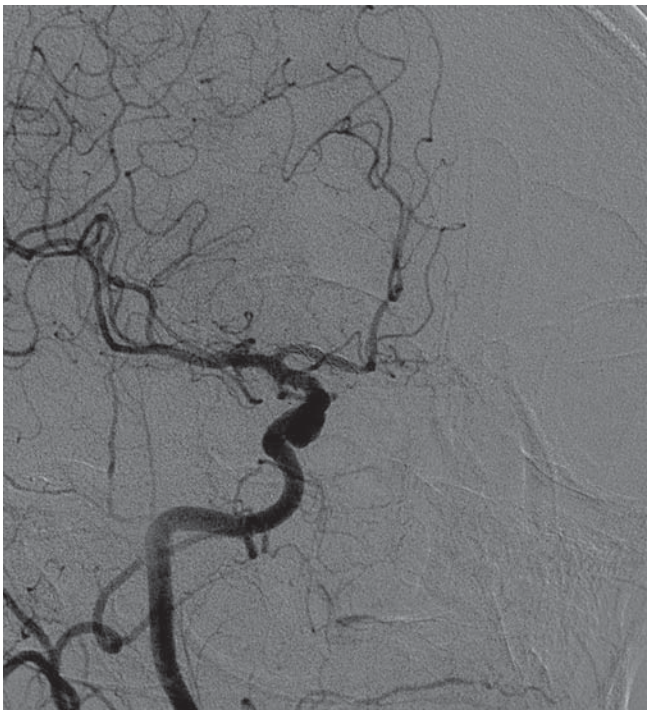


***Rycina 1.*** *Angiografia obrazująca tętniaka odcinka A1 tętnicy przedniej mózgu prawej o wymiarach 5.4 x 5.2 mm i szerokiej szyi.*

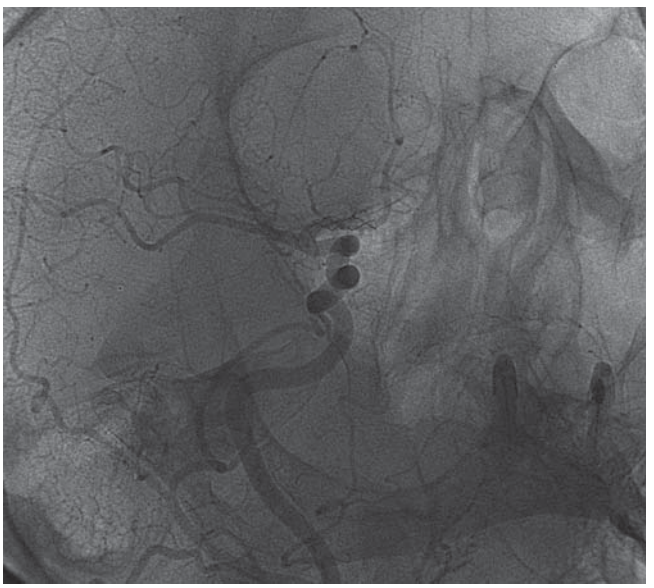


***Rycina 2.*** *Angiografia wykonana bezpośrednio po implantacji stentu do odcinka A1 tętnicy przedniej mózgu prawej obrazująca efekt zabiegu.*

został wprowadzony do tętnicy szyjnej wewnętrznej prawej. Mikrocewnik Vasco 21+ (Balt, Montmorency, Francja) został wprowadzony po mikroprowadniku 0.0014 (Balt, Montmorency, Francja) dystalnie do szyi tętniaka. System prowadzący stent Leo Plus (Balt, Montmorency, Francja) został wprowadzony do mikrocewnika Vasco. Stent Leo Plus 2,5 x 12 mm został rozprężony w tętnicy przedniej mózgu prawej w okolicy odejścia tętniaka w odcinku A1 (ryc. 2). Angiografia wykonana



***Rycina 3.*** *Angiografia kontrolna wykonana po 6 miesiącach od zabiegu. Widoczny brak napływu krwi do worka tętniaka tętnicy przedniej mózgu prawej.*



***Rycina 4.*** *Angiografia kontrolna wykonana po 20 miesiącach od zabiegu. Tętniak tętnicy przedniej mózgu prawej jest całkowicie wyłączony z krążenia.*

bezpośrednio po implantacji stentu wykazała istotne zmniejszenie napływu krwi do worka tętniaka. Kontrolna angiografia wykonana 6 miesięcy po implantacji stentu wykazała całkowity brak napływu krwi do worka tętniaka, wobec czego odstąpiono od dalszych etapów leczenia (ryc. 3). Następna angiografia wykonana po kolejnych 14 miesiącach potwierdziła całkowite wyłączenie tętniaka z krążenia (ryc. 4).

Po leczeniu wewnątrznaczyniowym pacjentka przeszła transsfenoidalne usunięcie guza przysadki (HP: null cell adenoma) oraz fakoemulsyfikację soczewki z implantacją soczewki do torebki soczewki oka lewego z powodu zaćmy.

## Dyskusja

Implantacja stentów wewnątrzczaszkowych staje się uznaną metodą leczenia tętniaków o szerokiej szyi, których leczenie klasyczną embolizacją byłoby ryzykowne, z uwagi na możliwość wypadnięcia spiral do światła naczynia. Początkowo implantacja stentu była techniką wspomagającą embolizację z użyciem spiral. Umożliwia ona całkowite upakowanie worka tętniaka spiralami oraz powoduje zmianę charakteru przepływu krwi przez naczynie zapobiegając „ubiciu" się spiral w strefie zwiększonego napływu, a co za tym idzie, zmniejsza ryzyko rekanalizacji tętniaka. Stent może również stać się rusztowaniem dla odbudowującego się endotelium (5, 11).

Jest wiele doniesień na temat leczenia tętniaków naczyń mózgowych przy pomocy stentów i spiral odczepialnych (4, 5, 6, 11). W części przypadków stent był implantowany w pierwszym etapie leczenia, a w kolejnym wypełniano worek tętniaka spiralami przez oczka stentu. W innych pracach stent był wykorzystywany jako rusztowanie dla uprzednio implantowanych spiral. Taka technika pozwala przede wszystkim na zabezpieczeniu spiral w worku tętniaka przed migracją do naczynia. Stosuje się ją także jako procedurę „ratunkową" w przypadkach embolizacji klasycznej, podczas której doszło do protruzji spiral do światła naczynia. Mimo zalet płynących z użycia stentów wewnątrzczaszkowych, istnieją również pewne zagrożenia z nimi związane. Do najczęstszych z nich należą incydenty zakrzepowo-zatorowe po wprowadzeniu stentu do naczynia. Akpek i wsp. zanotowali wystąpienie ostrej zakrzepicy w stencie u 6 z 34 leczonych pacjentów (1). W tych przypadkach skuteczna okazała się dotętnicza infuzja abciksimabu (1). Szikora i wsp. opisują 1 przypadek zakrzepicy na 9 implantowanych stentów. Przyczyn tego powikłania upatrują w suboptymalnym rozprężeniu stentu. Sugerują, iż aby zapobiec tego typu incydentom, należy rozprężyć stent w taki sposób, aby dystalny i proksymalny koniec stentu znajdował się w możliwie najbardziej prostym odcinku tętnicy (11).

Poza technicznymi aspektami tego zabiegu należy mieć na uwadze odpowiednią terapię przeciwpłytkową przed procedurą wszczepienia stentu. Nadal rozważane jest bezpieczeństwo stosowania podwójnej terapii przeciwpłytkowej oraz schematu jej stosowania. Zmniejsza ona w znacznym stopniu ryzyko zdarzeń zakrzepowo-

zatorowych, zwiększając jednocześnie ryzyko krwawienia. Osobnym problemem jest stosowanie klopidogrelu i kwasu acetylosalicylowego w ostrej fazie krwawienia podpajęczynówkowego u pacjentów z pękniętymi tętniakami, wymagających interwencji wewnątrznaczyniowej z użyciem stentu (4, 5, 11). Lessne i wsp. odnotowali 3,1% częstotliwość występowania incydentów zakrzepowo-zatorowych w przypadku zabezpieczania stentem tętniaków niepękniętych i 20% - pękniętych. Przyczyną tego zjawiska może być ograniczenie stosowania leków przeciwpłytkowych w przypadku krwawienia podpajęczynówkowego (7).

W opisywanym przypadku leczenie przeciwpłytkowe zostało włączone już 5 dni przed procedurą, jako przygotowanie do implantacji stentu. Po zabiegu nie odnotowano powikłań zakrzepowo–zatorowych ani krwotocznych, wynikających z przyjętego przez nas schematu leczenia przeciwpłytkowego.

Mimo konieczności wcześniejszego przygotowania pacjenta oraz zaplanowania zabiegu zastosowanie remodelingu z użyciem stentu wiąże się ze skutecznością (całkowitym wyłączeniem tętniaka z krążenia) bliską 100%, co przyczyniło się do coraz szerszego stosowania tej techniki (2, 8). Coraz częstsze w ostatnich latach stosowanie tej metody wiąże się również z mniejszą ilością problemów technicznych w trakcie implantacji oraz dużej efektywności stentowania tętnic mózgowych, w porównaniu z pierwszymi zabiegami z użyciem stentów wewnątrzczaszkowych (9).

Dotychczas opublikowano niewiele doniesień o przypadkach wyłączenia tętniaka z krążenia jedynie za pomocą stentu. Lylyk i wsp. w swojej grupie 72 leczonych tętniaków opisał 5, u których doszło do wykrzepnięcia worka tętniaka po implantacji stentu (8). Szikora i wsp. donosi o 3 przypadkach tętniaków leczonych tylko z użyciem stentu. W dwóch przypadkach (tętniak tętnicy szyjnej wewnętrznej oraz tętniak tętnicy kręgowej) zadecydowano o jednoczasowej implantacji drugiego stentu natychmiast po stwierdzeniu znaczącego zmniejszenia przepływu przez worek tętniaka. Celem wszczepienia kolejnego stentu było zagęszczenie siatki pokrywającej szyję tętniaka i doprowadzenie do dalszej redukcji przepływu. We wszystkich przypadkach uzyskano efekt widoczny w badaniu angiograficznym bezpośrednio po zabiegu, jak i w badaniach kontrolnych (minimum 6 miesięcy po zabiegu) oraz kliniczny (11).

Implantacja samego stentu do światła naczynia, zmieniająca w ten sposób przepływ krwi w tętniaku, wydaje się być optymalnym sposobem leczenia tętniaków o szerokiej szyi, jak i tętniaków olbrzymich. Zapobiega ona efektowi masy, powstającemu w przypadku klasycznej embolizacji tętniaków olbrzymich (10) oraz zabezpiecza tętniaki o szerokiej szyi, których leczenie za pomocą spiral jest niemożliwe. Znacznie rzadziej niż incydenty zakrzepowo-zatorowe opisywane są powikłania krwotoczne. Turowski i wsp. opisali przypadek krwawienia podpajęczynówkowego po implantacji stentu (stent SILK) do tętnicy szyjnej wewnętrznej. W dyskusji zwraca uwagę na udział skrzepu czerwonego, który jest bardziej niestabilny niż biały i cechuje się dużą aktywnością enzymów proteolitycznych, które mogą uszkadzać ścianę tętniaka i prowadzić do jej pęknięcia (12). Nie jest to jednak powikłanie, które powinniśmy wiązać jedynie z zabiegami, w trakcie których implantowany jest stent wewnątrzczaszkowy jako jedyne zabezpieczenie tętniaka. Opisywane są również podobne przypadki po całkowitym zamknięciu tętniaka przy użyciu spiral (3). Mechanizm w jakim dochodzi do pęknięcia tętniaka w tych przypadkach nadal nie jest jasny.

Większość opisanych tętniaków leczonych za pomocą samego stentu bez użycia spiral dotyczy wad naczyniowych zlokalizowanych w obrębie tylnego krążenia mózgowego (5). Jedynie pojedyncze doniesienia dotyczą tętniaków krążenia przedniego (8).

## Wnioski

Przedstawiany przypadek jest, według naszej wiedzy, pierwszym doniesieniem o całkowitym wykrzepnięciu tętniaka odcinka A1 tętnicy przedniej mózgu, leczonego za pomocą stentu Leo Plus. Już w badaniu angiograficznym bezpośrednio po zabiegu, stwierdzono istotne zmniejszenie napływu krwi do worka tętniaka. W kolejnych badaniach kontrolnych potwierdzono całkowite wykrzepnięcie tętniaka. Naszym zdaniem w pewnych przypadkach zastosowanie takiej metody leczenia może okazać się skuteczne, jednak w tej chwili nie jesteśmy w stanie przewidzieć, w których przypadkach implantacja samego stentu okaże się interwencją wystarczającą do pełnego zabezpieczenia pacjenta przed wystąpieniem krwawienia podpajęczynówkowego. Wynika stąd konieczność przeprowadzania angiograficznych badań kontrolnych po implantacji stentu wewnątrznaczyniowego. Decyzję co do dalszego postępowania (embolizacja spiralami lub obserwacja) podejmujemy na podstawie ich wyników.

## Piśmiennictwo


1. *Akpek S., Arat A., Morsi H., Klucznick R.P., Strother C.M., Mawad M.E.:* Self-expandable stent-assisted coiling of wide-necked intracranial aneurysms: a single-center experience. AJNR Am J Neuroradiol. 2005, 26, 1223-1231
2. *Ali I., Qi T., Zhengsong H., Songzhong S., Feng L., Lixuan Y., Shaolei G.:* Neuroform stent - assisted coil embolization. New treatment strategy for complex intracranial aneurysms with midterm results. Romanian Neurosurgery 2010, 2, 147-157
3. *Bendszusa M., Hagele C., Maurerc M., Schütza A., Vinced G., Monoranub M., Solymosia L.:* Fatal Recurrent Subarachnoid Hemorrhage After Complete Endovascular Aneurysm Occlusion. AJNR Am J Neuroradiol. 2006, 27, 2058-2060

4. *Dowżenko A., Czepiel W., Richter P., Bembenek J., Kobayashi A.:* Endovascular treatment of intracranial aneurysms with remodelling using Leo+ stents. Neurol Neurochir Pol 2009, 43, 134-139
5. *Juszkat R., Nowak S., Wieloch M., Zarzecka A.:* Complete Obliteration of a Basilar Artery Aneurysm after Insertion of a Self- Expandable Leo Stent into the Basilar Artery without Coil Embolization. Korean J Radiol 2008, 9, 371-374
6. *Kelly M.E., Turner R., Gonugunta V., Woo H.H., Rasmussen P.A., Masaryk T.J., Fiorella D.:* Stent reconstruction of wide-necked aneurysms across the circle of Willis. Neurosugery 2007, 61, 249-254
7. *Lessne M.L., Shah P., Alexander M.J., Barnhart H.X., Powers C.J., Golshani K., Ferrell A., Enterline D., Zomorodi A., Smith T., Britz G.W.:* Thromboembolic Complications After Neuroform Stent-Assisted Treatment of Cerebral Aneurysms: The Duke Cerebrovascular Center Experience in 235 Patients With 274 Stents. Neurosurgery 2011, 69, 369-75
8. *Lylyk P., Cohen J.E., Ceratto R., Ferrario A., Miranda C.:* Endovascular reconstruction of intracranial arteries by stent placement and combined techniques. J Neurosurg 2002, 97, 1306-1313
9. *Pumara J., Blancoa M., Vázqueza F., Castiñeiraa J., Guimaraensc L., Garcia-Allutb A.:* Preliminary Experience with Leo Self-Expanding Stent for the Treatment of Intracranial Aneurysms. Am J Neuroradiol 2005, 26, 2573-2577
10. *Russell S.M., Nelson P.K., Jafar J.J.:* Neurological deterioration after coil embolization of a giant basilar apex aneurysm with resolution following parent artery clip ligation. Case report and review of the literature. J Neurosurgery 2002, 97, 705-708
11. *Szikora I., Berentei Z., Kulcsar Z., Barath K., Berez A., Bose A., Nyary I.:* Endovascular treatment of intracranial aneurysms with parent vessel reconstruction using balloon and self expandable stents. Acta Neurochir (Wien) 2006, 148, 711-723
12. *Turowski B., Macht S., Kulcsár Z., Hänggi D., Stummer W.:* Early fatal hemorrhage after endovascular cerebral aneurysm treatment with a flow diverter (SILK-Stent): do we need to rethink our concepts? Neuroradiology 2011, 53, 37-41
13. *Wanibuchi M., Kurokawa Y., Ishiguro M., Fujishige M., Inaba K.:* Characteristics of aneurysms arising from the horizontal portion of the anterior cerebral artery. Surg Neurol 2001, 55, 148-154
14. *Yu B., Wu Z., Lv X., Liu Y., Sang M.:* Endovascular treatment of A1 segment aneurysms of the anterior cerebral artery. Neurol India 2010, 58, 446-448

**Adres do korespondencji:**
Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Otrzymywanie komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej. Badania doświadczalne.

## Obtaining stem cells from the adipose tissue. Experimental studies.

Wojciech Nowak[1], Błażej Rubiś[2], Dawid Michalski[1], Jeremi Kościński[1], Mateusz Skóra[1], Roman Jankowski[1], Bartosz Sokół[1]

[1] *z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

[2] *z Katedry Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekaularnej UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu kierownik: prof. dr hab. farm. Maria Rybczyńska*

**Streszczenie**

Cel badania stanowiło uzyskanie mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej szczura rasy Wistar. Po pobraniu tkanka została mechanicznie podzielona, a następnie podlegała trawieniu w kolagenazie. Po zakończeniu hodowli komórki poddano identyfikacji. W tym celu zastosowano barwienia immunohistochemiczne. Wykorzystano specyficzne przeciwciało skierowane przeciwko beta 1 integrynie - CD 29. Jako próbę negatywną użyto przeciwciała CD 45. Zaobserwowano znaczny potencjał wzrostowy wśród wyizolowanych komórek. Badanie immunohistochemiczne i badanie western blot potwierdziły obecność ekspresji antygenu CD29 i brak ekspresji antygenu CD45 w otrzymanych komórkach macierzystych. W początkowej fazie rozwoju hodowli stwierdzono najwyższy poziom ekspresji CD 29. W kolejnych etapach zarówno intensywność wzrostu komórek, jak i poziomu ekspresji antygenu CD29 uległy znacznemu obniżeniu. Badania wykazały możliwość otrzymania mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej. Skuteczność wykorzystanych metod wymaga jednak dalszej weryfikacji.

**Summary**

The aim of this study was to obtain mesenchymal stem cells from subcutaneous fat tissue from rat. Adipose tissue was collected from Wistar rats. Isolated tissue was fragmented and digested by colagenase. Immunohistochemical staining was used to identify mesenchymal stem cells. Specific antibodies directed against rabbit beta 1 integrin - CD29 and CD45 were used followed by detection with secondary antibodies (anti-rabbit) labelled with fluorescein (microscopic examination) or horseradish peroxidase (western blot). We have observed a significant growth potential of adipose derived cells. Immunohistochemical labeling and western blot confirmed the presence of CD29 antigen expression and the lack of CD45 antigen. In the early stage of culturing the most intense growth of cells and the highest expression level of CD29 antigen was observed. In the subsequent passages both, cell growth intensity and expression level of CD29 antigen, decreased. Our studies demonstrated the possibility of obtaining mesenchymal stem cells from the adipose tissue. However, the effectiveness of the procedure requires further studies.

**Słowa kluczowe:** komórki macierzyste, izolacja, tkanka tłuszczowa szczura, immunohistochemia

**Key words:** stem cells, isolation, adipose tissue of the rat, immunohistochemistry

**Wstęp**

Częstość odczuwania dolegliwości bólowych kręgosłupa porównywana jest z powszechnością występowania infekcji górnych dróg oddechowych. Jedna z możliwych przyczyn bólów związana jest z krążkiem międzykręgowym. Zapobieganie zmianom w krążku międzykręgowym jest przedmiotem badań doświadczalnych i klinicznych. Przedmiotem szczególnego zainteresowania i intensywnych badań jest ocena możliwości wykorzystania komórek macierzystych do regeneracji zmienionych chorobowo krążków międzykręgowych. Łatwo dostępnym źródłem mezenchymalnych komórek macierzystych, nie budzącym zastrzeżeń etycznych, może być tkanka tłuszczowa (1, 5, 6, 7, 9).

Celem przeprowadzonych przez nasz zespół badań, jest opracowanie modelowej metody otrzymywania mezenchymalnych komórek macierzystych z podskórnej tkanki tłuszczowej okolicy brzusznej szczura.

## Materiał i metody

Około 1 grama tkanki tłuszczowej podskórnej pobrano śródoperacyjnie z okolicy brzusznej szczura płci męskiej rasy Wistar. Waga ciała zwierzęcia wynosiła 450 gramów, a wiek 6 miesięcy. Wyizolowane fragmenty tkanki tłuszczowej płukano w roztworze buforu fosforanowego (PBS) zawierającym gentamycynę, aż do usunięcia pozostałości tkanki łącznej. Uzyskana tkanka została poddana fragmentacji na powierzchni płytki hodowlanej przy użyciu skalpela. Tak rozdrobniony materiał przenoszono do probówki wirówkowej i ponownie płukano w roztworze PBS zawierającym gentamycynę (8).

Uzyskany materiał został poddany trawieniu za pomocą 0,075% roztworu kolagenazy (Typ I, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) w PBS przez 45 minut w 37°C z jednoczesnym delikatnym mieszaniem (300 rpm).

Następnie do zawiesiny dodawano roztwór 10% FBS w medium DMEM (pożywka Eagle'a modyfikowana przez Dulbecco; Immuniq, Austria) celem zatrzymania aktywności kolagenazy, a całość roztworu poddawano wirowaniu w ciągu 10 minut przy prędkości 300 x g w celu uzyskania osadu komórkowego (4,5). Osad komórkowy zawieszano w roztworze izotonicznym PBS z gentamycyną, a następnie filtrowano przez filtr o średnicy 100 µm. Tak uzyskane komórki umieszczano na 2 płytkach hodowlanych o średnicy 10 cm w liczbie około 150 tys. na każdej płytce i hodowano w temperaturze 37°C, w atmosferze 5% $CO_2$ i 100% wilgotności. Komórki hodowane były na płytkach z płynnym medium DMEM, które było zmieniane co 3-4 dni (8).

Komórki podlegały regularnej kontroli mikroskopowej. Oceniano ich kształt, liczebność i zagęszczenia hodowli. Wysoki stopień konfluencji płytek (max. 70%) był wskazaniem do wykonania pasażu komórek na nową płytkę. Pasaż był prowadzony co 4-8 dni, a po każdym z nich na płytki nakładano komórki w liczbie około 450 000 (10).

Po każdym pasażu część komórek w liczbie około 400 000 zamrażano w -80°C celem poddania dalszym analizom. W kolejnym etapie doświadczenia komórki były poddane badaniom na obecność pozytywnych i negatywnych markerów charakterystycznych dla mezenchymalnych komórek macierzystych. W celu weryfikacji ich obecności zastosowano techniki barwienia immunohistochemicznego w mikroskopie fluorescencyjnym oraz badanie western blot.

Wykorzystano specyficzne przeciwciała królicze skierowane przeciwko CD 29 (beta 1 integrynie) - charakterystycznej dla mezenchymalnych komórek macierzystych i CD45 (fosfatazie tyrozynowej) - białka charakterystycznego dla komórek macierzystych krwi. Detekcji dokonywano za pomocą przeciwciał drugorzędowych antykróliczych wyznakowanych fluoresceiną (badania mikroskopowe) lub sprzężonych z peroksydazą chrzanową (western-blot). W celu oceny jąder komórkowych wykorzystano metodę Hoechst (6, 8).

Komórki utrwalone na szkiełkach nakrywkowych dwukrotnie płukano w roztworze PBS, a następnie inkubowano w roztworze PBS z dodatkiem 0,5% Saponiny. Po kolejnym 3 krotnym płukaniu w roztworze PBS dodawano roztworu PBS zawierającego 1% albuminy surowicy bydlęcej (BSA; Bovine Serum Albumin) w 0,05% roztworze Tween20 (roztwór PBST). Następnie komórki inkubowano w obecności specyficznych przeciwciał w roztworze PBST w temperaturze 4°C przez noc. Ostatecznie komórki płukano trzykrotnie w roztworze PBS i dodawano drugorzędowego przeciwciała. Immunodetekcji dokonywano za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego Carl Zeiss. Kontrolę pozytywną wykazującą ekspresję antygenu CD 29 dla działania przeciwciał stanowiły komórki ustalonych linii nowotworowych raka piersi MDA-MB-231 oraz komórki MCF7.

Celem wykonania badania western-blot, po rozmrożeniu osadu komórek, poddawano go lizie za pomocą buforu RIPA w temperaturze 4°C przez 30 minut, a następnie mieszaninę wirowano przez 30 minut w temp 4°C. W tak uzyskanych lizatach oceniano spektrofotometrycznie poziom białka, a następnie 20 µg poddawano denaturacji i rozdzielano w 7,5% żelu PAA. Następnie dokonywano detekcji markerów za pomocą specyficznych przeciwciał, jak w ocenie mikroskopowej immunofluorescencji.

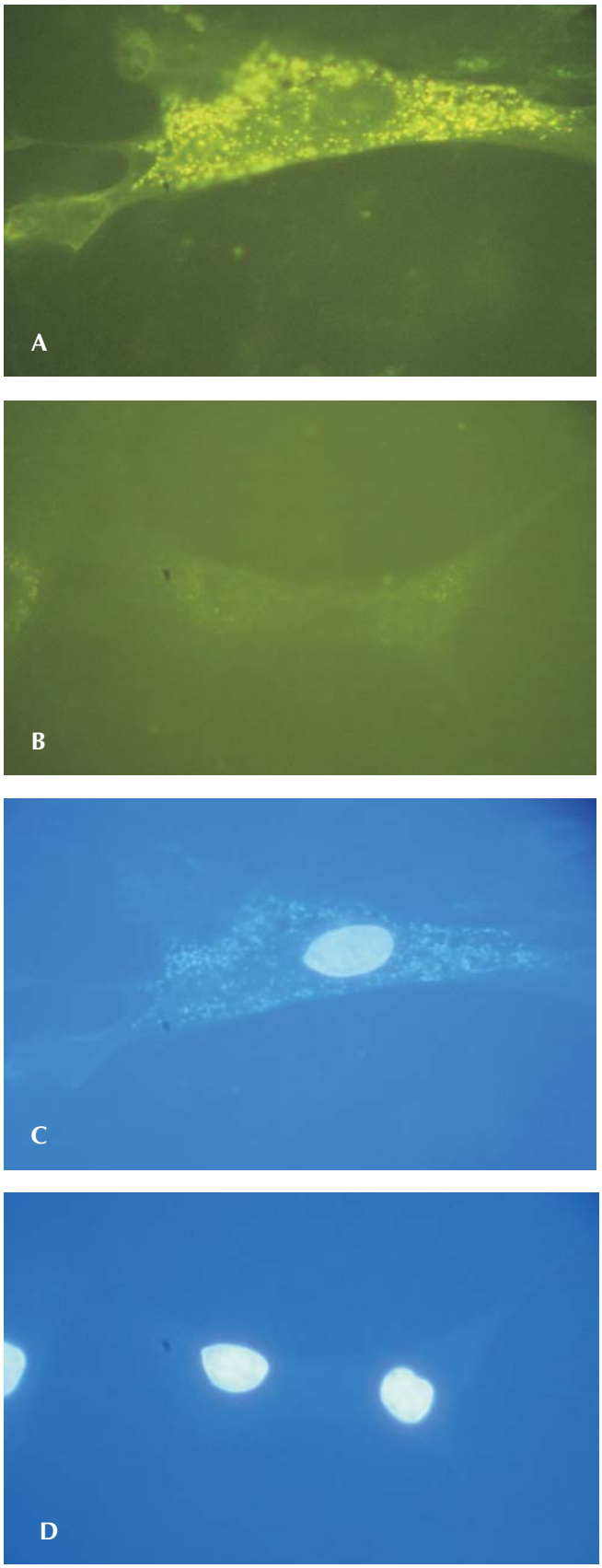
## Wyniki

Bezpośrednio po izolacji komórki przyjmowały kulisty, obkurczony kształt. Wraz z postępem hodowli kształt komórek ulegał zmianie - wydłużały się i stawały bardziej wrzecionowate (ryc. 1) Przed pierwszym pasażem liczebność komórek określono na około 900 tys. na płytce (średnica 10 cm) Pomiary wykonywane przed każdym kolejnym pasażem określiły ich ilość: 1 mln przed drugim, 800 tys. przed trzecim, 870 tys. przed czwartym, 760 tys. przed piątym i mniej niż 600 tys. przed szóstym pasażem (ryc. 2).

Wykonane w celu weryfikacji barwienie immunofluorescencyjne i badanie western-blot potwierdziły obecność beta 1 integryny w błonach wyizolowanych komórek jak również komórek próby kontrolnej (ryc. 3). Barwienie komórek metodą Hoechst, polegające na znakowaniu jąder komórkowych, stanowiło punkt odniesienia, co do lokalizacji wykrywanych białek w komórce lub ich braku.

***Rycina 1.*** *Wyizolowane komórki mezenchymalne o wrzecionowatym kształcie. Obraz z mikroskopu świetlnego.*

***Rycina 2.*** *Wykres przedstawia ilość komórek mezenchymalnych w kolejnych pasażach.*




***Rycina 3.*** *Idetyfikacja komórek macierzystych przy pomocy przeciwciała CD 29 (A, B) oraz barwienie jąder komórkowych metodą Hoechst (C, D). A, C próba badana; B, D, próba negatywna (bez przeciwciała pierwszorzędowego).*

***Rycina 4.*** *Wykrywanie markera mezencymalnych komórek w analizie western blot.*

Wyniki uzyskane w badaniu western-blot wykazały malejący wraz z postępem hodowli poziom beta 1 integryny wśród wyizolowanych komórek. Spadek był zauważalny wraz z każdym kolejnym pasażem. Pomiary antygenu były najwyższe w komórkach po pierwszym i drugim pasażu (ryc. 4).

## Omówienie

Komórki macierzyste charakteryzują się potencjałem do wielokrotnych podziałów. Jednocześnie w wyniku różnicowania mogą ulegać transformacji w kierunku innych, bardziej wyspecjalizowanych typów komórek. Wyróżniamy komórki macierzyste toti-, pluri-, multi- i unipotentne. W medycynie regeneracyjnej wykorzystywane są komórki pluri- i multipotentne (2).

Zastosowane przez nas podstawowe metody weryfikacyjne - barwienie immunofluorescencyjne i western-blot oraz badania pomocnicze - obserwacja kształtu komórek, szybkości podziałów - pozwalają przypuszczać iż wyizolowane komórki charakteryzują się potencjałem macierzystym (10). Występowanie wysokich poziomów beta 1 integryny potwierdza dużą liczbę komórek macierzystych uzyskiwanych w procesie ekstrakcji z tkanki tłuszczowej. Obserwowany z upływem czasu (w kolejnych pasażach) spadek liczebności komórek, a także obniżenie immunoreaktywności antygenu CD29 w ich błonie, może świadczyć o obniżającym się wraz z kolejnymi podziałami potencjale proliferacyjnym. W ostatnich pasażach liczebność hodowli wynosiła około 700 tys. co stanowiło spadek o prawie 1/3 w stosunku do pierwszego pasażu. Tempo przyrostu hodowli uległo wyraźnemu spowolnieniu. Zmiany obserwowane w badaniu western-blot świadczą o stopniowej utracie przez komórki właściwości proliferacyjnych i postępującemu różnicowaniu. Początkowo stężenie beta 1 integryny w wyizolowanych komórkach było niewiele niższe od tego wykazanego dla pozytywnej próby kontrolnej, by wraz z upływem czasu ulec znacznemu spadkowi. Postępująca utrata cech charakterystycznych dla komórek macierzystych pozwala przypuszczać, że wraz z kolejnymi cyklami proliferacyjnymi podlegały one procesowi różnicowania. Konsekwencją tego zjawiska było ostatecznie niemal całkowite zahamowanie rozwoju hodowli po szóstym pasażu.

Przeprowadzone badania wykazały możliwość otrzymania multipotencjalnych, mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej szczura. O ich charakterze świadczy zarówno występowanie odpowiednich antygenów, jak i ich morfologia. Przewidujemy rozszerzenie badań potwierdzających mezenchymalny charakter komórek o antygeny CD90 i CD146 (10). Przede wszystkim należy wykluczyć możliwość uzyskiwania fibroblastów w trakcie izolacji komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej czego weryfikacja możliwa jest również przy zastosowaniu kolejnych, specyficznych przeciwciał.

W kolejnym etapie badań konieczne jest podjęcia próby różnicowania komórek mezenchymalnych w kierunku chondrocytów, które mogłyby posłużyć jako źródło regeneracji uszkodzenego dysku międzykręgowego. Mimo rozległego procesu weryfikacyjnego, jakiemu muszą zostać poddane otrzymane wyniki, wydaje się uzasadnione twierdzenie, że dotychczasowe metody weryfikacyjne zastosowane przez nas jasno wskazują na macierzysty charakter otrzymanych komórek.

Przeprowadzone badania odnoszą się do tkanki szczurzej. Odniesienie do tkanek ludzkich jest wciąż przedmiotem badań. Przypuszczamy, że w przyszłości tkanka tłuszczowa może służyć jako łatwo dostępne i niebudzące zastrzeżeń etycznych źródło komórek macierzystych do celów terapii regeneracyjnej zmienionych chorobą zwyrodnieniową krążków międzykręgowych.

## Wnioski

Badania wykazały możliwość otrzymywania komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej. Efektywność zastosowanej procedury otrzymywania komórek multipotencjalnych wymaga dalszych badań. Konieczne jest również ustalenie zakresu zdolności mezenchymalnych komórek macierzystych do różnicowania w kierunku chondrocytów oraz innych linii komórkowych.

## Piśmiennictwo


1. *Bibby S.R.S., Jones D.A., Ripley R.M., Urban J.P.G.:* Metabolism of the Intervertebral Disc: Effects of Low Levels of Oxygen, Glucose, and pH on Rates of Energy Metabolism of Bovine Nucleus Pulposus Cells. Spine 2005, 30, 487-494
2. *Fraser, J., Wulur, I., Alfonso, Z., Hedrick, M.:* Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. Trends in Biotechnology, 2006, 24, 150-154
3. *Griesche N., Luttmann W., Luttmann A., Stammermann T., Geiger H., Baer P.C.:* A simple modification of the separation method reduces heterogeneity of adipose-derived stem cells. Cells Tissues Organs 2010, 192, 106-115
4. *Kong M.H., Miyazaki M., Wei F., Yoon S., Wang J.C.:* Rabbit Model for in vivo Study of Intervertebral Disc Degeneration and Regeneration. J. Korean Neurosurg. Soc. 2008, 44, 327-333
5. *Lotz J.C.:* Models of Intervertebral Disc Degeneration. Spine 2004, 23, 2742-2750
6. *Sakaia D., Mochidaa J., Yamamotoa Y., Nomuraa T., Okumaa M., Nishimuraa K., Nakaib T., Andob K., Hottab T.:* Transplantation of mesenchymal stem cells embedded in Atelocollagensgelto the intervertebraldisc: apotential therapeutic model for disc degeneration. Biomaterials 2003, 24, 3531-3541
7. *Tapp H., Deepe R., Ingram J.A., Kuremsky M., Hanley E.N. Jr, Gruber H.E.:* Adipose-derived mesenchymal stem cells from the sand rat: transforming growth factor beta and 3D co-culture with human disc cells stimulate proteoglycan andcollagen type I rich extracellular matrix. Arthritis Res. Ther. 2008, 10, R89
8. *Tholpady S.S., Katz A.J., Ogle R.C.:* Mesenchymal stem cells from rat visceral fatexhibit multipotential differentiation in vitro. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 2003 272, 398-402
9. *Walker M.H., Anderson, D.G.:* Molecular basis of intervertebral disc degeneration. The Spine Journal 2004, 4, 158S-166S
10. *Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., Huang J., Futrell J.W., Katz A.J., Benhaim P., Lorenz H.P., Hedrick M.H.:* Multilineage cells from human adipose tissue: implications forcell-based therapies. Tissue Eng. 2001, 7, 211-228



**Adres do korespondencji:**
Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Guzy mózgowia u dzieci w pierwszym roku życia

## Brain tumors in infants

Krzysztof Jarmusz[1], Katarzyna Nowakowska[1], Krzysztof Strzyżewski[1], Bogna Kaźmierczak[2], Anna Jażdżewska[1]

[1] *z Oddziału Neurochirurgii Kliniki Chirurgii, Traumatologii i Urologii Dziecięcej UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu kierownik: prof. dr hab. med. A. Jankowski*

[2] *z Kliniki Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatrycznej UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu kierownik: prof. dr hab. med. J. Wachowiak*

**Streszczenie**

Autorzy przedstawiają wyniki leczenia guzów mózgowia w grupie dziesięciorga dzieci w wieku do 12. miesiąca życia. Analiza kliniczna wykazała pewne odrębności w stosunku do pozostałych grup wiekowych. Jedną z nich jest gorsze rokowanie.

**Summary**

The authors present the results of treatment of brain tumors among ten children aged under 12 months of age. The authors show some clinical differences compared to other age groups, including worse prognosis in this age group.

**Słowa kluczowe:** guzy mózgowia, niemowlęta
**Key words:** brain tumors, infants

### Wstęp

Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego są jedną z najczęstszych chorób onkologicznych wieku rozwojowego (2). W statystykach zajmują drugie miejsce po białaczkach (5). Wyniki ich leczenia systematycznie się poprawiają (3). Terapia dzieci z guzem ośrodkowego układu nerwowego polega na operacyjnym, najlepiej doszczętnym usunięciu masy nowotworu i następowym leczeniu onkologicznym wg schematów ujednoliconych w skali światowej przez Międzynarodowe Towarzystwo Onkologów Dziecięcych (SIOP). Wśród pacjentów z guzem mózgowia w wieku rozwojowym wyróżniają się dzieci w pierwszym roku życia (4). Analiza wyników ich leczenia jest tematem tego opracowania.

### Cel pracy

Celem niniejszej pracy jest ustalenie na podstawie własnego materiału charakterystycznych odmienności nowotworów mózgowia u dzieci w najmłodszych grupach wiekowych.

### Materiał

Od 01.01.2003 r. do 31.12.2009 r. wykonano 99 resekcji nowotworów mózgowia u pacjentów w wieku rozwojowym. W 9 przypadkach objawy choroby pojawiły się przed ukończeniem pierwszego roku życia. Ostatni zabieg w tej grupie wykonano 25.08.2009 r. Obserwację zakończono 31.12.2010 r. Informacje na temat płci, wieku i czasu trwania objawów podano w tab. 1.

### Metoda

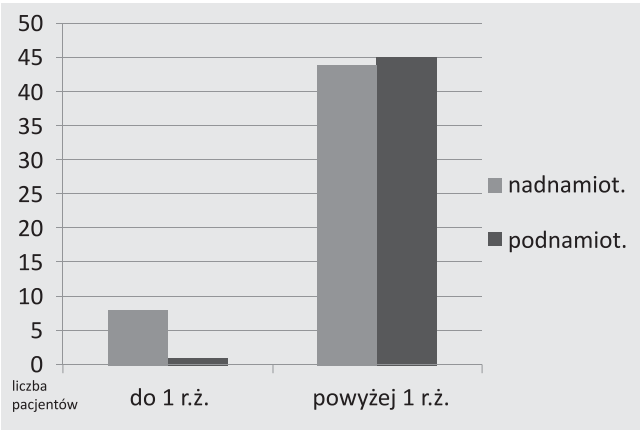
Dla celów niniejszej pracy zastosowano analizę retrospektywną danych zawartych w dokumentacji szpitalnej pacjentów leczonych z powodu nowotworów mózgowia.

### Wyniki i omówienie

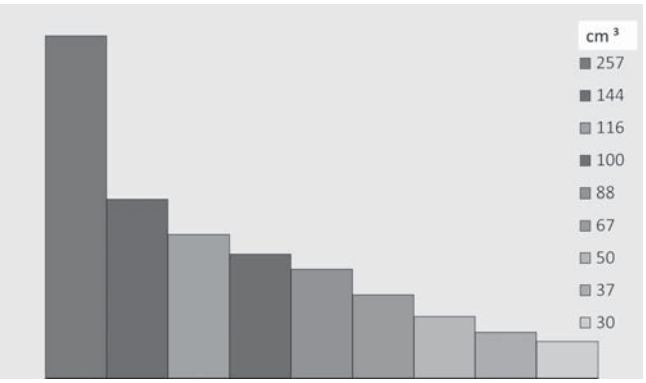
W analizowanej grupie dziewięciorga dzieci przeważały nadnamiotowe lokalizacje nowotworów. W półkulach mózgu umiejscowione były 4 guzy (po 2 w prawej i lewej półkuli). W obrębie drogi wzrokowej znajdowały się 2 nowotwory oraz po jednym w obszarze centralnym i w komorze bocznej mózgu. Lokalizację podnamiotową stwierdzono jedynie w 1 przypadku. Guz znajdował się w obrębie móżdżku. Badaną grupę porównano z pozostałymi dziećmi operowanymi w wyższych grupach wiekowych. U pacjentów starszych stwierdzono niewielką przewagę lokalizacji podnamiotowej (ryc. 1). Bardzo zbliżone proporcje pomiędzy umiejscowieniem nowotworów mózgowia w odniesieniu do namiotu móżdżku

**Tabela 1.**

| Pacjent | Płeć | Data urodzenia | Wiek dziecka w momencie ustalenia rozpoznania (tygodnie) | Czas od początku objawów do rozpoznania (dni) |
|---|---|---|---|---|
| J. J. | Ż | 19.03.02 | 52 | 14 |
| S. N. | M | 19.01.05 | 14 | 21 |
| G. K. | M | 01.06.06 | 48 | 0 |
| J. A. | M | 05.10.06 | 29 | 2 |
| P. M. | M | 29.04.07 | 41 | 7 |
| M. N. | M | 22.12.08 | 1 | 0 |
| G. O. | Ż | 13.08.08 | 53 | 2 |
| P. I. | m | 26.09.08 | 28 | 119 |
| K. M. | k | 24.11.08 | 38 | 91 |




***Rycina 1.*** *Umiejscowienie guzów w badanej grupie pacjentów.*




***Rycina 2.*** *Przybliżona objętość guzów w badanej grupie pacjentów.*

u pacjentów do dwunastego miesiąca życia zauważyli również inni autorzy (4, 5).

Na podstawie badań rezonansu magnetycznego głowy obliczono przybliżoną objętość nowotworów. Wahała się ona w dość dużym zakresie (ryc. 2). Zwracają jednak uwagę stosunkowo duże rozmiary nowotworów. Aż 6 miało objętość powyżej 60 $cm^3$. Rozmiary największego guza wynosiły powyżej 250 $cm^3$. Podobne spostrzeżenia odnotowują również inni badacze (4). W ocenie autorów niniejszej pracy stosunkowo znaczne rozmiary guza u noworodków i niemowląt mogą być skutkiem większych możliwości ekspansji procesu nowotworowego w obrębie czaszki o niezrośniętych szwach, a tym samym bardziej podatnej na rozszerzanie.

W oparciu o informacje od rodziców określono czas od wystąpienia pierwszych objawów do ustalenia rozpoznania. W 2 przypadkach guz wykryto przypadkowo w badaniach obrazowych wykonywanych z innych wskazań. U dwojga dzieci wywiad był bardzo krótki i wynosił 2 dni. U pozostałych czas od pierwszych objawów do momentu rozpoznania mieścił się w zakresie od 1 do 3 tygodni u trzech i od 13 do 17 tygodni u dwóch pacjentów. Warto zatem odnotować, iż pomimo dużych rozmiarów większość guzów została rozpoznana stosunkowo późno lub przypadkowo. O słabej manifestacji klinicznej tych nowotworów donoszą również inni autorzy (4).

Zakres resekcji określono na podstawie makroskopowej oceny operatora. W badanej grupie pełną doszczętność uzyskano u pięciorga dzieci. Wykonano również jedną resekcję częściową. W trzech przypadkach możliwa była jedynie biopsja - dotyczyło to dwóch guzów drogi wzrokowej i jednego umiejscowionego w obszarze centralnym mózgu.

Nowotwory w analizowanej grupie dzieci miały różnorodne utkania. Najliczniej reprezentowane były różnego typu gwiaździaki. Poza tym rozpoznano inne pojedyncze utkania (ryc. 3). Inni autorzy również przedstawiają szeroki wachlarz rozpoznań, ale na podstawie analizy znacznie liczniejszych grup (4). W badanym materiale przeważały guzy o niskim stopniu złośliwości biologicznej (ryc. 4). W dostępnej literaturze nie znaleziono danych dotyczących proporcji nowotworów „łagodnych" i „złośliwych" w analizowanej grupie wiekowej.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Astrocytoma | 4 | pilocyticum | 2 |
| | | NOS | 1 |
| | | infant desmoplasticum | 1 |
| Glioblastoma | 1 | | |
| Gangliоglioma | 1 | | |
| PNET | 1 | | |
| Neuroblastoma | 1 | | |
| Papilloma | 1 | | |

***Rycina 3.*** *Utkanie histologiczne analizowanych nowotworów.*

| | | |
|---|---|---|
| I° | - | 5 |
| II° | - | 1 |
| IV° | - | 3 |

***Rycina 4.*** *Stopień złośliwości.*

Pooperacyjne leczenie onkologiczne przeprowadzono u 4 pacjentów: u 2 z gwiaździakiem włosowatokomórkowym (astrocytoma pilocyticum) drogi wzrokowej, u 1 z niespecyficznym gwiaździakiem (astrocytoma not otherwise specified - NOS) oraz u 1 z prymitywnym guzem neuroektodermalnym (PNET). Leczenia onkologicznego nie zastosowano u 5 pacjentów. Troje z nich zmarło w przeciągu 2 tygodni po operacji. U pozostałych dwojga leczenie onkologiczne nie miało racjonalnego uzasadnienia. Nowotwory w pierwszym stopniu złośliwości zostały u nich doszczętnie usunięte.

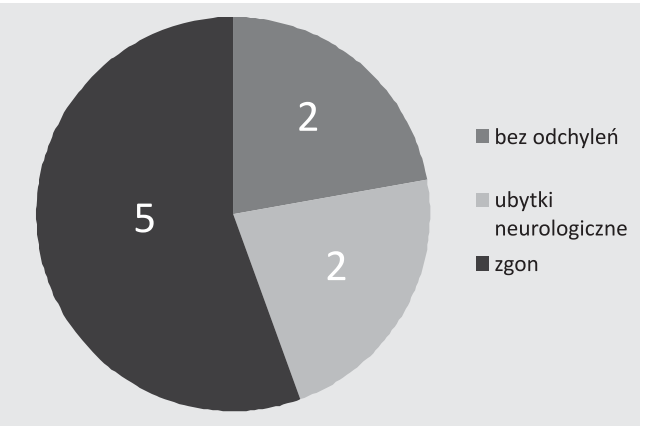
Wyniki leczenia pacjentów z analizowanej grupy na dzień zakończenia obserwacji są następujące: w dobrym stanie ogólnym i neurologicznym było jedynie dwoje dzieci. Dwoje prezentowało ubytkowe objawy neurologiczne. Pięcioro pacjentów zmarło (ryc. 5). Porównując powyższe wyniki z własnymi, dotyczącymi pacjentów z guzem tylnej jamy czaszkowej (ryc. 6), gdzie całkowita śmiertelność nie przekroczyła 18% (1), należy stwierdzić, że rokowanie w przypadkach nowotworów mózgowia w pierwszym roku życia jest niekorzystne w porównaniu do pozostałych grup wiekowych.

## Wnioski

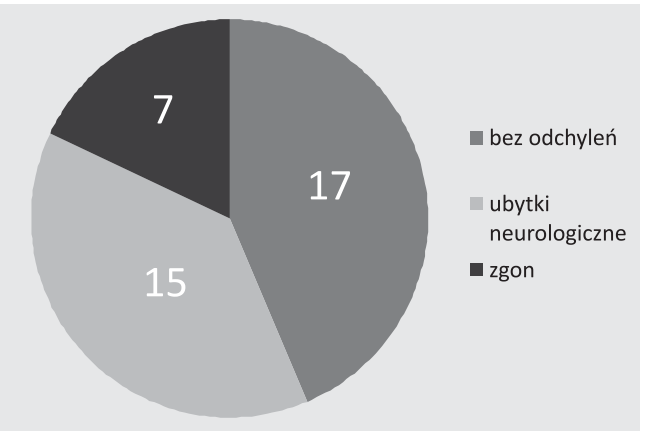
1. Nowotwory mózgowia manifestujące się klinicznie w pierwszym roku życia dziecka są znacznie częściej, niż w pozostałych grupach wiekowych, zlokalizowane nadnamiotowo.
2. Długo pozostają bezobjawowe pomimo znacznych często rozmiarów. Mają stosunkowo złe rokowanie.

## Piśmiennictwo


1. *Jarmusz K., Nowakowska K., Strzyżewski K., Kaźmierczak B.:* Guzy tylnej jamy czaszki w materiale Oddziału Neurochirurgii Dziecięcej w Poznaniu. Neuroskop 2009, nr 11, 52-58


***Rycina 5.*** *Stan neurologiczny pacjentów z guzem mózgowia w pierwszym roku życia na dzień 31.12.2010 r.*




***Rycina 6.*** *Stan neurologiczny pacjentów z guzem tylnej jamy czaszkowej na koniec lutego 2009 r. (materiał własny: pacjenci operowani w latach 2002-2007).*


2. *Kowalczyk J.K.:* Epidemiologia nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. W: Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego u dzieci. Diagnostyka i leczenie. Red.: Perek D., Roszkowski M., Wydawca: Fundacja NEURONET, Warszawa 2006, 3-8
3. *Levy A.S.:* Brain Tumors in Children: Evaluation and Management. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care 2005, 35. 230-245
4. *Roszkowski M., Perek-Polnik M.:* Wrodzone nowotwory ośrodkowego układu nerwowego ujawniające się do 12 miesiąca życia. W: Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego u dzieci. Diagnostyka i leczenie. Red.: Perek D., Roszkowski M., Wydawca: Fundacja NEURONET, Warszawa 2006, 313-322
5. *Zakrzewski K.:* Ogólna charakterystyka nowotworów mózgu u dzieci. W: Nowotwory mózgu wieku dziecięcego. Red.: Zakrzewski K., Wydawnictwo Czelej, Lublin 2004, 58-64



**Adres do korespondencji:**
Katedra i Klinika Chirurgii, Traumatologii i Urologii Dziecięcej
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

# Urazy kręgosłupa u dzieci

## Spine injury in children

Bartłomiej Kopaczewski[1,2]

[1] *z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

[2] *z Oddziału Neurochirurgii*
*przy Katedrze i Klinice Chirurgii, Traumatologii i Urologii Dziecięcej*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*ordynator: dr med. Krzysztof Strzyżewski*

**Streszczenie**

Urazy kręgosłupa u dzieci występują rzadko. Wśród wszystkich urazów kręgosłupa mniej niż 10% dotyczy dzieci poniżej dziesiątego roku życia. Najczęściej uszkodzenia obejmują pogranicze kręgosłupa piersiowego i lędźwiowego. W przypadku około 20% urazów dochodzi do uszkodzenia kręgosłupa bez uchwytnych zmian w badaniach obrazowych - tzw. SCIWORA - Spinal Cord Injury Without Radiographic Abnormality. Występuje grupa urazów powstałych wskutek wypadków komunikacyjnych, w których obok urazów wielonarządowych, uszkodzenia narządów jamy brzusznej dochodzi do urazów odcinka lędźwiowego kręgosłupa. Plan leczenia w przypadku urazów kręgosłupa u dzieci powinien uwzględniać charakter objawów neurologicznych, poziom uszkodzenia, stopień niestabilności kręgosłupa i wiek dziecka.

**Summary**

Spine injury in children are rare. Among all spine injuries less than 10% happen in children aged less than ten years. The most common spine injuries include the thoracolumbar junction. Around 20% of spine injuries are without any radiographic changes - SCIWORA - Spinal Cord Injury Without Radiographic Abnormality. Vehicle accidents can cause multiple organ failure especially in the abdomen and characteristic fractures of the lumbar spine - seat-belt fractures. Treatment of spine injuries in children must consider neurological symptoms, level of the injury, spine stability and child age.

**Słowa kluczowe:** urazy kręgosłupa, dzieci, połączenie potyliczno-szczytowe, pasy bezpieczeństwa, SCIWORA

**Key words:** spinal cord injury, children, atlanto-occipital junction, seat-belt injury, SCIWORA

**Wstęp**

Urazy kręgosłupa u dzieci występują rzadko, nie przekraczają jednego przypadku na sto tysięcy dzieci rocznie. Dwukrotnie częściej zdarzają się u chłopców, dotyczą przede wszystkim dzieci w drugiej dekadzie życia. W pierwszej dekadzie życia urazy kręgosłupa stanowią mniej niż 10% wśród wszystkich urazów kręgosłupa do osiemnastego roku życia. Najczęściej uszkodzenia obejmują pogranicze kręgosłupa piersiowego i lędźwiowego (4, 7, 9, 10).

W przypadku noworodków, niemowląt do pierwszego roku życia i dzieci małych przyczynami urazu mogą być powikłania porodowe i trudny do rozpoznania uraz okołoporodowy zwykle towarzyszący urazom wielonarządowym lub też uraz kręgosłupa wskutek aktów przemocy wobec dziecka. W odniesieniu do dzieci starszych najczęściej urazy kręgosłupa pozostają w związku z wypadkami komunikacyjnymi i upadkami z wysokości w trakcie zabawy, zajęć sportowych, jazdy konnej czy wskutek prób samobójczych (4, 9, 10).

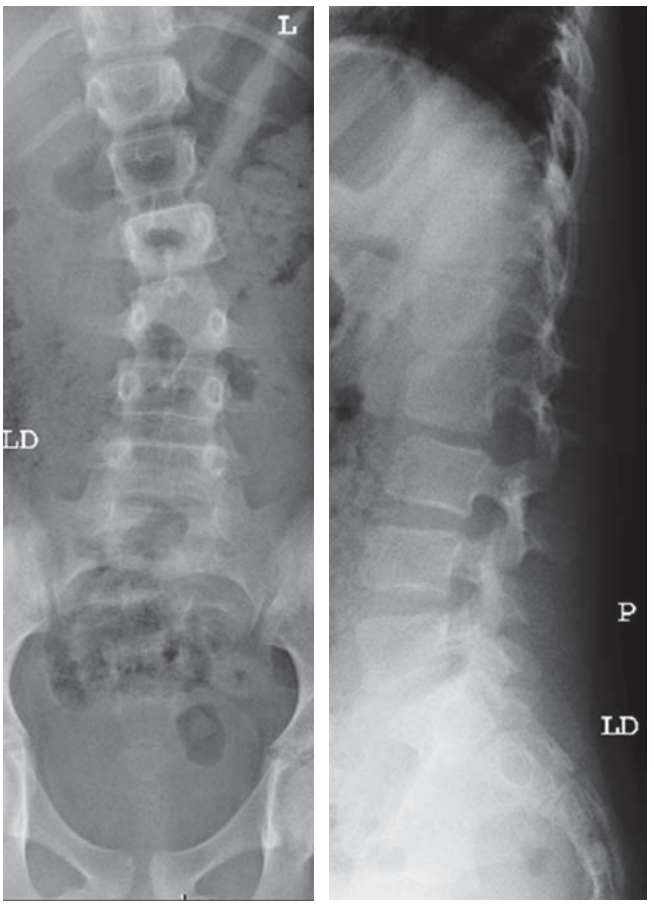
Wśród objawów klinicznych dominuje ból, który dotyczy ponad 80% przypadków i postępujące ubytkowe objawy neurologiczne. Mogą one narastać w okresie kilkudziesięciu godzin od urazu, co dotyczy około 20% chorych. W części przypadków urazowe zmiany widoczne są w badaniu palpacyjnym w postaci zniekształceń i nadmiernej ruchomości dostępnych badaniu struktur kostnych kręgosłupa.

Klasyfikacja urazów kręgosłupa w przypadku dzieci podobnie jak u dorosłych oparta jest o koncepcję dwukolumnową wg Magerl'a. Wyróżnia się trzy typy złamań (2, 8, 11):

Typ A - złamania kompresyjne
Typ B - złamania zgięciowo-dystrakcyjne
Typ C - złamania rotacyjne

Na podstawie tego podziału za kryterium niestabilności kręgosłupa uznaje się:

- uszkodzenie obu kolumn
- uszkodzenie więzadeł
- złamanie wybuchowe trzonu kręgu
- uszkodzenie tylnej części trzonu (ściany przedniej kanału kręgowego).




A B

***Rycina 1.*** *Przeglądowe zdjęcia rentgenowskie kręgosłupa lędźwiowego w projekcjach p-a (A) i bocznej (B).*

Rozpoznanie opiera się o uwidocznienie zmian w badaniach diagnostycznych, w których podstawowe znaczenie mają zdjęcia rentgenowskie kręgosłupa wykonane w dwóch prostopadłych projekcjach p-a i bocznej. W ocenie radiologicznej połączenia czaszkowo-kręgosłupowego zaleca się zdjęcia celowane na ząb obrotnika, masywy boczne atlasu (projekcja przez otwarte usta). Uzupełnieniem podstawowej diagnostyki rentgenowskiej mogą być zdjęcia czynnościowe pozwalające na ocenę stabilności więzadłowej. Jednak to badanie może być przeprowadzone u dzieci z zachowaną świadomością i współpracujących przy badaniu. W badaniach tomografii komputerowej dokonuje się oceny kształtu kanału kręgowego; w spiralnej tomografii z rekonstrukcją 3D uzyskuje się wizualizację przestrzenną z możliwością dokładnej oceny kręgosłupa. Jądrowy rezonans magnetyczny pozwala na ocenę więzadeł, krążków międzykręgowych, struktur nerwowych i naczyniowych kanału kręgowego.

W obrazach radiologicznych tj. zdjęciach przeglądowych kręgosłupa, badaniach tomografii komputerowej, a także w badaniach rezonansu magnetycznego zmiany urazowe powodujące niestabilność kręgosłupa widoczne są jako (ryc. 1A, 1B):

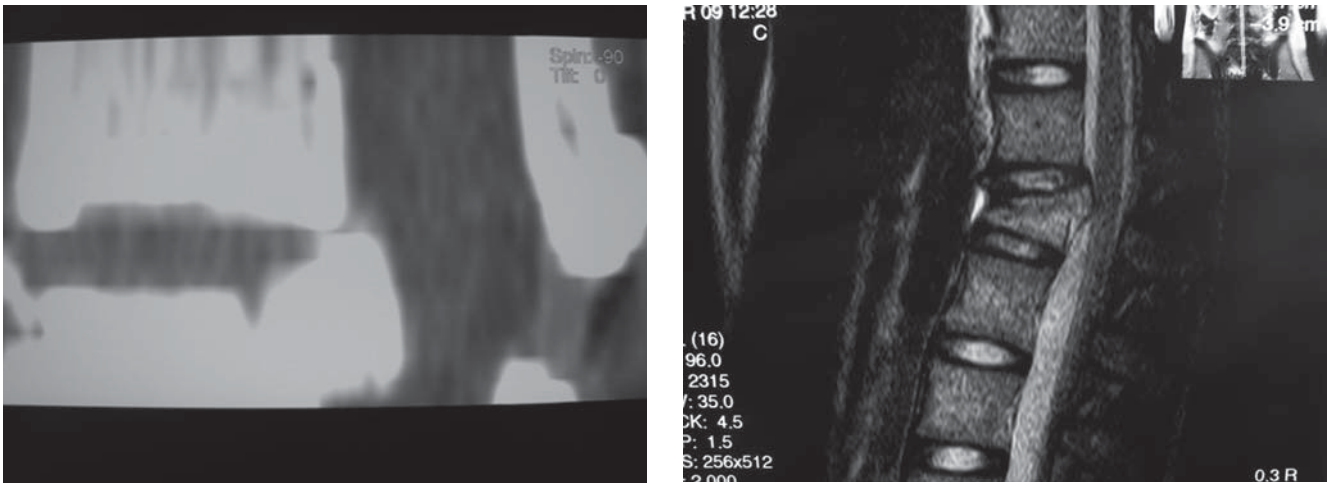
- obniżenie wysokości trzonu z przemieszczeniem odłamów
- zniekształcenie przedniej linii kanału kręgowego
- asymetryczne położenie wyrostków kolczystych ze zwiększeniem i/lub zmniejszeniem odległości między wyrostkami kolczystymi
- asymetryczne położenie nasad kręgów

Dzieci w pierwszej dekadzie życia cechują odmienności anatomiczne związane z ich prawidłowym rozwojem tzn.: niezakończony proces kostnienia kręgów szczególnie w zakresie zęba obrotnika. Do 8 roku życia możliwe uwidocznienie w badaniach rentgenowskich do czterech jąder kostnienia (ząb, nasada zęba, masywy boczne atlasu); duża głowa w stosunku do tułowia; wysoko położony środek ciężkości ciała. Wiotkie więzadła i słabo rozwinięte mięśnie przykręgosłupowe oraz mięśnie karku powodują nadmierną ruchomość w zakresie połączenia czaszkowo-kręgosłupowego i mogą sprawić trudności interpretacyjne wyników badań radiologicznych w ocenie stabilności np.: odległość szczytu zęba obrotnika od łuku przedniego atlasu (w badaniu czynnościowym) u dorosłych nie powinna przekraczać 3mm, w przypadku dzieci za normę przyjmuje się wymiar do 5mm, a w odniesieniu do chorych z zespołem Downa do 7mm.

Kręgosłup szyjny w swojej mechanice jest najbardziej ruchomym z odcinków kręgosłupa, co sprawia, że u dzieci w pierwszych latach życia przy odmiennościach budowy jest szczególnie narażony na urazowe uszkodzenia.

Urazowe przemieszczenia w zakresie połączenia potyliczno-szczytowego (AOD - atlanto-occipital dislocation) mogą prowadzić do poważnych uszkodzeń - efekt gilotyny - z krytyczną stenozą kanału na poziomie otworu wielkiego i „zakleszczeniem" rdzenia przedłużonego / kręgowego w strukturach kostnych kanału kręgowego, co może powodować zwykle śmiertelne następstwa w obrazie niewydolności oddechowej (wyłączenie automatyzmu przepony). W przypadku chorych uratowanych wentylowanych mechanicznie bardzo duże deficyty neurologiczne. Uszkodzenia te związane z dużą siłą urazu, dotyczą one dwukrotnie częściej dzieci niż dorosłych (5, 13).

Do ósmego roku życia szczyt zęba łączy się z nasadą za pomocą chrząstkozrostu, którego zerwanie przypomina typ



A B

***Rycina 2.*** *Badanie tomografii komputerowej (A) i rezonansu magnetycznego w czasie T2 (B) w projekcjach strzałkowych.*

drugi złamania zęba C2 u dorosłych. Zwykle przebieg kliniczny jest bezobjawowy. Na zdjęciu bocznym odległość szczytu zęba od łuku atlasu jest zwiększona. W tych przypadkach należy zachować ostrożność i zdjęć celowanych przez otwarte usta oraz czynnościowych nie traktować jako diagnostyki podstawowej. Nie należy wykonywać ich w ramach oddziałów ratunkowych tylko jako metodę z wyboru traktować badanie tomografii komputerowej, którą obowiązkowo należy wykonywać z utrzymanym unieruchomieniem zewnętrznym. W obrazie KT w którym stwierdzono prawidłowe ustawienie zęba obrotnika i zachowaną symetrię masywów bocznych atlasu i stawów szczytowo-obrotowych lub stenozą względną i występującymi pośrednimi objawami uszkodzenia aparatu więzadłowego, pacjenta należy unieruchomić zewnętrznie przy pomocy kołnierza HALO. W przypadku dzieci starszych należy rozważać operacyjne zespolenie trzonu z wyrostkiem zębowym kręgu C2 i unieruchomienie zewnętrzne (1, 4, 5, 9, 13).

Urazowe złamania w części C3-C7 kręgosłupa szyjnego dzieci zdecydowanie rzadziej niż u dorosłych wymagają interwencji operacyjnej, najczęściej unieruchomienie zewnętrzne jest w pełni wystarczające. W przypadku dzieci małych do ósmego roku życia uszkodzenia dolnej części kręgosłupa szyjnego są niezwykle rzadkie, spotykane w pojedynczych przypadkach. Należy zwrócić szczególną uwagę na dzieci poszkodowane w wypadkach komunikacyjnych, szczególnie w wypadkach samochodowych przy nieodpowiednio dobranych fotelikach, ponieważ przy przeproście może dochodzić do oderwania chrząstek nasadowych, co powoduje niestabilność i wymaga unieruchomienia operacyjnego kręgosłupa szyjnego.

Urazy kręgosłupa piersiowego i lędźwiowego występują przede wszystkim u dzieci starszych w drugiej dekadzie życia. Dwukrotnie częściej dotyczą chłopców. Najczęściej urazowe uszkodzenie obejmuje pogranicze kręgosłupa piersiowego i lędźwiowego, stanowiące przejście między stabilnym, względnie nieruchomym odcinkiem piersiowym i ruchomą częścią lędźwiową kręgosłupa. Złamania niestabilne wymagają unieruchomienia, metodą z wyboru jest unieruchomienie zewnętrzne - gorsety Jewett'a lub podwyższony Hohmann'a, a stabilizacja wewnętrzna ogranicza się do przypadków, w których występuje stenoza z uciskiem struktur kanału kręgowego lub braku możliwości zaopatrzenia zewnętrznego (ryc. 1A, 1B).

Należy zaznaczyć, że nawet 20% urazów stanowią uszkodzenia kręgosłupa bez uchwytnych zmian w badaniach obrazowych - tzw. SCIWORA - Spinal Cord Injury Without Radiographic Abnormality. Najczęściej dotyczą odcinka szyjnego kręgosłupa gdzie dochodzi do urazu rdzenia bez zmian kostnych w badaniach rentgenowskich. W obrazie klinicznym początkowo nie występują objawy wskazujące na uszkodzenie struktur nerwowych, które w ciągu kilku dni od urazu (72-96 godz.) mogą się pojawić w obrazie deficytów neurologicznych. Dlatego w przypadkach, w których istnieje podejrzenie, że mogło dojść do urazowego uszkodzenia diagnostykę obrazową należy poszerzyć o badanie rezonansu magnetycznego, a do czasu wyjaśnienia utrzymać unieruchomienie zewnętrzne. Przy braku cech niestabilności i obecnych objawach klinicznych - unieruchomienie zewnętrze należy utrzymać do czasu ustąpienia objawów; należy włączyć neuroprotekcję steroidową przy ubytkach neurologicznych. Jeżeli na podstawie badań obrazowych nie ma pewności, co do stabilności kręgosłupa - unieruchomienie zewnętrzne stosuje się przez 12 tygodni i należy wykonać kontrolę radiologiczną. Po usunięciu

unieruchomienia zewnętrznego zaleca się ograniczenie ruchomości szyi przez okres 6 miesięcy i wykonywanie ćwiczeń izometrycznych mięśni szyi (4, 10).

Kolejną grupę urazów u dzieci, w których dochodzi do uszkodzenia kręgosłupa są tzw. seat-belt injury - jest to grupa urazów powstałych wskutek wypadków komunikacyjnych, w których dochodzi do urazów wielonarządowych - w około 50% przypadków dochodzi do uszkodzenia narządów jamy brzusznej, w których uszkodzeniu ulega odcinek lędźwiowy kręgosłupa. Charakterystycznymi objawami zewnętrznymi są zasinienia i otarcia na powłokach brzusznych - ślady po pasach bezpieczeństwa (seat-belt sign) (3, 6, 12). Jest to najczęściej typ B - złamań kręgosłupa - zgięciowo-dystrakcyjny możliwy jest brak zmian kostnych w badaniach obrazowych, a uraz jest niestabilny w następstwie zerwania aparatu więzadłowego. W obserwacji pourazowej dominują objawy w postaci miejscowego bólu, bólu korzeniowego, narastające w czasie deficyty neurologiczne, postępuje deformacja osi kręgosłupa (skolioza), czy pourazowa syringomyelia - w tych przypadkach należy operacyjnie przywrócić stabilność kręgosłupa.

## Wnioski

Plan leczenia w przypadku urazów kręgosłupa u dzieci powinien uwzględniać charakter objawów neurologicznych, poziom uszkodzenia, stopień niestabilności kręgosłupa i wiek dziecka. Leczenie operacyjne powinno zapewnić optymalne warunki dla przywrócenia czynności rdzenia kręgowego i korzeni nerwowych poprzez uwolnienie z ucisku struktur nerwowych oraz naczyniowych kanału kręgowego. Postępowanie powinno być ukierunkowane na przywrócenie prawidłowych stosunków anatomicznych kręgosłupa: korekcję przemieszczenia, odtworzenie wysokości trzonu kręgowego i fizjologicznych krzywizn kręgosłupa, a także na zapewnienie stabilności w uszkodzonych segmentach ruchowych.

## Piśmiennictwo


1. *Ahmed R., Traynelis V.C., Menezes A.H.:* Fusions at the craniovertebral junction. Childs Nerv. Syst. 2008, 24, 1209-1224
2. *Altay M., Ozkurt B., Aktekin C.N., Ozturk A.M., Dogan O., Tabak A.Y.:* Treatment of unstable thoracolumbal junction burst fractures with short- or long-segment posterior fixation in Magerl type a fractures. Eur. Spine J. 2007, 16, 1145-1155
3. *Bilston L.E., Clarke E.C., Brown J.W.:* Spinal injury in car crashes: crash factors and the effects of occupant age. Inj. Prev. 2011, 17, 228-232
4. *Bosch P.P., Voght M.T., Ward W.T.:* Pediatric spinal cord injury without radiographic abnormality (SCIWORA): the absence of occult instability and lack of indication for bracing. Spine 2002, 27, 2788-2800
5. *Govender S., Vlok G.J., Fisher-Jeffer N., Du Preez C.P.:* Traumatic dislocation of the atlanto-occipital jont. J. Bone Jont Surg. Br. 2003, 85, 875-878
6. *Greenwald T.A., Mann D.C.:* Pediatric seatbelt injuries: diagnosis and treatment of lumbal flexion- distraction injuries. Paraplegia 1994, 32, 743-751
7. *Jankowski R., Blok T., Nowak S., Żukiel R.:* Urazy kręgosłupa i rdzenia kręgowego u dzieci i młodzieży. Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol. 1996, 1, 153-156
8. *Joaquim A.F., Fernandes Y.B., Cavalcante R.A., Fragoso R.M., Honorato D.C., Patel A.A.:* Evaluation of the thoracolumbal injury classification system in thoracic and lumbal spinal trauma. Spine 2011, 1, 33-36
9. *Klimo P. Jr, Ware M.L., Gupta N., Brockmeyer D.:* Cervical spine trauma in the pediatric patient. Neurosurg. Clin. N. Am. 2007, 4, 599-620
10. *Launay F., Leet A., Sponseller P.D.:* Pediatric spinal cord injury without radiographic abnormality: a meta - analysis. Clin. Orthop. Relat. Res. 2005, 433, 166-170
11. *Magerl F., Aebi M., Gertzbein S.D., Harms J., Nazarien S.:* A comperhensive classification of thoracic and lumbar injuries. Eur Spine J. 1994, 3 (4), 184-201
12. *Ramieri A., Domenicucci M., Cellocco P., Raco A., Constanzo G.:* Effectiveness of posterior tension band fixation in the thoracolumbar seat-belt type injuries of the young population. Eur. Spine J. 2009, 18, 89-94
13. *Simsek S., Yigitikanli K., Seckin H., Comert A., Acar H.I., Belen D., Tekdemir I., Elhan A.:* Ideal screw entry point and projection angles for posterior lateral mass fixation of the atlas: an anatomical study. Eur. Spine J. 2009, 18, 1321-1325



**Adres do korespondencji:**
Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Leczenie wielomiejscowych wad mózgowia i rdzenia kręgowego u niemowląt

## Treatment of multi-site brain and spine malformations in infants

Krzysztof Strzyżewski, Katarzyna Nowakowska, Krzysztof Jarmusz, Anna Jażdżewska

*z Katedry i Kliniki Chirurgii, Traumatologii i Urologii Dziecięcej*
*UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Andrzej Jankowski*

**Streszczenie**

Wielomiejscowe wady układu nerwowego są rzadkie, jednak ich diagnostyka i leczenie wymagają kompleksowego podejścia i wiedzy na temat ich teratologii. Prezentujemy własne doświadczenia w leczeniu tych wad w latach 1982-2011 u siedmiorga niemowląt na 446 z wadami cewy nerwowej. Rozpoznanie przedoperacyjne postawiono w 3 przypadkach na podstawie wielopoziomowego badania układu nerwowego w ultrasonografii, w 6 przypadkach przy pomocy rezonansu magnetycznego. W trzech przypadkach rozpoznano dwupoziomową przepuklinę oponowo-mózgową, w jednym ze zdwojeniem rdzenia kręgowego, przepuklinę oponowo-mózgową w dwóch przypadkach, w jednym z przepukliną rdzeniową, w jednym ze zdwojeniem rdzenia kręgowego. U szóstego dziecka stwierdzono przepuklinę mózgową i czołową, skroniową torbiel pajęczynówki i pogrubiałą nić końcową, u siódmego zdwojenie rdzenia kręgowego, pogrubiałą nić końcową i syringomyelię. Leczenie polegało na operacyjnej korekcji wad, założeniu układu zastawkowego z powodu wodogłowia w 5 przypadkach i endoskopowej fenestracji torbieli pajęczynówki w jednym. W ciągu od 2 do 12 lat po leczeniu trójka dzieci porusza się na wózkach inwalidzkich, objawy neurogennego pęcherza moczowego stwierdzono u 5, neurogennego kanału odbytniczo-odbytowego u 3. Podkreślmy, że leczenie złożonych wad układu nerwowego musi zakładać kompletność ich korekcji, gdyż pozostawienie wady nie leczonej może w przyszłości spowodować objawy deterioracji neurologicznej.

**Summary**

Multi-site central nervous system (CNS) malformations are seldom, but their diagnostic procedures and treatment need complex approach based on CNS teratology. We present our experiences in the treatment of this malformations in seven infants, on 446 treated due to CNS malformation from 1982 to 2011. In three children malformations were diagnosed with ultrasound, in six with magnetic resonance imaging. In three children double encephalocoele was found in one child coexisting with diastematomyelic malformation, in the next two single encephalocoele coexisting in one child with myelomeningocoele, in another with diastematomelia. In the sixth child complex malformation: frontal encepahlocoele, temporal arachnoidal cyst and abnormal filum terminale were found. The seventh child suffered from diastematomyelia, pathologic filum terminale and syringomyelia. The treatment consisted of correction of the CNS malformation, shunt implantation in five children, endoscopic fenestration of temporal cyst in one. In the follow-up from 2 to 12 years 3 children use armchairs for locomotion, in five neurogenic bladder, in tree neurogenic ano-rectal channel were diagnosed. We express that this children need complex and compleet correction of CNS malformation, what protects against future neurologic deterioration.

**Słowa kluczowe:** wrodzone wady układu nerwowego, zespół kotwiczenia rdzenia kręgowego, kompleksowy zespół dysraficzny

**Key words:** congenital malformations of the central nervous system, tetherd cord syndrome, complex dysrafic syndrom

**Wstęp**

Tworzenie i rozwój cewy nerwowej wg Catali jest regulowane przez dwa zespoły genów sterujące wytwarzaniem enzymów. Zespół grzbietowy reguluje wytwarzanie beta kateniny, którą degraduje syntazo-kinaza glikogenowa (GSK - 3), zespół brzuszny wpływa na wytwarzanie białka morfogenezy kości (BMP-4), czynnika wzrostu beta (TGF beta) i czynnika wzrostu (FGF). Zrównoważone działanie obu grup genów zapewnia prawidłowe formowanie struktur ośrodkowego układu nerwowego, brak równowagi jest jedną z przyczyn powstawania wad OUN

(4, 6). Rola kwasu foliowego w rozwoju cewy nerwowej polega na metylacji cysteiny do metioniny sterującej tworzeniem białek umożliwiających transkrypcję DNA (17,34). Pierwszy miesiąc poowulacyjny ma kluczowe znaczenie dla rozwoju układu nerwowego. Można wskazać miejsca wrażliwe w tym procesie. W 4 - 12 dniu poowulacyjnym zrost epiblastu i hipoblastu w fazie gastrulacji jest przyczyną zdwojenia rdzenia kręgowego, zespołu agenezji kości krzyżowej, kompleksowego stanu dysraficznego. Zamykanie cewy nerwowej dokonuje się między 14 i 27 dniem poowulacyjnym w trzech lub pięciu miejscach rynienki nerwowej. Niespojenie brzegów rynienki nerwowej powoduje powstanie przepuklin rdzeniowych, tłuszczaków rdzenia kręgowego i przetok nerwowo-skórnych. Stożek rdzenia kręgowego i nić końcowa tworzy się poza cewą nerwową po 27 dniu poowulacyjnym, z neuroektodermalnego, ogonowego skupiska komórek, w procesie wtórnej neuronalizacji. Zaburzenia na tym etapie są przyczyną tworzenia torbieli końcowej stożka rdzenia kręgowego i wad nici końcowej (16, 22, 23, 28, 31, 32, 33). Nie wyjaśniono dlaczego wady mogą powstawać na różnych poziomach układu nerwowego człowieka (2, 3, 7, 10, 11, 13, 18, 30).

## Cel

Opisujemy diagnostykę i leczenie wielopoziomowych wad układu nerwowego u niemowląt.

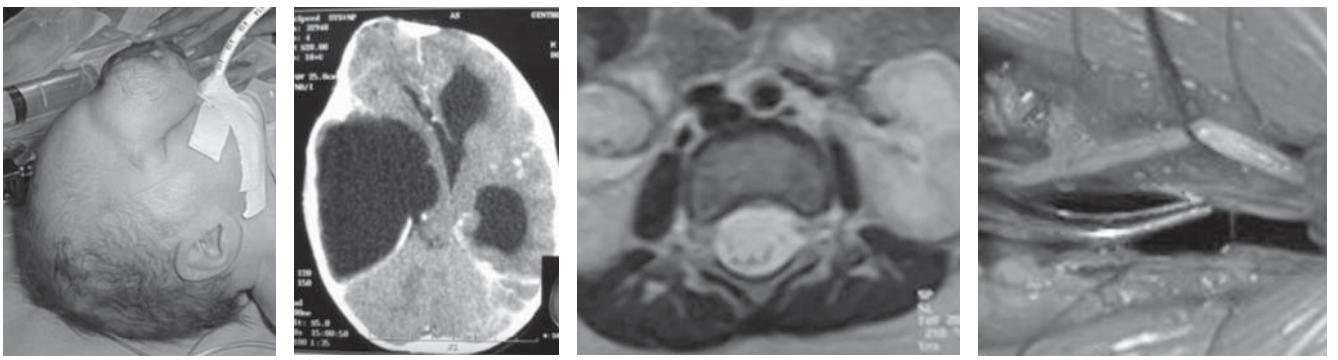
## Materiał i metoda

W latach 1982-2011 u siedmiorga niemowląt: trzech dziewczynek i czterech chłopców, na 446 z wadami cewy nerwowej, rozpoznano wady umiejscowione na różnych poziomach układu nerwowego. Rozpoznanie w trzech przypadkach postawiono na podstawie ultrasonografii przezciemieniowej i miejscowej rdzenia kręgowego (USG). W czterech przypadkach wykonano rezonans magnetyczny (MR), w dwóch następnych potwierdzając rozpoznanie postawione na podstawie USG (ryc. 2). Rodzaje rozpoznanych wad przedstawia tab. 1. Leczenie polegało na plastyce otwartych wad OUN w pierwszych trzech, czterech dobach życia. Wady ukryte: zdwojenie rdzenia kręgowego u jednego dziecka i pogrubiałą nić końcową u drugiego leczono w 8 miesiącu życia. U trzeciego niemowlęcia w wieku 8 miesięcy przecięto pogrubiałą nić końcową i usunięto kolec kostny dzielący rdzeń kręgowy. Przeciek komorowo-otrzewnowy do wodogłowia zakładano między drugą i siódmą dobą życia. Endoskopową fenestrację torbieli pajęczynówki wykonano dwukrotnie w 5 i 8 miesiącu życia (ryc.1, tab. 1). Wyniki leczenia w okresie 6 miesięcy do 5 lat oceniano biorąc pod uwagę obecność wodogłowia, sposób poruszanie się, obecność objawów neurogennego pęcherza moczowego i zaparć.

## Wyniki

Wodogłowie ujawniło się u pięciorga dzieci z przepuklinami mózgowymi i rdzeniowymi. U jednego z przepukliną mózgową czołową i pogrubiałą nicią końcową układ komorowy nie poszerzał się, ale leczenia wymagała ekspansywna skroniowa torbiel pajęczynówki. Samodzielnie chodzi dwoje dzieci: jedno po zamknięciu dwupoziomowej przepukliny ze zdwojeniem rdzenia kręgowego i jedno po plastyce przepukliny mózgowej ze zdwojeniem rdzenia kręgowego w odcinku piersiowym.

Pozostałe cztery poruszają się na wózkach inwalidzkich, jedno nie osiągnęło pierwszego roku życia. Objawy neurogennego pęcherza moczowego pojawiły się u czworga dzieci z przepuklinami rdzeniowymi, których dolny poziom obejmował segmenty lędźwiowo-krzyżowe rdzenia kręgowego i u niemowlęcia ze zdwojeniem rdzenia kręgowego, pogrubiałą nicią końcową i poszerzeniem kanału pośrodkowego rdzenia kręgowego powyżej jego zdwojenia. Zaparcia zdarzają się u trójki dzieci po operacji wad z przepuklinami rdzeniowymi lędźwiowymi.



**A** **B** **C** **D**

***Rycina 1.*** *Chłopiec z wielomiejscowymi wadami OUN: A) przepukliną mózgową czołową, B) skroniową torbielą pajęczynówki, C) pogrubiałą nicią końcową w MR (strzałka), D) pogrubiała nić końcowa - obraz śródoperacyjny.*

**Tabela 1.** Rodzaj wad układu nerwowego rozpoznanych u siedmiorga niemowląt.

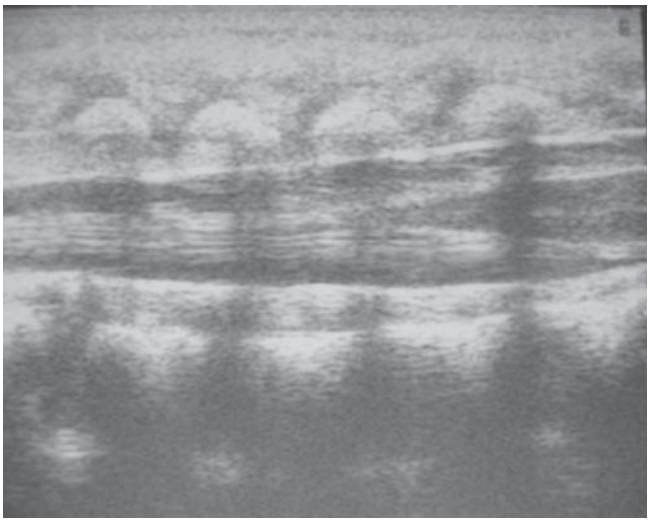
| lp | Wady | płeć | Wiek rozpoznania wady (db) | Zbiorniki płynu mózgowego | Wiek leczenia wad OUN (db) | Wiek leczenia zbiorników pmr (db) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Dwupoziomowa przepuklina rdzeniowa piersiowa i lędźwiowa | ż | 1 doba | wodogłowie | 2 | 2 |
| 2 | Dwupoziomowa przepuklina piersiowa i lędźwiowa | m | śródciążowo | wodogłowie | 3 | 3 |
| 3 | Dwupoziomowa przepuklina piersiowa i lędźwiowa ze zdwojeniem rk | ż | 1 doba | wodogłowie | 3 | 3 |
| 4 | Przepuklina oponowo-mózgowa potyliczna i rdzeniowa lędźwiowa | ż | 1 doba | wodogłowie | 2 | 7 |
| 5 | Przepuklina oponowo-mózgowa i potyliczna i zdwojenie rk typ I | ż | 1 doba/ 4 mc | wodogłowie | 3/8m-c | 6 |
| 6 | Przepuklina mózgowa czołowa, pogrubiała nić końcowa | m | 1 doba/ 3 mc | torbiel pajęczynówki | 4/8m-c | 5,8 m-c |
| 7 | Zdwojenie rdzenia kręgowego typ I, pogrubiała nić końcowa | m | 6 mc | Syringomyelia | 8 mc | - |

**Tabela 2.** Wyniki leczenia siedmiorga dzieci z wielomiejscowymi wadami układu nerwowego.

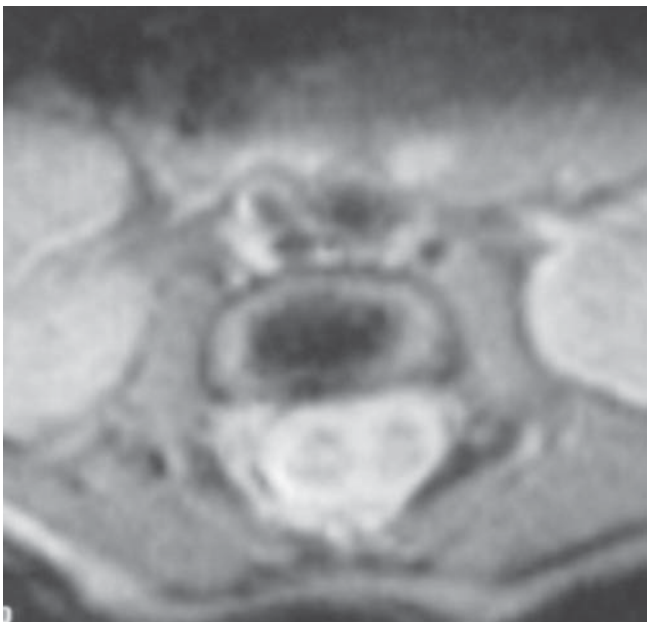
| Wady oun | Wodogłowie | Lokomocja | Neurogenny pęcherz moczowy | Neurogenny kanał odbytowo-odbytniczy |
|---|---|---|---|---|
| Dwupoziomowa przepuklina rdzeniowa piersiowa i lędźwiowa | + | wózek | + | + |
| Dwupoziomowa przepuklina piersiowa i lędźwiowa | + | wózek | + | + |
| Dwupoziomowa przepuklina piersiowa i lędźwiowa ze zdwojeniem rk | + | chodzi | + | - |
| Przepuklina oponowo-mózgowa potyliczna i rdzeniowa lędźwiowa | + | wózek | + | + |
| Przepuklina oponowo-mózgowa i potyliczna i zdwojenie rk typ I | + | chodzi | - | - |
| Przepuklina mózgowa czołowa, pogrubiała nić końcowa | - | wózek | - | - |
| Zdwojenie rdzenia kręgowego typ I, pogrubiała nić końcowa | - | stopy szpotawe | + | - |

## Omówienie

Spodziewane następstwa każdej z rozpoznanych wad OUN decydują o kolejności ich leczenia. Wady otwarte: przepukliny oponowo-mózgowe i oponowo-rdzeniowe muszą być leczone w pierwszej kolejności. Wczesne zamknięcie otwartych wad cewy nerwowej zapobiega zakażeniu OUN, postępującemu uszkodzeniu obnażonych struktur nerwowych (13, 17, 19). Zagadnienie kotwiczenia rdzenia kręgowego poznano nieco później. Świadomość, że pozostawienie chociaż jednej z zespołu wad OUN może w przyszłości spowodować objawy deterioracji neurologicznej, spowodowała dążenie do pełnej diagnostyki na podstawie objawów klinicznych i badań obrazujących przed rozpoczęciem leczenia operacyjnego (1, 3, 7, 10, 13, 14, 17, 21, 29). Przedłużenie obowiązkowego czasu zamknięcia otwartej wady OUN do 72 godzin po urodzeniu nie pogarsza wyników leczenia, umożliwia za to pełne rozpoznanie współistniejących wad zarówno OUN, jak i innych układów (17). Rozpoznanie wad OUN towarzyszących przepuklinom układu nerwowego można postawić oglądając dokładnie miejsce operowane lub, jeżeli wada znajduje się w innym miejscu, kierując się zmianami na skórze lub objawami neurologicznymi np. deformacjami stóp (26, 32). Wstępne badanie ultrasonograficzne miejsca wady pozwala na uzyskanie pewnych informacji na ten temat (5, 8). Rezonans magnetyczny dostarcza dokładne informacje co do położenia i rodzaju wady OUN (ryc. 2) (8, 12, 20, 24, 32).



A



B

***Rycina 2.*** *Przykłady rozpoznania wad rdzenia kręgowego: A) pogrubiałej nici końcowej w usg u chłopca z przepukliną mózgową, czołową, B) zdwojenia rdzenia kręgowego w MR u dziewczynki z przepukliną mózgową potyliczną.*

Wskazania i czas leczenia ukrytych wad OUN nie są jednoznacznie określone. Najwięcej kontrowersji budzą zabiegi profilaktyczne u dzieci bezobjawowych, zdecydowanie mniej u dzieci ze stabilnymi lub postępującymi objawami neurologicznymi (11, 14, 15, 20, 21, 25, 27, 29, 35). U jednego naszego dziecka zdwojenie rdzenia kręgowego znaleziono przy plastyce przepukliny rdzeniowej. U następnych dwóch z owłosieniem w okolicy lędźwiowej rozpoznanie zdwojenia rdzenia kręgowego typ I postawiono na podstawie MR (tab. 1). Pogrubiała nić końcowa wykazana w USG i MR była przyczyną kośląwości stóp u chłopca z przepukliną czołową (ryc. 1).

Wszystkie te dzieci operowano w wieku niemowlęcym. Aktywne wewnątrzczaszkowe zbiorniki płynu mózgowo-rdzeniowego ujawniają się w wypadku otwartych wad dysraficznych tuż po urodzeniu i wymagają leczenia równocześnie lub wkrótce po plastyce tych wad. Wczesne zakładanie układów zastawkowych zapobiega przeciekom przez ranę pooperacyjną i ryzyku zakażenia wstępującego (8, 9, 10, 13, 18). Zabiegi endoskopowe wentrikulostomii III komory w tym wieku są mało skuteczne (17, 18). Skroniowa torbiel pajęczynówki u chłopca z czołową przepukliną mózgową była leczona skutecznie fenestracją endoskopową. Wyniki leczenia uwzględniające możliwości lokomocyjne, sposób oddawania moczu i stolca dzieci zależą od typu wady. Wady otwarte źle rokują. Niedowłady stwierdzane przy urodzeniu są zwykle utrwalone (10, 17, 19). Można natomiast spodziewać się, że korekcja ukrytych wad OUN może spowodować ich ustąpienie lub zapobiec ich pojawieniu się (1, 4, 11, 14, 15, 21, 25, 27, 29, 35).

## Podsumowanie

Leczenie złożonych wad cewy nerwowej w wieku noworodkowym i niemowlęcym musi zakładać możliwą kompletność ich korekcji. Pozostawienie nieskorygowanej

lub nierozpoznanej wady powoduje ryzyko pojawienia się objawów deterioracji neurologicznej w przyszłości.

## Piśmiennictwo


1. *Akay K.M., Ersahin Y., Cakur Y.:* Tethered cord syndrome in adults. Acta Nerochirurg. (Wien) 2000, 142, 1111-1115
2. *Akiyama K., Nishiyama K., Yoshimura J., Mori H., Fuji Y.:* A case of split cord malformation associated with myeloschisis. Childs Nerv. Syst. 2007, 23, 577-580
3. *Artmann H., Blank W., Freoelich H., Spring A.:* Tethered cord syndrome: progressive symptomatology in adults. Case report: symptoms, diagnosis, treatment. Neurosurg. Rev. 1989, 12, 173-175
4. *Catala M.:* Embryogenesis. Why we need a new explanation for the emergence of spina bifida with lipoma? Childs Nerv. Syst. 1997, 13, 336-340
5. *Coerd W., Miller K., Holzgreve W., Rauskorb R., Schwinger E., Rehder H.:* Neural tube defects in chromosomally normal and abnormal embryos. Ultrasound in obstetrics and gynecology 1997, 10, 410
6. *Christiansen J.H., Coles E.G., Wilkinson D.G.:* Mollecular control of neural crest formation, migration and differentiation. Current opinion in cell biology 2000, 12, 719-724
7. *Delashaw J.B., Park T.S., Cail W.M., Vollmer D.:* Cervical meningocoele and associated spinal abnormalities. Childs Nerv. Syst. 1987, 3, 165-169
8. *Drews M., Strzyżewski K., Warzywoda M., Pawlak B.:* Wartość ultrasonografii w rozpoznawaniu i leczeniu wodogłowia. Pol. Przegl. Radiol. 1991, 55, 31-38
9. *El-Ghandour N.M.F.:* Endoscopic third ventriculostomy versus ventriculoperitoneal shunt in the treatment of obstructive hydrocephalus due to posterior fossa tumors in children. Childs Nerv. Syst. 2010, 28, 1263-1271
10. *Ersahin Y., Barcin E., Mutluer S.:* Is meningicoele really an isolated lesion. Childs Nerv. Syst. 2001, 17, 487-490
11. *Gan Y.C., Sgouiros S., Walsh A.R., Hockley A.D.:* Diastematomyelia in children: treatment outcome and natural history of associate syringomyelia. Childs Nerv. Syst. 2007, 23, 515-519
12. *Hughes J.A., De Bruyn R., Patel K., Thompson D.:* Evaluation of spinal ultrasound in spinal dysraphism. Clinical Radiology 2003, 58, 227-233
13. *Kaellen B., Robert E., Harris J.:* Associated malformations in infants and fetuses with upper or lower neural tube defects. Teratology 1998, 57, 56-63
14. *Kang H-S., Wang K-Ch., Kim K.M., Kim S.K., Cho B.K.:* Prognostic factors affecting urologic outcome after untethering surgery for lumbosacral lipoma. Childs Nerv. Syst. 2006, 22, 1111-1121
15. *Koyanagi I., Iwasaki Y., Hida K., Abe H., Isu T., Akino M.:* Surgical treatment supposed natural history of the tethered cord with occult spinal dysraphism. Childs Nerv. Syst. 1997, 13, 268-274
16. *Lowery L.A., Sive H.:* Strategies of vertebrate neurulation and a re-evaluatiuon of teleost neural tube formation. Mechanisms of development 2004,121, 1189-1197
17. *Manning S.M., Jennings R., Madsen J.R.:* Pathophysiology, prevention, and potential treatment of neural tube defects. Mental retardation and developmental disabilities research review 2000, 6, 6-14
18. *Martinez-Lage J.F., Perez-Espejo M.A., Tortosa J.G., San Pedro J.R., Ruiz-Espejo A.M.:* Hydrocephalus in intraspine dermoid and dermal sinuses: the spectrum of an uncommon association in children. Childs Nerv. Syst. 2006, 22, 698-703
19. *Millicovsky G., Lazar M.:* Spina bifida: role o neural tissue damage during pregnancy in producing spinal paralysis. Obstet Gynecol. 1995, 86, 300-301
20. *Miyagi Y., Morioka T., Yoshida F., Hashiguchi K., Inoue D., Mizoguchi M., Shono T., Nagata S., Sasaki T.:* Unusual MR presentation of occult spinal dysraphism with lumbosacral lipoma and dermoid cyst. Childs Nerv. Syst 2007, 23, 109-112
21. *Morimoto K., Takemoto O., Wakayama A.:* Spinal lipomas in children - surgical management and long-term follow - up. Pediatr. Neurosurg. 2005, 41, 84-87
22. *Nakatsu T., Uwabe Ch., Shiota K.:* Neural tube closure in humans initites at multiple sites: evidence from human embryos and implicatins for the pathogenesis of neural tube defects. Anat. Embrylo. 2000, 201, 455-466
23. *O,Rahilly R., Mueller F.:* The two site of fusion of the neural folds and the two neuropores in the human embryo. Teratology 2002, 4, 162-170
24. *Sauynders D.E., Thompson C., Gunny R., Jones R., Cox T., Chong W.K.:* Magnetic resonance imaging neuroradiology. Pediatr. Radiol. 2007, 37, 789-797
25. *Schijman E.:* Split cord malformations. Report of 22 cases and review of the literature. Child's Nerv. Syst. 2003, 19, 96-103
26. *Schropp C., Soerensen N., Collmann H., Krauss J.:* Cutaneos lesions in occult spinal dysraphism – correlation with intraspinal findings. Child's Nerv. Syst. 2006, 22, 125-131
27. *Sinha S., Agarwal D., Mahapatra A.K.:* Split cord malformations: an experience of 203 cases. Childs Nerv. Syst. 2006, 22, 3-7
28. *Smith J.L., Schoenwolf G.C.:* Neurulation: coming to closure: TINS 1997, 20, 510-516
29. *Stavrinou P., Kunz M., Lehner M., Heger A., Mueller-Felber W., Tonn J-Ch., Peraud A.:* Children with tethered cord syndrome of different etiology benefit from microsurgery – a single institution experience. Child's Nerv. Syst. 2011, 27, 803-810
30. *Sqiures L.A., Diffenbach A.Z., Betz W.B.:* Three malformation complexes related to neural crest development. Brain & Development 1998, 20, 183-185
31. *Tekkok I.H.:* Triple neural tube defect - cranium bifidum with rostral and caudal spinal bifida - live evidence of multi - site closure of the neural tube in humans. Child's Nerv. Syst. 2004, 34, 1-9
32. *Torotori-Donati P., Cama A., Rosa M.L., Andreussi L., Taccone A.:* Occult spinal dysraphism: neuroradiological study. Neuroradiology, 1990, 31, 512-522
33. *Tortori - Donnati P., Rossi A., Cama A.:* Spinal dysraphism: a review of neuroradiological features wit embryological correlations and proposal for a new classification. Neuroradiology 2000, 42, 471-491
34. *Toenz O.:* Foulsaeureprophylaxe. Monatsschr. Kinderheilkd. 1999, 147, 320-326
35. *Xenos Ch., Sgouros S., Walsh R., Hockley A.:* Spinal lipomas in children. Pediatr. Neurosurg. 2000, 32, 295-307



**Adres do korespondencji:**
Krzysztof Strzyżewski
Katedra i Klinika Chirurgii, Traumatologii i Urologii Dziecięcej
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

# Urazowe złamania kręgosłupa - zaopatrzenie przy pomocy wertebroplastyki - opis przypadków

## Spinal injuries - treatment by vertebroplasty - two cases report

Bartłomiej Kopaczewski, Stanisław Nowak

*z Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. dr hab. med. Stanisław Nowak*

**Streszczenie**

W przypadku złamań kompresyjnych, w których dochodzi do uszkodzenia w zakresie przedniej kolumny kręgosłupa bez towarzyszącego uszkodzenia rdzenia kręgowego, istnieje możliwość przezskórnego wypełnienia cementem kostnym złamanego trzonu kręgowego. Wzmocnienie złamanego trzonu, uniknięcie czasowego unieruchomienia zewnętrznego, redukcja przyjmowanych leków przeciwbólowych i ograniczenie narastania objawów pogłębiania pourazowego kąta kifozy są zaletą wertebroplastyki, a małoinwazyjność metody pozwala uniknąć otwartej operacji. Autorzy przedstawiają doświadczenia własne na podstawie dwóch przypadków z wykorzystaniem wertebroplastyki w urazowych złamaniach kręgosłupa leczonych operacyjnie w Klinice Neurochirurgii i Neurotraumatologii UM w Poznaniu.

**Summary**

Compressive fractures of the spine that lead into injury of the frontal spinal column without involvement of the spinal cord can be treated by percutaneous cement augmentation into the fractured vetrebra. Vertebroplasty provides stability of the fractured vertebra so there is no need for external fixation. Patients suffer less pain and the risk of postraumatic kyphotic lesion of the spine is smaller. The method is less invasive than the traditional open surgical stabilization. Authors present their own experience (two cases) in using vertebroplasty in treatment of spine fractures in the Department of Neurosurgery and Neurotraumatology Medical University in Poznań.

**Słowa kluczowe:** urazy kręgosłupa, stabilizacja wewnętrzna, wertebroplastyka, złamania kompresyjne

**Key words:** spinal cord injury, internal stabilization, vertebroplasty, compressive fractures

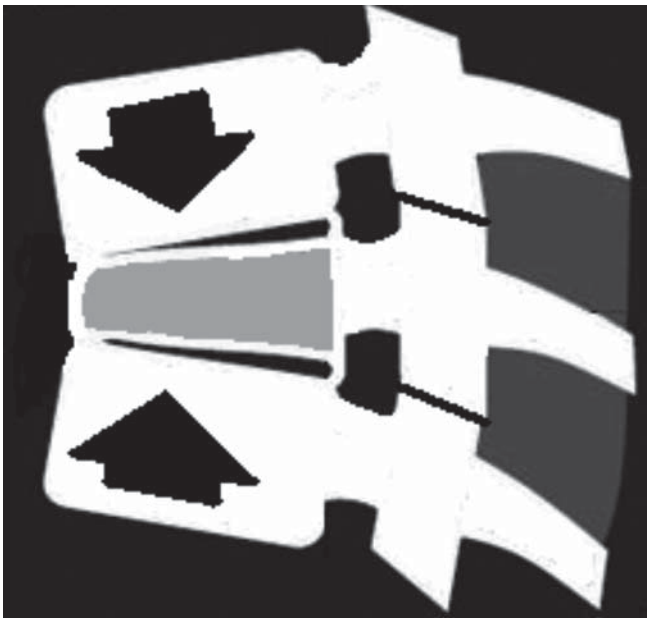
Wertebroplstyka - przezskórne wypełnienie złamanego kompresyjnie trzonu kręgu materiałem polimeryzującym jest powszechnie wykorzystywana w przypadku złamań kręgów w przebiegu osteoporozy, przy znaczącym ubytku masy kostnej, a także w zniszczeniach kręgów wskutek nacieczenia masą patologiczną w przypadku przerzutowego charakteru złamań w kręgosłupie. Jako technika małoinwazyjna pozwala na uniknięcie otwartej operacji, wzmocnienie złamanego trzonu i uwolnienie chorego od ograniczającego unieruchomienia zewnętrznego, co warunkuje poprawę jakości życia (3, 4). Opierając się na wskazaniach dotyczących wertebroplastyki podjęto próbę wyselekcjonowania pacjentów z urazowymi złamaniami kręgosłupa, u których możliwa do wykorzystania byłaby technika przezskórnego zaopatrzenia urazowego złamania kręgosłupa metodą wertebroplastyki.

Klasyfikacja urazów kręgosłupa opiera się na koncepcji dwukolumnowej wg Magerl'a, która wyróżnia trzy typy złamań (1, 6, 7):

Typ A - złamania kompresyjne
Typ B - złamania zgięciowo-dystrakcyjne
Typ C - złamania rotacyjne

Wskazaniami do leczenia operacyjnego jest niestabilność kręgosłupa, kliniczne objawy ucisku na rdzeń kręgowy i korzenie nerwowe. Za kryterium niestabilności kręgosłupa uznaje się: uszkodzenie obu kolumn, uszkodzenie więzadeł, złamanie wybuchowe, uszkodzenie tylnej powierzchni trzonu kręgu (1, 6).

W przypadku złamań kompresyjnych - typ A, dochodzi do uszkodzenia przedniej kolumny. W sytuacjach, w których nie jest uszkodzona przednia część kanału kręgowego (zachowane tylne elementy trzonu kręgowego i więzadło podłużne tylne) w oparciu o podział urazowych uszkodzeń kręgosłupa mamy do czynienia ze złamaniem stabilnym, które nie wymaga operacji neurochirurgicznej (ryc. 1). Wystarczające jest czasowe unieruchomienie zewnętrzne kręgosłupa. Jednak w obrazie klinicznym do czasu pełnego wygojenia (uzy-



***Rycina 1.*** *Typ A złamań kręgosłupa - złamanie kompresyjne - podtyp A1 bez uszkodzenia tylnych elementów trzonu kręgowego.*

skania zrostu kostnego) dominuje ból, który dodatkowo z unieruchomieniem gorsetowym w znaczący sposób ogranicza jakość życia chorych.

## Opis przypadku 1

Chory R. P. lat 38 po wypadku komunikacyjnym - kierujący samochodem osobowym po „dachowaniu". Zaopatrzony doraźnie na miejscu wypadku, przetransportowany na sztywnej desce do Oddziału SOR szpitala powiatowego, gdzie wykonano diagnostykę obrazową ustalając rozpoznanie - złamanie kompresyjne kręgu L2. Przyjęty do Kliniki Neurochirurgii UM w Poznaniu. Stan kliniczny przy przyjęciu określono jako dobry; neurologicznie bez ogniskowych objawów ubytkowych. W badaniu rtg bez cech niestabilności kręgosłupa (uszkodzenie w zakresie przedniej kolumny, bez radiologicznych cech uszkodzeń tylnej powierzchni trzonu z zachowaną ciągłością przedniej ściany kanału kręgowego. Bez ryzyka migracji materiału wypełniającego do kanału kręgowego, bez objawów asymetrii w zakresie wyrostków kolczystych i rzutowania nasad łuków kręgowych świadczących o uszkodzeniu połączeń więzadłowych kręgów). Chory zakwalifikowany do wertebroplastyki przy pomocy PMMA (polimetakrylan metylu). Zabieg wykonano w znieczuleniu miejscowym (ryc. 2A, 2B, 2C, 2D). Po pełnej polimeryzacji materiału wypełniającego - pacjent uruchomiony. Zwolniony do domu bez unieruchomienia zewnętrznego z zaleceniem oszczędzającego trybu życia i zakazem przeciążania odcinka lędźwiowego kręgosłupa.

## Opis przypadku 2

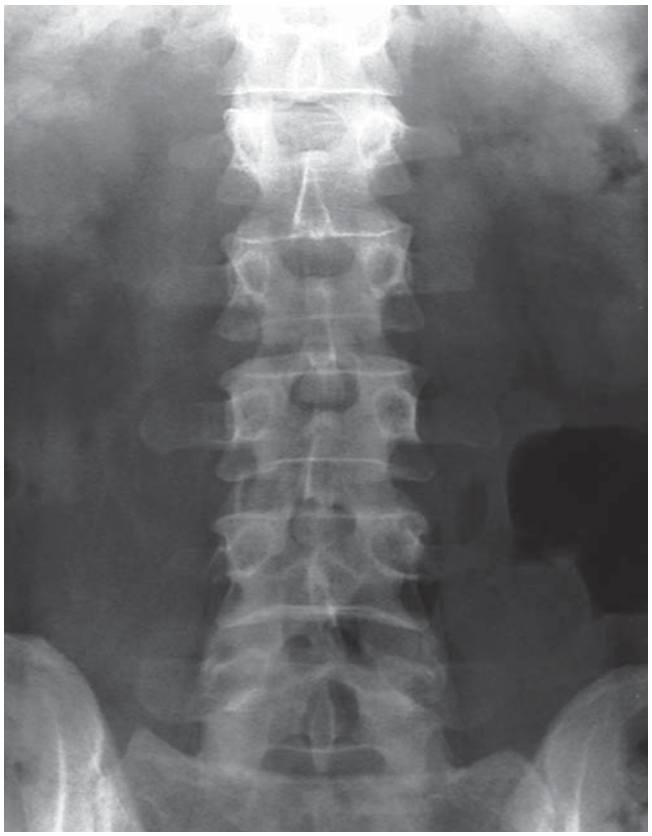
Chora W. K. lat 54 z powodu narastającego bólu kręgosłupa z osłabieniem kończyn dolnych zgłosiła się do szpitala, hospitalizowana w Oddziale Neurologii. W wywiadzie przed kilkunastu dniami upadek ze schodów, wskutek którego doznała ogólnych potłuczeń, bezpośrednio po urazie odczuwała umiarkowanie silny ból w dolnej części pleców, z zachowaną funkcją ruchową kończyn i prawidłową funkcją zwieraczy. W obrazie klinicznym cechy osłabienia kończyn o charakterze wiotkim nie pozostawały w korelacji z obrazem radiologicznym - złamanie kompresyjne Th11, bez cech stenozy kanału kręgowego. Z uwagi na odległość urazu i obraz kliniczny diagnostykę poszerzono o badanie obrazowe odcinka lędźwiowego kręgosłupa, badanie potencjałów czynnościowych, badanie densytometryczne kręgosłupa - wykluczono obecność patologii w części lędźwiowej, nie stwierdzono ubytku masy kostnej typowej dla osteoporozy. W badaniu potencjałów stwierdzono obraz obwodowej polineuropatii. Początkowo zastosowano unieruchomienie zewnętrzne w gorsecie Jewett'a. Z uwagi na silny zespół bólowy kręgosłupa i ograniczenia ruchowe przez zaopatrzenie zewnętrzne. Zakwalifikowano pacjentkę do zaopatrzenia wewnętrznego złamania urazowego kręgosłupa typu A metodą przeskórnej wertebroplastyki (ryc 3A, 3B, 3C, 3D). Po zabiegu, po pełnej polimeryzacji materiału wypełniającego chorą spionizowano bez unieruchomienia zewnętrznego.

## Dyskusja

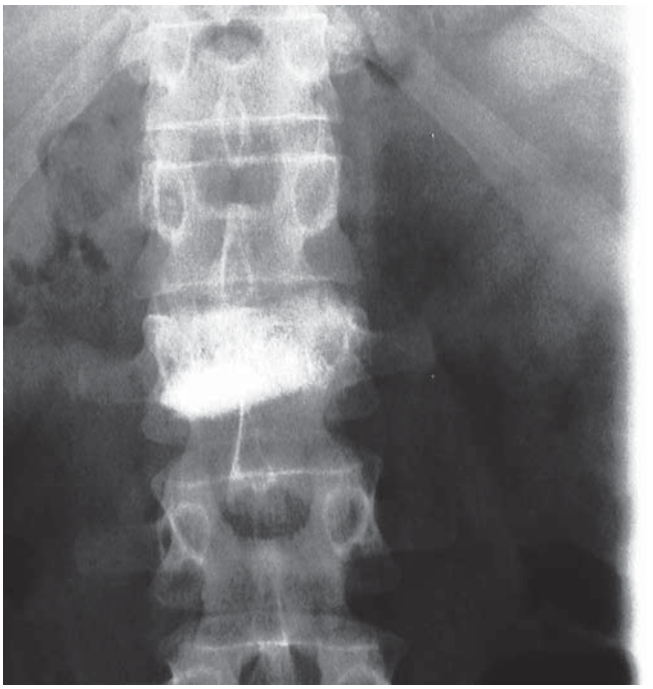
Klasycznymi wskazaniami do leczenia sposobem wertebroplastyki są złamania na tle osteoporozy, naczyniaki trzonów kręgowych, choroby nowotworowe kręgosłupa (szpiczak, białaczka, przerzuty nowotworowe do trzonów kręgowych). Zaletą techniki przezskórnego wypełnienia cementem złamanego trzonu kręgowego jest małoinwazyjność metody, w której unika się otwartej operacji, wzmocnienie złamanego trzonu, uniknięcie czasowego unieruchomienia zewnętrznego, redukcję leków przeciwbólowych poprzez ustąpienie bólu wywołanego złamaniem i termiczne uszkodzenie zakończeń nerwowych wysoką temperaturą polimeryzacji materiału wypełniającego. Najczęściej spotykanym powikłaniem jest migracja cementu i możliwość jego wycieku do kanału kręgowego i układu naczyniowego, co może prowadzić do wystąpienia zatorów (2, 3, 4, 5).

## Wnioski

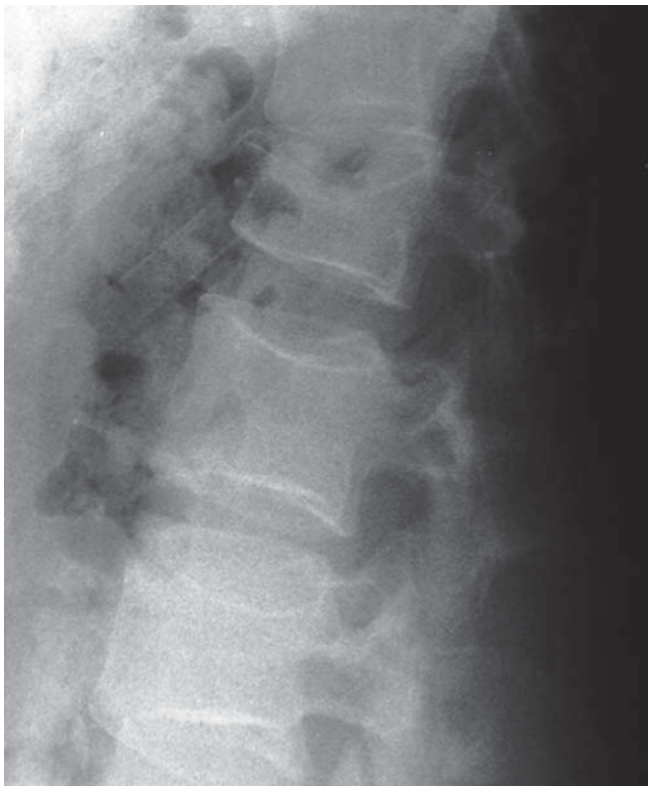
Leczenie operacyjne złamań urazowych kręgosłupa w zakresie kolumny przedniej - typ A, w których nie występuje uszkodzenie tylnej części powierzchni trzonu kręgowego z zachowaną jej ciągłością z także bez radiologicznych objawów asymetrii w zakresie wyrostków



A



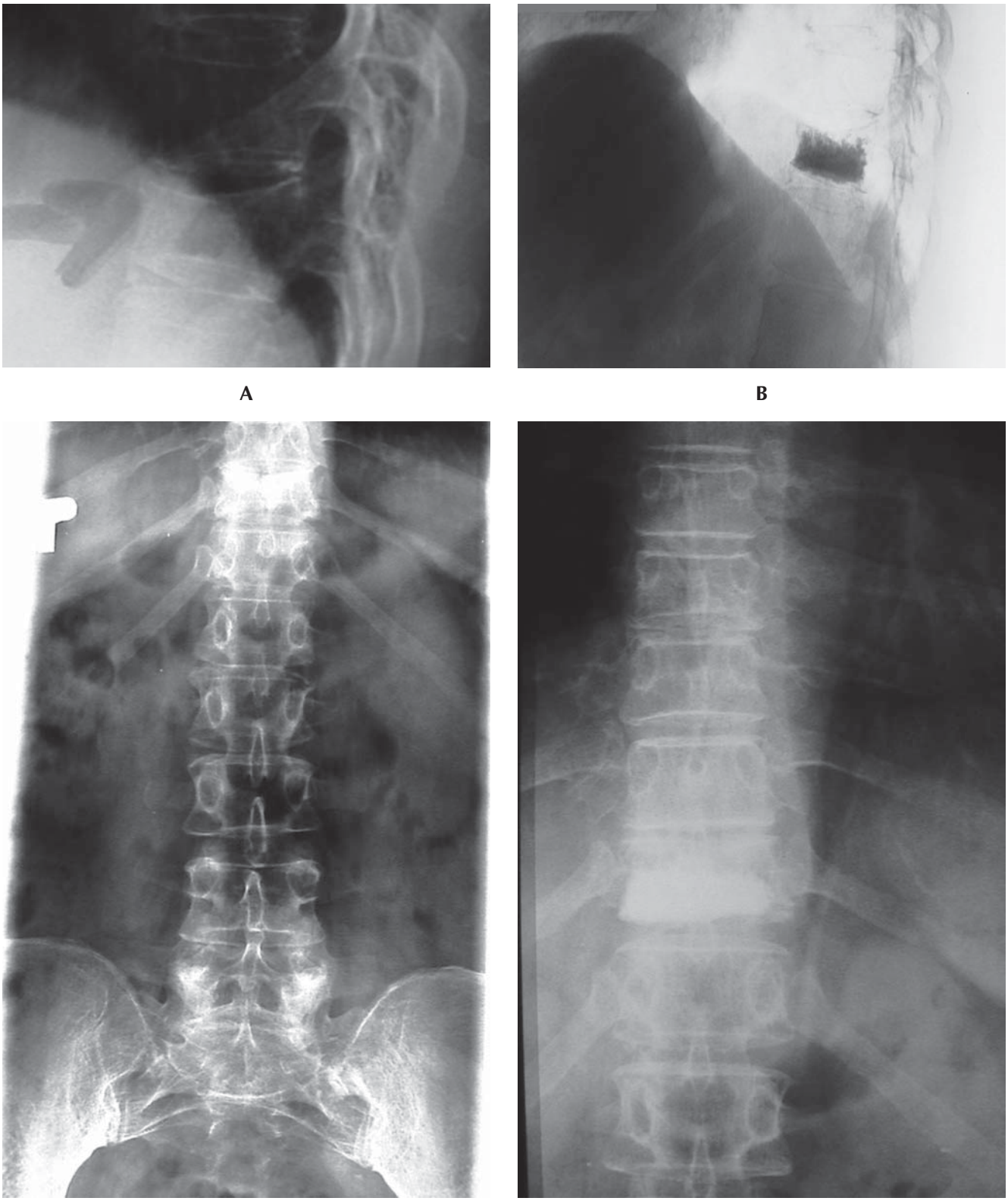
B



C

D

***Rycina 2.*** *Zdjęcia rentgenowskie w projekcjach p-a i bocznej przed (A, C) i po zaopatrzeniu operacyjnym (B, D) złamania kompresyjnego kręgu L2.*



**A** **B**

**C** **D**

***Rycina 3.*** *Zdjęcia rentgenowskie w projekcjach p-a i bocznej przed (A, C) i po wertebroplastyce (B, D) złamania kompresyjnego kręgu Th12.*

kolczystych i w miejscu rzutowania nasad łuków kręgowych świadczących o niestabilności kręgosłupa może być przeprowadzone przy pomocy wertebroplastyki. Jest to metoda małoinwa zyjna, która może wspomagać naturalny przebieg gojenia złamania. Postępowanie takie ma na celu wzmocnienie złamanego trzonu, działanie przeciwbólowe i pozwala na stabilizację wewnętrzną, która ogranicza narastania objawów pogłębiania pourazowego kąta kyfozy, a także poprawia komfort życia chorych.

## Piśmiennictwo


1. *Altay M., Ozkurt B., Aktekin C.N., Ozturk A.M., Dogan O., Tabak A.Y.:* Treatment of unstable thoracolumbal junction burst fractures with short- or long-segment posterior fixation in Magerl type a fractures. Eur. Spine J. 2007, 16, 1145-1155
2. *Anselmetti G.C., Corgnier A., Debernardi F., Regge D.:* Treatment of painful compression vertebral fractures with vertebroplasty: results and complications. Radiol. Med. 2005, 3, 262-272
3. *Cheung C., Chow E., Holden L. , Vidmar M., Danjoux C., Yee A.J., Connolly R., Finkelstein J.:* Percutaneous vertebroplasty in patients with intractable pain from osteoporotic or metastatic fractures: A prospective study using quality of life assesment. Can. Assos. Radiol. J. 2006, 1, 13-21
4. *Hargunani R., LeCorroller T., Khashoogi K., Murphy K.J., Munk P.L.:* Percutaneous vertebral augumentation: the status of vertebroplasty and current controversies. Semin. Musculoskelet Radiol. 2011, 15, 117-124
5. *Heran M.K., Legiehn G.M., Munk P.L.:* Current concepts and techniques in percutaneous vertebroplasty. Orthop. Clin. North Am. 2006, 3, 409-434
6. *Joaquim A.F., Fernandes Y.B., Cavalcante R.A., Fragoso R.M., Honorato D.C., Patel A.A.:* Evaluation of the thoracolumbal injury classification system in thoracic and lumbal spinal trauma. Spine 2011, 1, 33-36
7. *Magerl F., Aebi M., Gertzbein S.D., Harms J. Nazarian S.:* A comperhensive classification of thoracic and lumbar injuries. Eur Spine J. 1994, 3 (4), 184-201



**Adres do korespondencji:**
Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Ocena znaczenia klinicznego obecności przeciwciał anty-MAG, anty-mielina i anty-neuroendothelium

## Clinical significance of anti-MAG, anti-myelin and anti-neuroendothelium antibodies

Sławomir Michalak[1,2], Anna Gruszczyńska[3], Karolina Popławska[4], Paulina Żurawicz[3], Wojciech Kozubski[4]

[1] *z Zakładu Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Sławomir Michalak kierownik Katedry: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

[2] *z Zespołu Badawczo-Leczniczy Chorób Neuroimmunologicznych Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie kierownik: Prof. dr hab. med. Jacek Losy*

[3] *ze Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii opiekun: dr hab. med. Sławomir Michalak*

[4] *z Katedry i Kliniki Neurologii UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu kierownik Katedry: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

**Streszczenie**

Przeciwciała przeciw mielinie nerwów obwodowych, glikoproteinie związanej z mieliną (MAG) oraz neuroendothelium są obecnie rutynowo badane w przypadkach z podejrzeniem neurologicznych zespołów paranowotworowych (NZP). Jednakże nie zawsze ostateczne rozpoznanie potwierdza to podejrzenie, stąd powstaje kliniczne określenie znaczenia uzyskiwanych wyników. Celem badania było określenie znaczenia klinicznego przeciwciał anty-mielina, anty-MAG anty-neuroendothelium.

Do badania włączono 971 chorych z podejrzeniem NZP. W surowicy wszystkich chorych oznaczano obecność przeciwciał onkoneuronalnych, anty-mielina, anty-MAG i anty-neuroendothelium metodą pośredniej immunofluorescencji (EUROIMMUN, Niemcy). Chorych skategoryzowano w grupy zespołów objawowych: zespół dolnego neuronu ruchowego, zespół górnego zespołu ruchowego, zespół móżdżkowy, choroby neuronu ruchowego, dystonię, zespół pozapiramidowy, inne oraz współistniejące zespoły. Iloraz szans (OR, Odds ratio) oraz test Q Cochrana analizowano przy użyciu oprogramowania MedCalc 11.5.1.0.

W badanej grupie wyłoniono 149 chorych (15%) z przeciwciałami anty-mielina, 62 (6%) z anty-MAG i 56 (5.8%) z anty-neuroendothelium. Iloraz szans wystąpienia zespołu dolnego neuronu u chorych z przeciwciałami anty-neuroendothelium wynosił 2,7742 (P=0,0163) w porównaniu z osobami z przeciwciałami anty-mielina. Z kolei iloraz szans stwierdzenia zespołu górnego neuronu u chorych z przeciwciałami anty-mielina był równy 4,08 (P=0,0249) w porównaniu z przypadkami anty-MAG. Ryzyko wystąpienia zespołu móżdżkowego było wyższe u chorych z przeciwciałami anty-mielina (OR=7,8; P=0,0123) niż anty-MAG. U chorych z objawami zespołu móżdżkowego stwierdzano istotnie częściej obecność przeciwciał anty-mielina (64,71%, P=0,01) niż anty-MAG (17,65%), czy anty-neuroendothelium (11,76%). Ryzyko współistnienia obecności przeciwciał anty-mielina z chorobą neuronu ruchowego było wyższe niż przeciwciał anty-MAG (OR=64,0; P=0,0056) i anty-neuroendothelium (OR=107,7; P=0,0059). Również iloraz szans współistnienia zespołów pozapiramidowych i przeciwciał anty-mielina był wyższy (OR=33,0; P=0,0460) niż przeciwciał anty-neuroendothelium. Współistnienie

dwóch zespołów objawowych było wielokrotnie bardziej prawdopodobne u chorych z przeciwciałami anty-mielina niż anty-MAG (OR=169,0; P=0,0134), czy anty-neuroendothelium (OR=169,0; P=0,0134), ponieważ wszyscy chorzy z tej grupy wykazywali obecność przeciwciał anty-mielina (100%, P=0,002).

Przeciwciała przeciw mielinie nerwów obwodowych były najczęściej wykrywanymi i wiązały się ze zwiększonym ryzykiem współistnienia z szeregiem zespołów objawowych włączając zespół górnego neuronu ruchowego, zespół móżdżkowy i chorobę neuronu ruchowego. Zatem wykazanie tej odpowiedzi autoimmunologicznej powinno być interpretowane jako związane z reakcjami niespecyficznymi i/lub krzyżowymi.


## Summary

The antibodies directed against peripheral nerves' myelin, myelin-associated glycoprotein (MAG) and neuroendothelium are tested routinely in all subjects suspected for neurological paraneoplastic syndromes (NPS). However, not all cases are eventually diagnosed as NPS, and there is strong urge for interpretation of results. The aim of this study was to evaluate the clinical significance of anti-myelin, anti-MAG and anti-neuroendothelium antibodies.

The study included 971 patients with suspicion of NPS. The sera of all patients were tested for the presence of onconeuronal antibodies, anti-myelin, anti-MAG and anti-neuroendothelium antibodies. The method used for detection of mentioned antibodies was indirect immunofluorescence (EUROIMMUN, Germany). The patients were categorized into the following subgroups: lower motor neuron syndrome, upper motor neuron syndrome, cerebellar syndrome, motor neuron disease (MND), dystonia, extrapyramidal syndrome, other and coexisting syndromes. Odds Ratios (OR) and Cochran's Q test were analyzed with the use of MedCalc 11.5.1.0 software.

In the studied group 149 (15%) cases were positive for the presence of anti-myelin antibodies, 62 (6%) were positive for anti-MAG and 56 (5.8%) for anti-neuroendothelium. OR for the diagnosis of lower motor neuron syndrome in patients with anti-endothelium antibodies was 2.7742 (P=0.0163) comparing to anti-myelin patients. OR in upper motor neuron syndrome subjects with anti-myelin antibodies versus anti-MAG was 4.08 (P=0.0249). Patients with anti-myelin antibodies were at higher risk for cerebellar syndrome (OR=7.8, P=0.0123) comparing with anti-MAG subjects. In cerebellar syndrome patients anti-myelin antibodies were more frequent (64.71%, P=0.01) than in anti-MAG (17.65%) and anti-neuroendothelium (11.76%). The risk for association of anti-myelin antibodies with MND was higher comparing to anti-MAG (OR=64.0, P=0.0056) and anti-neuroendothelium (OR=107.7, P=0.0059). Extrapyramidal syndromes were associated with higher risk of anti-myelin antibodies than with anti-neuroendothelium (OR=33.0, P=0.0460). Coexistance of two neurological syndromes was more probable in anti-myelin than anti-MAG (OR=169.0, P=0.0134) or anti-neuroendothelium (OR=169.0, P=0.0134) subjects. All of patients with coexisting neurological syndromes had anti-myelin antibodies (100%, P=0.002).

Anti-myelin are the most frequent antineuronal antibodies associated with increased risk of a spectrum of neurological syndromes including upper motor neuron, cerebellar, extrapyramidal and MND. Thus such an reaction can be interpret as a result from cross-reactivity or unspecificity.



**Słowa kluczowe:** anty-mielina, anty-MAG, anty-neuroendothelium, autoprzeciwciała

**Key words:** anti-myelin, anti-MAG, anti-neuroendothelium, autoantibodies


## Wstęp

Zróżnicowanie budowy, pochodzenia i składu chemicznego mieliny ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego (tab. 1) ma z pewnością znaczenie w rozwoju reakcji autoimmunologicznych, w których antygenami mogą być ważne czynnościowo cząsteczki.

Glikoproteina związana z mieliną (Myelin-associated glycoprotein, MAG) jest najważniejszym białkiem budulcowym mieliny (10). Obecność przeciwciał anty-MAG związana jest z patomechanizmami rozwoju nabytej polineuropatii demielinizacyjnej o późnym początku, która przebiega z zaburzeniami czucia i ataksją będącą następstwem uszkodzenia dużych zmielinizowanych włókien czuciowych (15).

Przeciwciała przeciw mielinie ośrodkowego układu nerwowego skierowane są najczęściej przeciw następującym antygenom:

- białko zasadowe mieliny (MBP),
- glikoproteina mieliny oligodendrocytów (MOG).

Ich znaczenie kliniczne wiąże się ze stwierdzaniem u chorych z pierwotnym izolowanym zespołem objawów (PIZO) obecności zmian w MRI i prążków oligoklonalnych. U chorych z przeciwciałami anty-MBP i anty-MOG częściej i wcześniej dochodzi do rozwoju klinicznie pewnego stwardnienia rozsianego (3).

Przeciwciała przeciw mielinie obwodowego układu nerwowego stwierdzano u chorych z jaskrą (8) i stanowią one wyraz reakcji immunologicznej na wcześniejsze uszkodzenie układu nerwowego, np. nerwu wzrokowego (21).

Przeciwciała przeciw śródbłonkowi naczyń mózgowych (anty-neuroendothelium) stwierdzano w 38% przypadków z chorobą Binswangera oraz w 37% osób z chorobami naczyń mózgowych. Poziom tych prze-

**Tabela 1.** Mielina w obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym - podobieństwa i różnice.

| | Obwodowy układ nerwowy | Ośrodkowy układ nerwowy |
|---|---|---|
| Lipidy | • cerebrozydy <<br>• sulfatydy <<br>• sfingomielina ><br>• gangliozyd LM1 | • cerebrozydy<br>• sulfatydy<br>• sfingomielina |
| Białka | • P0<br>• MBP <<br>• P2 ><br>• MAG<br>• SAG<br>• PMP-22 | • MBP<br>• P2<br>• MAG<br>• MOG<br>• PLP<br>• CNP-aza<br>(2',3'-cyclic nucleotide 3' phosphodiesterase) |

ciwciał korelował z oceną funkcji poznawczych w skali MMSE (MiniMental State Examination) (2).

Przeciwciała skierowane przeciw śródbłonkowi naczyń obserwowano również u chorych z toczniem układowym, reumatoidalnym zapaleniem stawów, mieszaną chorobą tkanki łącznej, twardziną, zapaleniem skórno-mięśniowym, ziarniniakiem Wegenera, cukrzycą i stwardnieniem rozsianym (1, 12).

Stosowane coraz powszechniej badania autoprzeciwciał dostarczają wyników wskazujących na obecność przeciwciał anty-MAG, anty-mielina i anty-neuroendotelium, jednakże ich znaczenie kliniczne u osób z chorobami układu nerwowego nie zostało dokładnie określone. Z tego powodu w niniejszym badaniu podjęto analizę korelacji kliniczno - laboratoryjnych u chorych, u których wykryto wyżej wymienione przeciwciała.

## Materiał i metody

Spośród 971 chorych hospitalizowanych lub konsultowanych z powodu podejrzenia neurologicznych zespołów paranowotworowych w Klinice Neurologii Uniwersytetu im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu włączono do badania 85 osób (kobiety : mężczyźni = 1:1) z obecnością przeciwciał anty-MAG, anty-mielina i anty-neuroendotelium. Przeprowadzono retrospektywną analizę danych klinicznych, które obejmowały ostateczne rozpoznania kliniczne, zespoły neurologiczne, towarzyszące choroby narządów wewnętrznych oraz wiek i płeć. Przeciwciała anty-MAG, anty-mielina i anty-neuroendotelium oznaczano metodą immunofluorescencji pośredniej (EUROIMMUN, Niemcy).

## Wyniki

Najczęściej wykrywanymi przeciwciałami były przeciwciała anty-mielina (15% chorych) (tab. 2, ryc. 1). Przeciwciała anty-MAG (ryc. 2) stwierdzano u 6% chorych, a anty-neuroendothelium (ryc. 3) u 5,8% chorych.

Profil objawów klinicznych i chorób rozpoznawanych u osób ze stwierdzoną obecnością przeciwciał anty-mielina, anty-MAG i anty-neuroendothelium przedstawiono w tab. 3.

U osób z przeciwciałami przeciw mielinie rozpoznawano następujące choroby towarzyszące:

- nowotwór w wywiadzie - 13,4%,
- cukrzyca typu 1 - 1,5%,
- cukrzyca typu 2 - 7,5%,
- upośledzona tolerancja glukozy (IGT) - 1,5%,
- jaskra - 3%.

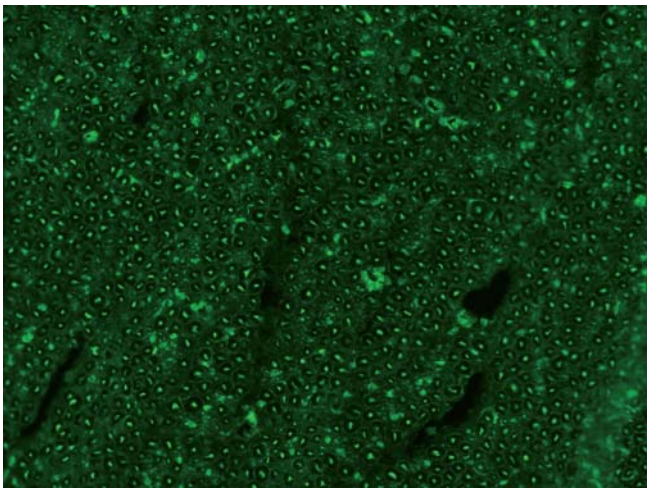
Obserwowano również laboratoryjne wykładniki towarzyszących chorób autoimmunologicznych u osób z przeciwciałami przeciw mielinie:

- prążki oligoklonalne - 4%,
- przeciwciała przeciw receptorom dla acetylocholiny - 4%,
- przeciwciała przeciwjądrowe - 6%.

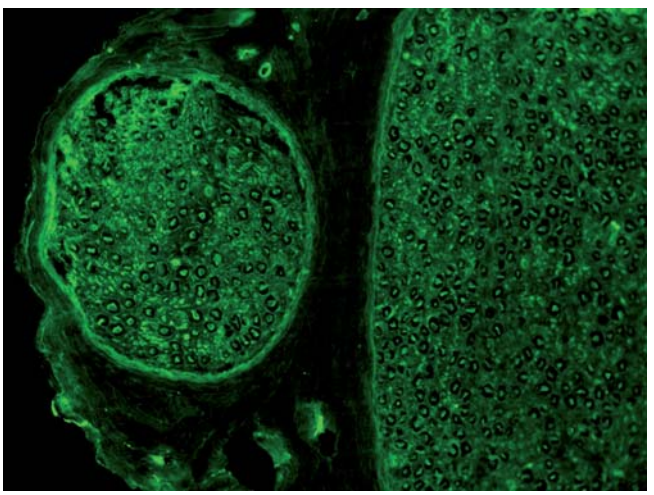
Iloraz szans wystąpienia zespołu dolnego neuronu u chorych z przeciwciałami anty-neuroendothelium wynosił 2,7742 (P=0,0163) w porównaniu z osobami z przeciwciałami anty-mielina. Z kolei iloraz szans stwierdzenia zespołu górnego neuronu u chorych z przeciwciałami anty-mielina był równy 4,08 (P=0,0249) w porównaniu z przypadkami anty-MAG. Ryzyko wy-

**Tabela 2.** Profil wykrywanych autoprzeciwciał.

| Przeciwciało | Chorzy seropozytywni | Chorzy seronegatywni |
|---|---|---|
| Anty-mielina | 149 (15%) | 822 |
| Anty-MAG | 62 (6%) | 909 |
| Anty-neuroendothelium | 56 (5.8%) | 916 |

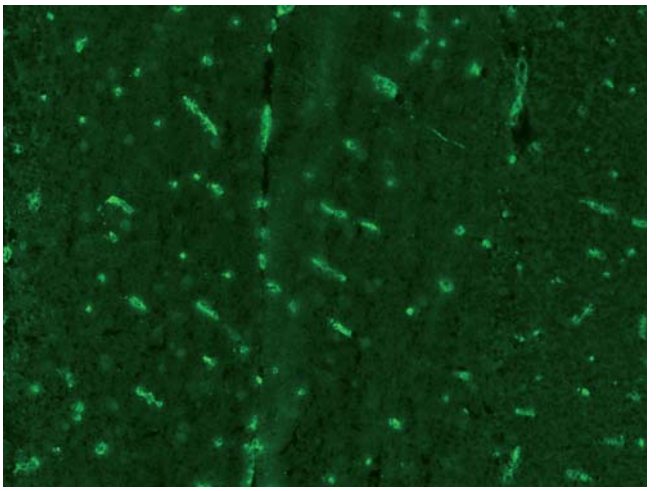


***Rycina 1.*** *Dodatnia reakcja przeciwciał przeciw mielinie w immunofluorescencji pośredniej.*



***Rycina 2.*** *Dodatnia reakcja przeciwciał anty-MAG w immunofluorescencji pośredniej.*

stąpienia zespołu móżdżkowego było wyższe u chorych z przeciwciałami anty-mielina (OR=7,8; P=0,0123) niż anty-MAG. U chorych z objawami zespołu móżdżkowego stwierdzano istotnie częściej obecność przeciwciał anty-mielina (64,71%, P=0,01) niż anty-MAG (17,65%), czy anty-neuroendothelium (11,76%). Ryzyko współistnienia obecności przeciwciał anty-mielina z chorobą neuronu ruchowego było wyższe niż przeciwciał anty-



***Rycina 3.*** *Dodatnia reakcja przeciwciał anty-neuroendothelium w immunofluorescencji pośredniej.*

MAG (OR=64,0; P=0,0056) i anty-neuroendothelium (OR=107,7; P=0,0059). Również iloraz szans współistnienia zespołów pozapiramidowych i przeciwciał anty-mielina był wyższy (OR=33,0; P=0,0460) niż przeciwciał anty-neuroendothelium. Współistnienie dwóch zespołów objawowych było wielokrotnie bardziej prawdopodobne u chorych z przeciwciałami anty-mielina niż anty-MAG (OR=169,0; P=0,0134), czy anty-neuroendothelium (OR=169,0; P=0,0134), ponieważ wszyscy chorzy z tej grupy wykazywali obecność przeciwciał anty-mielina (100%, P=0,002).

## Dyskusja

Wykrycie obecności autoprzeciwciał, zwłaszcza metodą immunofluorescencji pośredniej, wskazuje wprawdzie na reakcję autoimmunologiczną rozwijającą się u chorego, jednakże nie różnicuje jej wtórnego charakteru od pierwotnej odpowiedzi skierowanej przeciw antygenom tkankowym. Literatura przedmiotu nie dostarcza licznych danych dotyczących roli przeciwciał anty-mielina. Ich obecność wykryto zarówno u chorych zakażonych HIV bez objawów polineuropatii (u 51% chorych w klasie IgM oraz u 31% chorych w klasie IgG), jak i z objawami polineuropatii (13). W dalszej analizie przeciwciał wykazano, że skierowane są one przeciw ważnym składowym mieliny nerwów obwodowych:

**Tabela 3.** Objawy kliniczne u chorych z przeciwciałami anty-mielina, anty-MAG i anty-neuroendotelium.

| Zespół objawów / Choroba | Anty-mielina (%) | Anty-MAG (%) | Anty-NE (%) | P |
|---|---|---|---|---|
| Zespół dolnego neuronu | 44 | 34 | 22 | > 0.05 |
| Zespół górnego neuronu | 45 | 18 | 27 | > 0.05 |
| Zespół móżdżkowy | 65 * | 18 | 12 | 0.01 |
| Choroba neuronu ruchowego | 89 * | 11 | 0 | 0.002 |
| Dystonia | 0 | 100 | 0 | > 0.05 |
| Miastenia | 50 | 25 | 25 | > 0.05 |
| Miopatia | 40 | 60 | 0 | > 0.05 |
| Zespół pozapiramidowy | 80 | 20 | 0 | > 0.05 |
| Zespół nerwów czaszkowych | 0 | 50 | 50 | > 0.05 |
| Inne | 60 | 40 | 20 | > 0.05 |
| Padaczka | 33 | 66 | 33 | > 0.05 |
| Współistnienie dwóch zespołów objawów | 100 * | 0 | 0 | 0.002 |

sulfatydowi oraz gangliozydom GM1, GD1a i GD1b. Obecność przeciwciał przeciw mielinie nerwów obwodowych u chorych bez objawów polineuropatii autorzy wyjaśniają jej przedkliniczną fazą (13).

Obserwowana w niniejszym badaniu obecność przeciwciał przeciw mielinie u osób z pierwotnie zwyrodnieniowymi chorobami układu nerwowego wskazuje na ich niespecyficzny charakter oraz wtórną odpowiedź autoimmunologiczną. U chorych ze stwardnieniem rozsianym próbowano wykorzystać oznaczanie przeciwciał przeciw składowym mieliny ośrodkowego układu nerwowego, jednakże nie uzyskano jednoznacznych wyników, które mogłyby być podstawą uznania autoprzeciwciał za markery choroby. U chorych ze stwardnieniem rozsianym obserwowano przeciwciała przeciw białku zasadowemu mieliny (MBP), mielinowej glikoproteinie oligodendrocytów (MOG), białku proteolipidu (PLP) oraz glikoproteinie związanej z mieliną (MAG) (14, 17, 19). Niejednorodność reakcji autoimmunologicznej, występującej u chorych ze stwardnieniem rozsianym, zaangażowanie limfocytów B i T oraz towarzysząca degeneracja aksonalna, istotnie utrudniają identyfikację biomarkera przydatnego w diagnostyce stwardnienia rozsianego. Przeciwciała przeciw mielinie obserwowano zarówno w klasie IgM, jak i IgG (4) także u 3%, a nawet u 10% zdrowych osobników (20). Diagnostyczne wykorzystanie wykrywania przeciwciał przeciw mielinie utrudniają ponadto zróżnicowane metody laboratoryjne. W testach wykrywających obecność przeciwciał przeciw mielinie zastosowanie znajdują izolowane z bakterii, tkanek lub rekombinowane peptydy, które mogą ulegać posttranslacyjnym przemianom utrudniającym lub uniemożliwiającym wiązanie i detekcję autoprzeciwciał. Możliwe są również reakcje krzyżowe, ponieważ sekwencję DHSYQEE stanowiącą część typowego dla MOG fragmentu R101DHSYQEE108 wykryto u *Chlamydia trachomatis* (5).

Przeciwciała anty-MAG wykryto w niniejszej pracy nie tylko u osób z patologią obwodowego układu nerwowego, ale również z chorobami neurodegeneracyjnymi i autoimmunologicznymi. Obecność tych przeciwciał wiąże się patofizjologicznie z nabytą demielinizacyjną polineuropatią o późnym początku, która cechuje się klinicznie zaburzeniami czucia i ataksją w następstwie uszkodzenia dużych zmielinizowanych włókien czuciowych (11). W badaniu neurofizjologicznym w polineuropatii z przeciwciałami anty-MAG stwierdza się rozlane zwolnienie szybkości przewodzenia w nerwach czuciowo-ruchowych oraz opóźnienie dystalnych latencji (18). Depozyty przeciwciał anty-MAG wykazano w bioptatach nerwów chorych z polineuropatią anty-MAG (16) w miejscach typowych dla lokalizacji tego białka (komórki Schwanna). Obserwowano również w 52% badanych chorych reakcje krzyżowe przeciwciał anty-MAG z glikolipidami: paraglobozydem sulfoglukuronylowym i paraglobozydem sulfoglukuronylo-laktolaminylowym, u 26% z sulfatydem, a u 22% z gangliozydami (6). Indukcję przeciwciał anty-MAG wiązano również z zakażeniem cytomegalowirusem (22), zatem przebycie infekcji może utrudniać interpretację powyższych wyników.

Przeciwciała anty-neuroendothelium, podobnie jak anty-mielina i anty-MAG wykrywane są również metodą immunofluorescencji pośredniej. W niniejszym badaniu ich obecność stwierdzano zarówno u chorych z patologią ośrodkowego, jak i obwodowego układu nerwowego.

Doniesienia dotyczące znaczenia przeciwciał anty-neuroendothelium w chorobach układu nerwowego są skąpe. Poza wspomnianą we wstępie chorobą Binswangera ich obecność opisywano w przypadkach ataksji glutenowej (10% chorych), ataksji wrodzonych (50%) oraz u zdrowych osób (44,4%) (7). U osób z chorobą Behçeta jako antygen, przeciw któremu skierowane były wykryte przeciwciała przeciw śródbłonkowi naczyń, zidentyfikowano α-enolazę (9).

Podsumowując, wykrywane metodą fluorescencji pośredniej przeciwciała anty-MAG, anty-mielina i anty-neuroendothelium nie są związane z określoną patologią układu nerwowego. Ich obecność u osób ze zwyrodnieniowymi chorobami układu nerwowego może natomiast być rozpatrywana jako następstwo wtórnej reakcji autoimmunologicznej. W interpretacji ich obecności należy również uwzględnić możliwość występowania krzyżowych lub niespecyficznych reakcji.

## Piśmiennictwo


1. *Adler Y., Salozhin K., Le Tonqueze M., Shoenfeld Y., Youinou P.:* Anti-endothelial cell antibodies: a need for standardization. Lupus 1994, 3(2), 77-84
2. *Annunziata P., Cioni C., Moschini F., Riccucci A., Guazzi G.C.:* Serum anti-brain endothelium antibodies and cognitive assessment in patients with Binswanger's encephalopathy. J Neurol Sci 1995, 128(1), 96-102
3. *Berger T., Rubner P., Schautzer F., Egg R., Ulmer H., Mayringer I., Dilitz E., Deisenhammer F., Reindl M.:* Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. N Engl J Med 2003, 349(2), 139-145
4. *Breij E.C.W, Heijnen P., van der Goes A., Teunissen C.E., Polman Ch.E., Dijkstra Ch.D.:* Myelin flow cytometry assay detects enhanced levels of antibodies to human whole myelin in a subpopulation of multiple sclerosis patients. J Neuroimmunol 2006, 176, 106-114
5. *Breithaupt C., Schubart A., Zander H., Skerra A., Huber R., Linington Ch., Jacob U.:* Structural insights into the antigenicity of myelin oligodendrocyte glycoprotein. PNAS 2003, 100 (16), 9446-9451
6. *Caudie C., Vial C., Petiot P., Bancel J., Lombard C., Gonnaud P.M.:* Monoclonal IgM autoantibody activity vis-a-vis glycoconjugates of peripheral nerves: apropos of 112 cases. Ann Biol Clin (Paris) 2001, 59, 567-577
7. *Hadjivassiliou M., Boscolo S., Davies-Jones G.A.B., Grünewald R.A., Not T., Sanders D.S., Simpson J.E., Tongiorgi E., Williamson C.A., Woodroofe N.M.:* The humoral response in the pathogenesis of gluten ataxia. Neurology 2002, 58, 1221 - 226, oraz Reply from the Authors Neurology 2003, 60, 1397-1398
8. *Joachim S.C., Reichelt J., Berneiser S., Pfeiffer N., Grus F.H.:* Sera of glaucoma patients show autoantibodies against myelin basic protein and complex autoantibody profiles against human optic nerve antigens. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2008, 246(4), 573-580
9. *Lee K.H., Chung H.-S.,Kim H.S, Oh S.-H., Ha M.-K., Baik J.-H., Lee S., Bang D.:* Human α-Enolase From Endothelial Cells as a Target Antigen of Anti–Endothelial Cell Antibody in Behcs et's Disease. Arthritis & Rheumatism 2003, 48 (7), 2025-2035
10. *Li C., Trapp B., Ludwin S., Peterson A., Roder J.:* Myelin associated glycoprotein modulates glia-axon contact in vivo. J Neurosci Res 1998, 51(2), 210-217
11. *Luigetti M., Madia F., Conte A., Tonali P., Sabatelli M.:* Neuropathy with Predominant Small Fiber Involvement Associated with Abnormal Anti-MAG Titer. Intern Med 2010, 49, 2627-2629
12. *Meroni P.L., Khamashta M.A., Youinou P., Shoenfeld Y.:* Mosaic of anti-endothelial antibodies. Review of the first international workshop on anti-endothelial antibodies: clinical and pathological significance. Lupus 1995, 4(2), 95-99
13. *Petratos S., Turnbull V.J., Papadopoulos R., Ayers M., Gonzales M.F.:* Antibodies against peripheral myelin glycolipids in people with HIV infection. Immunol Cell Biol 1998, 76(6), 535-541
14. *Reindl M., Linington C., Brehm U., Egg R., Dilitz E., Deisenhammer F., Poewe W., Berger T.:* Antibodies against the myelin oligodendrocyte glycoprotein and the myelin basic protein in multiple sclerosis and other neurological diseases: a comparative study. Brain 1999, 122, 2047-2056
15. *Steck A.J., Erne B., Gabriel J.M., Schaeren-Wiemers N.:* Paraproteinaemic neuropathies. Brain Pathol 1999, 9(2), 361-368
16. *Steck A.J., Stalder A.K., Renaud S.:* Anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. Curr Opinion in Neurology 2006, 19, 458-463
17. *Sun J., Link H., Olsson T., Xiao B.G., Andersson G., Ekre H.P., Linington C., Diener P.:* T and B cell responses to myelinoligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis. J Immunol 1991, 146, 1490-1495
18. *Trojaborg W., Hays A.P., Van den Berg L., Younger D.S., Laton N.:* Motor conduction parameters in neuropathies associated with anti-MAG antibodies and other types of demyelinating and axonal neuropathies. Muscle Nerve 1995, 18, 730-735
19. *Vojdani A., Vojdani E., Cooper E.:* Antibodies to myelin basic protein, myelin oligodendrocytes peptides, alpha-beta-crystallin, lymphocyte activation and cytokine production in patients with multiple sclerosis. J Intern Med 2003, 254, 363-374
20. *Vrethem M., Skogh T., Berlin G., Holmgren H., Ernerudh J.:* Antibodies to peripheral nerve myelin may occur without clinical neuropathy in healthy persons. J Neuroimmunol 1991, 32 (3), 219-222
21. *Yoles E., Hauben E., Palgi O., Agranov E., Gothilf A., Cohen A., Kuchroo V., Cohen I.R., Weiner H., Schwartz M.:* Protective autoimmunity is a physiological response to CNS trauma. J Neurosci 2001, 21(11), 3740-3748
22. *Yuki N., Yamamoto T., Hirata K.:* Correlation between cytomegalovirus infection and IgM anti-MAG/SGPG antibody-associated neuropathy. Ann Neurol 1998, 44(3), 408-410



**Adres do korespondencji:**
Zakład Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Analiza fraktalna w ocenie doświadczalnego uszkodzenia bariery krew - mózg

## The fractal analysis of experimental blood-brain barrier breakdown

Sławomir Michalak[1,2], Katarzyna Pierzchlewicz[3], Anna Pietrzak[3], Wojciech Kozubski[4]

[1] *z Zakładu Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Sławomir Michalak*
*kierownik Katedry: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

[2] *z Zespołu Badawczo-Leczniczego Chorób Neuroimmunologicznych*
*Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej*
*Polskiej Akademii Nauk w Warszawie*
*kierownik: prof. dr hab. med. Jacek Losy*

[3] *z Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii*
*opiekun: dr hab. med. Sławomir Michalak*

[4] *z Katedry i Kliniki Neurologii*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik Katedry: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

**Streszczenie**

Obwodowo rozwijający się nowotwór prowadzić może do rozwoju powikłań w ośrodkowym układzie nerwowym, z których część wiąże się z uszkodzeniem bariery krew - mózg. Modele doświadczalne pozwalają na przeanalizowanie patomechanizmów z nim związanych. Celem badania było określenie przydatności analizy fraktalnej w ocenie stopnia uszkodzenia bariery krew - mózg w doświadczalnych modelach choroby nowotworowej.

W niniejszym badaniu jako markera zwiększonej przepuszczalności bariery krew - mózg użyto błękitu Evansa, który podawano dootrzewnowo szczurom z przeszczepialnym wątrobiakiem Morrisa 5123 i rakiem sutka. Zastosowano analizę fraktalną obrazów mikroskopowych do oceny obszarów dyfuzji barwnika wokół naczyń mózgowia.

Stwierdzono stopniowe zmniejszanie wymiaru fraktalnego obszarów dyfuzji błękitu Evansa w przebiegu wątrobiaka Morrisa 5123 i raka sutka. U szczurów z rakiem sutka lakunarność obszarów dyfuzji barwnika zwiększała się w miarę rozwoju nowotworu, podczas gdy u szczurów z wątrobiakiem Morrisa 5123 - malała. Wykazano ujemną korelację pomiędzy wymiarem fraktalnym, a lakunarnością we wszystkich grupach badanych zwierząt.

Zastosowanie analizy fraktalnej do oceny doświadczalnego uszkodzenia bariery krew - mózg pozwala wykryć zjawiska nie obserwowane przy użyciu tradycyjnych technik morfometrycznych. Wymiar fraktalny i lakunarność umożliwiają interpretację morfologicznych wykładników uszkodzenia bariery krew - mózg w kontekście dynamiki ich rozwoju.

**Słowa kluczowe:** bariera krew - mózg, doświadczalna choroba nowotworowa, wymiar fraktalny, lakunarność

**Key words:** blood - brain barrier, experimental neoplastic disease, fractal dimension, lacunarity

**Summary**

Systemic cancer leads to remote effects in the central nervous system with blood-brain barrier breakdown as one of possible complications. Experimental models enable analysis of involved pathomechanisms. The aim of this study was to evaluate usefulness of fractal analysis in estimation of the level of blood - brain barrier disturbation in the course of experimental neoplastic disease.

The marker of increased blood - brain barrier permeability used in the study was Evans blue administered intraperitoneally in Morris hepatoma 5123 and breast

cancer bearing rats. Microscopic scans with signs of perivascular diffusion of Evans blue were evaluated with the use of fractal analysis.

Stepwise decrease in fractal dimension of Evans blue diffusion was observed both in Morris hepatoma 5123 and breast cancer rats. The lacunarity of diffusion area in breast cancer bearing rats was increased in the course of growing tumor, while decreased in Morris 5123 animals. Negative correlation between fractal dimension and lacunarity was revealed in all studied groups of animals.

The fractal analysis used in evaluation of blood - brain barrier breakdown enables the study of phenomena not available for observation by means of classical morphometric methods. Fractal dimension and lacunarity analysis indicates differences in the context of dynamic of blood-brain barrier disturbances.

**Wstęp**

Fraktale to obiekty o skomplikowanym nieregularnym kształcie, które są samopodobne w różnych skalach. Koncepcja samopodobieństwa jest wykorzystywana do oszacowania wymiaru fraktalnego, będącego jednym z parametrów określających złożoność obiektów. Jeżeli A jest sumą N(s) rozłącznych kopii samego siebie po skalowaniu czynnikiem s to wymiar fraktalny (Db) opisany jest przez wzór:

$$D_b = \frac{\log N(s)}{\log(1/s)}$$

Równanie to można bezpośrednio stosować jedynie dla fraktali geometrycznych. Fraktale wykorzystywane są do przetwarzania i analizy obrazów, także medycznych. W przetwarzaniu obrazu wykorzystuje się różnorodne techniki przybliżonego szacowania wymiaru fraktalnego. Najczęściej zastosowanie znajdują warianty wymiaru pudełkowego (ang. box-counting). Metoda ta polega na nałożeniu na badany obiekt regularnej siatki o wielkości pudełek s, następnie zliczaniu pudełek siatki, które zawierają fragment struktury - N(s), potem zmniejsza się wymiar pudełek s i ponownie zliczane jest N(s). Wykreślając zależność między log N(s) oraz log(1/s) uzyskuje się punkty, do których można dopasować prostą. Pomiar nachylenia tej prostej wyznacza wymiar pudełkowy Db. Średni wymiar fraktalny, będący parametrem określającym złożoność struktury, uzyskuje się dzięki uśrednieniu Db dla wszystkich możliwych ustawień siatki, gdyż położenie siatki wpływa na ilość pudełek zawierających fragmenty struktury.

Innym parametrem związanym z analizą fraktalną jest lakunarność. Stanowi ona miarę przestrzennej heterogenności danego obiektu i pozwala wykrywać obrazy, które mają podobne wymiary fraktalne, ale różny wygląd. Jej wartość jest tym większa im bardziej niejednorodna jest struktura badanego obiektu i im więcej luk zawiera.

Lakunarność (L) obliczana jest jako zmiana gęstości pikseli dla różnej wielkości pudełek:

$$\lambda = \left( \frac{\sigma}{\mu} \right)^2$$

gdzie:
σ - wariancja liczby pikseli w pudełku o boku s,
μ - średnia liczba pikseli przypadającą na danej wielkości pudełko.

Analiza fraktalna jest w ostatnich latach stosowana do oceny obrazów medycznych zarówno na poziomie badań mikroskopowych (9,11), jak i neuroobrazowania (6, 7).

W niniejszej pracy podjęto badania stabilności bariery krew - mózg w przebiegu doświadczalnej choroby nowotworowej. W dotychczas prowadzonych badaniach rozpatrywano związek pomiędzy chorobą nowotworową a uszkodzeniem bariery krew - mózg przede wszystkim w aspekcie jego znaczenia dla powstawania przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego i obrzęku mózgu w przebiegu pierwotnych lub przerzutowych guzów ośrodkowego układu nerwowego. Poznanie złożonych mechanizmów uszkodzenia bariery krew - mózg ma istotne znaczenie dla postępowania klinicznego w przebiegu choroby nowotworowej i zapewnienia ochrony ośrodkowego układu nerwowego przed jej powikłaniami. Doświadczalny model choroby nowotworowej pozwala na systematyczne monitorowanie stabilności bariery krew - mózg, ponieważ znany jest czas inicjacji nowotworu i możliwe jest badanie jej wpływu na przepuszczalność bariery krew - mózg na poszczególnych etapach choroby. W niniejszym badaniu wybrano dwa modele doświadczalnej choroby nowotworowej ze względu na znane z praktyki klinicznej obserwacje u ludzi. Rak piersi jest jednym z nowotworów, które najczęściej wiążą się z występowaniem neurologicznych zespołów paranowotworowych z uszkodzeniem bariery krew - mózg jako ważnym ich elementem. Natomiast pierwotne guzy wątroby w populacji ludzi nie powodują neurologicznych zespołów paranowotworowych. Przeprowadzenie badań w obu modelach pozwoli na zróżnicowanie następstw choroby nowotworowej jako takiej (wątrobiak Morrisa 5123) i nowotworu (rak sutka) często powodującego neurologiczne zespoły paranowotworowe i uszkodzenie bariery krew - mózg.

Celem zastosowanej oceny morfologicznej przy użyciu analizy fraktalnej było poznanie zależności nasilenia zaburzeń stabilności bariery krew - mózg od etapu rozwoju doświadczalnej choroby nowotworowej.

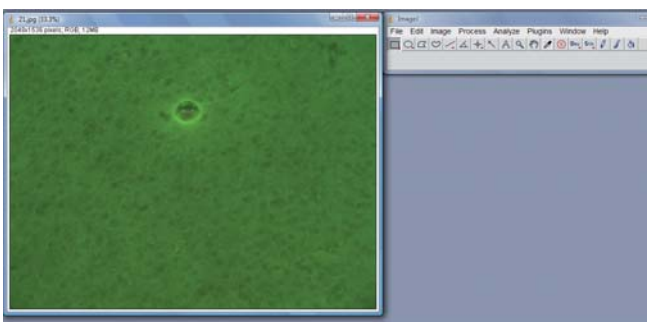
## Materiał i metody

Do badania użyto szczury szczepu Buffalo z wątrobiakiem Morrisa 5123 (samce) w 7, 14 i 21 dni po przeszczepieniu nowotworu oraz szczury szczepu Wistar z rakiem sutka (samice) w 7 i 14 dniu rozwoju nowotworu. Grupę kontrolną stanowiły odpowiednio zdrowe samce szczepu Buffalo i samice szczepu Wistar.

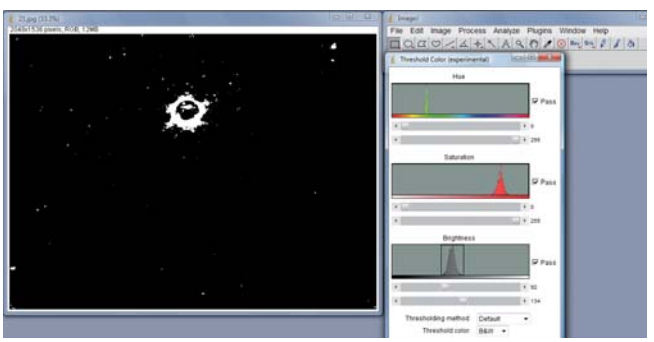
Ocenę stabilności bariery krew - mózg przeprowadzano po dootrzewnowym podaniu szczurom z rakiem sutka i wątrobiakiem Morrisa 5123 2% roztworu błękitu Evansa w 0.9 % NaCl. Dawki barwnika dobierano uwzględniając masę ciała - podawano 30 mg błękitu Evansa / kg masy ciała. Zwierzęta doświadczalne usypiano w narkozie halotanowej po upływie dwóch godzin od zastosowania błękitu Evansa. Obserwowano wówczas błękitne zabarwienie skóry, błon śluzowych i oczu. W 7 i 14 dobie wzrostu raka sutka, a w 7, 14 i 21 dobie od przeszczepienia wątrobiaka Morrisa 5123 zwierzęta usypiano. Zwłoki zwierząt perfundowano roztworem 300 j. Heparyny (Polfa) w 0,9 % NaCl, a potem 4% roztworem buforowanej formaliny, a następnie pobrane mózgowie umieszczano w buforowanej formalinie. Oceny tkanek dokonywano w mikroskopii fluorescencyjnej (EURO-STAR II, Zeiss). Analizę morfometryczną prowadzono wykorzystując oprogramowanie ImageJ - National Institute of Health (NIH) - ImageJ 1.34 software (http://rsb.info.nih.gov/nih-image/http://rsb.info.nih.gov/nih-image/). Analizy fraktalnej obszarów dyfuzji błękitu Evansa w mózgowiu dokonywano stosując oprogramowanie FracLac.

W pierwszym etapie przygotowania do analizy fraktalnej wyodrębniano strefę dyfuzji błękitu Evansa w tkance i oddzielano ją od otaczającego ją tła stosując wtyczkę Threshold Colour programu ImageJ. Następnie w filtrze zaznaczano zakres, który zatrzymywał jaśniejsze piksele przepuszczając ciemniejsze tło. Następnie dokonywano segmentacji przez progowanie, uzyskując obraz binarny (ryc. 1A i B). Uzyskany obraz binarny poddawano analizie w programie FracLac uzyskując wymiar fraktalny i lakunarność.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników prowadzono przy pomocy licencjonowanego oprogramowania MedCalc.



A

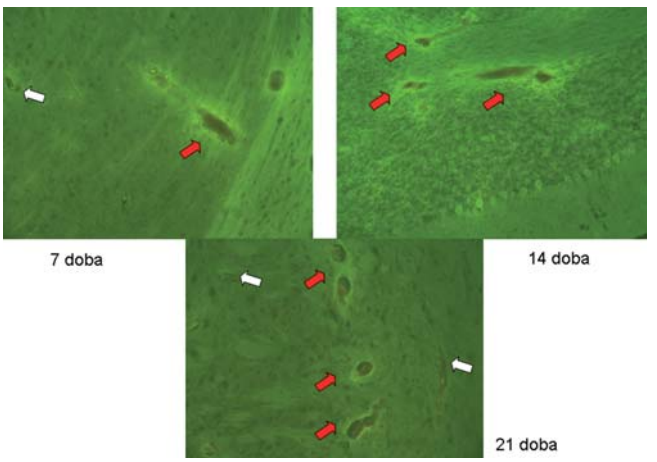


B

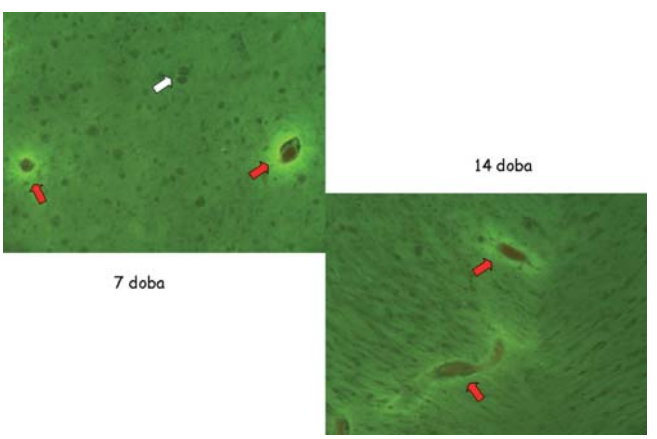
***Rycina 1.*** *Etapy przygotowania obrazów mikroskopowych do analizy fraktalnej.*

## Wyniki

Ocena w mikroskopii fluorescencyjnej skrawków mózgów szczurów z wątrobiakiem Morrisa 5123 (ryc. 2), jak i rakiem sutka (ryc. 3) wykazała cechy uszkodzenia

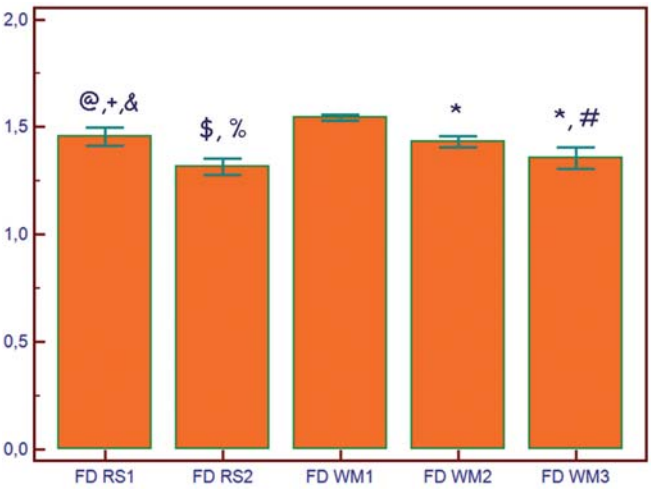



***Rycina 2.*** *Cechy uszkodzenia bariery krew - mózg u szczurów z wątrobiakiem Morrisa 5123.*




***Rycina 3.*** *Mikroskopowe wykładniki uszkodzenia bariery u szczurów z rakiem sutka.*

***Rycina 4.*** *Badanie mikroskopowe w grupach kontrolnych - brak wykładników uszkodzenia bariery krew - mózg.*




***Rycina 5.*** *Wymiar fraktalny (FD) obszaru dyfuzji błękitu Evansa u szczurów z wątrobiakiem Morrisa (WM) i rakiem sutka (RS).*

** - p < 0,0001 (WM1 vs WM2; WM1 vs WM3), # - p=0,0095 (WM 2 vs WM3)*

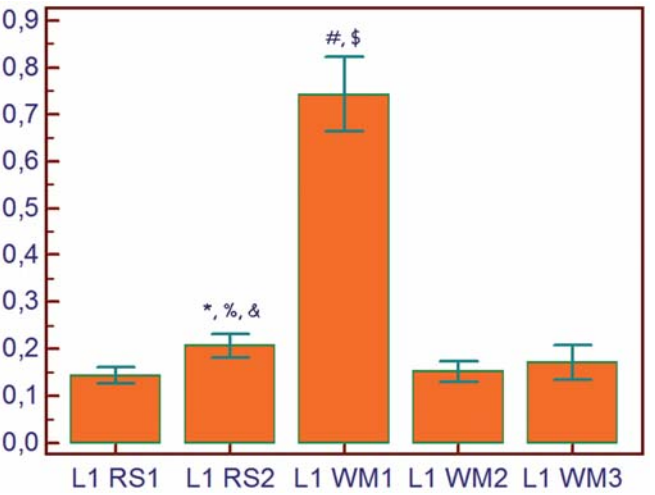
*$ - p<0,0001 (RS1 vs RS2); @-p = 0,0015 (RS1 vs WM1), +-p = 0,0064 (RS1 vs WM2)*

*&- p < 0,0001 (RS1 vs WM3), % - p < 0,0001 (RS2 vs WM2)*

bariery krew – mózg, których nie stwierdzano u zdrowych osobników (ryc. 4).

W wyniku analizy fraktalnej obrazów mikroskopowych stwierdzono stopniowe zmniejszanie wymiaru fraktalnego obszarów dyfuzji błękitu Evansa w przebiegu wątrobiaka Morrisa 5123 i raka sutka (ryc. 5).

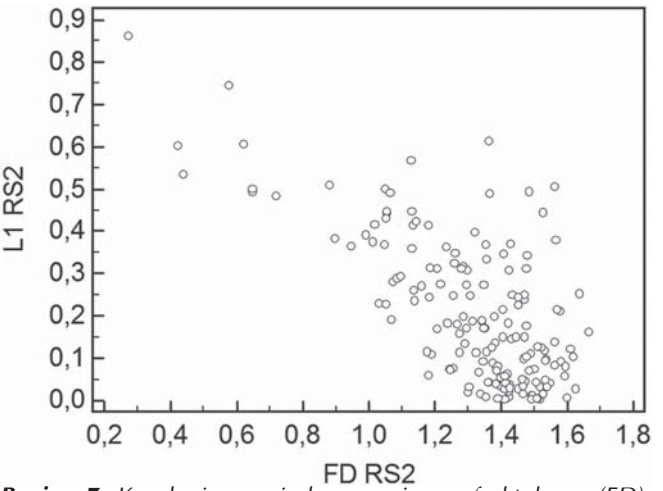
Ocena lakunarności wykazała natomiast różnice pomiędzy badanymi modelami doświadczalnej choroby nowotworowej. Otóż u szczurów z rakiem sutka lakunarność obszarów dyfuzji błękitu Evansa zwiększała się w miarę rozwoju nowotworu, podczas gdy u szczurów z wątrobiakiem Morrisa 5123 - malała (ryc. 6).




***Rycina 6.*** *Lakunarność (L) obszaru dyfuzji błękitu Evansa u szczurów z wątrobiakiem Morrisa (WM) i rakiem sutka (RS).*

** - p = 0,0050 (RS1 vs RS2), # - p < 0,0001 (WM1 vs WM2; WM1 vs WM3*

*$ - p < 0,0001 (RS1 vs WM1), %- p < 0,0001 (RS2 vs WM1), & - p = 0,0111 (RS2 vs WM2)*




***Rycina 7.*** *Korelacja pomiędzy wymiarem fraktalnym (FD) a lakunarnością (L) obszaru dyfuzji błękitu Evansa w mózgach szczurów w 2. tygodniu wzrostu raka sutka.*

Analiza korelacji wymiaru fraktalnego i lakunarności obszarów penetracji błękitu Evansa wokół naczyń krwionośnych mózgów badanych zwierząt doświadczalnych wykazała silne zależności (tab. 1). Przykładowe graficzne przedstawienie tej korelacji u szczurów w drugim tygodniu po przeszczepieniu raka sutka ilustruje ryc. 7.

## Dyskusja

Zastosowanie analizy fraktalnej obrazów mikroskopowych z cechami uszkodzenia bariery krew - mózg w przebiegu doświadczalnej choroby nowotworowej

**Tabela 1.** Korelacja pomiędzy wymiarem fraktalnym a lakunarnością obszarów dyfuzji błękitu Evansa w mózgach szczurów z doświadczalną chorobą nowotworową.

| Model | Współczynnik korelacji Spearmana (rS) | p |
|---|---|---|
| Rak sutka<br>1 tydzień wzrostu | rS= - 0,424 | p < 0,0001 |
| Rak sutka<br>2 tydzień wzrostu | rS= - 0,551 | p < 0,0001 |
| Wątrobiak Morrisa 5123<br>1 tydzień wzrostu | rS= - 0,257 | p = 0,0008 |
| Wątrobiak Morrisa 5123<br>2 tydzień wzrostu | rS= - 0,571 | p < 0,0001 |
| Wątrobiak Morrisa 5123<br>3 tydzień wzrostu | rS= - 0,349 | p = 0,0084 |

pozwoliło zaobserwować różnice tego zjawiska pomiędzy badanymi modelami. Wymiar fraktalny jest miarą złożoności obiektu i opisuje liczbowo w jakim stopniu badany obiekt wypełnia przestrzeń. Przedstawia on stopień złożoności konturów obiektu. Natomiast lakunarność jest miarą przestrzennej heterogenności badanego obiektu i pozwala wykrywać obrazy, które mają podobne wymiary fraktalne, ale różny wygląd. Jej wartość zwiększa się wraz ze stopniem niejednorodności jest struktura badanego obiektu i zwiększania zawartych w nim luk. Obserwowane w niniejszym badaniu zmniejszanie wymiaru fraktalnego obszarów dyfuzji błękitu Evansa wokół naczyń mózgów szczurów z rakiem sutka i wątrobiakiem Morrisa 5123 wskazuje na bardziej chaotyczny proces uszkadzania bariery krew - mózg w początkowych fazach rozwoju guza. Obserwowane w pierwszych tygodniach po przeszczepieniu nowotworów ogniska przenikania barwnika mają w ocenie fraktalnej bardziej złożone, pofałdowane kontury. Natomiast w miarę trwania choroby obraz ten stabilizuje się. Ocena lakunarności obszarów dyfuzji błękitu Evansa wniosła z kolei dodatkowe dane dotyczące dynamiki uszkadzania bariery krew - mózg w badanych modelach doświadczalnych. Jej wzrost obserwowany w przebiegu rozwoju raka sutka wskazuje na większą heterogenność obserwowanych zmian. U zwierząt z wątrobiakiem Morrisa heterogenność obszarów dyfuzji barwnika jest bardziej nasilona we wczesnej fazie rozwoju choroby, a później zmniejsza się.

Analizę fraktalną z oceną lakunarności zastosowano ostatnio (Gould 2011) do badań morfologicznych naczyń nerek odnotowując jej przydatność jako dodatkowego narzędzia wzbogacającego klasyczne metody morfometryczne. Zwraca uwagę analogia obserwowanych różnic wymiaru fraktalnego naczyń raka nerki uzależniona od stopnia złośliwości guza do wykazanych w niniejszej pracy wykładników uszkodzenia bariery krew-mózg. Sabo i wsp. (14) wykazali, że wymiar fraktalny naczyń był większy w rakach nerki niższego stopnia złośliwości i malał wraz z jej wzrostem. Podobnie w mózgach szczurów z doświadczalną chorobą nowotworową większy wymiar fraktalny morfologicznych wykładników uszkodzenia bariery krew - mózg stwierdzano w łagodniejszym wątrobiaku Morrisa, podczas gdy w bardziej złośliwym raku sutka był on mniejszy. O współistnieniu większego wymiaru fraktalnego parametrów morfologicznych guzów ze stopniem ich złośliwości donoszono również w przypadkach czerniaka złośliwego (1) i gruczolaków jelita grubego (2). Z kolei Daxter i wsp. (3, 4) obserwowali zwiększenie wymiaru fraktalnego naczyń krwionośnych siatkówki u chorych z cukrzycą. Wiązano to zjawisko z nowotworzeniem naczyń. Aktywacja angiogenezy jest zjawiskiem dobrze poznanym w przebiegu choroby nowotworowej. Ważnym jej elementem jest aktywacja metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (*matrix metalloproteinases,* MMPs). Zjawisko to umożliwia migrację komórek odpowiedzi zapalnej do uszkodzonych tkanek, uwalnianie cytokin oraz ich receptorów z błon komórkowych (5, 13). Wykazano, że MMPs uczestniczą w uszkadzaniu bariery krew - mózg w mechanizmie związanym z degradacją błony podstawnej. Bezpośrednie dokomorowe podanie MMP-2 prowadziło do zwiększenia przepuszczalności bariery krew - mózg i wtórnego krwawienia (10).

Komórkowe wydzielanie metaloproteinaz stymulowane jest m.in. przez jeden z najsilniejszych czynników proangiogenetycznych - śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular-endothelial growth factor*, VEGF), a także czynnik martwicy guza alfa (*tumor necrosis factor*-α, TNF-α) i interleukinę-1. Natomiast ich wydzielanie hamowane jest przez hormony steroidowe i transformujący czynnik

wzrostu beta (transforming growth factor-β, TGF-β) (12). Wszystkie te mechanizmy mogą być aktywowane w przebiegu choroby nowotworowej prowadząc do uszkodzenia bariery krew - mózg.

Podsumowując, zastosowanie analizy fraktalnej do oceny doświadczalnego uszkodzenia bariery krew - mózg pozwala wykryć zjawiska nie obserwowane przy użyciu tradycyjnych technik morfometrycznych. Wymiar fraktalny i lakunarność umożliwiają interpretację morfologicznych wykładników uszkodzenia bariery krew-mózg w kontekście dynamiki ich rozwoju.

## Piśmiennictwo


1. *Claridge E., Hall P.N., Keefe M., Allen J.F.:* Shape analysis for classification of malignant melanoma. J Biomed Eng 1992, 14, 229-234
2. *Cross S.S., Bury J.P., Silcocks P.B., Stephenson T.J., Cotton D.W.:* Fractal geometric analysis of colorectal polyps. J Pathol 1994, 172, 317-323
3. *Daxer A.:* Characterisation of the neovascularisation process in diabetic retinopathy by means of fractal geometry: diagnostic implications. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1993, 231, 681-686
4. *Daxer A.:* The fractal geometry of proliferative diabetic retinopathy: implications for the diagnosis and the process of retinal vasculogenesis. Curr Eye Res 1993, 12, 1103-1109
5. *Egeblad M., Werb Z.:* New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. Nat Rev Cancer 2002, 2(3), 161-174
6. *Esteban F.J., Sepulcre J., de Mendizábal N.V., Goñi J., Navas J., de Miras J.R., Bejarano B., Masdeu J.C., Villoslada P.:* Fractal dimension and white matter changes in multiple sclerosis. Neuroimage 2007, 36(3), 543-549
7. *Esteban F.J., Sepulcre J., de Miras J.R., Navas J., de Mendizábal N.V., Goñi J., Quesada J.M., Bejarano B., Villoslada P.:* Fractal dimension analysis of grey matter in multiple sclerosis. J Neurol Sci 2009, 282 (1-2), 67-71
8. *Gould D.J., Vadakkan T.J., Poché R.A., Dickinson M.E.:* Multifractal and lacunarity analysis of microvascular morphology and remodeling. Microcirculation 2011, 18(2), 136-151
9. *Levitt J.M., McLaughlin-Drubin M.E., Munger K., Georgakoudi I.:* Automated Biochemical, Morphological, and Organizational Assessment of Precancerous Changes from Endogenous Two-Photon Fluorescence Images. PLoS One 2011 6(9), e24765-e24765
10. *Krizanac-Bengez L., Hossain M., Fazio V., Mayberg M., Janigro D.:* Loss of flow induces leukocyte-mediated MMP/TIMP imbalance in dynamic in vitro blood-brain barrier model: role of pro-inflammatory cytokines. Am J Physiol Cell Physiol 2006, 291(4), C740-749
11. *Landini G.:* Fractals in microscopy. J Microscopy 2011, 241(1), 1-8
12. *Nagase H.:* Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. J Biol Chem 1997, 378(3-4), 151-160
13. *Ray J.M., Stetler-Stevenson W.G.:* The role of matrix metalloproteases and their inhibitors in tumour invasion, metastasis and angiogenesis. Eur Respir J 1994, 7(11), 2062-2072
14. *Sabo E., Boltenko A., Sova Y., Stein A., Kleinhaus S., Resnick M.B.:* Microscopic Analysis and Significance of Vascular Architectural Complexity in Renal Cell Carcinoma. Clinical Cancer Research 2001, 7, 533-537



**Adres do korespondencji:**
Zakład Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii UM
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Ewolucja kryteriów diagnostycznych stwardnienia rozsianego

## Evolution of diagnostic criteria for multiple sclerosis

Jędrzej Ziółkiewicz, Radosław Kaźmierski

*z Kliniki Neurologii i Chorób Naczyniowych Układu Nerwowego*
*UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*ZOZ MSWiA im. L. Bierkowskiego w Poznaniu*
*kierownik: prof. UM dr hab. Radosław Kaźmierski*

**Streszczenie**

Stwardnienie rozsiane (SM) to często spotykana przewlekła choroba ośrodkowego układu nerwowego, na którą zapadają głównie ludzie młodzi. Jest ono jedną z głównych przyczyn postępującego inwalidztwa w tej grupie wiekowej. Nadal nie dysponujemy pojedynczym testem diagnostycznym pozwalającym rozpoznać SM, dlatego bardzo istotna jest znajomość kryteriów diagnostycznych choroby zmieniających się w głównej mierze wraz z postępem metod neuroobrazowania. Wprowadzenie nowych metod diagnostyki neuroobrazowej pozwoliło na ustalenie prostszych kryteriów rozpoznawania rozsiania zmian demielinizacyjnych w czasie i przestrzeni, przy zachowaniu ich czułości i specyficzności. W niniejszej pracy przedstawiamy ewolucję kryteriów diagnostycznych SM w ostatnich latach.

**Summary**

Multiple sclerosis (MS) is an acquired chronic relapsing or progressive disorder of central nervous system. MS is occuring mainly in young adults and is the commonest cause of progressive disability in younger population. Still there is no definitive diagnostic test for MS. Therefore the knowledge about changes in the MS diagnostic criteria - driven by widespread of newer neuroimaging applications - are crucial for medical practitioners. The use of newer neuroimaging for demonstration of dissemination of central nervous system lesions in space and time has been simplified, and the criteria has shown to preserve their sensitivity and specificity. In this paper we have described the evolution of MS diagnostic criteria over last years.

**Słowa kluczowe:** stwardnienie rozsiane, kryteria diagnostyczne, rezonans magnetyczny

**Key words:** multiple sclerosis, diagnostic criteria, magnetic resonance imaging

**Wstęp**

Stwardnienie rozsiane (*sclerosis multiplex*, SM) to często spotykana przewlekła choroba ośrodkowego układu nerwowego, na którą zapadają głównie ludzie młodzi. Za objawy SM odpowiedzialny jest autoimmunologiczny proces demielinizacyjny obejmujący różne rejony ośrodkowego układu nerwowego, w różnych punktach czasu. Większość pacjentów, około 85%, cierpi na rzutowo-remisyjną postać SM, a pierwszym rzutem najczęściej jest jednostronne pozagałkowe zapalenie nerwu wzrokowego, zespół objawów uszkodzenia pnia mózgu lub częściowe zapalenie rdzenia kręgowego. Taki epizod kliniczny zwany pierwszym izolowanym zespołem objawów (ang. *clinically isolated syndrome, CIS*) nie zawsze prowadzi do rozwoju SM. Jednak wczesne rozpoznanie SM u pacjentów z przebytym CIS jest bardzo ważne. Zapewnia ono wyższą jakość poradnictwa oraz określenie rokowania, a przede wszystkim umożliwia kwalifikację do włączenia leczenia immunomodulującego, które wykazuje największą skuteczność we wczesnych etapach tej choroby (5, 8).

Ze względu na bardzo zróżnicowaną symptomatologię i dynamikę przebiegu SM, nie istnieje pojedynczy test kliniczny ani badanie laboratoryjne, które byłyby wystarczająco czułe i specyficzne dla postawienia pewnego rozpoznania. Dlatego też konieczne było opracowanie schematu diagnostycznego, uwzględniającego zarówno dane z badania klinicznego pacjenta, jak i odchylenia w badaniach laboratoryjnych (5, 10, 11).

Przed publikacją pierwszych kryteriów McDonalda do rozpoznania SM stosowano kryteria Schumachera (1965), a następnie Posera (1983) (14, 12). Schumacher i wsp. wprowadzili akceptowaną do tej pory zasadę, że w postaci rzutowo-remisyjnej SM objawy choroby muszą wykazywać rozsianie w czasie i przestrzeni, do dzisiaj obowiązuje także zastrzeżenie Schumachera - mówiące,

że w celu postawienia rozpoznania SM konieczne jest wykluczenie innych prawdopodobnych przyczyn występowania objawów neurologicznych (14).

W klasyfikacji Posera i wsp. SM diagnozowano przede wszystkim na podstawie obserwacji klinicznej występowania kolejnych rzutów. Kryteria definiowały pięć grup rozpoznania: klinicznie pewne SM, wsparte badaniami laboratoryjnymi pewne SM, klinicznie prawdopodobne SM, wsparte badaniami laboratoryjnymi prawdopodobne SM oraz brak możliwości rozpoznania (nie SM). Największą rolę w badaniach dodatkowych odgrywało badanie płynu mózgowo-rdzeniowego. Znaczenie pozostałych badań nie było ściśle określone. Do rozpoznania klinicznie pewnego SM konieczne było wystąpienie dwóch rzutów choroby z cechami obecności dwóch ognisk demielinizacji (12). Kryteria dobrze służyły rozpoznaniu choroby ponad 15 lat, lecz w momencie pojawienia się nowych metod diagnostycznych i leczniczych powstała potrzeba wcześniejszego rozpoznawania choroby.

W roku 2000 *International Panel on MS Diagnosis* (Panel) pod kierunkiem W. Iana McDonalda opracował nowe kryteria rozpoznania SM. Wytyczne te opublikowano w 2001r. w Annals of Neurology i są powszechnie znane pod nazwą kryteriów McDonalda (5). Ze względu na postęp w badaniach nad stwardnieniem rozsianym, nowe dane z piśmiennictwa, oraz analizę retrospektywną wcześniejszych badań, ponowiono obrady Panelu w 2005 i 2010 roku. Efektem obrad było w obu przypadkach opracowanie aktualizacji schematu diagnostycznego (10, 11).

Zadaniem jakie wyznaczył sobie Panel było opracowywanie kryteriów diagnostycznych przydatnych zarówno dla lekarzy praktyków, jak i dla badań naukowych i klinicznych. Nowe kryteria służyć mają lepszemu, szybszemu i bardziej wiarygodnemu rozpoznaniu stwardnienia rozsianego. Podczas tworzenia kryteriów skupiono się także na wyjaśnieniu określonych definicji wymaganych do rozpoznania stwardnienia rozsianego, a także uproszczeniu klasyfikacji diagnostycznej i opisów wytycznych. Eksperci Panelu określili także jakie badania są przydatne w danej sytuacji klinicznej (11).

Podczas prac skupiono się przede wszystkim na rozpoznaniu i zdefiniowaniu obiektywnych wykładników rozsiania zmian demielinizacyjnych w czasie i przestrzeni. Dodatkowe testy służące do wykazania rozsiania w czasie i przestrzeni nie są konieczne jedynie w sytuacji dwóch rzutów choroby z objawami z dwóch ognisk, jednak w takiej sytuacji konieczne jest (jak wspomniano powyżej) wykluczenie innych - poza SM - prawdopodobnych przyczyn występujących objawów klinicznych.

Jednym z podstawowych celów opracowania kryteriów McDonalda było włączenie do schematu diagnostycznego obrazowania mózgowia i rdzenia kręgowego metodą tomografii rezonansu magnetycznego (MR). Przyspieszyło to i znacznie usprawniło rozpoznanie rozsiania w czasie i w przestrzeni. Dotąd pomimo niezwykle istotnych informacji, jakie dostarcza badanie MR, nie było ono w sposób systematyczny uwzględniane w kryteriach. Wynikało to przede wszystkim z faktu, że poprzednie szeroko stosowane kryteria diagnostyczne ustanowione przez Posera opracowane były przed erą szerokiego stosowania MR.

Kolejnym ważnym zadaniem Panelu było stworzenie schematu rozpoznania postaci pierwotnie postępującego SM. Postać ta do momentu publikacji pierwotnych kryteriów McDonalda nie była ściśle zdefiniowana ani brana pod uwagę w schematach diagnostycznych.

Efektem pracy *International Panel on MS Diagnosis* są kryteria, które ułatwiają rozpoznanie w konkretnych sytuacjach klinicznych, takich jak jednoobjawowa postać sugerująca SM (pierwszy izolowany zespół objawów, ang. *CIS - clinically isolated syndrome*), typowej rzutowo-remisyjnej postaci SM oraz przewlekle postępującej postaci SM.

Do postawienia diagnozy SM konieczne jest uzyskanie obiektywnych dowodów rozsiania w czasie i przestrzeni typowych dla tej choroby zmian demielinizacyjnych, oraz wykluczenie innych bardziej prawdopodobnych przyczyn danego stanu klinicznego. Prezentacja kliniczna stwardnienia rozsianego klasyfikowana jest jako jedno lub wieloogniskowa. Dopiero na bazie tej klasyfikacji planuje się dalszy schemat rozpoznania.

Proces diagnostyczny prowadzi do klasyfikacji stanu klinicznego jako SM lub też nie pozwala na rozpoznanie SM. Kryteria McDonalda przyjmują także wariant rozpoznania „możliwe SM" (ang. *possible MS*). Taka ewentualność jest brana pod uwagę w sytuacji, kiedy mamy do czynienia z pacjentem z odpowiednią dla SM prezentacją kliniczną, który nie był dotąd poddany szczegółowej ocenie klinicznej lub był badany, lecz nie spełnia wszystkich koniecznych kryteriów rozpoznania choroby. Ze względu na konsekwencje psychologiczne diagnozy SM, zastosowanie rozpoznania „prawdopodobne stwardnienie rozsiane" nie powinno być zbyt często stosowane w praktyce klinicznej.

We wszystkich trzech artykułach (5, 10, 11) dotyczących kryteriów McDonalda przed opisem samych kryteriów zamieszczono kilka bardzo ważnych informacji. Przedstawiono definicje rzutu, kolejnego rzutu, postaci pierwotnie przewlekle postępującej SM, określono patologię występującą w badaniach dodatkowych użytecznych w klasyfikacji oraz opisano diagnostykę różnicową.

Ostatnia aktualizacja kryteriów McDonalda z 2010 r. poszerza ich zastosowanie o populację dzieci oraz pacjentów azjatyckich i południowoamerykańskich (11). Niniejsza pracy dotyczy europejskiej i północnoamerykańskiej populacji osób dorosłych rasy kaukaskiej.

## Definicje

### Rzut

Rzut SM stanowią objawy kliniczne, typowe dla ostrego zapalnego procesu demielinizacyjnego ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Aby rozpoznać rzut objawy muszą trwać co najmniej 24 godziny, objawami wykluczającymi są gorączka oraz obecność ostrego zakażenia. W oryginalnych kryteriach z 2001 r. oraz aktualizacji kryteriów z 2005 r. zaznaczano, że dowody kliniczne służące rozpoznaniu mogą być oparte jedynie na obiektywnych danych z badania przedmiotowego i badań dodatkowych. Dane z badania podmiotowego mogły prowadzić jedynie do wysunięcia podejrzenia choroby i służyć jako argument do wdrożenia procedury diagnostycznej, nie stanowiły jednak elementu schematu diagnostycznego (5, 10). Nowością zamieszczoną w aktualizacji z 2010 r. jest stwierdzenie, że objawy, które klasyfikujemy jako rzut mogą występować nie tylko w momencie badania pacjenta, ale także w wywiadzie. W określonym kontekście istnieje możliwość uznania za rzut epizodu z wywiadu. W tej sytuacji objawy i ich ewolucja muszą być typowe dla SM (patrz tab. 1). W przypadku rzutu z objawami napadowymi skarga powinna składać się z wielu epizodów występujących w ciągu nie mniej niż 24 godzin.

W bieżącej aktualizacji podkreślono, że nowy rzut powinien być dokumentowany równoczasowym badaniem neurologicznym. Aby rozpoznać SM wymagane jest potwierdzenie co najmniej jednego rzutu odchyleniami w badaniu neurologicznym, zmianami w badaniu wzrokowych potencjałów wywołanych (WPW) u pacjentów z zaburzeniami wzrokowymi lub zmianami demielinizacyjnymi w MR odpowiadającymi lokalizacyjnie zgłaszanym objawom.

### Kolejny rzut

Dla celów diagnostycznych, konieczne było zdefiniowanie, kiedy można mówić o kolejnym rzucie. Arbitralnie uznano, że kolejny rzut występuje, jeśli po 30 dniach od początku pierwszego epizodu pojawiają się objawy nowego rzutu. Definicja ta, zawarta w pierwotnych kryteriach McDonalda z 2001 r., pozostała nie zmieniona w kolejnych aktualizacjach (5, 11).

## Badania dodatkowe

Badania dodatkowe w postaci rezonansu magnetycznego, badania płynu mózgowo-rdzeniowego i badania wzrokowych potencjałów wywołanych mają przede wszystkim wspomagać diagnozę SM. Natomiast w przypadkach, w których prezentacja kliniczna jest niewystarczająca, mogą one stanowić kryterium konieczne do rozpoznania.

### Badanie rezonansu magnetycznego

Badanie MR odgrywa znaczącą rolę w rozpoznaniu SM. Pozwala uzyskać informację na temat rozsiania zmian typowych dla stwardnienia rozsianego w czasie i przestrzeni. Najnowsza aktualizacja kryteriów oparta na badaniach grupy MAGNIMS (europejskiej wielo-ośrodkowej sieci jednostek badawczych zajmującej się obrazowaniem rezonansu magnetycznego w stwardnieniu rozsianym) znacząco zwiększa rolę badania MR w rozpoznaniu SM, zmniejszając nieco rolę innych badań laboratoryjnych (8, 15). Obecnie badanie MR jest najbardziej użytecznym z badań wspomagających rozpoznanie SM, przydatnym także w diagnostyce różnicowej. W kryteriach McDonalda, dotyczących badania MR, pod uwagę brane są dwa rodzaje patologii. Po pierwsze istotna jest obecność zmian hiperintensywnych w obrazach T2 zależnych, drugim rodzajem patologii ważnym z punktu widzenia kryteriów są zmiany wzmacniające się po podaniu gadoliny (ang. *gadolinum-enhanced lesion*) (1, 11).

W celu rozpoznania rozsiania w przestrzeni i w czasie ustanowiono odrębne wytyczne. Na podstawie liczby i lokalizacji zmian w pojedynczym badaniu MR rozpoznać można rozsianie w przestrzeni. Pojawienie się nowych zmian w kolejnych badaniach MR w nowych lokalizacjach może świadczyć o rozsianiu w czasie. W oryginalnych kryteriach z 2001 roku i aktualizacji z 2005 roku obecność zmian wzmacniających się po podaniu gadoliny miała znaczenie w rozpoznawaniu zarówno rozsiania w przestrzeni, jak i rozsiania w czasie (5, 10, 11). Należy jednak zauważyć, że wzmacnianie się zmiany po podaniu kontrastu jest oznaką aktywności procesu zapalnego w ognisku, a nie tylko rozsiania w przestrzeni (8). W takiej sytuacji uznaje się, że zmiany nie wzmacniające się to tzw. zmiany „stare", a zmiany wzmacniające się są „nowymi" ze względu na stwierdzane aktualnie istniejące uszkodzenie bariery krew-mózg. W tym momencie zaistniała możliwość rozpoznania rozsiania w czasie i przestrzeni na podstawie jednego badania MR.

### Płyn mózgowo-rdzeniowy

Rola badania płynu mózgowo-rdzeniowego w diagnostyce stwardnienia rozsianego jest komplementarna z badaniem rezonansu magnetycznego. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego służy bowiem do potwierdzenia immunologiczno-zapalnego charakteru zmian w OUN, natomiast nie daje informacji na temat rozsiania zmian w czasie i przestrzeni.

W badaniu płynu mózgowo-rdzeniowego w diagnostyce stwardnienia rozsianego istotne są dwa parametry: obecność co najmniej dwóch prążków oligoklonalnych o innym rozkładzie niż w surowicy, oraz podwyższenie indeksu IgG.

**Tabela 1.** Kryteria rozpoznania stwardnienia rozsianego wg McDonalda w modyfikacji Polmana z 2010 roku (11)

1) Stwierdzenie ≥ 2 rzutów choroby - rozsianych w czasie, z objawami neurologicznymi z ≥ 2 ognisk o różnej lokalizacji; lub stwierdzenie ≥ 2 rzutów choroby, w tym jednego rzutu stwierdzanego przez badającego oraz jednego rzutu w wywiadzie*

   * (Autorzy kryteriów zaznaczają jednak, że w sytuacji „jednego rzutu stwierdzanego przez badającego oraz jednego rzutu w wywiadzie„ konieczna jest duża ostrożność diagnostyczna. Nie jest to bezwzględnie wymagane ale zaleca się wykonanie badań MR i płynu mózgowo-rdzeniowego, w przypadku uzyskania wyników niepotwierdzających podejrzenia SM należy zachować szczególną ostrożność (extreme caution) przy stawianiu rozpoznania SM, konieczne jest też wykluczenie innych przyczyn objawów neurologicznych prezentowanych przez pacjenta - patrz także tekst).

2) Stwierdzenie ≥ 2 rzutów choroby - rozsianych w czasie, ale w sytuacji gdzie objawy neurologiczne wskazują na tą samą lokalizację ogniska. W takiej sytuacji konieczne jest udowodnienie w badaniu MR rozsiania w przestrzeni czyli stwierdzenie minimum po 1 zmianie demielinizacyjnej w sekwencji T2, w co najmniej dwóch z czterech lokalizacji typowych dla SM (okołokomorowo, podkorowo, podnamiotowo lub w rdzeniu kręgowym); lub oczekiwanie na kolejny rzut o innej lokalizacji.

3) Stwierdzenie 1 rzutu, ale o objawach z ≥ 2 różnych lokalizacji. W takiej sytuacji przyjmuje się, że wykazano rozsianie zmian w przestrzeni; należy jednak udowodnić rozsianie w czasie - konieczne jest stwierdzenie: równoczesnej obecności asymptomatycznej zmiany wzmacniającej się po podaniu gadoliny i zmian(y) nie wzmacniających - w badaniu wykonanym w dowolnym czasie po rzucie; lub stwierdzenie nowych ognisk w sekwencji T2 i/lub zmiany wzmacniającej się po kontraście w kontrolnym badaniu MR (niezależnie od czasu, w którym kolejne badanie zostanie wykonane); lub stwierdzenie wystąpienia kolejnego rzutu.

4) Wystąpienie 1 rzutu z 1 ogniska (CIS) - konieczne jest udowodnienie w badaniach dodatkowych rozsiania zarówno w czasie, jak i w przestrzeni:

   - dla stwierdzenia rozsiana zmian w przestrzeni (ang. *dissemination of lesions in space*; DIS) wymagane jest wykazanie w badaniu MR obecności ≥ 1 ognisk(a) w sekwencji T2 w minimum dwóch z czterech lokalizacji typowych dla SM; lub oczekiwanie na kolejny rzut o innej lokalizacji;
   - dla stwierdzenia rozsiana zmian w czasie (ang. *dissemination of lesions in time*, DIT) wymagane jest wykazanie równoczesnej obecności asymptomatycznej zmian(y) wzmacniających się po podaniu gadoliny i zmian(y) niewzmacniających się, w dowolnym czasie po rzucie; lub stwierdzenie nowych ognisk(a) i/lub zmiany wzmacniającej się po kontraście T2 w kolejnym badaniu MR w dowolnym czasie po rzucie; lub oczekiwanie na drugi rzut choroby.

Ze względu na wdrożone uproszczenia diagnostyczne rola badania płynu mózgowo-rdzeniowego obecnie jest nieco mniejsza. Badanie to pozwalało na liberalizację wymagań kryteriów diagnostycznych MR. Bieżąca aktualizacja znacznie upraszcza kryteria MR, stąd badanie płynu mózgowo-rdzeniowego nie jest bezwzględnie wymagane do rozpoznania stwardnienia rozsianego, jeśli objawy kliniczne i badanie MR pozwalają na postawienie diagnozy. Wynik badania płynu zawarty jest jedynie w kryteriach rozpoznania przewlekle postępującej postaci SM. Pozytywne wyniki badania indeksu IgG oraz prążków oligoklonalnych służą w diagnostyce różnicowej jako dowód istnienia procesu zapalnego-demielinizacyjnego.

**Wzrokowe potencjały wywołane**

Ostatnim badaniem laboratoryjnym, które znalazło swoje zastosowanie w kryteriach McDonalda są wzrokowe potencjały wywołane (WPW). Nieprawidłowy wynik charakterystyczny dla stwardnienia rozsianego to opóźniona ale dobrze zachowana fala potencjału (ang. *delayed but with well-preserved wave form*). W kryteriach z 2001 i 2005 roku badanie to zawarto w schemacie rozpoznania przewlekle postępującej postaci SM (5,10). Dodatkowo odchylenie w badaniu WPW mogło być użyte jako uzupełnienie badania klinicznego i zapewnić obiektywny dowód obecności drugiej zmiany w OUN. Istniał jednak warunek, że pierwsza zmiana nie jest

zlokalizowana w drodze wzrokowej. Aktualnie rola badania ograniczona została do zobiektywizowania rzutu SM w przypadku prezentacji klinicznej z zaburzeniami wzrokowymi.

## Diagnostyka różnicowa

Diagnozę SM można postawić na podstawie obecności dwóch rzutów oraz dowodów istnienia dwóch ognisk uszkodzenia OUN. Jednak ze względu na zasadę, że aby rozpoznać SM, nie możne istnieć „lepsze wytłumaczenie" na dany stan kliniczny (zasada „no better explanation"), konieczna jest dokładna diagnostyka różnicowa. Jest to szczególnie ważne w momencie, kiedy badanie MR nie wykaże typowych dla SM zmian.

W pierwotnych kryteriach McDonalda zawarto długą listę chorób, o których należy pamiętać w diagnostyce różnicowej. Na pierwszym miejscu wymieniono choroby naczyniowe mózgu: udar na podłożu zespołu antyfosfolipidowego, ostry toczeń układowy, CADASIL, chorobę Takayasu, kiłę oponowo-naczyniową, oraz rozwarstwienie tętnicy szyjnej. Następnie wspomniano o chorobach zakaźnych z uwzględnieniem zakażenia HTLV1 i boreliozy, oraz zespołach paraneoplastycznych (szczególnie tych z ataksją móżdżkową). Istotne miejsce w diagnostyce różnicowej mają jednofazowe choroby demielinizacyjne, takie jak ostre rozsiane zapalenie mózgu i rdzenia (ang. *acute disseminated encephalomyelitis, ADEM*), zespół Devica (ang. *neuromyelitis optima, NMO*) i ostre poprzeczne zapalenie rdzenia. Wspomniano także o leukodystrofiach.

W 2008 roku Miller i wsp. wskazali, że kryteria McDonalda są spostrzegane raczej jako wytyczne prognostyczne dalszego przebiegu choroby niż stricte kryteria diagnostyczne, pozwalające wyróżnić SM z innych chorób. W artykule, opublikowanym na łamach czasopisma Multiple Sclerosis dokładnie omówiono diagnostykę różnicową SM. Zaprezentowano listę tzw. czerwonych flag - objawów klinicznych lub odchyleń laboratoryjnych, które wskazują na inne niż SM rozpoznanie (6).

Trafne rozpoznawanie chorób wymaga precyzyjnych definicji, stąd podjęto próbę ścisłego zdefiniowania CIS, które określono jako jednofazową prezentację kliniczną objawów występujących najprawdopodobniej na podłożu zapalnego procesu demielinizacyjnego.

Na tej podstawie omówiono diagnostykę różnicową najczęściej spotykanych prezentacji CIS czyli zapalenia nerwu wzrokowego, zespołów uszkodzenia pnia mózgu, zespołów rdzeniowych, a także schemat diagnostyczny i kryteria diagnostyczne dla idiopatycznych zapalnych chorób demielinizacyjnych takich jak NMO, czy ADEM (11).

W najnowszych kryteriach pojawił się postulat wyłączenia z SM zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia (NMO, zesp. Devica) i chorób pokrewnych (NMO spectrum disorders). Zespół Devica charakteryzuje się zajęciem n. wzrokowego (jedno- lub obustronne zapalenie n. wzrokowego), ciężką mielopatią z charakterystycznymi zmianami w MR rdzenia, brakiem odchyleń lub zmianami nietypowymi dla SM w MR głowy oraz obecnością przeciwciał przeciw akwaporynie 4 (ang. *aquaporin 4, AQP4*).

Próba wyłączenia tych chorób z SM i zaklasyfikowanie NMO jako odrębnej nozologicznie jednostki lub zespołu chorobowego wynikać może między innymi z faktu, że w Azji NMO klasyfikowane jest jako stwardnienie rozsiane z zajęciem nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego. Argumenty, którymi posługuje się Panel są następujące: NMO ma odmienny przebieg kliniczny i inne rokowanie. Patofizjologia schorzenia jest odmienna niż w przypadku SM, a odpowiedź na leczenie immunomodulacyjne stosowane w SM jest niedostateczna.

Panel podaje trzy sytuacje kliniczne w których należy rozważyć rozpoznanie NMO:

1. występowanie mielopatii związanej z obecnością zmiany w MR rdzenia kręgowego o długości powyżej trzech segmentów rdzeniowych, oraz zmianę pierwotnie zajmującą środkową partię rdzenia na przekrojach osiowych;
2. występowania obustronnego zapalenia n. wzrokowego, o ciężkim nasileniu lub związanym z obrzękiem n. wzrokowego lub uszkodzeniem skrzyżowania wzrokowego lub związanego z występowaniem mroczka poprzecznego;
3. występowania opornej na leczenie czkawki lub nudności/wymiotów utrzymujących się co najmniej 2 dni, skojarzonej z obecnością zmiany w badaniu MR w okolicy okołowodociągowej w rdzeniu przedłużonym.

W przypadku podejrzenia NMO zalecane jest oznaczenie przeciwciał przeciw AQP4 w surowicy.

## Rozsianie zmian w przestrzeni

W oryginalnych kryteriach McDonalda z 2001 r. zawarto szczegółowe wytyczne dotyczące rozpoznania rozsiania w przestrzeni przy użyciu MR. Do tego celu panel ekspertów wybrał gotowe kryteria opracowane przez Barkhoffa i wsp. oraz Tintore i wsp (1, 16).

W aktualizacji z 2005 r. zawarto zmiany w wytycznych rozpoznania rozsiania w przestrzeni. Odtąd ogniska zlokalizowane w rdzeniu kręgowym uważane były za równoważne zmianom podnamiotowym oraz dowolna liczba zmian w rdzeniu kręgowym mogła zastępować zmiany w mózgowiu (10).

Włączone do schematu kryteria Barkhoffa oaz Tintore charakteryzują się wysoką czułością i swoistością lecz są trudne do zastosowania dla lekarzy nie będących radio-

logami. W 2007 r. Swanton i wsp. na podstawie danych MAGNIMS porównali kryteria Barkhoffa oraz Tintore z nową propozycją wytycznych rozpoznania rozsiania w przestrzeni (15). Kryteria te wymagają spełnienia warunku obecności co najmniej jednego ogniska w dwóch z czterech rejonów ośrodkowego układu nerwowego:

- w lokalizacji okołokomorowej,
- podkorowej,
- podnamiotowej,
- w rdzeniu kręgowym.

Podkreślono, że jeśli pacjent ma objawy z pnia mózgu lub rdzenia kręgowego, zmiany objawowe należy wykluczyć i nie liczą się one w rozpoznaniu rozsiania w przestrzeni. Zaznaczono także, że zmiana wzmacniająca się, jest wykładnikiem aktywności ogniska, a nie rozsiania w przestrzeni, i stąd nie jest wymagana w powyższych kryteriach (11). Kryteria zaproponowane przez Swanton poza tym, że są prostsze charakteryzują się wyższą czułością niż wytyczne Barkhoffa oraz Tintore zawarte w kryteriach McDonalda z 2001 r. i 2005 r. (15).

### Rozsianie zmian w czasie

Rozpoznawanie rozsiania w czasie na podstawie obrazowania rezonansu magnetycznego to nowość wdrożona wraz z publikacją pierwotnych kryteriów McDonalda. Wymagano wtedy wykazania zmiany wzmacniającej się w badaniu MR wykonanym co najmniej trzy miesiące od początku objawów. Jeśli ten warunek nie został spełniony można było rozpoznać rozsianie w czasie, gdy w tym samym okresie pojawiła się nowa zmiana hiperintensywna w sekwencjach T2-zależnych. Zastrzeżono jednak, że skany wykonane w okresie do trzech miesięcy od początku objawów nie mogą służyć jako referencyjne (5).

W 2002 r. Dalton i wsp. wskazali, że nowa zmiana T2-zależna odgrywa większą rolę w rozpoznania rozsiania w czasie, także w porównaniu do zmiany wzmacniającej się. Dowiedli, że jej obecność w ciągu trzech miesięcy od wystąpienia objawów (mediana 5 tygodni) jest wiarygodnym wykładnikiem rozsiania w czasie (2).

Z tego względu eksperci opracowujący aktualizację kryteriów McDonalda w 2005r. zadecydowali o liberalizacji wytycznych rozpoznania rozsiania w czasie (10). Zgodnie z definicją odstęp pomiędzy rzutami powinien wynosić co najmniej 30 dni. Na tej podstawie ustalono, że nowa zmiana T2 zależna także powinna pojawić się po minimum 1 miesiącu od początku choroby, czyli w czasie porównywalnym do mediany w pracy Daltona (2). W związku z powyższym, aby stwierdzić rozsianie w czasie należało wykazać nową zmianę T2 zależną w dowolnym momencie po referencyjnym badania MR wykonanym co najmniej 30 dni od początku wystąpienia objawów. Aktualizacja ta upraszcza i przyspiesza rozpoznanie, choć wymaga dużego doświadczenia od osób oceniających badania obrazowe. W obecnych kryteriach z 2010 roku zrezygnowano ze ścisłego limitu czasowego, dopuszczając jako istotne nowe (w stosunku do wyniku poprzedniego badania MR) zmiany w obrazie MR w sekwencji T2 i/lub wzmacniające się po podaniu kontrastu, w dowolnym czasie po wystąpieniu rzutu (patrz tab. 1) (11).

### Pierwotnie przewlekle postępująca postać stwardnienia rozsianego

Pierwotnie przewlekle postępująca postać SM zawsze stanowiła wyzwanie diagnostyczne. Postać ta jest stosunkowo rzadka, a brak rzutów choroby utrudnia rozpoznanie rozsiania w czasie i w przestrzeni. Opracowanie kryteriów dodatkowo utrudnione było małą ilością publikacji zawierających dane dotyczące obserwacji pacjentów w czasie. Podstawę kryteriów zaczerpnięto z pracy Thompsona i wsp. (17). Do rozpoznania pierwotnie przewlekle postępującej postaci SM według pierwotnych kryteriów McDonalda z 2001 r. konieczne było wykazanie nieprawidłowości w badaniu płynu mózgowo-rdzeniowego (prążki oligoklonalne, podwyższenie indeksu IgG), a także rozsiania w przestrzeni oraz w czasie. Aby wykazać rozsianie w przestrzeni w wykonanym badaniu MR należało zobrazować co najmniej dziewięć zmian T2 zależnych w mózgowiu lub co najmniej 2 zmiany w rdzeniu kręgowym, lub cztery do ośmiu zmian w mózgowiu i jedną zmianę w rdzeniu kręgowym. Jeśli nie zostały spełnione powyższe wymagania pomocne było badanie WPW (5). W przypadku obecności nieprawidłowości w badaniu WPW do rozpoznania rozsiania w przestrzeni wymagane było wykazanie czterech do ośmiu zmian w mózgowiu lub mniej niż czterech w mózgowiu i jednej w rdzeniu kręgowym. Rozsianie w czasie rozpoznawano na podstawie badania MR (analogicznie jak w postaci rzutowo-remisyjnej) lub poprzez obserwację stopniowej progresji niesprawności w ciągu 1 roku. Eksperci świadomi rygorystycznego charakteru tych wytycznych zaznaczyli, że w momencie pojawienia się nowych danych możliwa będzie ich modyfikacja (5).

Jak z tego widać rozpoznanie pierwotnie przewlekle postępującej postaci stwardnienia rozsianego na podstawie kryteriów z 2001r. było dość problematyczne. Wobec powyższego opierając się na badaniach Wolinsky i wsp. w aktualizacji kryteriów z 2005r. zaproponowali uproszczenie tych wytycznych (18). Podstawą stała się, ustalona retrospektywnie lub prospektywnie, roczna obserwacja stopniowej progresji niesprawności. Dodatkowo należało spełnić dwa z trzech warunków: pozytywny wynik badania MR mózgowia, pozytywny wynik badania MR rdzenia kręgowego (obecność dwóch zmian T2 zależnych) lub pozytywny wynik badania płynu mózgowo-rdzeniowego to jest obecność prążków oligoklonalnych lub podwyższenia indeksu IgG lub obu tych patologii (11).

Modyfikacja ta została dobrze przyjęta przez środowisko neurologów. Nowe kryteria MR zaczerpnięte z badań grupy MAGNIMS zastosowane zostały także w rozpoznaniu pierwotnie przewlekle postępującej postaci stwardnienia rozsianego (7, 11).

W nowych wytycznych z 2010 r. zmieniono wymagania dotyczące nieprawidłowości w badaniu MR mózgowia. Aby zakwalifikować je jako pozytywne należy wykazać obecność co najmniej jednej zmiany w jednym z obszarów charakterystycznych dla stwardnienia rozsianego (okołokomorowo, podkorowo, podnamiotowo) lub minimum dwóch zmian w badaniu MR rdzenia (patrz tab. 2) (11).

## Dyskusja

Wczesne i trafne rozpoznanie SM jest niezwykle istotne dla właściwej opieki nad chorym, a dodatkowo wspomaga decyzje dotyczące leczenia immunomodulacyjnego, które jest najskuteczniejsze we wczesnych etapach choroby. Wraz z upowszechnieniem kryteriów McDonalda możliwe stało się rozpoznanie SM nawet u pacjentów z przebytym CIS i dodatnimi wynikami badań MR, już we wczesnych fazach choroby. W badaniach dowiedziono, że nowe kryteria rozpoznania stwardnienia rozsianego na podstawie obrazowania MR są wysoce swoiste w przewidywaniu rozwoju SM. Retrospektywna analiza danych klinicznych potwierdziła użyteczność i trafność wcześniejszych wersji kryteriów McDonalda. Zapewniają one wczesną diagnozę zmniejszając istotnie prawdopodobieństwo postawienia rozpoznania fałszywie pozytywnego. Charakteryzują się one stosunkowo wysokim poziomem specyficzności, a wraz z kolejną aktualizacją zwiększają swoją czułość.

Na ocenę obecnie zaktualizowanych kryteriów jest jeszcze za wcześnie. Badanie Swanton z 2007 roku odnoszące się do kryteriów z lat 2001 i 2005 oraz modyfikacji kryteriów radiologicznych z roku 2006 wykazało relatywnie wysoką swoistość rozpoznań rzędu 88-91% (kryteria z 2001r. wg McDonald - 91%; 2005 McDonald - 88%; oraz kryteria z 2006 - 87%), przy ciągle nieco niższej ale wzrastającej czułości (2001 McDonald - czułość 47%; 2005 McDonald - 60%; kryteria z 2006 - 72%) (15).

Choć aktualne kryteria stanowią niewątpliwie istotny postęp w diagnostyce SM, nie dają odpowiedzi na wszystkie pytania, np. wątpliwości mogą budzić sytuacje gdzie rzut SM jest definiowany jako relacjonowany przez pacjenta lub stwierdzony obiektywnie epizod typowy dla „ostrej zmiany demielinizacyjnej" OUN (ang. *an acute inflamatory demyelinating event*). W jednej z ostatnich prac zwrócono uwagę, że aż jeden na trzech chorych przyjmowanych z objawami ostrej demielinizacji podaje w wywiadzie epizod sugerujący przebycie już co najmniej jednego rzutu w przeszłości (3). Pojawiają się więc obawy o zbyt małą precyzję danych zebranych tylko na podstawie wywiadu (13).

Słabą stroną aktualnych klasyfikacji – mimo istotnego postępu w tym zakresie - pozostaje nadal nieco nieprecyzyjne definiowanie wtórnie przewlekle postępującej postaci SM. Chorzy ci inaczej reagują na leczenie i jak zauważa Rudick (2011) ze względu na dość nieostre kryteria diagnostyczne rekrutacja do tej grupy w terapeutycznych próbach klinicznych może odnosić się do zbyt heterogennej grupy chorych, co z kolei może utrudniać precyzyjną ocenę odpowiedzi na leczenie (13).

Dodatkowo postęp badań neuroobrazowych spowodował wyodrębnienie się nowej grupy chorych z tzw. radiologicznie izolowanym zespołem (ang. *radiologically isolated syndrome, RIS*) (4, 9). Niewątpliwie i ta grupa chorych powinna doczekać się schematów postępowania diagnostycznego i kryteriów rozpoznawczych.

**Tabela 2.** Dla rozpoznania postaci pierwotnie przewlekle postępującej SM (PPSM) Panel proponuje następujące kryteria:

A)

Jeden rok postępu choroby (oceniony retrospektywnie lub prospektywnie)
plus dwa z trzech poniższych kryteriów:

B)

1) stwierdzenie rozsiania zmian w przestrzeni (DIS) w mózgowiu, to jest obecności ≥ 1 ognisk(a) w sekwencji T2 w lokalizacji typowej dla SM;
2) stwierdzenie rozsiania zmian w przestrzeni (DIS) w rdzeniu kręgowym, to jest obecności ≥ 2 ognisk w sekwencji T2 w rdzeniu;
3) dodatni wynik badania płynu mózgowo-rdzeniowego (obecność prążków oligoklonalnych i/lub podwyższona wartości indeksu IgG).

## Podsumowanie

W 2010 r. publikując nową wersję kryteriów McDonalda obradujący eksperci potwierdzili ważność pierwotnych kryteriów z 2001r. i ich aktualizacji z 2005 r. Zalecili jednak stosowanie najnowszych kryteriów uwzględniających dane uzyskane przez międzynarodową grupę badawczą MAGNIMS. Zmiany w rozpoznaniu rozsiania w czasie i przestrzeni zwiększą wg Panelu czułość kryteriów, nie wpływając w znaczący sposób na ich swoistość. Dodatkowo uproszczenie wymagań dotyczących obrazowania skutkować będzie mniejszą ilością wykonywanych badań MR.

Czy doczekamy się kolejnej aktualizacji kryteriów McDonalda? Nie można wykluczyć, że w najbliższych latach uzyskamy kolejne jeszcze dokładniejsze narzędzia diagnostyczne, należy brać pod uwagę szczególnie dynamiczny rozwój nowych opcji neuroobrazowania MR i coraz powszechniejszy dostęp do skanerów 3 teslowych, nie należy też zapominać, że nowe markery immunologiczne mogą być ciągle źródłem postępów w diagnostyce.

Warto ponownie przytoczyć opinię Millera i wsp, że kryteria McDonalda rozpoznania SM służą przede wszystkim prognozowaniu aktywności choroby w sensie wystąpienia kolejnych rzutów, i ciągle jeszcze nie są kryteriami diagnostycznymi pozwalającymi z całkowitą pewnością wyróżnić SM spośród innych chorób (6).

Aktualnie najpilniejszą potrzebą z praktycznego punktu widzenia wydają się być: stworzenie i rozpowszechnianie wytycznych diagnostyki różnicowej SM, opracowanie kryteriów postępowania u osób z radiologicznie izolowanym zespołem (RIS) (4) oraz dalsze prace nad kryteriami postaci pierwotnie przewlekle postępujących SM.

## Piśmiennictwo


1. *Barkhof F., Filippi M., Miller D.H., et al.:* Comparison of MR imaging criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. Brain 1997, 120, 2059-2069
2. *Dalton C.M., Brex P.A., Miszkiel K.A., et al.:* Application of the new McDonald criteria to patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. Ann Neurol 2002, 52, 47-53
3. *Gout O., Lebrun-Frenay C., Labauge P., et al.:* Prior suggestive symptoms in one-third of patients consulting for a „first" demyelinating event. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2011, 82, 323-325
4. *Lebrun C., Benesa C., Debouverie M., et al.:* Association between clinical conversion to multiple sclerosis in radiologically isolated syndrome and magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid, and visual evoked potential: follow-up of 70 patients. Arch Neurol 2009, 66, 841-846
5. *McDonald W.I., Compston A., Edan G., et al.:* Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann Neurol 2001, 50, 121-127
6. *Miller D.H., Weinshenker B.G. Filippi M., et al.:* Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis: a consensus approach. Mult Scler 2008, 14, 1157-1174
7. *Montalban X., Sastre-Garriga J., Filippi M., et al.:* Primary progressive multiple sclerosis diagnostic criteria: a reappraisal. Mult Scler 2009, 15, 1459-1465
8. *Montalban X., Tintore M., Swanton J., et al.:* MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. Neurology 2010, 74, 427-434
9. *Moore F., Okuda D.T.:* Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiological isolated syndrome. Neurology 2009, 73, 1714
10. *Polman C.H., Reingold S.C., Edan G., et al.:* Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria." Ann Neurol 2005, 58, 840-846
11. *Polman C.H., Reingold S.C., Banwell B., et al.:* Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald Criteria. Ann Neurol 2011, 69, 292-302
12. *Poser C.M., Paty D.W., Scheinberg L., et al.:* New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. Ann Neurol 1983, 13, 227-231
13. *Rudick R.A.:* Diagnostic criteria in multiple sclerosis: headed in the right direction but still a ways to go. Neurology 2011, 69, 234-236
14. *Schumacher G.A., Beebe G.W., Kibler R.F., et al.:* Problems of experimental trails of therapy in multiple sclerosis. Ann N Y Acad Sci 1965, 122, 552-568
15. *Swanton J.K., Rovira A., Tintore M., et al.:* MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. Lancet Neurol 2007, 6, 677-686
16. *Tintore M., Rovira A., Martinez M., et al.:* Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. Am J Neuroradiol 2000, 21, 702-706
17. *Thompson A.J, Montalban X., Barkhof F., et al.:* Diagnostic criteria for primary progressive multiple sclerosis: a position paper. Ann Neurol 2000, 6, 831-835
18. *Wolinsky J.S.:* the PROMiSe Study Group. The diagnosis of primary progressive MS. J Neurol Sci 2003, 206, 145-152



**Adres do korespondencji:**
Klinika Neurologii i Chorób Naczyniowych
Układu Nerwowego
UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Szpital ZOZ MSWiA im. prof. L. Bierkowskiego
ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań
tel. 61 8464 585 (586, 589), fax 61 8464 585

# Zastosowanie metody CFD do modelowania przepływu krwi w neurologii

## Application of Computational Fluid Dynamics to modeling of blood flow in neurology

Anna Marcinkowska-Gapińska[1], Sylwia Peryt-Stawiarska[2], Piotr Kowal[1], Izabela Niśkiewicz[1]

*[1] z Pracowni Reologicznej Katedry Neurologii*
*UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu*
*ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań*
*kierownik Pracowni Reologicznej: prof. dr hab. med. Piotr Kowal*
*kierownik Katedry Neurologii: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

*[2] z Instytutu Inżynierii Chemicznej i Procesów Ochrony Środowiska*
*Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej*
*Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie*
*Al. Piastów 42, 71-065 Szczecin*
*dyrektor Instytutu: dr hab. inż. Józef Nastaj, prof. ZUT*

**Streszczenie**

W pracy przedstawiono możliwości zastosowania Numerycznej Mechaniki Płynów (ang. *Computational Fluid Dynamics*, CFD) do symulacji przepływu krwi w tętniczkach. Symulacje CFD wykonano dla uproszczonego modelu geometrycznego tętniczek i różnych parametrów reologicznych krwi zaczerpniętych z literatury. Symulacje wykonano dla przepływu ustalonego. Na podstawie otrzymanych wyników sporządzono rozkłady prędkości, co pozwoliło na ocenę hydrodynamiki przepływu krwi przez tętniczki. Otrzymane wyniki w przyszłości będą mogły być pomocne do oceny wpływu reologii i hydrodynamiki krwi na ryzyko wystąpienia udaru mózgu w konkretnych przypadkach medycznych.

**Summary**

Computational Fluid Dynamics (CFD) was applied to simulate blood flow in arterioles. CFD simulations were performed using a simplified model of arterioles geometry and for hemorheological parameters values taken from literature. Simulations were performed for stationary flow. As a result, maps of flow velocity were calculated, which were than used for estimation of hydrodynamics of the blood flow through arterioles. The results obtained in this study will be helpful in future attempts to estimate the influence of blood rheology and hydrodynamics on the risk of stroke in individual medical cases.

**Słowa kluczowe:** symulacje CFD, przepływ laminarny, krew, neurologia

**Key word:** CFD simulations, laminar flow, blood, neurology.

### Wstęp

Badanie zjawisk towarzyszących przepływowi krwi w naczyniach krwionośnych jest zagadnieniem bardzo złożonym. Hemoreologia jest dziedziną, która zajmuje się analizowaniem zjawisk towarzyszących przepływowi krwi w naczyniach krwionośnych (2, 10). Zaburzenia ukrwienia obwodowego i zmiany własności fizykochemicznych krwi obserwuje się w przypadku takich chorób jak choroba wieńcowa, zawał mięśnia sercowego czy udar mózgu (2, 8, 10). Właściwości reologiczne krwi są pochodną warunków przepływu krwi w układzie krążenia, jak również właściwości fizykochemicznych samej krwi. Krew - jako zawiesina erytrocytów w osoczu, stanowi ciecz niejednorodną, o złożonych właściwościach reologicznych. Głównymi czynnikami wpływającymi na płynność krwi, wzajemnie ze sobą powiązanymi są: hematokryt, zdolność do agregacji i deformacji krwinek oraz prędkość ścinania (2, 8). Obserwowane zaburzenia hemoreologiczne u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu dotyczyć mogą zarówno składników osoczowych jak i elementów morfotycznych. U chorych z udarem mózgu obserwuje się zmiany liczby krwinek, większą

zdolność erytrocytów do agregacji, mniejszą zdolność do deformacji. W układzie białokrwinkowym obserwowano wzrost liczby leukocytów oraz zmniejszenie ich elastyczności (4, 6, 7). W przypadku płytek krwi obserwuje się tendencję do wzmożonej agregacji. Zmiany własności osocza przejawiają się podwyższonym poziomem fibrynogenu i innych białek, a także przesunięciem w zakresie frakcji lipidowych (6). Jednostki chorobowe takie jak udar mózgu mogą często prowadzić do trwałego kalectwa i stanowią problem nie tylko medyczny, ale również społeczny (11). Badanie przyczyn wystąpienia udaru jest bardzo istotne z punktu widzenia profilaktyki.

W literaturze przedmiotu prezentowane są prace, w których autorzy przeprowadzili symulacje numeryczne CFD dla przepływu krwi w układzie krwionośnym (1, 12). Stąd w ramach niniejszej pracy podjęto próbę symulacji dla tętniczek.

W niniejszej pracy przedstawiono możliwości zastosowania Numerycznej Mechaniki Płynów (ang. *Computational Fluid Dynamics*, CFD) do symulacji przepływu krwi w tętniczkach, co w przyszłości może być wykorzystane do symulacji przepływu krwi w krążeniu mózgowym u chorych na choroby niedokrwienne mózgu.

## Metoda CFD

### Podstawy metody

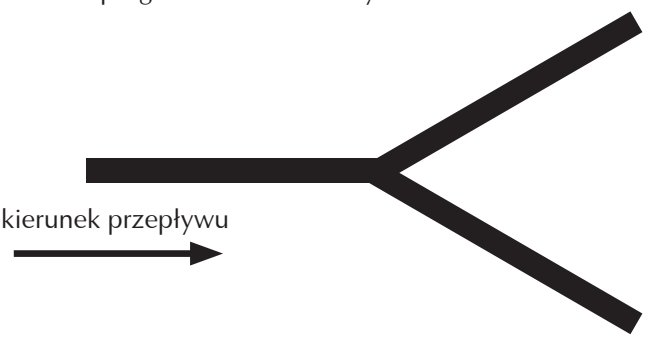
Podstawą metody CFD jest równanie transportu Naviera-Stokesa (N-S), które jest rozwiązywane w małym elemencie płynu (w komórce obliczeniowej siatki numerycznej), przy założeniu ciągłości ośrodka płynnego. Uogólnione równanie transportu (w tym i Naviera-Stokesa) dla wielkości fizycznej $\phi$ może być zapisane w następujący sposób (3):

$$\frac{\partial(\rho\varphi)}{\partial t}+\sum_{i=1}^{3}\frac{\partial(\rho v_i\varphi)}{\partial x_i}-\sum_{i=1}^{3}\frac{\partial}{\partial x_i}\Gamma_i\left(\frac{\partial\varphi}{\partial x_i}\right)=S_\varphi \qquad (1)$$

Poszczególne wyrażenia równania (1) kolejno odpowiadają podstawowym mechanizmom: akumulacji, konwekcji oraz dyfuzji. Ostatni człon równania grupuje źródła oraz upusty bilansowanej wielkości. Zmienna $\phi$ jest ogólnym oznaczeniem: składowej wektora prędkości (dla procesu przenoszenia pędu), temperatury składnika (dla procesu wymiany ciepła) lub stężenia składnika (dla procesu wymiany masy) (3, 9). Współczynnik opisuje intensywność transportu molekularnego i odpowiada kolejno lepkości, współczynnikowi przewodzenia ciepła lub współczynnikowi dyfuzji w przypadku bilansu pędu, energii lub masy składnika (3, 9).

### Siatka numeryczna i metodyka prowadzenia symulacji

W celu przeprowadzenia symulacji utworzono geometrię przedstawiającą modelowany odcinek tętniczek. Do analizy wybrano tętniczki rozgałęziające się pod kątem 90 stopni. Średnica odcinka wlotowego wynosiła d = 0,05 mm, długość pojedynczej tętniczki do rozwidlenia wynosiła l = 0,50 mm. Następnie na geometrię nałożono niestrukturalną siatkę numeryczną składającą się z 840 tys. komórek obliczeniowych (ryc. 1). Geometria badanego układu oraz siatka numeryczna zostały utworzone w programie Gambit firmy ANSYS.




***Rycina 1.*** *Siatka numeryczna zastosowana do symulacji numerycznych.*

Następnie wykonano obliczenia numeryczne w programie Fluent 13.0 firmy ANSYS. Symulacje CFD wykonano w trybie ustalonym dla laminarnego przepływu krwi. Liczba Reynoldsa dla odcinka wlotowego, obliczona z zależności:

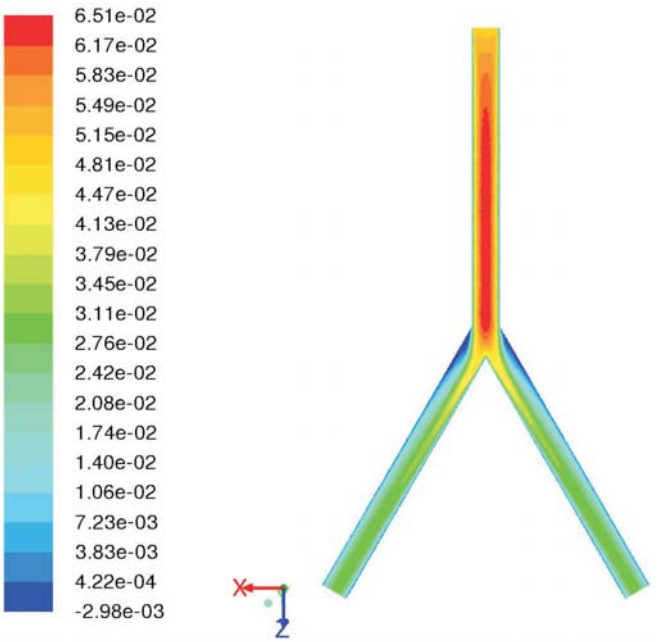
$$\mathrm{Re}=\frac{wd\rho}{\eta} \qquad (2)$$

mieściła się w przedziale od Re = 1,32 do Re = 1,89 dla lepkości krwi równej odpowiednio $\eta$ = 0,0020 Pas oraz $\eta$ = 0,0014 Pas. Do symulacji przyjęto uproszone założenia dotyczące własności fizyko-chemicznych krwi, to jest założono, że krew podczas przepływu zachowuje się jak płyn newtonowski, a jej lepkość jest stała. Symulacje wykonano dla następujących wartości lepkości $\eta$: 0,0014; 0,0016; 0,0018; 0,0020 Pas (10). Gęstość krwi przyjęto na poziomie $\rho$ = 1059 kg/m$^3$. Prędkość na wlocie do układu dla wszystkich analizowanych przypadków była stała i wynosiła w = 0,05 m/s (5,10).

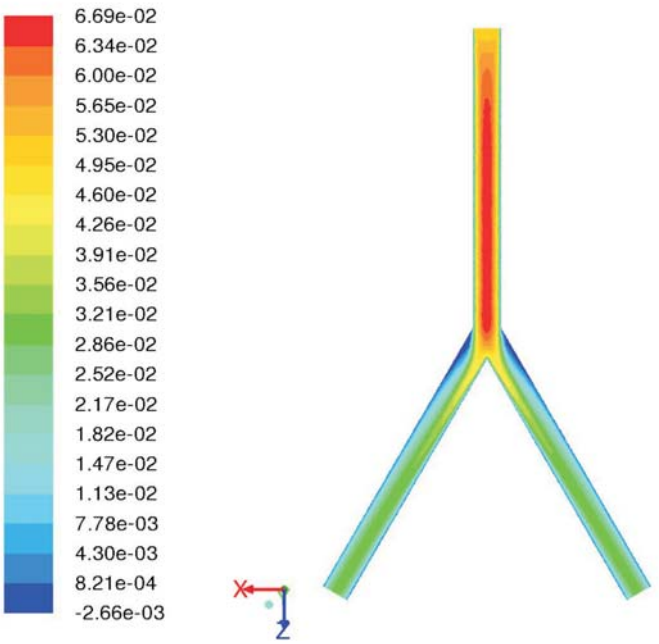
W wyniku symulacji otrzymano informacje o hydrodynamice przepływu krwi w tętniczkach. Wyniki przedstawiono w postaci rozkładów prędkości.

## Omówienie wyników

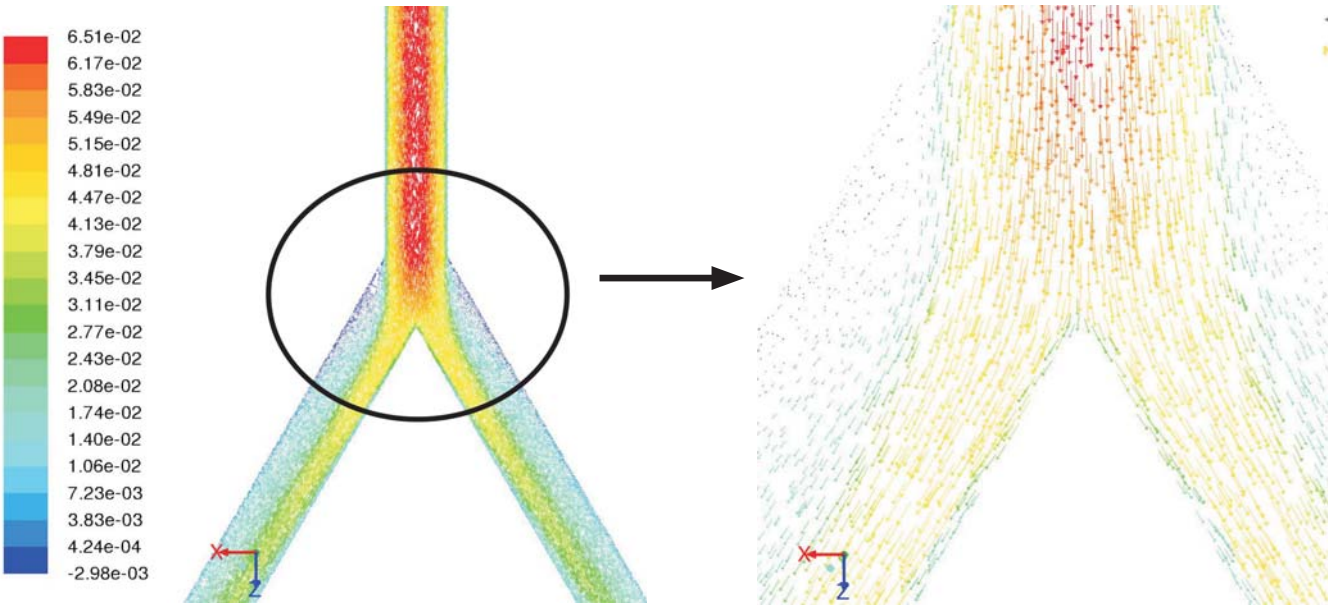
W celu oceny wpływu lepkości na przepływ w krwi w tętniczkach sporządzono kontury prędkości osiowej. Na ryc. 2 przedstawiono rozkłady prędkości dla wybranego przekroju poprzecznego wzdłuż tętniczek i lepkości płynu równej $\eta$ = 0,0014 Pas. Z kolei na ryc. 3 przed-




***Rycina 2.*** *Rozkłady składowej osiowej prędkości, lepkość płynu* $\eta$ *= 0,0014 Pas.*




***Rycina 3.*** *Rozkłady składowej osiowej prędkości, lepkość płynu* $\eta$ *= 0,0020 Pas.*




***Rycina 4.*** *Wektory składowej osiowej prędkości, lepkość płynu* $\eta$ *= 0,0014 Pas.*

stawiono przekrój prędkości osiowej dla lepkości krwi równej $\eta$ = 0,0020 Pas.

Na podstawie analizy otrzymanych wyników można stwierdzić, że dla wszystkich analizowanych przypadków, z przedziału lepkości od $\eta$ = 0,0014 Pas do $\eta$ = 0,0020 Pas otrzymane rozkłady prędkości osiowej były do siebie bardzo zbliżone ze względu na laminarny charakter przepływu. Nieznaczne różnice ilościowe odnotowano w maksymalnych prędkościach przepływu.

Na ryc. 4 przedstawiono wektory prędkości dla wybranego przypadku (lepkość krwi $\eta$ = 0,0014 Pas). Wektory prędkości były charakterystyczne dla przepływu laminarnego. W strefie bifurkacji stwierdzono występowanie obszarów, w których prędkość płynu jest bliska zeru. W związku z tym w dalszych badaniach należy skoncentrować się między innymi na analizie wpływu kąta bifurkacji na hydrodynamikę przepływu krwi.

## Podsumowanie i wnioski

Na podstawie wykonanych wyników symulacji CFD stwierdzono, że metoda CFD pozwala na analizę przepływu krwi przez tętniczki. Jednak zastosowanie tej metody w neurologii wymaga dalszych prac związanych z prawidłowym odwzorowaniem geometrii naczyń krwionośnych.

## Piśmiennictwo


1. *Arslan N., Tuzcu V., Nas S., Durukan A.:* CFD modeling of blood flow inside human left coronary artery bifurcation with aneurysms, The 3rd European Medical and Biological Engineering Conference EMBEC'05, November 20-25, 2005, Prague, Czech Republic
2. *Chmiel H.:* Determination of blood rheological parameters and clinical application. Adv. Cardiovasc Phys 1979, 3, 1-44
3. *Jaworski Z.:* Numeryczna mechanika płynów w inżynierii chemicznej i procesowej, Warszawa Akademicka Oficyna Wydaw. EXIT 2005
4. *Kowal P.:* Czynniki wpływające na przepływ mózgowy i ich rola w powstawaniu zaburzeń krążenia mózgowego. Neur. Neurochir. Pol. 1990, 24(5-6), 323-330
5. *Kowal P.:* Hemoreologia niedokrwiennego udaru mózgu. Studium właściwości fizykochemicznych krwi z uwzględnieniem wpływu systemu HELP na zmiany parametrów hemoreologicznych., Rozprawa habilitacyjna, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 1993
6. *Kowal P.:* Właściwości hemoreologiczne u chorych z niedokrwiennym udarem mózgu w wybranych grupach chorych. Pol. Tyg. Lek. 1992, 14-15, 308-309
7. *Kowal P.:* Zaburzenia własności fizycznych krwi w niedokrwiennym udarze mózgu. Neur. Neurochir. Pol. 1993, 5, 663-670
8. *Lerche D., Bäumler H., Kucera W., Meier., i wsp.:* Flow properties of blood and hemoreological methods of quantification, w: Physical Characterization of Biological cells. Basic research and clinic relevance. Ed. W. Scütt, H. Klinkmann, I. Lamprecht, T. Wilson, Verlag Gesundheit GmbH Berlin 1991, 189-214
9. *Peryt-Stawiarska S., Wasielewski J.:* Wpływ kąta bifurkcji naczyniowej na rozkład naprężeń ścinających w ocenie za pomocą numerycznej mechaniki płynów, Mechanika w medycynie 10 pod red. Mieczysława Korzyńskiego, Janusza Cwanka, Volodymyra Liubimova Rzeszów, Oficyna Wydawnicza Politechniki Rzeszowskiej, 2010 S. 241-246, Dziesiąte Międzynarodowe Seminarium Naukowe „Mechanika w Medycynie", 17-18 września 2010 r., Rzeszów
10. *Sandhagen B.:* Assessment of Blood Rheology. Methodology and studies in healthy indiwiduals, in patients with certain diseases and during liquid blood preservation. Acta Uniwersitatis Upsaliensis, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine 138, Uppsala, 1988, 1-52.
11. *Skibicka I., Niewada M., Skowrońska M., Członkowska A., Członkowski A.:* Opieka nad pacjentem po udarze mózgu. Wyniki dwuletniego prospektywnego badania obserwacyjnego przeprowadzonego w województwie mazowieckim w Polsce. Neur. Neurochir. Polska 2010, 44(3), 231-237
12. *Xu X.Y., Long Q., Collins M.W., Bourne M., Griffith T.M.:* Reconstruction of blood flow patterns in human arteries. Proc. Instn. Mech. Engrs. 1999, 213 Part H



**Adres do korespondencji:**
Pracownia Reologiczna Katedry Neurologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Właściwości reologiczne krwi u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym

## Rheological properties of blood in patients with multiple sclerosis

Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz, Anna Marcinkowska-Gapińska

*z Pracowni Reologicznej Katedry Neurologii*
*UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik Pracowni Reologicznej: prof. dr hab. med. Piotr Kowal*
*kierownik Katedry Neurologii: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

**Streszczenie**

W niniejszej pracy przedstawiono jeden z aspektów poszukiwania czynnika wyzwalającego proces chorobowy lub wpływającego na przebieg stwardnienia rozsianego u już chorych pacjentów. W literaturze istnieją doniesienia, że pojawiające się zaburzenia krążenia u chorych na stwardnienie rozsiane mogą mieć wpływ na przebieg choroby, a nie być tylko jej skutkiem. Ten aspekt, jakim jest powiązanie zaburzeń ukrwienia ze stanem chorobowym pacjenta chorego na stwardnienie rozsiane jest jeszcze stosunkowo mało poznany. Jedną z metod badań zaburzeń krążenia jest ocena właściwości fizykochemicznych krwi. Badania hemoreologiczne mogą być pomocne w ustaleniu wpływu zmian lepkości krwi pełnej i osocza na przebieg choroby. Z danych literaturowych wynika, że u chorych na stwardnienie rozsiane obserwowano patologiczne zmiany związane z agregacją erytrocytów, reologią błony komórkowej erytrocytów, a także wzrost lepkości krwi i osocza w aktywnej fazie choroby. Celem niniejszej pracy było usystematyzowanie dotychczasowych doniesień na temat właściwości reologicznych krwi u chorych na stwardnienie rozsiane.

**Summary**

In this study we report on an attempt to find a triggering factor determining the course of multiple sclerosis in patients already suffering from that disease. In literature one can find reports suggesting that circulatory disorders accompanying multiple sclerosis may influence the course of the disease and not simply be its effect. This aspect of mutual relation between perfusion disorders and the condition of patients suffering from multiple sclerosis is relatively poorly understood. One of the methods of studying perfusion disorders is an estimation of physico-chemical properties of blood. Hemorheological studies may be helpful in finding the influence of whole blood and plasma viscosity on the course of disease. From literature data it comes out that in patients suffering from multiple sclerosis pathological changes have been observed related to red cells aggregability, erythrocytes membrane rheology, as well as increase of whole blood and plasma viscosity in the active phase of the disease. The aim of this work was to systematize the reports on the rheological properties of blood in patients suffering from multiple sclerosis.

**Słowa kluczowe:** hemoreologia, lepkość krwi, stwardnienie rozsiane

**Key words:** hemorheology, blood viscosity, multiple sclerosis

**Wstęp**

Właściwości reologiczne krwi wynikają zarówno z jej właściwości fizykochemicznych, jak i z własności i budowy układu krążenia (3). Badanie właściwości reologicznych krwi w dużej mierze opiera się na badaniu lepkości krwi pełnej i osocza (4, 12, 16, 31). Lepkość krwi zmienia się wraz ze zmianą prędkości ścinania. Ścinanie jest to odkształcenie, które pojawia się w momencie, gdy ciecz zaczyna płynąć. Zmiana w czasie tego odkształcenia definiowana jest jako prędkość ścinania (16, 23). Bardzo ważnym czynnikiem w warunkach *in vivo*, wpływającym na zmianę prędkości ścinania, jest geometria i rozmiar naczyń krwionośnych (23, 25). Właściwości krwi związane z jej przepływem niektórzy badacze określają jako płynność krwi (26). Na płynność krwi obok hematokrytu wpływ ma także skłonność erytrocytów do deformacji i agregacji oraz lepkość osocza wynikająca z jego składu białkowego (12, 13). W zależności od prędkości ścinania zmieniają się też własności hemoreologiczne. W zakresie niskich prędkości ścinania procesem dominującym podczas przepływu jest agre-

gacja erytrocytów, a w zakresie wysokich prędkości ścinania deformacja (2, 13).

Zmiany własności reologicznych krwi obserwuje się w przypadku wielu chorób. Najczęściej wymieniane są: choroba wieńcowa, zawał mięśnia sercowego, udar mózgu, cukrzyca (9, 17, 22, 25). Stosunkowo mało jest doniesień na temat zaburzeń własności reologicznych u chorych na stwardnienie rozsiane (7, 8, 10, 29).

Patogeneza stwardnienia rozsianego nie jest w pełni poznana. Nie ustalono również czynnika wyzwalającego proces chorobowy, stąd poszukiwanie możliwych czynników lub czynnika przyczynowego choroby. Jedną z koncepcji jest, że zaburzenia krążenia w układzie żylnym mogą odgrywać jakąś rolę w powstawaniu SM (34). Celem niniejszej pracy był przegląd piśmiennictwa na temat właściwości reologicznych krwi u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

## Metody badań reologicznych

Badania hemoreologiczne obejmują pomiar lepkości krwi pełnej, pomiar lepkości osocza oraz pomiar własności erytrocytów związanych z ich agregacją i deformacją. Ze względu na własności lepkosprężyste krwi wykonuje się również badania lepkości zespolonej (12, 27, 33). Badanie lepkości krwi, agregacyjności i elastyczności krwinek czerwonych wykonuje się *in vitro*. Krew do badań pobierana jest od pacjenta na środek przeciwkrzepliwy. Nie powinna być zamrażana lub ogrzewana a badanie ze względu na procesy starzenia powinno być wykonane w czasie nie dłuższym niż 6 godzin od momentu pobrania (16). Ze względu na wpływ badania na „historię" próbki, a przez to na własności reologiczne krwi, próbka krwi użyta do badań może być tylko raz (3, 4, 12, 25).

Ze względu na zmianę lepkości krwi w zależności od prędkości ścinania do wyznaczania wartości tego parametru raczej nie stosuje się wiskozymetrów kapilarnych. Lepkość osocza można wyznaczać z wykorzystaniem wiskozymetrów kapilarnych, gdyż osocze ma charakter cieczy newtonowskiej i jego lepkość nie zależy od prędkości ścinania. Reometry rotacyjne umożliwiają pomiar lepkości krwi w szerokim spektrum prędkości ścinania, a reometry oscylacyjne lub oscylacyjno-rotacyjne pomiar lepkości zespolonej (16, 23, 25).

Badania własności reologicznych krwi obejmują również obok pomiaru lepkości krwi pełnej i pomiaru lepkości zespolonej, pomiar skłonności erytrocytów do agregacji i deformacji (5, 12, 25). Jest wiele technik pozwalających w sposób bezpośredni ocenić wielkość agregatów krwinek czerwonych i ich deformowalność (5, 18, 25).

Dodatkową informację o własnościach reologicznych krwi stanowić może matematyczna analiza krzywych przepływu z wykorzystaniem modeli reologicznych (12, 14, 15). Analiza ta w przypadku badań lepkości krwi daje możliwość oszacowania zdolności erytrocytów do agregacji i deformacji w sposób pośredni.

## Badania hemoreologiczne w SM

Zaburzenia ukrwienia obwodowego o podłożu hemoreologicznym są stosunkowo mało poznane u chorych na stwardnienie rozsiane. W jednych pracach pojawiają się doniesienia o zaobserwowanych zmianach, podczas gdy w innych zaprzecza się tym doniesieniom. Takim przykładem może być praca włoskich badaczy Brunetti i wsp. (1), którzy donoszą o wzroście sztywności erytrocytów u chorych na stwardnienie rozsiane, podczas gdy badacze z Londynu Pollock i wsp. (19) twierdzą, że powtórzyli te badania i nie stwierdzili znaczących różnic w deformacji erytrocytów u chorych na stwardnienie rozsiane w stosunku do grupy kontrolnej. Z kolei Simpson i wsp. (29) zaobserwowali, że u chorych na stwardnienie rozsiane stopień filtracji erytrocytów był znacząco mniejszy niż w grupie kontrolnej.

O wzroście lepkości krwi u chorych na stwardnienie rozsiane donosił już w 1958 roku Proewig (21), a zostało to także potwierdzone przez innych autorów (8, 29). Simpson i wsp. zaobserwowali wzrost lepkości krwi u chorych na stwardnienie rozsiane zróżnicowany w zależności od płci pacjentów (29). U kobiet obserwowano znacząco wyższe wartości lepkości krwi w stosunku do grupy kontrolnej przy prędkości ścinania: 1 $s^{-1}$, 10 $s^{-1}$ i 100 $s^{-1}$, natomiast u mężczyzn lepkość krwi była statystycznie wyższa tylko przy jednej prędkości ścinania: 1 $s^{-1}$ (29). Karlow i wsp. (8) w swojej pracy sugerowali zmianę własności reologicznych krwi u chorych na stwardnienie rozsiane poprzez wykorzystanie do terapii plasmaferezy i innych metod leczenia. Wzrost lepkości krwi może być pochodną wzrostu lepkości osocza (13, 24). Lepkość osocza uwarunkowana jest obecnością białek wysokocząsteczkowych takich jak fibrynogen, $\alpha_2$-makroglobulina, immunoglobuliny czy lipoproteiny (13, 11). Organizm ludzki reguluje te zaburzenia reologiczne poprzez wpływ na syntezę różnych białek oraz erytropoetyny (EPO). Wykazano odwrotną zależność między lepkością osocza a EPO (30).

Scott Blair i Matchett w 1972 roku badali lepkość krwi z wykorzystaniem reometru kapilarnego (28). Wykazali oni, że u chorych na stwardnienie rozsiane wzrasta przyczepność płytek krwi. Wzrost przyczepności płytek krwi wykazał też w swoich badaniach Thompson (32). Prowadząc badania biochemiczne związane z poszukiwaniem etiologii rozwoju stwardnienia rozsianego stwierdził, że u chorych na stwardnienie rozsiane zmniejsza się zawartość soli kwasu linolowego w osoczu, co zwiększa przyczepność płytek krwi. W swojej pracy (32) nie odpowiedział na postawione sobie pytanie: jakie

są przyczyny spadku stężenia tej soli kwasu linolowego. Thompson zastanawiał się nad etiologią stwardnienia rozsianego i postawił hipotezę, że może to być czynnik wrodzony, który w połączeniu z czynnikiem środowiskowym albo żywieniowym powoduje spadek soli kwasu linolowego, co obserwuje się u chorych na stwardnienie rozsiane (32).

Hon i wsp. zajmowali się badaniami płynności błony komórkowej erytrocytów (6). W swojej pracy stwierdzili, że istnieje zależność pomiędzy płynnością błony a składem kwasów tłuszczowych, fosfolipidów i cholesterolu i że jest to powiązane z rzutami choroby. Zasugerowali, że skład lipidowy błony czerwonych krwinek u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym, a w konsekwencji płynność tej błony jest zmieniony, co wydaje się być wynikiem stanu zapalnego związanego z chorobą (6). Badaniami związanymi z morfologią erytrocytów zajmowali się Simpson i wsp. (29). W swojej pracy donoszą, że u chorych na stwardnienie rozsiane poziom sfingomieliny w błonie komórkowej erytrocytów jest niższy niż w grupie kontrolnej.

Badacze rosyjscy Ierusalimskij i wsp. (7) w swoich badaniach reologicznych wykryli trzy maksima lepkości krwi w zakresie temperatur fizjologicznych: przy 35°C, pomiędzy 37-38°C i przy 40°C, co powiązali z termotropicznymi przejściami fazowymi w błonach czerwonych krwinek (7). Badacze ci sugerowali również, że krzywe zależności lepkości od temperatury u chorych ze stwardnieniem rozsianym są na tyle charakterystyczne, że mogą być użyte jako test laboratoryjny (7). Z kolei Predtechenskaja A.V. i Ierusalimskij A.P. (20) przedstawili swoje badania z wykorzystaniem kapilarnego wiskozymetru. Zaobserwowali oni, że przy dwóch zakresach temperatur: 35°C i 40°C obserwuje się zmiany aktywności enzymów błonowych i zmiany lepkości krwi u chorych na stwardnienie rozsiane. W swojej pracy donoszą, że w tych temperaturach zachodzą również zmiany strukturalne w błonie erytrocytów u chorych na stwardnienie rozsiane i nie jest to obserwowane w grupie kontrolnej (20).

Wydaje się, że dokładne poznanie własności reologicznych krwi u chorych na stwardnienie rozsiane może mieć także znaczenie terapeutyczne.

## Piśmiennictwo:


1. *Brunetti A., Ricchieri G.L., Patrassi G. M., Girolami A., Tavolato B.:* Rheological and fibrinolytic findings in multiple sclerosis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 1981, 44, 340-343
2. *Chien S.:* Shear dependence of effective cell volume as a determinant of blood viscosity. Science 1970, 168, 977-979
3. *Chmiel H.:* Determination of blood rheological parameters and clinical application. Adv. Cardiovasc. Phys. 1979, 3, 1-44
4. *Dintenfass L.:* Clinical Applications of blood viscosity factors and functions: Especially in the cardiovascular discorders. Biorheology 1979, 16, 69-84
5. *Hardeman M.R., Goedhart P.T., Dobbe J.G.G., Lettinga K.P.:* Laser assisted Optical Rotational Cell Analyser. (L.O.R.C.A.) A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. Clin. Hemorheol. 1994, 14(4), 605-618
6. *Hon G.M., Hassan M.S., Rensburg S.J., Abel S., Jaarsveld P., Erasmus R.T., Matsha T.:* Red blood cell membrane fluidity in the etiology of multiple sclerosis. J. Membrane Biol. 2009, 232, 25-34
7. *Ierusalimskij A.P., Kunitsyn V.G., Nekrasova M.F., Predtechenskaja A.V., Chetvetakova T.N.:* A rheological method of diagnosis of multiple sclerosis, Lab Delo. 1989, 10, 39-41
8. *Karlov V.A., Savin A.A., Smertina L.P., Redchits E.G., Seleznev A.N., Svetajlo L., Margosiuk N.V., Stulin I.D.:* Changes in rheological properties of blood in multiple sclerosis and their correction. Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova 1990, 90(11), 47-50
9. *Kowal P., Marcinkowska-Gapińska A.:* Hemorheological changes dependent on the time from the onset of ischemic stroke. J. Neurol. Sci. 2007, 258,132-136
10. *Kowal P., Marcinkowska-Gapińska A.:* Wstępna analiza porównawcza własności hemoreologicznych w grupie chorych na stwardnienie rozsiane i chorych z ostrym niedokrwieniem mózgu. Neuroskop 2006, 8, 137-139
11. *Kowal P.:* Arterial hypertension decreases fibrynogen molecules contribution to the inter-red cells connections in stroke patients. Clin Hemorheol Microcir. 1999, 21, 321-324
12. *Lerche D., Bäumler H., Kucera W., Meier W., Paulitschke M.:* Flow properties of blood and hemoreological methods of quantification. w: Physical Characterization of Biological cells. Basic research and clinic relevance. Red. W. Scütt, H. Klinkmann, I. Lamprecht, T. Wilson, Verlag Gesundheit GmbH Berlin 1991, 189-214
13. *Lerche D., Koch B., Vlastos G.:* Flow behaviour of blood. Rheology 1993, 93, 105-112
14. *Marcinkowska-Gapińska A. Gapiński J., Elikowski W., Jaroszyk F., Kubisz L.:* Comparision of three rheologiccal models of shear flow behavior studied on blood samples from post-infarction patients. Med. Biol. Eng. Comp. 2007, 45, 837-844
15. *Marcinkowska-Gapińska A., Kowal P.:* Comparative analisis of chosen hemorheological methods in a group of stroke patients. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009, 41, 27-33
16. *Marcinkowska-Gapińska A., Kowal P.:* Podstawy i znaczenie hemoreologii (Principles and importance of hemorheology). Neuroskop 2005, 7, 176-182
17. *Muravyov A.V., Yakusevich V.V., Surovaya L., Petrochenko A.:* The effect of simvastatin therapy on hemorheological profile in coronary hart disease (CHD) patients. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004, 31(4), 251-256
18. *Musielak M.:* Red blood cell-deformability measurement: review of techniques. Clin Hemorheol Microcirc. 2009, 42(1), 47-64
19. *Pollock S., Harrison M.J., O'Connell G.:* Erythrocyte deformability in multiple sclerosis, J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 1982, 45, 762
20. *Predtechenskaja A.V. i Ierusalimskij A.P.:* Functional activity of cell membranes in multiple sclerosis. Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova 1991, 91(10), 14-17
21. *Proewig F.:* Eine neue theorie zur Ursache der Multiplen Sklerse. Med Monatsschr. 1958, 12, 732-734
22. *Quemada D.:* A rheological model for studying the hematocrit dependence of red cell - red cell and red cell - and red cell - protein interactions in blood. Biorheology 1981, 18, 501-516
23. *Quemada D.:* Blood rheology and its implication in flow of blood. w: Arteries and arterial blood flow. Red. C.M. Rodkiewicz, Springer Verlag, Vien-New York 1983, 1-127

24. *Reinhart W.H.:* Molecular biology and self-regulatory mechanisms of blood viscosity: A review. Biorheology 2000, 38, 203-212
25. *Sandhagen B.:* Assesment of blood rheology. Methodology and studies in healthy individuals, in patients with certain diseases and during liquid blood preservation. Acta Universitatis Upsaliensis, Uppsala 1988
26. *Schmid-Schönbein H., D.M., Rieger H., Fischer T.:* Blood fluidity as a consequence of red cell fluidity: flow properties of blood and flow behavior of blood in vascular diseases. Angiology 1980, 31, 301-319
27. *Schneditz D., Rainer F., Kenner T.:* Viscoelastic properties of whole blood. Influence of fast sedimenting red blood cell aggregates. Biorheology 1987, 24, 13-22
28. *Scott Blair G.W., Matchett R.H.:* Blood viscosity in multiple sclerosis. J.Neurol. Neurosurg. Psychiatry 1972, 35, 730-731
29. *Simpson L.O., Shand B.I., Olds R.J., Larking P.W., Arnott M.J.:* Red cell and hemorheological changes in multiple sclerosis. Pathology 1987, 19(1), 51-55
30. *Singh A., Eckardt K.V., Zimmermann A., Gotz K.H., Hamann M., Ratcliffe P.J., Kurtz A., Reinhart W.H.:* Increased plasma viscosity as a reason for inappropriate erythropoietin formation. J. Clin. Incest. 1993, 91, 251-256
31. *Sułek K.:* Kontrola lepkości krwi - rzeczywistość i nadzieje. Pol. Arch. Med. Wewn. 1984, 71, 207-214.
32. *Thompson R.H.:* A biochemical approach to the problem of multiple sclerosis. Proc. R. Soc. Med. 1966, 59 (3), 269-276
33. *Thurston G.B.:* Viscoelasticity of human blood. Biophysical J. 1972, 12, 1205-1217
34. *Zamboni P., Galeotti R., Menegatti E., Malagoni A.M., Tacconi G., Dall'Ara S., Bartolomei I., Salvi F.:* Cronic cerebrospinal venus insufficiency in patients with multiple sclerosis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 2009, 80, 392-399

**Adres do korespondencji:**
Pracownia Reologiczna Katedry Neurologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Badania hemoreologiczne w wybranych chorobach neurologicznych

## Hemorheological studies in chosen neurological diseases

Piotr Kowal, Izabela Niśkiewicz, Anna Marcinkowska-Gapińska

*z Pracowni Reologicznej Katedry Neurologii*
*UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik Pracowni Reologicznej: prof. dr hab. med. Piotr Kowal*
*kierownik Katedry Neurologii: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

**Streszczenie**

W niniejszej pracy analizowano wyniki pomiarów lepkości krwi w grupie chorych w ostrej fazie udaru mózgu (25 osób), po przebytym udarze mózgu (30 osób), chorych na SM (5 osób) oraz na chorobę Alzheimera (18 osób) i z otępieniem naczyniopochodnym (17 osób) oraz grupy kontrolnej (20 osób). Badanie lepkości krwi i osocza przeprowadzono z wykorzystaniem oscylacyjno-rotacyjnego reometru Contraves LS-40. Analizę skłonności erytrocytów do agregacji i deformacji przeprowadzono z wykorzystaniem reologicznego modelu Quemady. Na podstawie badań zaobserwowano podwyższoną lepkość osocza w grupie chorych z wyjątkiem grupy chorych na otępienie, w stosunku do grupy kontrolnej ($p<0,001$), większą skłonność erytrocytów do deformacji w grupie chorych po przebytym udarze niedokrwiennym w stosunku do ostrego stanu ($p<0,001$), podwyższoną wartość hematokrytu w grupie chorych na SM w stosunku do pozostałych grup ($p<0,005$) przy równoczesnej obniżonej skłonności erytrocytów do agregacji w tej grupie chorych ($p<0,03$), stwierdzono także, że w grupie chorych w ostrej fazie udaru lepkość krwi i skłonność erytrocytów do agregacji jest podwyższona, a odkształcalność krwinek czerwonych śledzona. W grupie chorych po odległym epizodzie niedokrwiennym nie stwierdzono podwyższonej lepkości krwi pomimo podwyższonej lepkości osocza, przy jednoczesnej poprawie elastyczności krwinek czerwonych. W grupie chorych z SM stwierdzono podwyższoną wartość hematokrytu i zwiększoną skłonność erytrocytów do agregacji. Przeprowadzone badania wskazują na rolę czynnika naczyniowego w różnych chorobach układu nerwowego.

**Summary**

In this study we present analysis of blood viscosity measurements performed in a control group (20 persons) and in several groups of patients: in acute phase of cerebral stroke (25 patients), after cerebral stroke (30), suffering from multiple sclerosis (5), from Alzheimer disease (18), and from vascular dementia (17). Blood and blood plasma viscosity measurements were performed by means of a rotary-oscillating rheometer Contraves LS-40. Analysis of erythrocytes aggregability and deformability was performed with the use of rheological model of Quemada. On the basis of obtained results the following differences have been found among the studied groups: in all groups of patients except those suffering from vascular dementia plasma viscosity values were higher compared to the control group ($p < 0.001$), higher erythrocytes deformability in the group of patients after stroke compared to those in the acute state ($p < 0.001$), elevated hematocrit value ($p < 0.005$) and reduced erythrocytes aggregability ($p < 0.03$) in the group with multiple sclerosis with respect to all other groups. It has also been found that whole blood viscosity and erythrocytes aggregability was elevated while their deformability was diminished in the group of patients in the acute state of stroke compared to all other groups. In the group of patients after stroke no signs of elevated whole blood viscosity were found despite increased plasma viscosity. Also the red cells elasticity was improved in that group. In the group of patients with multiple Sclerosis elevated hematocrit value and erythrocytes aggregability were found. These results point to the role of a vascular factor in different diseases of nervous system.

**Słowa kluczowe:** lepkość krwi, hemoreologia, udar niedokrwienny, otępienie naczyniopochodne, choroba Alzheimera, stwardnienie rozsiane

**Key word:** blood viscosity, hemorheology, ischemic stroke, vascular dementia, Alzheimer disease, multiple sclerosis

## Wstęp

Hemoreologia zajmuje się badaniem zjawisk związanych z przepływem krwi. Jako główne czynniki hemoreologiczne wymienia się: hematokryt, lepkość krwi pełnej, lepkość osocza, zdolność erytrocytów do agregacji, deformacji i orientacji. Zaburzenia ukrwienia obwodowego oraz zmiany własności hemoreologicznych krwi obserwuje się w przypadku bardzo wielu chorób (1, 7, 14). Obserwowane zmiany zaburzeń ukrwienia obwodowego i zmiany własności fizykochemicznych krwi dotyczą takich chorób jak choroba wieńcowa, nadciśnienie, zawał mięśnia sercowego czy udar mózgu, ale także cukrzycy, zespołu nerczycowego czy czerwienicy (1, 7, 14). Właściwości reologiczne krwi zmieniają się wraz ze zmianą warunków przepływu krwi, ale zależą również od właściwości fizykochemicznych samej krwi. Krew jako ciecz reologiczna stanowi zawiesinę erytrocytów w osoczu, jest cieczą o złożonych właściwościach reologicznych, wynikających zarówno z właściwości erytrocytów jak i osocza.

Badania hemoreologiczne obejmują ocenę lepkości krwi pełnej, lepkości osocza oraz zdolności erytrocytów do agregacji i deformacji (7, 14). Lepkość krwi pełnej zmienia się ze zmianą prędkości ścinania, natomiast lepkość osocza jest zależnością prostoliniową (7, 14). Celem niniejszej pracy była analiza wartości lepkości krwi pełnej i osocza w wybranych chorobach neurologicznych. Badania hemoreologiczne prowadzono u chorych z udarem niedokrwiennym w ostrej i odległej fazie, u chorych z chorobą Alzheimera i otępieniem naczyniopochodnym, a także u chorych na stwardnienie rozsiane. W pracy przedstawiono wyniki badań lepkości krwi pełnej i osocza dla pięciu grup chorych i przedstawiono analizę wyników pomiędzy grupami jak również w odniesieniu do grupy kontrolnej. W pracy przeprowadzono także analizę z wykorzystaniem matematycznego modelu reologicznego Quemady w celu określenia skłonności erytrocytów do agregacji i deformacji w badanych grupach (8, 12, 13).

## Materiał i metodyka

Badania i analiza wartości parametrów hemoreologicznych objęły łącznie grupę 115 chorych. Grupę chorych po przebytym udarze niedokrwiennym stanowiło 25 chorych w ostrej fazie choroby (sześć godzin od momentu wystąpienia objawów) i 30 w odległej (kilka miesięcy od wystąpienia objawów). Średnia wieku w tej grupie badanej wynosiła 68 lat dla grupy w ostrej fazie i 56 lat dla grupy w odległej fazie. Grupę chorych z chorobą Alzheimera stanowiło 18 osób o średniej wieku 68 lat. Średnia wieku w grupie chorych z otępieniem naczyniopochodnym wynosiła 68 lat i grupa ta liczyła 17 chorych. Badania własności hemoreologicznych u chorych ze stwardnieniem rozsianym objęły grupę 5 osób o średniej wieku 31 lat. Grupę kontrolną stanowiła grupa 20 pacjentów bez stwierdzonych chorób naczyniowych o średniej wieku 67 lat. Pacjentom jednorazowo pobierano krew do badań hemoreologicznych. Krew pobierana była na środek przeciwkrzepliwy EDTA. Lepkość krwi pełnej i osocza wyznaczano z wykorzystaniem oscylacyjno-rotacyjnego reometru Contraves LS40 w temperaturze 37°C, przy malejącej prędkości ścinania w zakresie 100 - 0,01 $s^{-1}$ w czasie 5 minut (9, 10). Lepkość osocza wyznaczono metodą regresji liniowej z zależności naprężenia ścinającego od prędkości ścinania. Dla każdej badanej próbki krwi wyznaczono wartość hematokrytu metodą standardową. Analizy skłonności erytrocytów do agregacji i deformacji dokonano w sposób pośredni wykorzystując matematyczny model reologiczny Quemady (rów. 1 i 2) porównując wartości liczbowe parametrów modelu: $k_0$, $k_\infty$ oraz $\gamma'_c$. Wielkości $k_\infty$ i $k_0$ we wzorze Quemady (1) mają sens miary sztywności krwinek i stopnia agregacji, a wielkość $k_Q$ ma sens tzw. lepkości wewnętrznej erytrocytu i poprzez zależność $k_Q(\gamma')$ w równaniu reologicznym (2) Quemady uwzględnia zmienność kształtu erytrocytów. Wielkości $\tau(\gamma')$, $\eta_p$ oraz Hct oznaczają odpowiednio naprężenie ścinające, lepkość osocza i hematokryt (8).

$$k_Q = \frac{k_0 + k_\infty \left(\gamma'/\gamma'_c\right)^{1/2}}{1 + \left(\gamma'/\gamma'_c\right)^{1/2}} \qquad (1)$$

$$\tau(\gamma') = \eta_p \left[1 - \frac{1}{2} k_Q \cdot Hct\right]^{-2} \cdot \gamma' \qquad (2)$$

## Wyniki

Wyniki pomiarów wartości lepkości krwi pełnej ($\eta$) dla czterech wybranych prędkości ścinania ($\gamma'$) oraz wynik lepkości osocza ($\eta_p$) dla badanych grup pacjentów i grupy kontrolnej przedstawiono w tabeli 1. Dla każdej pobranej próbki krwi przeprowadzono pomiar wartości hematokrytu (tab. 1). Wartość ta mieściła się przedziale od 42,6% dla grupy chorych z chorobą Alzheimera do 50,0% dla grupy chorych z chorobą SM.

Wartość naprężenia ścinającego ($\tau$) dla trzech wybranych prędkości ścinania ($\gamma'$) w grupie kontrolnej i w grupie chorych z udarem w ostrej i przewlekłej fazie przedstawiono w tab. 1.

Wartości parametrów reologicznego modelu Quemady: $k_0$, $k_\infty$ oraz $\gamma'c$ obliczone na podstawie pomiarów rotacyjnych dla badanych grup i grupy kontrolnej przedstawiono w tab. 1.

W grupie chorych z odległym epizodem niedokrwiennym, chorych z chorobą Alzheimera i z chorobą otępienną naczyniopochodną oraz w grupie kontrolnej oznaczono poziom fibrynogenu, a wyniki przedstawiono w tab. 1.

## Omówienie wyników

Badania hemoreologiczne mają na celu określenie warunków przepływu krwi i wyjaśnienie zjawisk, jakie towarzyszą temu przepływowi. W zakresie niskich prędkości ścinania procesem dominującym jest agregacja erytrocytów, a w zakresie wysokich prędkości ścinania deformacja (1, 7, 11). Wyjaśnienie mechanizmów regulujących przebieg tych procesów w żywych organizmach może mieć istotny wpływ na zrozumienie przyczyn chorób naczyniowych i ich terapię. Wiele danych wskazuje na duże znaczenie badań własności hemoreologicznych w przebiegu chorób naczyniowych, w tym chorób związanych z krążeniem mózgowym (2, 5, 6).

W niniejszej pracy analizowano wyniki badań własności reologicznych krwi u pacjentów z wybranymi chorobami neurologicznymi. Analiza dotyczyła wartości lepkości krwi pełnej, lepkości osocza oraz wartości parametrów modelu reologicznego Quemady odpowiadających skłonności erytrocytów do agregacji i deformacji. Wybrane choroby neurologiczne to: niedokrwienny udar mózgu w ostrej i przewlekłej fazie choroby, choroba Alzheimera, choroby otępienne i choroba SM.

Dla każdej próbki krwi w poszczególnych grupach chorych wyznaczano wartość hematokrytu. Po analizie przedstawionych w tab. 1 danych dotyczących wartości średniej hematokrytu w wybranych grupach chorobowych nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych z wyjątkiem grupy chorych na stwardnienie rozsiane. Brak różnic statystycznie istotnych jest bardzo ważnym stwierdzeniem z punktu analizy różnic w wartości pozostałych parametrów hemoreologicznych. Hematokryt jest jednym z czynników wpływających na własności hemoreolgiczne i ważne jest, aby w badaniach wyeliminować ten czynnik jako potencjalny powód obserwowanych różnic (7, 13).

W grupie chorych z epizodem niedokrwiennym stwierdzono różnicę w zależności od czasu wystąpienia udaru. W odległej fazie epizodu niedokrwiennego stwierdzono lepszą niż w grupie kontrolnej i ostrej fazie udaru odkształcalność erytrocytów. Lepkość osocza w obu grupach z epizodem niedokrwiennym była wyższa niż w przypadku grupy kontrolnej. Na podstawie wyników przedstawionych w tab. 1 stwierdzono także wyższe wartości lepkości krwi pełnej w grupie w ostrej fazie niedokrwiennej mózgu w porównaniu do grupy w odległej fazie udaru. U pacjentów po przebytym epizodzie niedokrwienia mózgu (w przypadku prowadzenia badań kilka miesięcy od wystąpienia objawów udaru niedokrwiennego) nie obserwowano podwyższonej lepkości krwi pomimo podwyższonej lepkości osocza, co jest wynikiem poprawy elastyczności krwinek czerwonych (4).

Analiza wyników w grupie chorych na SM w odniesieniu do pozostałych badanych grup wykazała dwie różnice statystycznie istotne. Pierwsza różnica dotyczyła wartości hematokrytu, która była znacząco wyższa w tej grupie badanej, oraz niższą wartość parametru modelu Quemady interpretowanego jako skłonność erytrocytów do agregacji. W porównaniu z pozostałymi grupami liczebność tej grupy chorych była niska, a otrzymane wyniki wskazują na potrzebę dokładniejszej analizy wartości hemoreologicznych u tych chorych.

Analizując wartości wybranych parametrów hemorelogicznych w grupie chorych z chorobą Alzheimera i otępieniem naczyniopochodnym nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych pomiędzy tymi dwiema grupami jak i w odniesieniu do pozostałych badanych grup. Na podstawie analizy wartości parametru istotności różnic można wskazać tylko tendencję do wzrostu lepkości osocza w grupie z otępieniem naczyniopochodnym w odniesieniu do grupy z chorobą Alzheimera. Należy zauważyć też, że w przypadku obu grup obserwowano podwyższone stężenie fibrynogenu w stosunku do pozostałych grup, jednak ze względu na duże rozrzuty wartości u poszczególnych pacjentów, różnica ta nie była statystycznie istotna. W przypadku grupy z otępieniem naczyniopochodnym stwierdzono na poziomie istotności $p<0,06$ podwyższoną wartość lepkości osocza w stosunku do grupy z chorobą Alzheimera.

Podsumowując należy zauważyć, że zaobserwowano różnice w wartości parametrów hemoreologicznych w wybranych chorobach neurologicznych. Wykorzystanie badań hemoreologicznych w diagnostyce chorób neurologicznych może przyczynić się do lepszej diagnozy tych schorzeń i może być pomocne w dalszej terapii (3).

## Wnioski

Na podstawie przeprowadzonej w pracy analizy wyników przedstawionych badań stwierdzono, że:

- w grupie chorych z ostrym epizodem niedokrwiennym mózgu obserwuje się podwyższoną lepkość osocza i większą skłonność erytrocytów do agregacji;
- wyniki badań w grupie chorych po przebytym udarze mózgu wskazują na tendencję do wykształcania się u tej grupy chorych mechanizmów sprzężenia zwrotnego, prowadzącego do obniżenia lepkości krwi;
- w grupie chorych na SM zaobserwowano znamiennie niższą wartość parametru związanego z agregacją erytrocytów, przy równoczesnym wyższym wskaźniku hematokrytu, ze względu na liczebność grupy badania te należałoby kontynuować;

**Tabla 1.** Wartości hemoreologiczne w badanych grupach pacjentów.

| | Grupa | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Parametr Hemoreologiczny | Ostra faza udaru mózgu (n = 25) | | Grupa kontrolna (n = 20) | | Odległa faza udaru mózgu (n = 30) | SM (n = 5) | Choroba Alzheimera (n = 18) | Otępienienie naczyniopochodne (n = 17) |
| Hematokryt | 43,2 ± 0,8 | - | 44,0 ± 0,9 | - | 43,2 ± 0,7 | 50,0 ± 0,8a | 42,6 ± 0,5 | 42,7 ± 0,6 |
| Naprężenie ścinające przy 100 $s^{-1}$ | 0,496 ± 0,014*** | 1p < 0,016 | 0.449 ± 0.01 | - | 0,452 ± 0,01 | - | - | - |
| Naprężenie ścinające przy 6 $s^{-1}$ | 0,0579 ± 0,003 | p < 0,016 | 0.049 ± 0.002 | - | 0,052 ± 0,002 | - | - | - |
| Naprężenie ścinające przy 0,1 $s^{-1}$ | 0,0033 ± 0,0004 | - | 0.0034 ± 0.0002 | - | 0,0038 ± 0,0002 | - | - | - |
| Lepkość osocza | 1,49 ± 0,03 | p < 0,001 | 1,284 ± 0,013 | p < 0,001 | 1,45 ± 0,03 | 1,42 ± 0,05 | 1,36 ± 0,08 | 1,40 ± 0,1 |
| Wzgl. lepkość krwi przy 0,1 $s^{-1}$ | 34,9 ± 4,2** | - | 28.0 ± 1.7 | p < 0,002 | 21 ± 2 | 29,5 ± 2,1 | 22,65 ± 9,2 | 17,7 ± 7,3 |
| Wzgl. lepkość krwi przy 1 $s^{-1}$ | 18,5 ± 1,2* | p < 0,0003 | 12.5 ± 0.6 | - | 11,3 ± 0,6 | 11,48 ± 0,8 | 13,1 ± 2,8 | 12,3 ± 3,8 |
| Wzgl. lepkość krwi przy 10 $s^{-1}$ | 8,44 ± 0,37* | p < 0,0001 | 5.76 ± 0.2 | p < 0,03 | 5,1 ± 0,2 | 5,82 ± 0,2 | 5,7 ± 1,0 | 5,5 ± 3,8 |
| Wzgl. lepkość krwi przy 100 $s^{-1}$ | 4,96 ± 0,14* | p < 0,0001 | 3.50 ± 0.07 | p < 0,005 | 3,1 ± 0,1 | 3,95 ± 0,09 | 3,2 ± 0,3 | 3,2 ± 0,5 |
| paramater modelu Quemady $k_0$ | 4,08 ± 0,07 | - | 4,04 ± 0,08 | - | 4,00 ± 0,06 | 3,62 ± 0,15b | 4,10 ± 0,52 | 4,05 ± 0,50 |
| paramater modelu Quemady $k_\infty$ | 1,75 ± 0,16 | - | 1,78 ± 0,05 | p < 0,001 | 1.51 ± 0,05 | 1,61 ± 0,12 | 1,49 ± 0,32 | 1,48 ± 0,24 |
| paramater modelu Quemady γ'c | 7,33 ± 0,78 | p < 0,009 | 4,3 ± 0,7 | p < 0,02 | 8,51 ± 1,3 | 4,70 ± 1,82 | 11,05 ± 9,02 | 10,80 ± 8,85 |
| fibrynogen (mg/dl) | - | - | 366 ± 20 | - | 342 ± 21 | - | 441 ± 46 | 419 ± 31 |

znamienność statystyczna pomiędzy ostrą i odległą fazą udaru: * p < 0,0001; ** p < 0,004; *** p < 0,01
znamienność statystyczna pomiędzy grupą chorych na SM a pozostałymi grupami: a p< 0,005; b p < 0.03

- w grupie chorych z otępieniem naczyniopochodnym zaobserwowano tendencję do wzrostu lepkości osocza, przy równoczesnym spadku poziomu fibrynogenu w stosunku do grupy z chorobą Alzheimera.

## Piśmiennictwo


1. *Chmiel H.:* Determination of blood rheological parameters and clinical application, Adv. Cardiovasc. Phys. 1979, 3, 1-44
2. *Kowal P.:* Czynniki wpływające na przepływ mózgowy i ich rola w powstawaniu zaburzeń krążenia mózgowego. Neur. Neurochir. Pol. 1990, 24(5-6), 323-330.
3. *Kowal P., Marcinkowska-Gapińska A.:* Wykorzystanie badań hemoreologicznych w neurologii (Application of reological studies of blood in neurology). Neuroskop 2005, 7, 149-152
4. *Kowal P., Marcinkowska-Gapińska A.:* Hemorheological changes dependent on the time from the onset of ischemic stroke. J Neurol. Sci. 2007, 258, 132-136
5. *Kowal P.:* Właściwości hemoreologiczne u chorych z niedokrwiennym udarem mózgu w wybranych grupach chorych. Pol. Tyg. Lek. 1992, 14-15, 308-309.
6. *Kowal P.:* Zaburzenia własności fizycznych krwi w niedokrwiennym udarze mózgu. Neur. Neurochir. Pol. 1993, 27(5), 663-670
7. *Lerche D., Bäumler H., Kucera W., Meier W. i wsp.:* Flow properties of blood and hemoreological methods of quantification. w: Physical Characterization of Biological cells. Basic research and clinic relevance. Ed. W. Scütt, H. Klinkmann, I. Lamprecht, T. Wilson, Verlag Gesundheit GmbH Berlin 1991, 189-214
8. *Marcinkowska-Gapińska A., Gapiński J., Elikowski W., Jaroszyk F., Kubisz L.:* Comparison of three rheological models of shear flow behavior studied on blood samples from post-infarction patients. Med. Biol. Eng. Comput. 2007, 45(9), 837-844
9. *Marcinkowska-Gapińska A., Jaroszyk F., Elikowski W., Kubisz L.:* The effect of acetylsalicylic acid and acenocoumarin on rheological properties of blood studied on patients after myocardial infarction. Curr. Topics Biophys. 2004, 28(1), 4-8
10. *Marcinkowska-Gapińska A., Jaroszyk F., Górski Sz.:* Applicaton of Quemada rheological equation to analysis of blood flow curves in certain cases Part I. Pol. J. Med. Phys. Eng. 1998, 1(11), 39-49
11. *Marcinkowska-Gapińska A., Kowal P.:* Podstawy i znaczenie hemoreologii (Principles and importance of hemorheology). Neuroskop 2005, 7, 176-182
12. *Quemada D.:* A rheological model for studying the hematocrit dependence of red cell - red cell and red cell - and red cell - protein interactions in blood. Biorheology 1981, 18, 501-516
13. *Quemada D.:* Blood rheology and its implication in flow of blood, in: Arteries and arterial blood flow. C.M. Rodkiewicz, Springer Verlag, Vien-New York 1983, 1-127
14. *Sandhagen B.:* Assessment of Blood Rheology. Methodology and studies in healthy indiwiduals, in patients with certain diseases and during liquid blood preservation. Acta Uniwersitatis Upsaliensis, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine 138, Uppsala, 1988, 1-52



**Adres do korespondencji:**
Pracownia Reologiczna Katedry Neurologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Tadeusz Markiewicz - poznański neurolog i jego koncepcja choroby Devica

## Tadeusz Markiewicz - the neurologist from Poznań and his concept of Devic disease

Sławomir Michalak[1,2]

[1] *z Zakładu Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*
*kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Sławomir Michalak*
*kierownik Katedry: prof. dr hab. med. Wojciech Kozubski*

[2] *z Zespołu Badawczo-Leczniczego Chorób Neuroimmunologicznych Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie*
*kierownik: prof. dr hab. med. Jacek Losy*

**Streszczenie**

Zapalenie nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego (choroba Devica) jest chorobą autoimmunologiczną układu nerwowego, której odrębność patofizjologiczna została poznana w ostatnich latach. Od końca XIX wieku prowadzono dyskusję nad jej naturą, w której część badaczy opowiadała się za chorobą Devica jako jednostką chorobową, a część - zespołem objawowym. W dyskusji tej w 1936 roku zabrał głos poznański neurolog i neuropatolog - Tadeusz Markiewicz. Przeprowadzona szczegółowa analiza kliniczo-neuropatologiczna przypadków zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego podkreśla umiejętności Tadeusza Markiewicza jako badacza.

**Symmary**

Neuromyelitis optica (NMO, Devic disease) is an autoimmune disorder of the nervous system recognized recently as an pathophysiological entity. Since last decade of 19th century the neurological community was separated into two groups: the researchers claiming NMO as an entire disease, and the other group understanding it as a syndrome. Tadeusz Markiewicz, a neurologist and neuropathologist from Poznań, participated in 1936 in this discussion. The careful clinico-neuropathological analysis of NMO cases he published emphasizes the skills of Tadeusz Markiewicz as a researcher.

**Słowa kluczowe:** zapalenie nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego, choroba Devica, Tadeusz Markiewicz

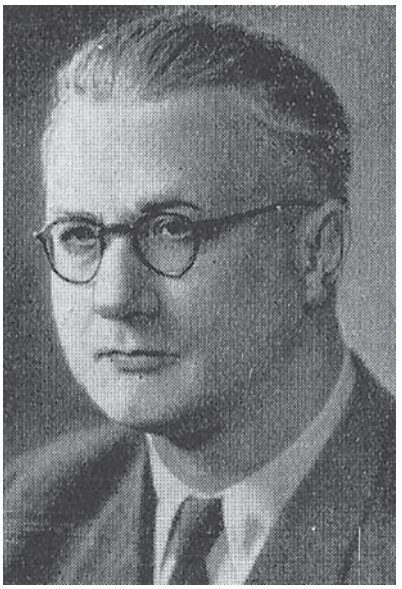
**Key words:** neuromyelitis optica, Devic disease, Tadeusz Markiewicz

Poglądy dotyczące zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego (ang. *neuromyelitis optica*, NMO) ewoluowały od czasu opisania choroby przez francuskiego lekarza Eugéne Devica (1858-1930) do czasów współczesnych.

Podczas pierwszego kongresu internistów, który odbył się w 1894 roku w Lyonie Eugéne Devic przedstawił kliniczno-patologiczną analizę przypadku zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego i wspomniał o 16 chorych opisanych w Europie i Stanach Zjednoczonych (3, 4). Materiał obejmujący owych 17 przypadków przeanalizował szczegółowo Fernand Gault w swojej rozprawie doktorskiej zatytułowanej „De la neuromyélite optique aiguë" (6). Zapalenie nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego nazwano chorobą Devica w 1907 roku, a twórcą tego eponimu był Peppo Acchiote (1). Jednakże źródła (8) sugerują, że pierwszym autorem opisu choroby był angielski lekarz Sir Thomas Clifford Allbutt (1836-1925), który w 1870 roku opisał przypadek chorego z zapaleniem rdzenia kręgowego. Rozpoznał on wówczas „sympathetic disorder of the eye" (2). Kolejnymi powszechnie znanymi przełomowymi faktami w poznaniu patofizjologii choroby Devica było wykrycie przez Vandę Lennon w 2004 roku przeciwciał anty-NMO (9), a w rok później zdefiniowanie akwaporyny 4 jako antygenu, przeciw któremu są one skierowane (10). Na tej podstawie zrewidowano w 2006 roku opublikowane wcześniej

przez Wingerchuka (14) kryteria rozpoznania NMO (15). Tak oto powstała akceptowana współcześnie hipoteza choroby Devica jako odrębnej jednostki chorobowej o swoistym patomechanizmie związanym z przeciwciałami przeciw akwaporynie 4, których oznaczanie jest istotnym elementem diagnostyki.

W historii rozwoju koncepcji dotyczących patofizjologii choroby Devica godnym podkreślenia jest udział Tadeusza Markiewicza, kierownika poznańskiej Kliniki Neurologii we wczesnym okresie po II wojnie światowej.



***Rycina 1.*** *Tadeusz Markiewicz (1905-1950).*

Tadeusz Markiewicz urodził się 10 lipca 1905 roku w Poznaniu. Po ukończeniu w 1923 roku nauki w Gimnazjum im. Marii Magdaleny, podjął studia na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Poznańskiego. Już podczas studiów, od 1926 roku pracował w poznańskiej Klinice Neurologii kierowanej wówczas przez profesora Stefana Borowieckiego, która od 1 października 1925 roku mieściła się w budynku byłych koszar przy ulicy Północnej 10 (obecnie ten odcinek ul. Północnej nazwany jest Gen.Tadeusza Kutrzeby). Tadeusz Markiewicz po uzyskaniu dyplomu lekarza w dniu 25 czerwca 1929 roku pracował nadal w Klinice Neurologii, a od 1930 roku został starszym asystentem.

W latach 1934 do 1936 podczas pobytu w Pracowni Neuropatologii Instytutu Patologii Mózgu (Hirnpathologische Institut der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie) w Monachium rozwijał swoje doświadczenie neuropatologiczne początkowo pod kierunkiem profesora Walthera Spielmeyera (1879-1935), a po jego śmierci - Wilibalda Scholza (1889-1971), który od 6 lutego 1935 roku kierował Instytutem. Należy zaznaczyć, że wśród uczniów Spielmeyera znalazł się również słynny polski neuropatolog Adam Opalski. Dzięki Fundacji Rockefellera, która wspierała monachijski Instytut Patologii Mózgu i jego pracowników, Tadeusz Markiewicz uzyskał jednoroczne stypendium, które pozwoliło mu na prowadzenie samodzielnych badań. Jednocześnie przedłużony pobyt w Niemczech umożliwił poznańskiemu neurologowi korzystanie z wykładów ówczesnych autorytetów: Oswalda Bumke, Kurta Schneidera i Hugo Spatza.

Po powrocie do Poznania w 1938 roku Tadeusz otrzymał od Kasy im. Mianowskiego stypendium z funduszu im. Babińskiego, które pozwoliło mu na prowadzenie dalszych studiów w Warszawie u Kazimierza Orzechowskiego, twórcy pierwszej polskiej Katedry i Kliniki Neurologii i kierownika Zakładu Neurobiologii Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego. Po wybuchu II wojny światowej Tadeusz Markiewicz wrócił do Poznania, by kierować Kliniką Neurologiczno-Psychiatryczną do czasu jej objęcia przez Niemców (Neurologisch-Psychiatrische Klinik der Reichsuniversität Posen). Profesor Marcin Zieliński kierujący Kliniką Neurologii po śmierci Profesora Borowieckiego został bowiem w końcu sierpnia 1939 powołany do wojska. W czasie okupacji Tadeusz Markiewicz prowadził oddział neurologiczny dla polskich chorych. Po zakończeniu II wojny światowej Tadeusz Markiewicz ponownie objął kierownictwo poznańskiej Kliniki, a w 1947 roku zorganizował Oddział Poznański Polskiego Towarzystwa Neurologicznego. Ostatnie lata życia spędził w Szczecinie, gdzie od sierpnia 1948 roku kierował tamtejszą kliniką neurologiczną, aż do śmierci 13 listopada 1950 roku.

Profesor Eufemiusz Herman tak wspomina Tadeusza Markiewicza w swojej książce „Neurolodzy Polscy":

*„Był człowiekiem zamkniętym w sobie, milczącym i spokojnym, sprawiał wrażenie nieśmiałego i rozważnego. Wydaje się, iż jego zamiłowanie do badań histopatologicznych, wymagających skupienia, uwagi i dokładności, odzwierciedlało jego postawę psychiczną. Takim poznałem go w dniu naszej wspólnej habilitacji na U.W."* (7).

Postać Tadeusza Markiewicza godna jest przypomnienia nie tylko dla jego związków z Poznaniem, ale ze względu na jego koncepcję patofizjologii choroby Devica, która w świetle wyników badań z ostatnich lat zyskała na aktualności.

Jak wspomniano powyżej Tadeusz Markiewicz spędził drugą połowę lat 30-tych XX wieku w Monachium prowadząc badania neuropatologiczne. Z tego okresu pochodzą jego prace poświęcone zmianom neuropatologicznym w mózgu w wyniku napromieniowania rentgenowskiego (ryc. 2) (11), zwyrodnieniu koloidowemu (ryc. 3) (12) oraz zapaleniu nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego (ryc. 4) (13). Ta ostatnia praca, która jak wspomniano powyżej godna jest przypomnienia powstała dzięki uzyskanemu przez Markiewicza stypendium Rockefellera.

(Aus der Universitätsklinik für Nerven- und Geisteskrankheiten in Posen [Direktor: Prof. Dr. *S. Borowiecki*] und aus der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie, Kaiser Wilhelm-Institut, München.)

## Über Spätschädigungen des menschlichen Gehirns durch Röntgenstrahlen.

Von

**T. Markiewicz.**

Mit 12 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 21. Februar 1935.)*

Die Röntgenschädigungen, die nicht nur für die therapeutische Praxis, sondern vor allem für das theoretische Verständnis der Strahlenwirkung auf lebendes Gewebe von großer Bedeutung sind, sind Gegenstand zahlreicher Forschungen und Versuche gewesen. Diese Forschungen gingen von den Hautschädigungen aus, also den verschiedenen akuten oder chronischen Dermatitiden, dem Ulcus und Röntgenkrebs. Besonders waren es die sog. Spätschädigungen, die oft jahrelang nach der Bestrahlung eintreten, die dem Verständnis die größten Schwierigkeiten bereiteten. Das Ergebnis zahlreicher Forschungen kann dahin zusammengefaßt werden, daß beim Zustandekommen der Röntgenschädigungen den Veränderungen der Gefäße eine große Rolle zukommt, deren funktionelle Abweichungen noch durch capillaroskopische Beobachtungen näher bekannt wurden. Ausführliche Literatur darüber ist bei *Flaskamp* zu finden.

***Rycina 2.*** *„O odległych uszkodzeniach mózgu ludzkiego przez promieniowanie rentgenowskie" . Z. f. d. g. Neut. u. Psych. 1935, 156, 548-568.*

(Aus dem Hirnpathologischen Institut der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie (Kaiser Wilhelm-Institut) in München Prof. Dr. *W. Scholz*].)

## Zur Frage der „Koagulationsnekrose" im Zentralnervensystem[1].

Von

**T. Markiewicz,** Posen.

Mit 16 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 6. Februar 1937.)*

Als „Koagulationsnekrose" *(Weigert, Cohnheim)* bezeichnen wir in der allgemeinen Pathologie solche Nekrosen, in denen das tote Gewebe nicht nur sich nicht auflöst und der Verflüssigung anheim fällt, sondern ein Bild einer in seiner Gesamtheit geronnenen Masse darstellt. Solche — am häufigsten und deutlichsten bei anämischen Infarkten der Niere und der Milz zu beobachtenden — Gewebsbezirke sind oft starr, trocken, matt gelbweiß, oft lehmfarbig und unterscheiden sich ihrem Aussehen und der festeren Konsistenz nach deutlich von der Umgebung. Das Gewebe kann längere Zeit in seiner gröberen Struktur noch erkannt werden. Das Zustandekommen solcher Nekrosen wird darauf zurückgeführt, daß „plasmatische Flüssigkeit sich zwischen den Zellen schon findet oder sich daselbst anhäuft und ebenso wie die absterbenden Zellen gerinnt" *(Tendeloo)*.

***Rycina 3.*** *„W kwestii zwyrodnienia koloidowego w ośrodkowym układzie nerwowym." Z. f. d. g. Neut. u. Psych. 1937, 159, 27-52.*

(Aus der Universitätsklinik für Nerven- und Geisteskranke Posen [Direktor: Prof. Dr. *Borowiecki*] und aus der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie, Kaiser Wilhelm-Institut in München.)

## Beitrag zur Klinik und Anatomie der Neuromyélite optique (Dévic)[1].

Von

**T. Markiewicz** und **Gerd Peters.**

Mit 5 Textabbildungen.

*(Eingegangen am 12. Mai 1936.)*

Nachdem *Dévic* im Jahre 1894 unter dem Namen der Neuromyélite optique[2] ein Krankheitsbild beschrieben hatte, das durch eine akute Affektion des Sehnerven und des Rückenmarks charakterisiert war, ist eine Reihe von Beobachtungen gleicher Krankheitsbilder vor allem von französischen Autoren mitgeteilt worden. Da eine kombinierte Erkrankung des Rückenmarks und des Sehnerven auch bei anderen Erkrankungen beobachtet wird, so z. B. bei der Poliomyelitis, der multiplen Sklerose, der disseminierten Encephalomyelitis, der Tabes, bei Rückenmarksverletzungen und -tumoren *(Leyden, Beck)* glaubten eine Reihe von Autoren keine sichere Berechtigung zu haben, das von *Dévic* und anderen Autoren (*Guillain, Michaux, Bertrand, Alajouanine, Garcin, Milian, Lhermitte, Schäffer, Horowitz* u. a.) als nosologische Einheit aufgefaßte Krankheitsbild der Neuromyélite optique für eine Erkrankung sui generis halten zu dürfen. So faßt *Oppenheim* die Neuromyelitis optica lediglich als ein Syndrom auf. Der Ansicht, daß es sich um einen Sym-

***Rycina 4.*** *„Przyczynek do obrazu klinicznego i anatomicznego zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego". Z. f. d. g. Neut. u. Psych. 1936, 156, 287-301.*

Michaux, Bertrand, Alajouanine, Garcin, Milian, Lhermitte, Schäffer i Horowitz. Wśród zwolenników ujęcia zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego jako zespołu chorobowego znaleźli się: Oppenheim, Popow, Cestan, Riser, Planques, Wimmer, Bouchut i Dechaume. W swojej pracy Markiewicz przedstawia dokładny opis kliniczny oraz badanie neuropatologiczne dwóch przypadków chorych z rozpoznanym zapaleniem nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego. Pierwsza chora to 38 letnia kobieta (St.B.) robotnica w poznańskiej fabryce tytoniu, a druga - 19-letnia kobieta (B.R.) z Monachium. Przebieg kliniczny w obu przypadkach różnił się. U chorej z Poznania w kilka dni po łagodnej infekcji górnych dróg oddechowych rozwinęły się zaburzenia widzenia oka prawego, po kilku dniach oka lewego, a w ciągu miesiąca - osłabienie siły mięśniowej kończyn dolnych, później - zaburzenia oddychania. Chora zmarła po 3 miesiącach choroby. Natomiast u chorej z Monachium po 2 miesiącach od przebycia ropnej anginy rozwinęło się porażenie lewej kończyny dolnej, a po kilku dniach - prawej kończyny dolnej, po 2 kolejnych miesiącach doszło do czterokończynowego porażenia, zaburzeń połykania i zwieraczy, a następnie zaburzenia oddychania. Autor podkreśla brak danych dotyczących zaburzeń widzenia. Chora zmarła po dwóch miesiącach choroby.

W badaniu neuropatologicznym pierwszego przypadku wykazano obecność zmian w środkowych częściach odcinka szyjnego rdzenia kręgowego (ryc. 5), jak zwraca uwagę Autor - wokół kanału centralnego. Zmiana była rozległa sięgając do odcinka piersiowego rdzenia krego-

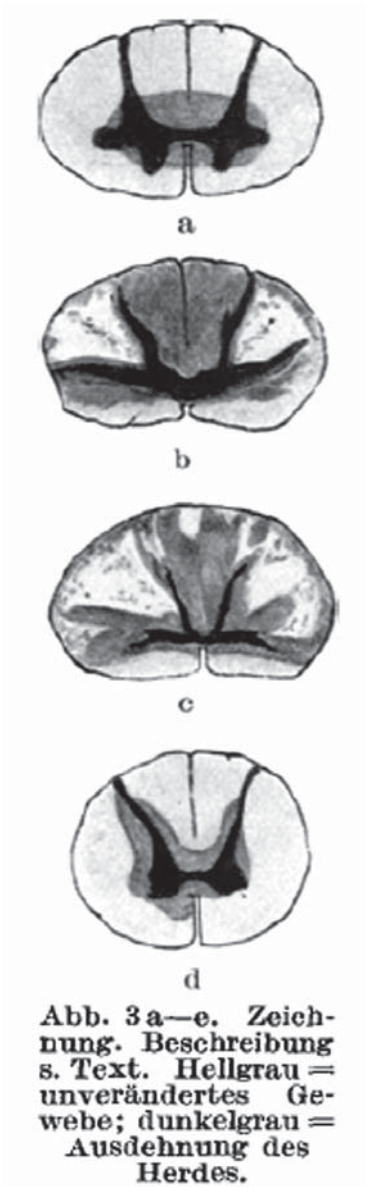



Abb. 3a—e. Zeichnung. Beschreibung s. Text. Hellgrau = unverändertes Gewebe; dunkelgrau = Ausdehnung des Herdes.

***Rycina 5.*** *Przekrój rdzenia kręgowego pierwszego przypadku opisanego przez Markiewicza i Petersa.*

wego. Cechy zwyrodnienia obserwowano aż do poziomu rdzenia przedłużonego. W obrębie skrzyżowania wzrokowego stwierdzano ostro odgraniczoną zmianę, bez nacieków z limfocytów, czy komórek plazmatycznych, natomiast w mózgowiu – pojedynczą, położoną koncentrycznie wokół naczynia ostro odgraniczoną zmianę, również bez nacieków komórkowych.

Drugi przypadek według Markiewicza wykazywał pewne cechy neuropatologiczne podobne do pierwszego, jednakże Autor podkreśla odrębności. W górnej części szyjnego odcinka rdzenia kręgowego obserwowano tu patologię obejmującą 3/4 przekroju poprzecznego i rozciągającą się równomiernie na istotę szarą i białą

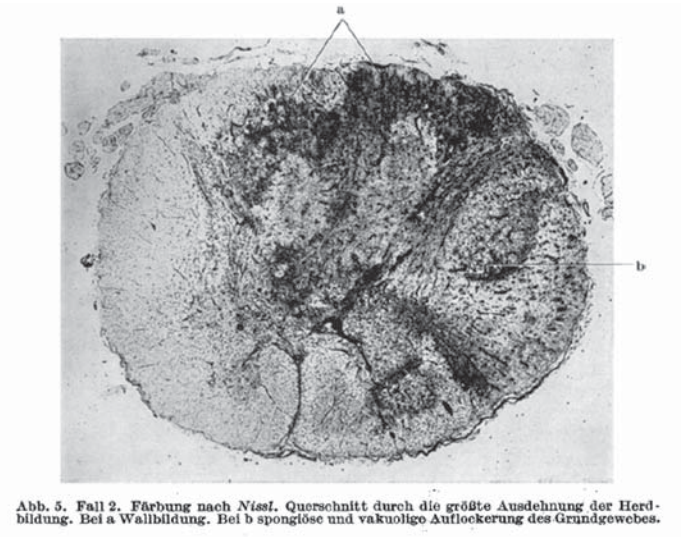



Abb. 5. Fall 2. Färbung nach *Nissl*. Querschnitt durch die größte Ausdehnung der Herdbildung. Bei a Wallbildung. Bei b spongiöse und vakuoligo Auflockerung des Grundgewebes.

***Rycina 6.*** *Przekrój rdzenia kręgowego drugiego przypadku opisanego przez Markiewicza i Petersa.*

(ryc. 6). Zajęta była również okolica kanału centralnego, a w obrębie zmiany stwierdzano nasiloną proliferację gleju. Natomiast w przeciwieństwie do pierwszego przypadku obserwowano nasilone okołonaczyniowe nacieki złożone z limfocytów i komórek plazmatycznych nie tylko w obrębie patologicznych ognisk, ale i poza nimi. W skrzyżowaniu nerwów wzrokowych stwierdzono także obecność ogniska patologicznego, które w ocenie Autora było starsze niż zmiany obserwowane w rdzeniu kręgowym. W mózgowiu, w przeciwieństwie do pierwszego przypadku nie obserwowano żadnych zmian.

Analizując przebieg kliniczny pierwszego przypadku Markiewicz i Peters podkreślają jego typowy dla choroby Devica charakter zwracając uwagę na obraz dający się odróżnić od innych zapalnych chorób układu nerwowego:

*„Sicher ist, daß ein großer Teil der als Neuromyelite optique mitgeteilten Fälle sich nicht als multiple Sklerose, disseminierte Encephalomyelitis, epidemische Encephalitis oder eine andere Erkrankung des Zentralnervensystems auffassen 1äßt".* (...)

*„Wir glauben, unseren ersten Fall am besten unter dem Begriff der Neuromylite optique einordnen zu können und möchten ihn als einen weiteren Beweis ffir die Berechtigung der klinischen Sonderstellung der Neuromyelitis optica betrachten."*

Następnie autorzy zwracają uwagę na różnice w badaniu neuropatologicznym wskazując na bardziej rozległą zmianę w pierwszym przypadku i jej pośrodkową lokalizację wokół kanału centralnego, a z kolei w drugim przypadku na nasilone okolonaczyniowe nacieki limfocytarne, mające według Markiewicza i Petersa charakter odczynowy - objawowy.

W podsumowaniu badacze wskazują na możliwość występowania dwojakich postaci zapalenia nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego : choroby Devica jako jednostki chorobowej oraz objawowego zespołu. Ujęcie to odpowiada przyjętemu współcześnie podziałowi na zapalenie nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego (neuromyelitis optica, NMO) i spektrum NMO.

W literaturze światowej (5) praca Markiewicza i Petersa jest nadal cytowana, warto zatem przypomnieć o niej i jej Autorze naszemu środowisku.

## Piśmiennictwo


1. *Acchiote P.:* Sur un cas de neuromyélite subaiguë ou maladie de Devic. Rev Neurol (Paris) 1907, 20, 775-777
2. *Allbutt T.C.:* On the ophtalmoscopic signs of spinal disease. Lancet 1870, 95, 76-78
3. *Devic E.:* Myélite subaiguë compliquée de névrite optique. Bull Méd 1894, 8, 1033-1034
4. *Devic E.:* Myélite aiguë dorsolombaire avec névrite optique- Autopsie. Congrčs Francais de Médecine 1895, 1, 434-439
5. *Frank G.:* Progredient-perniziöse Verläufe bei chronischer Encephalomyelitis disseminata (MS) mit totaler diffuser optico-spinaler Sklerose. J Neurol 1976, 212, 23-40
6. *Gault F.:* De la neuromyélite aiguë. Thčse Lyon 1894
7. *Herman E.:* Neurolodzy Polscy. PZWL, Warszawa 1958
8. *Matthews L.A.E., Baig F., Palace J., Turner M.R.:* The borderland of neuromyelitis optica. Pract Neurol 2009, 9, 335-340
9. *Lennon V.A., Wingerchuk D.M., Kryzer T.J., Pittock S.J., Lucchinetti C.F., Fujihara K., Nakashima I., Weinshenker B.G.:* A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. Lancet 2004, 364, 2106-2112
10. *Lennon V.A., Kryzer T.J., Pittock S.J., Verkman A.S., Hinson S.R.:* IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. J Exp Med 2005, 202, 473-477
11. *Markiewicz T.:* Űber spätschädigungen des menschliches Gehirns durch Röntgenstrahlen. Z. f. d. g. Neut. u. Psych. 1935, 156, 548-568
12. *Markiewicz T.:* Zur frage der "Koagulationsnekrose" im Zentralnervensystem Zeitschr. f. d. gesamte Neur. u. Psych. 1937, 159, 27-52
13. *Markiewicz T., Peters G.:* Beitrag zur Klinik und Anatomie ser Neuromyelite optique (Devic). Z. f. d. g. Neut. u. Psych. 1936, 156, 287 -301
14. *Wingerchuk D.M., Hogancamp W.F., O'Brien P.C., Weinshenker B.G.:* The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). Neurology 1999, 53, 1107-1114
15. *Wingerchuk D.M., Lennon V.A., Pittock S.J., Lucchinetti C.F., Weinshenker B.G.:* Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. Neurology 2006, 66, 1485-489



**Adres do korespondencji:**
Zakład Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii
UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

# Wspomnienie

**Prof. zw. dr hab. n. med. Zdzisław Huber (1930-2011)** - lekarz medycyny, pracownik naukowy, neurochirurg, epileptolog, neurolog, psychiatra i neurofizjolog.

Prof. Zdzisław Huber urodził się 27 lutego 1930 roku w Pleszewie. Studia medyczne ukończył w 1954 r. na Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Pracę w Akademii Medycznej rozpoczął w Zakładzie Anatomii Prawidłowej, gdzie był zatrudniony w latach 1951-1953. Wykładał również w Instytucie Psychologii UAM w Poznaniu. Kształcił się i prowadził prelekcje w Anglii, Francji, Indiach, Włoszech, Egipcie, Meksyku, Grecji, Irlandii, Holandii, Hiszpanii, Turcji, Jugosławii oraz Rosji.

Specjalizację z neurochirurgii uzyskał w 1959 roku, z psychiatrii w 1972 roku, z epileptologii w 1995 roku. Był jednym z członków - założycieli Polskiego Towarzystwa Neurofizjologii Klinicznej. W 1993 roku uzyskał licencję nr 12 w zakresie pełnych kwalifikacji w dziedzinie Neurofizjologii Klinicznej.

Tytuł doktora nauk medycznych uzyskał w Akademii Medycznej w Poznaniu w 1960 roku, tytuł doktora habilitowanego nauk medycznych przyznano jemu w 1969 roku, a tytuł profesora nauk medycznych - w 1986 roku. Przez ponad 50 lat pracował jako Członek Rad Wydziałów: Lekarskiego I i II oraz Wydziału Nauk o Zdrowiu, był Członkiem Senatu AM w Poznaniu. Również na tych Wydziałach był wielokrotnym promotorem prac doktorskich i magisterskich. Jako wieloletni działacz Studenckiego Towarzystwa Naukowego odznaczony został „Złotą Sową STN". Zaangażowany był w działalność humanitarną na rzecz poprawy bytowania osób cierpiących na padaczkę oraz dzieci niepełnosprawnych. Był wieloletnim Przewodniczącym Komisji ds. Padaczki Polskiego Towarzystwa Neurologicznego.

W latach 1954-1981 pracował w Katedrze i Klinice Neurochirurgii AM w Poznaniu, a następnie podjął obowiązki ordynatora Oddziału Neurochirurgii Katedry Chirurgii Dziecięcej Akademii Medycznej w Poznaniu.

Od 1991 roku był Kierownikiem Zakładu Neurofizjologii Klinicznej Instytutu Pediatrii AM w Poznaniu. Jako założyciel Konsultacyjnego Ośrodka Przeciwpadaczkowego w Poznaniu przez ponad 50 lat był jego kierownikiem.

Dokonania naukowe prof. Zdzisława Hubera obejmowały autorstwo ponad 250 publikacji naukowych z dziedziny neurochirurgii, epileptologii, neurologii, psychiatrii i neurofizjologii.

Prof. Zdzisław Huber, oprócz licznych wyróżnień na polu naukowym (w tym nagrody I stopnia w roku 1970 i 1986, oraz innych wyróżnień zarówno regionalnych jak i resortowych), został odznaczony Krzyżem Kawalerskim Orderu „Polonia Restituta", Złotym Krzyżem Zasługi, Honorowym Odznaczeniem Polskiego Czerwonego Krzyża, obdarzony tytułem „Przyjaciel Dziecka" Polskiego Towarzystwa Dzieci w 1982 roku oraz „Złotą Odznaką Pracowników Morza" w 1972 roku za zasługi w dziedzinie promocji zdrowia i organizację Obozów Studenckich i Kół Naukowych STN.

Prof. Zdzisław Huber był członkiem władz centralnych Polskiego Towarzystwa Neurochirurgów, Polskiego Towarzystwa Neurofizjologii Klinicznej, Polskiego Towarzystwa Neurologów Dziecięcych, Międzynarodowej Ligi Przeciwpadaczkowej, był członkiem-korespondentem Niemieckiego Towarzystwa Neurofizjologii Klinicznej.

Jako lekarz - neurochirurg, wielokrotnie ratował życie dzieciom i ludziom starszym, wykonując ponad 5000 operacji neurochirurgicznych.

Kochał malarstwo, muzykę i podróże. Oprócz pracy zawodowej, był malarzem i pisarzem. Twierdził, że jego inspiratorem we wszystkich dziedzinach życia był Leonardo Da Vinci, kochał nade wszystko muzykę Ludwika van Beethovena, jego wzorcem osobowym był nauczyciel - Wilder Penfield.

Był kochającym Mężem, wymagającym i troskliwym Ojcem, nade wszystko kochającym Dziadkiem.

Zmarł 25 września 2011 roku, o godzinie 8.00, po długiej i ciężkiej chorobie w wieku 81 lat.

Prof. zw. dr hab. med. Stanisław Nowak
Kierownik Katedry i Kliniki Neurochirurgii i Neurotraumatologii
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, dnia 25 października 2011 roku

# Wykłady Otwarte Wszechnicy Piastowskiej PTPN:

*Dr hab. med. Maciej Owecki*, **„Otyłość epidemią XXI wieku”** - 3 lutego 2010 roku

*Prof. dr hab. med. Jerzy Sowiński*, **„Choroby z niedoboru i nadmiaru jodu”** - 17 lutego 2010 roku

*Prof. dr hab. med. Marek Ruchała*, **„Zaburzenia funkcji i morfologii tarczycy jako problem ogólnoustrojowy”** - 24 lutego 2010 roku

*Prof. dr hab. med. Paweł Sobczyński*, **„Nurkowanie - fizjologia i patologia”** - 7 kwietnia 2010 roku

*Dr hab. Anita Magowska*, **„Marząc o życiu wśród trędowatych: lekarze na misjach”** - 12 stycznia 2011 roku

*Prof. dr hab. med. Lech Torliński*, **„Tradycyjna polska hierarchia wartości - szansą na zdrowe i szczęśliwe życie”** - 19 stycznia 2011 roku

*Prof. dr hab. med. Zbigniew Kwias*, **„Łagodny przerost gruczołu krokowego”** - 23 lutego 2011 roku

*Prof. dr hab. med. Leon Drobnik* **„Narkoza a świadomość”** - 9 marca 2011 roku

*Prof. dr hab. med. Leon Drobnik*, **„Ból - szorstki przyjaciel człowieka”** - 13 kwietnia 2011 roku

*Profesorowie: Wanda Kocięcka, Andrzej Szkaradkiewicz, Lech Torliński*, **„Błogosławionemu Janowi Pawłowi w hołdzie od przyjaciół nauk”** - 4 maja 2011 roku

*Prof. zw. dr hab. med. Stanisław Nowak*, **„Mózg jako narząd poznawczy i poznający - czyli wyższe funkcje nerwowe umożliwiające ocenę otaczającego świata”** - 11 maja 2011 roku

**Wielkopolskie Dni Neurochirurgii** - 20 maja 2011 roku

**Poznańskie Dni Neuroradiologii i Neurochirurgii**, 7-8 października 2011 roku
Następne planowane na 5-6 października 2012 roku

# Regulamin przygotowania pracy

1. W „Neuroskopie" drukowane są prace oryginalne, poglądowe, doniesienia kazuistyczne, listy do redakcji, sprawozdania ze zjazdów. Ilość stron prac oryginalnych nie może przekraczać - 20 stron, poglądowych - 25, kazuistycznych - 15, łącznie z tabelami, rycinami, piśmiennictwem. Streszczenie należy pisać w językach polskim i angielskim (nie więcej niż dwieście słów).

2. Pracę należy przesłać pocztą poleconą w formie maszynopisu, w 1 egzemplarzu, oraz w postaci pliku w formacie MS WORD na dyskietce. Format maszynopisu:
- kartki A4 zapisane jednostronnie, ponumerowane,
- około 45 linii na stronę (odstępy szerokości jednego wiersza),
- rozmiar czcionki komputerowej 12 punktów.

Dodatkowo do maszynopisu prosimy dostarczyć tzw. „kartę tytułową" wg schematu:
autorzy (imię i nazwisko, jeżeli jest ich więcej niż ośmiu proszę dopisać „i wsp."), miejsce pracy autorów, nazwisko kierownika lub ordynatora, tytuł pracy (nie blokowymi literami), adres do korespondencji.

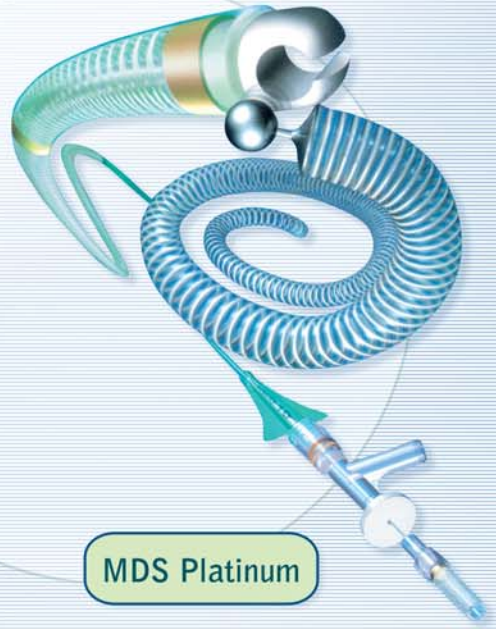
Tekst prac powinien być podzielony na kolejne rozdziały: streszczenie, słowa kluczowe (w jęz. pol. i ang.) - do 10, wstęp, materiał i metodyka, wyniki, omówienie wyników, wnioski, piśmiennictwo.

Wykaz piśmiennictwa w porządku alfabetycznym powinien zawierać nazwiska i inicjały imion autorów, pełny tytuł pracy, skrót tytułu czasopisma (wg Index Medicus), rok, tom, oraz pierwszą i ostatnią stronę.

Nie można przesyłać prac uprzednio już opublikowanych.

# BALT

Gold balon

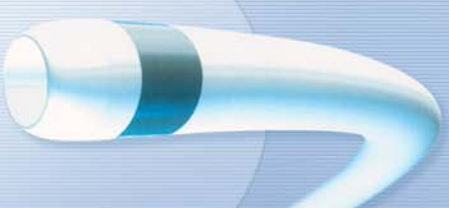


MDS Platinum

Vasco

Sorcerer-007"

Leo+



Baltacci

BALTON®
PRODUCENT SPRZĘTU MEDYCZNEGO

BALTON
na rynku od
1980

ul. Modlińska 294, 03-152 Warszawa, Poland
tel. (22) 597 44 00 • faks (22) 597 44 44
e-mail balton@balton.pl • www.balton.pl

BALLISTA®
Screw Placement System

BIOMET® SPINE

# *Małoinwazyjne zabiegi produktami Biomet Spine - Maksimum korzyści*

*System został stworzony z myślą o innowacyjnej stabilizacji odcinka lędźwiowego przy operacjach małoinwazyjnych*

Biomet Polska Sp. z o.o.
ul. Płowiecka 75, 04-501 Warszawa
tel.: 22 509 87 00