

**Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu**

Joanna Rybacka - Mossakowska

**Ocena znaczenia czynników neurotroficzných w rozwoju powikłań chemioterapii
w obrębie układu nerwowego**

„The significance of neurotrophic factors in neurological complications of chemotherapy”

Rozprawa doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Sławomir Michalak

Poznań 2016

słowa kluczowe: czynniki neurotroficzne, chemoterapia, chemobrain, funkcje poznawcze

SPIS TREŚCI

I. WSTĘP.....	9
1. Wpływ chemioterapii na układ nerwowy.....	9
1.1. Powikłania w obrębie obwodowego układu nerwowego.....	9
1.2. Powikłania w obrębie ośrodkowego układu nerwowego	10
1.3. Neurotoksyczne chemioterapeutyki.....	12
1.4. Mechanizmy uszkodzenia układu nerwowego w przebiegu chemioterapii	16
2. Fizjologiczne znaczenie czynników neurotroficznych.....	18
3. Znaczenie czynników neurotroficznych w patofizjologii chorób układu nerwowego.....	22
3.1. Choroby demielinizacyjne	22
3.2. Choroby neurodegeneracyjne	23
3.3. Czynniki neurotroficzne a nowotwory	24
II. CEL PRACY.....	30
III. PACJENCI I METODYKA.....	31
1. Pacjenci.....	31
1.1. Grupa badana	31
1.2. Kryteria włączenia/wyłączenia z badania.....	32
1.3. Grupa porównawcza do badań przy zastosowaniu platformy PEBL (The Psychology Experiment Building Language).....	32
2. Metodyka.....	32
2.1. Protokół badania neurologicznego i ocena klinimetryczna.....	32
2.2. Badania laboratoryjne.....	33
2.2.1. Ocena ekspresji neurotrofin.....	33
2.2.2. Badanie dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych i innych autoprzeciwciał.....	33
2.4. Ocena funkcji poznawczych i nastroju	34
2.5. Ocena sprawności chorych za pomocą zobiektywizowanych testów neuropsychologicznych.....	34
2.6. Analiza statystyczna.....	34
IV. WYNIKI.....	36
V. DYSKUSJA.....	56

VI. WNIOSKI.....	66
VII. STRESZCZENIE.....	67
VIII. SUMMARY.....	71
IX. PIŚMIENICTWO.....	74
X. ZAŁĄCZNIKI	96
XI. SPIS RYCIN.....	100
XII. SPIS TABEL.....	102

WYKAZ SKRÓTÓW

ALS - ang. amyotrophic lateral sclerosis - stwardnienie zanikowe boczne

anty-GAD - ang. glutamic acid decarboxylase - dekarboksylaza kwasu glutaminowego

anty-GFAP - ang. glial fibrillary acidic protein - kwaśne włóknikowe białko glejowe

anty-MAG - ang. myelin-associated glycoprotein - glikoproteina związana z mieliną

AP - cisplatyna i pemetreksed

ARA-C - cytarabina, arabinozy cytozyny

BBB - ang. blood brain barrier - bariera krew- mózg

BDNF - ang. brain derived neurotrophic factor - mózgowopochodny czynnik wzrostu

CIPN - ang. chemotherapy-induced peripheral neuropathy - obwodowa neuropatia indukowana chemioterapią

CRT - ang. choice reaction time- czas reakcji z wyborem

DSpan - ang. digit span - test powtarzania cyfr

ELISA - ang. enzyme-linked immunosorbent assay – test immunoenzymatyczny

ERK - ang. extracellular signal-regulated kinase – zewnątrzkomórkowa kinaza regulatorowa

IL-6 - interleukina 6

IL-8 - interleukina 8

JNK - ang. jun N terminal kinases - kinaza N-końcowego odcinka c-Jun

KE - karboplatyna i etopozyd

KG - karboplatyna i gemzar

LC - ang. Langerhans cells - komórki Langerhansa

MAPK - ang. mitogen-activated protein kinase - kinaza białkowa aktywowana mitogenem

mBDNF- ang. mature brain derived neurotrophic factor – mózgowopochodny czynnik wzrostu postać

dojrzała

mDNA - mitochondrialny kwas dezoksyrybonukleinowy

miRNA - mitochondrialny kwas rybonukleionowy

MEK - ERK kinase activator – aktywator kinazy ERK

ang. serine/threonine-selective protein kinase - kinaza seryny/treoniny

mTOR – ang. mammalian target of rapamycin kinase - ssaczy cel kinazy rapamycyny

MMSE - ang. Mini-Mental State Examination - krótka skala oceny funkcji poznawczych

MS - ang. multiple sclerosis – stwardnienie rozsiane

NF-kB – ang, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer or activated B cells - czynnik transkrypcyjny

NGF- ang. nerve growth factor – czynnik wzrostu nerwów

NOS -ang. not otherwise specified carcinoma- nieskalsyfikowany rak płuca

NT3 - ang. neurotrophin 3- czynnik neurotroficzny 3

NT4 - ang. neurotrophin 4- czynnik neurotroficzny 4

NSCLC - ang. non-small-cell lung carcinoma – niedrobnokomórkowy rak płuca

p75NTR - p75 neurotrophin receptor - receptor p75 dla neurotrofin

PBMC - ang. peripheral blood mononuclear cells – komórki jednojądrzaste krwi obwodowej

PE- cisplatyna i etopozyd

PEBL- ang. The Psychology Experiment Building Language

PG- cisplatyna i gemzar

PI3K - ang. phosphatidylinositol-4,5 bisphosphate 3-kinase

PN- cisplatyna i winorelbina

PRES - ang. posterior reversible encephalopathy syndrome – tylna odwracalna encefalopatia

proBDNF- ang. brain derived neurotrophic factor – mózgowopochodny czynnik wzrostu
postać prekursorowa

proNGF- ang. nerve growth factor – czynnik wzrostu nerwów postać prekursorowa

RAS - proto-onkogenna serynowo/treoninowa kinaza

SCLC - ang. small cell lung cancer – rak drobnokomórkowy płuca

SRT - ang. simple reaction time - czas reakcji prostej

VEGF A- ang. vascular endothelial growth factor – naczyniowy śródbłonkowy czynnik
wzrostu

TMT A - ang. Trial Making Test A - test łączenia punktów A

TMT B - ang. Trial Making Test B – test łączenia punktów B

TNF-alfa - ang. tumor necrosis factor alpha – czynnik martwicy guza alfa

TNF-RII - ang. tumor necrosis factor receptor II – receptor typu II czynnika martwicy guza

Trk - ang. tropomyosin-related kinase receptor - receptor kinazy związanej z tropomiozyną

TRPA1- ang. transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1

TRPV1 -ang. transient receptor potential cation channel subfamily V member 1

truncBDNF- ang. brain derived neurotrophic factor – mózgowopochodny czynnik wzrostu
forma monomeryczna

I. Wstęp

1. Wpływ chemioterapii na układ nerwowy

Częstość występowania chorób nowotworowych we współczesnym społeczeństwie systematycznie wzrasta. Jednocześnie obserwuje się bardzo szybki postęp w leczeniu onkologicznym. Jedną z trzech podstawowych metod leczenia, obok chirurgii onkologicznej i radioterapii, jest chemioterapia. Jej rozwój znacznie przyspieszył w ostatnich 20 latach. Wprowadzane są nowe leki i schematy leczenia nowotworów. Dzięki temu czas życia chorych na nowotwory ulega znacznemu wydłużeniu. Niestety leczenie chemioterapeutykami obarczone jest powikłaniami, które mogą istotnie zaburzać funkcjonowanie chorych. Wśród ogólnoustrojowych efektów chemioterapii dość często powikłania dotyczą zarówno ośrodkowego, jak i obwodowego układu nerwowego i znacznie pogarszają jakość życia chorych, często jeszcze bardzo długo po zakończonym leczeniu onkologicznym.

Niemalże każdy dostępny chemioterapeutyk może powodować powikłania w obrębie układu nerwowego. Działania niepożądane mogą wystąpić na każdym etapie leczenia: na początku leczenia (nawet po pierwszej dawce leku), w czasie z kolejnych kursów, zarówno podawania leku, jak i godziny, dni i miesiące po jego podaniu. Objawy w miarę upływu czasu mogą nie ustępować, a nawet nasilać się wiele miesięcy czy lat po zakończeniu leczenia.

1.1 Powikłania w obrębie obwodowego układu nerwowego

Z uwagi na to, że obwodowy układ nerwowy nie jest tak dobrze chroniony przed wpływem toksycznych substancji jak ośrodkowy układ nerwowy, wiele obecnie stosowanych chemioterapeutyków może wywoływać niekorzystny wpływ na jego strukturę i funkcjonowanie. Zarówno włókna nerwowe, jak i ciała komórek zwojowych mogą ulec uszkodzeniu. Objawia się to najczęściej neuropatią czuciową, czuciowo-ruchową, rzadziej autonomiczną. Powikłania chemioterapii w obwodowym układzie nerwowym nazywane są obwodową neuropatią indukowaną chemioterapią (CIPN, ang. chemotherapy-induced peripheral neuropathy). CIPN znacznie obniża jakość życia pacjentów. Często z powodu nasilonych objawów neuropatii, dawka podawanego cytostatyku w kolejnych kursach ulega znacznej redukcji. Najczęściej objawy pojawiają się między 4 a 6 kursem chemioterapii, nasilają się podczas kolejnych kursów, a ustępowanie objawów może trwać wiele miesięcy po zakończeniu leczenia (Argyriou i wsp., 2005). W przypadku związków platyny, objawy mogą

nasilać się wiele tygodni, a nawet miesiący po zakończeniu leczenia (Grunberg i wsp., 1989). Na częstość występowania CIPN ma wpływ wiele czynników takich jak: wielkość pojedynczej dawki leku, dawka kumulacyjna (Speck i wsp., 2013), stosowanie innych toksycznych leków (Cavaletti i wsp. 1998), czas trwania terapii, współistniejąca cukrzyca, zapalenie mięśni i stawów (Reyes-Gibby i wsp., 2009), wcześniejsze rozpoznanie neuropatii, palenie tytoniu i nieprawidłowy wynik klirensu kreatyniny (Seretny i wsp., 2014). Klinicznie CIPN objawia się najczęściej niedoczulicą, parestezjami (mrowienia, drętwienia) w obrębie palców rąk i stóp lub o charakterze rękawiczek i skarpetek, które z upływem czasu mogą występować i obejmować coraz bardziej rozległe obszary ciała, zaburzeniami czucia wibracji propriocepcji o charakterze rękawiczek i skarpetek, a także hipo- a nawet arefleksją (Argyriou i wsp., 2005). Często występują także objawy ruchowe : osłabienie siły mięśniowej i bolesne skurcze mięśni kończyn. Może również występować szczykościsk wywołany zimnem (Krishnan i wsp., 2005). Objawy uszkodzenia układu autonomicznego są raczej rzadkie. Jeśli występują to obejmują: zaparcia (Lavoie Smith i wsp., 2013), podciśnienie ortostatyczne, zaburzenia potencji (Holland i wsp., 1973) i zaburzenia w oddawaniu moczu (Gomber i wsp., 2010). Rzadziej stosowanie chemioterapeutyków może doprowadzić do rozwoju mononeuropatii na przykład symetrycznej mononeuropatii nerwu strzałkowego (Matsubara i wsp., 2000).

1.2. Powikłania w obrębie ośrodkowego układu nerwowego

Uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego w przebiegu chemioterapii jest nazywane zespołem polekowego uszkodzenia mózgu (ang. chemobrain lub chemofog) (Fitch i wsp., 2008). Głównie objawia się ono pogorszeniem funkcji poznawczych: upośledzeniem pamięci, zaburzeniami koncentracji uwagi, trudnościami w rozwiązywaniu złożonych zadań (Mehlsen i wsp., 2009) i planowaniu (Reid-Arndt, 2009), uczeniu się oraz zaburzeniami płynności mowy (Eberhardt i wsp., 2006). Upośledzenie funkcji poznawczych wpływa niekorzystnie na codzienne funkcjonowanie chorych i znacznie utrudnia ich powrót do pracy zawodowej (Reid-Arndt, 2009). Zidentyfikowano czynniki ryzyka, które mogą predysponować do pogorszenia funkcji poznawczych w przebiegu chemioterapii. Pierwszym z nich, tak zwanym markerem genetycznie uwarunkowanej zwiększonej wrażliwości na chemioterapeutyki jest obecność alleli $\epsilon 4$ Apo E (Ahles i wsp., 2003).

Na ryzyko powikłań wpływa :

- rodzaj stosowanego cytostatyku – zwiększają je: cyklofosfamid, metotreksat, 5-fluorouracyl, taksany bleomycyna, etopozyd, cisplatyna (Schagen i wsp., 2008),
- dawka kumulacyjna,
- częstość podawania leku i
- czas trwania terapii (wzrost jest wprost proporcjonalny) (Schagen i wsp., 2006).

Do pozostałych czynników ryzyka należą :

- wiek chorego (Eberhardt i wsp., 2006),
 - przebyty uraz głowy,
 - inne choroby układu nerwowego,
 - występowanie mikroprzerzutów u chorych na raka płuca oraz
 - poziom inteligencji mierzony wskaźnikiem IQ i wykształcenie (Vardy i wsp., 2007)
- oraz
- wcześniejsze napromienienie mózgu (Sheline i wsp., 1980).

Rozpoznanie choroby nowotworowej często wiąże się z towarzyszącym stresem, niepokojem, a nawet zaburzeniami nastroju. Zjawiska te mogą wpływać bezpośrednio na pogorszenie funkcji poznawczych, a tym samym mogą znacznie pogarszać wyjściowy stan poznawczy chorych i wiązać się ze zwiększonym deficytem funkcji poznawczych po zakończeniu leczenia chemioterapeutykami (Wefel i wsp., 2004).

Napady padaczkowe niezwiązane z obecnością guza przerzutowego często towarzyszą chemioterapii i przyjmują postać uogólnionych napadów toniczno-klonicznych (Ostermann i wsp., 2011)

Innym powikłaniem leczenia przeciwnowotworowego jest tylna, odwracalna leukoencefalopatia (PRES, ang. posterior reversible encephalopathy syndrome) (Singer i wsp., 2015). PRES charakteryzuje się współwystępowaniem charakterystycznych objawów klinicznych: ślepoty korowej, bóle głowy, wymioty, zaburzenia świadomości i ogniskowe napady padaczkowe oraz typowych zmian w neuroobrazowaniu (obrzęk istoty białej w okolicy ciemieniowo-potylicznej obu półkul mózgu) (Hinchey i wsp., 1996). Mogą ją wywoływać cytostatyki takie jak: decetaksel, paklitaksel, karboplatyna, oksaliplatyna, winkrystyna oraz irynotekan. Jednak najczęściej PRES wywoływana jest przez podawanie bewacizumabu, który jest przeciwciałem monoklonalnym przeciw naczyniowemu śródbłonkowemu czynnikowi wzrostu A (VEGF A, ang. vascular endothelial growth factor) (Singer i wsp., 2015).

Stosowanie leków cytostatycznych wiąże się z ryzykiem wystąpienia encefalopatii. Może ona przebiegać z afazją, napadami padaczkowymi, zaburzeniami widzenia (Gorman i wsp., 1989) i zaburzeniami świadomości (Gomber i wsp., 2010).

Powikłaniem istotnie wpływającym na sprawność chorych jest ostry zespół mózdkowy, który objawia się najczęściej ataksją chodu, oczopląsem, dysmetrią i dyzartrią. Ostry zespół mózdkowy w przebiegu chemioterapii najczęściej powodowany jest podawaniem wysokich dawek arabinozydu cytozyny. Czynniki ryzyka jego wystąpienia są: wiek powyżej 50 roku życia, wysoka dawka leku, zaburzenia funkcji nerek i wątroby oraz wywiad obciążony zaburzeniami układu nerwowego (Yeshurun i wsp., 2001, Winkelman i Hines, 1983).

1.3 Neurotoksyczne chemioterapeutyki

Większość obecnie stosowanych chemioterapeutyków może wykazywać działanie neurotoksyczne, jednakże niektóre z nich wykazują szczególnie niekorzystny wpływ na układ nerwowy.

Arabinozyd cytozyny (ARA-C, cytarabina) należy do grupy antymetabolitów pirymidyny. Mechanizm jego działania nie jest do końca poznany, polega prawdopodobnie na hamowaniu syntezy DNA poprzez zmniejszenie aktywności polimerazy DNA (Yang i wsp., 2015). Arabinozyd cytozyny jest cytostatykiem stosowanym w leczeniu ostrej białaczki limfoblastycznej (Omura i wsp., 1980) oraz chłoniaków. Podawanie dożylnie arabinozydu

cytozyny wiąże się z występowaniem tylnej odwracalnej leukoencefalopatii (PRES) (Saito i wsp., 2007), zespołu mózdkowego i neuropatii nerwów czaszkowych (Vogel i wsp., 1993). Arabinozyd cytozyny może także powodować ilościowe zaburzenia świadomości od senności po śpiączkę, anosmię i mielopatię (Hoffman i wsp., 1993). W czasie progresji choroby i rozsiewu procesu nowotworowego do ośrodkowego układu nerwowego cytarabinę stosuje się w podaniach bezpośrednio do kanału kręgowego. Może ona wówczas powodować liczne powikłania ze strony układu nerwowego: zespół ogona końskiego, niedowłady kończyn dolnych, napady padaczkowe toniczno-kloniczne (Ostermann i wsp., 2011), udary niedokrwienne mózgu na skutek skurczu naczyń mózgowych (Yoon i wsp., 2014) oraz neuropatie nerwów obwodowych czuciowe i ruchowe (Saito i wsp., 2006).

Kolejnym neurotoksycznym chemioterapeutycznym jest **winkrystyna**, należąca do grupy alkaloidów barwinka (łac. Vinca). Jest stosowana w leczeniu białaczek, chłoniaków oraz guzów litych na przykład raka piersi (Armstrong i wsp., 1962). Mechanizm działania polega na wiązaniu się jej z tubuliną, która jest białkiem składowym mikrotubul i uszkodzeniu struktury wrzeciona podziałowego, co skutkuje zatrzymaniem cyklu podziałowego komórki w metafazie (Himes i wsp., 1976). Stosowanie dożylnie tego cytostatyku powoduje :

- obwodową neuropatię, mieszaną czuciowo-ruchową charakteryzującą się parastezjami, tj.: mrowieniem, drętwieniem rąk i stóp z towarzyszącym bólem neuropatycznym, zniesieniem odruchów ścięgniastych (Lavoie Smith i wsp., 2013; Gomber i wsp. 2010),

- neuropatią autonomiczną, którą charakteryzuje występowanie zaparć (Lavoie Smith EM 2013) ortostatycznej hipotonii, zaburzeń czynności seksualnych (Holland i wsp., 1973) oraz trudności w oddawaniu moczu (Gomber i wsp., 2010).

Ponadto stosowanie winkrystyny może powodować symetryczne mononeuropatie na przykład nerwu strzałkowego (Matsubara i wsp., 2000). Rzadziej w przebiegu leczenia winkrystyną dochodzi do rozwoju encefalopatii, w przebiegu której mogą występować przemijające zaburzenia widzenia, afazja, dezorientacja oraz napady padaczkowe (Gomber i wsp., 2010). Sporadycznie występują zaburzenia równowagi, bóle żuchwy (Lavoie Smith i wsp., 2013) oraz bolesne kurcze mięśni (Haim i wsp., 1991).

Do chemioterapeutyków oznaczonych wysokim ryzykiem neurotoksyczności zaliczamy **związki platyny** głównie: cisplatynę, i oksalipatynę. Mechanizm działania tych

leków polega na tworzeniu międzyłańcuchowych połączeń w strukturze DNA, co skutkuje hamowaniem syntezy DNA (Roberts i wsp., 1986). Cisplatyna stosowana jest powszechnie w leczeniu guzów litych takich jak raki płuca, jajników, jądra, pęcherza moczowego, guzów głowy i szyi oraz endometrium (Mollman, 1990). Oksaliplatyna stosowana jest w schematach leczenia raka piersi oraz jelita grubego (Ibrahim i wsp., 2004). Głównym powikłaniem ze strony układu nerwowego podczas stosowania związków platyny jest neuropatia zwana neuropatią indukowaną chemioterapią (CIPN, ang. chemotherapy-induced neuropathy) (Argyriou i wsp., 2007). Neuropatia indukowana stosowaniem oksaliplatyny charakteryzuje się zarówno objawami czuciowymi: parestezjami o charakterze mrowienia, drętwieniami w obrębie dystalnych części kończyn górnych i dolnych, jak i niedoczulicą wokół ust i rąk. Występuje także arefleksja, zniesienie czucia wibracji, i chwiejny chód. (Argyriou i wsp., 2007). Stosowanie oksaliplatyny może wywoływać objawy ostre, które ustępują w ciągu godzin lub dni oraz powikłania przewlekłe. Do ostrych zaliczane są: parestezje w obrębie dystalnych części kończyn oraz dysestezje w okolicy gardłowo krtaniowej, natomiast do przewlekłych - czysta czuciowa neuropatia (Argyriou i wsp., 2007). Może ona powodować tylną odwracalną leukoencefalopatię (PRES) (Sharief i wsp., 2009).

Cisplatyna, podobnie jak oksaliplatyna może wywoływać neuropatię obwodową. Objawy te mogą nasilać się nawet 2 do 3 miesięcy po zakończeniu leczenia onkologicznego (Grunberg i wsp., 1989). Dość często powoduje także występowanie objawu Lhermiita (Eeles i wsp., 1986). Rzadziej cisplatyna wywołuje toksyczne uszkodzenie siatkówki charakteryzujące się zaburzeniem widzenia barw i zamazanym widzeniem (Wilding i wsp., 1985). Powikłaniem po dożylnym podawaniu cisplatyny może być także encefalopatia charakteryzująca się afazją z napadami padaczkowymi, afazją z niedowidzeniem połowicznym i z ogniskowymi napadami drgawkowymi lub ślepotą korową (Gorman i wsp., 1989). W czasie chemioterapii opartej o cisplatynę zwiększa się także ryzyko udaru niedokrwienego mózgu (Russmann i wsp., 2002) (Karagoz i wsp., 2009). Cisplatyna może także powodować wykazywać działanie ototoksyczne. Dochodzi wówczas do uszkodzenia słuchu oraz mogą pojawić się szумы uszne (Schell i wsp., 1989). Zdarza się także w przebiegu leczenia tym cytostatykiem może wystąpić zapalenie naczyń w tym także szyjnych (Wang i wsp., 2013).

Lekiem dość powszechnie stosowanym w onkologii i reumatologii, należącym do grupy antymetabolitów jest **metotreksat**. Nawet małe dawki stosowane w odstępach tygodniowych mogą wywoływać zawroty głowy, bóle głowy i przemijające zaburzenia

funkcji poznawczych (Wernick i Smith, 1989), a także odwracalne zaburzenia mowy o typie dyzartrii (Aplin i wsp., 1999), czy tylną odwracalną leukoencefalopatię (PRES) (Renard i wsp., 2004). Wyższe dawki prowadzą do powstawania przemijających objawów ogniskowych imitujących udary niedokrwienne mózgu tzw „stroke-like”, z objawami pod postacią: afazji, lub niedowładów połowicznych. Obserwuje się również encefalopatię z napadami padaczkowymi (Martino i wsp., 1984), która charakteryzuje się występowaniem odwracalnych, nietypowych dla etiologii naczyniowej zmian w neuroobrazowaniu w sekwencji DWI tomografii jądrowego rezonansu magnetycznego (Haykin i wsp., 2006). Stosowanie dokanałowe metotreksatu może prowadzić do aseptycznego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (Glantz i wsp., 1999), poprzecznej mielopatii, która charakteryzuje się bólem pleców lub kończyn dolnych. Następnie pojawia się porażenie kończyn dolnych, utrata czucia i zaburzenia w funkcjonowaniu zwieracza pęcherza moczowego (McLean i wsp., 1994; Bates i wsp., 1985). Głównym późnym powikłaniem stosowania metotreksatu jest leukoencefalopatia (Rubinstein i wsp., 1975), objawiająca się ataksją, niedowładem połowicznym, napadami drgawkowymi, otępieniem i sennością (Ch'ien i wsp., 1981).

Ifosfamid jest związkiem alkilującym, będącym syntetyczną pochodną cyklofosfamidu. Stosowany jest w leczeniu guzów litych wieku dziecięcego takich jak: mięsaki, guzy Wilmsa i guzy zarodkowe (Pinkerton i wsp., 1985), a także w leczeniu guzów litych wieku dorosłego: mięsaków (Ayas i wsp., 2015) czy raków drobnokomórkowych płuca (Yang i wsp., 2015). Powikłania po stosowaniu ifosfamidu pod postacią encefalopatii mogą wystąpić już po zastosowaniu pierwszej dawki leku. Objawiają się najczęściej halucynacjami, zespołem mózdkowym, napadami drgawkowymi, ilościowymi zaburzeniami świadomości, objawami pozapiramidowymi lub mutyzmem (Primavera i wsp., 2002). Częstym powikłaniem ze strony obwodowego układu nerwowego jest neuropatia, która powoduje osłabienie kończyn górnych i dolnych, oraz bolesne parestezje o charakterze przeczulicy dystalnych części kończyn (Frisk i wsp., 2001).

Inną grupą neurotoksycznych leków cytostatycznych są **taksany**: paklitaksel i docetaksel. Powodują one zaburzenia w procesie mitozy na skutek hamowania polimeryzacji mikrotubul (Rowinsky i wsp., 1990, Churchill i wsp., 2015). Taksany należą do podstawowych cytostatyków stosowanych o wysokiej skuteczności w leczeniu chorych na raka piersi (Henderson i wsp., 2003) (Sparano i wsp., 2008), u chorych leczonych w drugiej linii z powodu niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) (Soejima i wsp., 2015) oraz w

leczeniu raka jajnika (Li i wsp., 2015). Neurotoksyczność taksanów głównie powoduje obwodowe neuropatie. Około 80% kobiet leczonych z powodu raka piersi rozwija objawy neuropatii, a 25% doświadcza ciężkich objawów znacznie utrudniających życie codzienne. Objawami najczęściej występującymi są parestezje: drętwienie w obrębie rąk i stóp, bóle stawów i mięśni kończyn, osłabienie kończyn, uczucie obrzęku rąk i stóp, trudności w chodzeniu, a także rzadziej upośledzenie słuchu, szumy uszne, bóle w obrębie opuszków palców (Hershman i wsp., 2011). Ponieważ taksany w niewielkim stopniu lub w ogóle nie przenikają przez barierę krew mózg objawy, uszkodzenia ze strony ośrodkowego układu nerwowego należą do rzadkich. Rzadko może rozwinąć się przejściowa encefalopatia: dezorientacja, trudności w doborze słów, zaburzenia widzenia, a także bóle głowy, napady padaczkowe i ataksja (Perry i Warner, 1996), objaw Lhermitte'a (van den Benti i wsp., 1998). Bardzo rzadko po zastosowaniu bardzo wysokich dawek paklitakselu najczęściej między 7 a 23 dniem po leczeniu, dochodzi do rozwoju ostrej encefalopatii, która może doprowadzić do śpiączki a nawet do zgonu (Nieto i wsp., 1999).

Procarbazyne jest cytostatykiem blokującym syntezę DNA, RNA i białek, stosowanym w leczeniu białaczek i chłoniaków (Fairley i Freeman, 1974), guzów mózgu (Postma i wsp., 1998). Stosowanie procarbazyne w połączeniu z winkrystyną może spowodować wystąpienie ogniskowych objawów neurologicznych, zaburzenia funkcji poznawczych, atrofię mózgu oraz zwolnienie czynności podstawowej w EEG (Postma i wsp., 1998)

1.4 Mechanizmy uszkodzenia układu nerwowego w przebiegu chemioterapii

Wśród hipotez wyjaśniających mechanizmy rozwoju uszkodzeń w obrębie obwodowego układu nerwowego podczas leczenia chemioterapeutykami, do najbardziej prawdopodobnych należą: uszkodzenie mitochondriów, stres oksydacyjny, wpływ chemioterapeutyków na kanały jonowe oraz indukcja odczynu zapalnego i apoptozy.

Uszkodzenie mitochondriów w przebiegu leczenia taksanami, głównie paklitakselem, wykazane w badaniach na liniach komórkowych, związane jest z zanikiem potencjału błonowego mitochondrium, powstającego w następstwie otwarcia kanałów wapniowych. Powoduje to nasilenie tworzenia wolnych rodników, wyczerpywanie zapasów ATP, napływ jonów wapnia oraz obrzęk mitochondriów (Bernardi i wsp., 2006). Propagacja obrzęku mitochondriów może doprowadzać do uszkodzenia aksonów i wywoływać bolesną neuropatię (Flatters i Bennet, 2006).

Cisplatyna natomiast poprzez tworzenie kompleksów z mitochondrialnym DNA (mDNA), zaburza replikację, transkrypcję oraz doprowadza do zmian w strukturze mitochondriów (Podratz i wsp., 2011). Zmiany w strukturze mitochondrialnego DNA mogą stopniowo zaburzać funkcjonowanie układu oddechowego. Zjawisko to może to wyjaśniać nasilenie się objawów neuropatii pomimo zakończenia leczenia cisplatyną (Grunberg i wsp., 1989).

Cisplatyna powoduje uszkodzenie mitochondrialnych białek anty-oksydacyjnych, co prowadzi do obniżenia tolerancji komórek na stres oksydacyjny (Melli G, i wsp., 2008). Zwiększenie ekspresji biorących udział w procesie nocycypcji receptorów TRPV1 (ang. transient receptor potential cation channel subfamily V member 1) i TRPA1 mRNA (ang. transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1) związane jest z występowaniem nadwrażliwości na ciepło i bodźce dotykowe i może prowadzić do allodyni. Poza tym zwiększona ekspresja receptorów TRPA1 mRNA powoduje nasiloną patologiczną reakcję skóry na zimno. Zjawisko to wykazano w badaniach doświadczalnych na zwierzętach leczonych zarówno związkami platyny (Ta i wsp., 2010, Nassini i wsp., 2011), jak i taksanami (Materazzi i wsp., 2012).

Zmiany wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia odgrywają kluczową rolę w powstawaniu bólu neuropatycznego (Xiao i wsp., 2007). Zjawisko to rozwija się na skutek stosowania takich chemioterapeutyków jak: paklitaksel, winkrystyna i oksaliplatyna (Siau i Bennet, 2006). Napływ jonów sodowych do komórek i zmiany potencjału błon komórkowych poprzez wpływ na kanały sodowe bramkowane napięciem mogą powodować allodynię w przebiegu leczenia oksaliplatyną (Adelsberger i wsp., 2000), oraz paklitakselem (Nieto i wsp., 2008).

Powstawanie odczynu zapalnego związanego z aktywacją w skórze komórek Langerhansa (ang. Langerhans cells, LC) podczas leczenia winkrystyną budzi kontrowersje. W części z badań wykazano, że zjawisko to może odbywać się poprzez aktywację syntazy tlenku azotu i zwiększone uwalnianie tlenku azotu (Qureshi, i wsp., 1996), oraz poprzez wpływ cytokin zapalnych i czynników neurotroficznycych (Torii i wsp., 1997). Z kolei w innych badaniach nie wykazano wpływu winkrystyny na zwiększoną produkcję cytokin prozapalnych (TNF-alfa), i na rozwój procesu zapalnego (Jaggi i Singh., 2010). Natomiast leczenie paklitakselem również może nasilać odczyn zapalny (Nishida i wsp., 2008).

Indukcję apoptozy najczęściej powodują związki platyny: tj.: oksaliplatyna (Scuteri i wsp., 2010), oraz winkrystyna (Jaggi i Singh, 2012) i paklitaksel (Andrč i wsp., 2000).

Mechanizmy polekowego uszkodzenia mózgu w przebiegu chemioterapii nie są jak dotąd w pełni poznane. Stosowanie chemioterapeutyków może wywoływać znaczne fluktuacje poziomów cytokin zapalnych na przykład zwiększone stężenie czynnika martwicy guza (TNF alfa, ang. tumor necrosis factor alpha) w krążeniu obwodowym (Usta i wsp., 2004). TNF-alfa przenika wówczas przez barierę krew-mózg (BBB, ang. blood brain barrier) i wpływa na lokalną produkcję cytokin zapalnych w mózgu oraz aktywuje komórki głejowe i makrofagi (Gutierrez i wsp., 1993). Powoduje to wzrost produkcji wolnych rodników, uszkodzenie mitochondriów (Joshi i wsp., 2005) i uszkodzenie mitochondrialnego systemu oddechowego, zwiększenie produkcji proapoptotycznych białek takich jak p53 i Bax, uwolnienie cytochromu c i kaspazy 3 oraz indukowanie apoptozy (Tangpong i wsp., 2006). Zmienione poziomy cytokin prozapalnych mogą być związane ze pogorszeniem funkcji poznawczych w czasie stosowania chemioterapeutyków. Zjawisko to obserwowane jest na przykład u leczonych chemioterapeutykami chorych na raka piersi, u których wykazano podwyższenie poziomu receptora czynnika martwicy guza (TNF-RII) korelującego z nasileniem zaburzeń pamięci (Pomykała i wsp., 2013). Podobnie zwiększona ekspresja TNF i interleukiny 6 (IL-6), korelowała pogorszeniem pamięci oraz nasileniem zespołu przewlekłego zmęczenia (Bower i wsp., 2013). Natomiast wzrost poziomu interleukiny 8 (IL-8) korelował z trudnościami w rozwiązywaniu zagadnień problemowych (Janelsins i wsp., 2012). Zatem chemioterapia wyzwalając może wielopłaszczyznowe zaburzenia w układzie nerwowym, które mogą być ograniczane przez czynniki neurotroficzne.

2. Fizjologiczne znaczenie czynników neurotroficznych

Czynniki neurotroficzne - neurotrofiny, są molekułami należącymi do rodziny czynników wzrostu. Zalicza się do nich: czynnik wzrostu nerwów (NGF, ang. nerve growth factor), neurotrofinę 3 (NT3, ang. neurotrophin 3), neurotrofinę 4 (NT4, ang. neurotrophin 4) i mózgowopochodny czynnik neurotroficzny (BDNF, ang. brain derived neurotrophic factor). Biorą one udział w regulacji procesów przeżycia, różnicowania i wzrostu neuronów (Lee i wsp., 2001). Uczestniczą również w rozwoju plastyczności neuronalnej oraz ułatwiają transport synaptyczny. Mechanizmy te zapewniają prawidłowe procesy pamięci i regeneracji (Joo i wsp., 2014) Synteza właściwych neurotrofin zachodzi w procesie przemian

prekursorowych białek (pro-neurotrofiny) i może odbywać się przy udziale komórek nerwowych, jak i innych komórek (Seidah i wsp., 1997).

NGF, składa się z dwóch podjednostek alfa, jednej beta i dwóch gamma oraz z jednego lub dwóch jonów cynku (Varon i wsp., 1967). Wstępuje on zarówno w ośrodkowym, jak i w obwodowym układzie nerwowym. Wykazuje on również wpływ na komórki spoza układu nerwowego: gałki ocznej, czy skóry (Aloe, 2011). Ponadto NGF wywiera działanie ochronne na układ cholinergiczny (Chen i wsp., 1997).

BDNF ulega ekspresji w obrębie ośrodkowego układu nerwowego i bierze udział w procesach neurotransmisji serotonergicznej (Mössner i wsp., 2000), dopaminergicznej (Guillin i wsp., 2001) i glutaminergicznej (Carvalho i wsp., 2007). W retikulum endoplazmatycznym powstaje cząsteczka prekursorowa pro-BDNF, która ulega dalszej modyfikacji, do formy monomerycznej - truncBDNF, oraz postaci dimerycznej jako dojrzały mózgowopochodny czynnik neurotroficzny - mBDNF. Proces ten może zachodzić w dwojaki sposób: na skutek wewnątrzkomórkowej modyfikacji w aparacie Golgiego (Mowla i wsp., 2001) lub zewnątrzkomórkowej pod wpływem plazminy lub metaloproteinazy-7 (Lee i wsp., 2001).

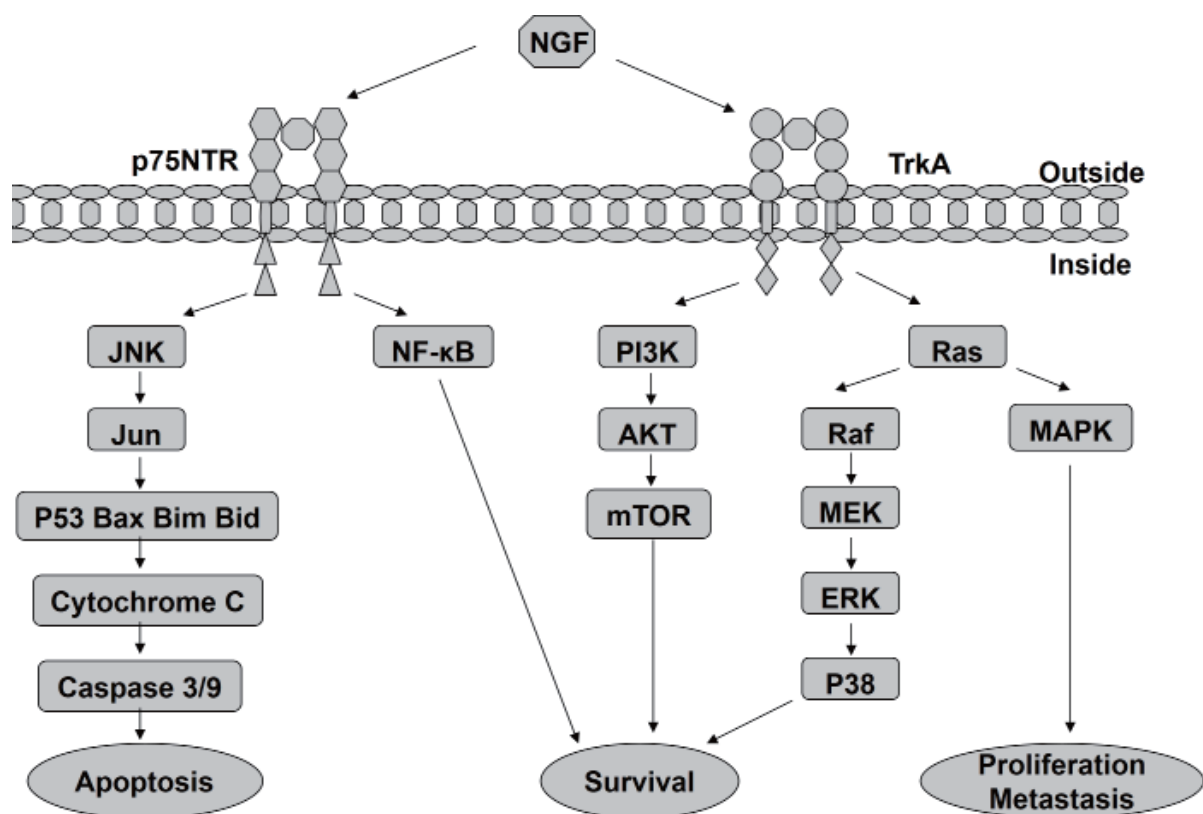
Neurotrofina 3, podobnie jak powyżej opisane czynniki neurotroficzne działa ochronnie na różne populacje neuronów w obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym (Jones i wsp., 1990), nawet w okresie wczesnego rozwoju neuronów. Natomiast działanie ochronne i mobilizujące dojrzewanie komórek nerwowych neurotrofiny 4 zachodzi na późniejszych etapach ich rozwoju (ElShamy i wsp., 1997). NT-3 i NT-4 odgrywają również rolę w procesie programowanej śmierci neuronów (Kalcheim i wsp., 1992).

Czynniki neurotroficzne oddziałują na komórki docelowe przez dwa rodzaje receptorów: receptory o niskim powinowactwie p75NTR (ang. p75 neurotrophin receptor) oraz receptory o wysokim powinowactwie - kinazy związanej z tropomiozyną - Trk (ang. tropomyosin-related kinase), do których zaliczane są receptory TrkA, TrkB i TrkC. Receptor p75NTR należy do rodziny receptorów dla czynników martwicy guza i składa się z regionu zewnątrzkomórkowego, zawierającego 4 domeny cysteinowe, pojedynczej domeny transbłonowej oraz wewnątrzkomórkowej. Z kolei receptory TrkA, TrkB i TrkC składają się z zewnątrzkomórkowego regionu, zawierającego dwa łańcuchy cysteiny, przebłonowego i cytoplazmatycznego. Każda z neurotrofin może oddziaływać przez receptor p75NTR oraz poprzez wszystkie rodzaje receptorów Trk (Bartkowska i wsp., 2010). Receptory Trk mogą być aktywowane przez dojrzałe cząsteczki neurotrofin oraz poprzez ich związki prekursorowe (Lee i wsp., 2001). Prekursorem czynnika wzrostu nerwów jest pro-NGF, który występuje w

obrębie ośrodkowego układu nerwowego. Pro-NGF, pomimo że jest związkiem wyjściowym do powstawania właściwego, dojrzałego NGF, może także łączyć się zarówno z receptorem TrkA (Fahnestock i wsp., 2004), jak i p75NTR i powodować ich aktywację (Feng i wsp., 2010). Receptorem specyficznym dla pro-NGF jest koreceptor składający się z receptora p75NTR oraz przezłonowej sortiliny. Jego aktywacja indukuje apoptozę (Bartkowska i wsp., 2010).

Obie formy BDNF oddziałują poprzez odpowiednie receptory. Pro-BDNF łączy się z receptorem p75 powodując apoptozę (Koshimizu i wsp., 2009), mBDNF wiąże się z receptorem TrkB i promuje przeżywanie komórek (Teng i wsp., 2005). W obrębie hipokampa aktywacja mBDNF zwiększa liczbę neuronów, natomiast pro-BDNF ją zmniejsza (Koshimizu i wsp., 2009).

Czynnik wzrostu nerwów oddziałuje na komórki docelowe poprzez receptory TrkA i p75NTR (Rycina 1). Działając poprzez receptor p75NTR może on aktywować kinazy JNK (ang. jun N terminal kinases) powodując apoptozę, a poprzez NF- κ B (czynnik transkrypcyjny, ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer) wspomaga przeżycie neuronów. Aktywując receptory TRkA i następnie MAPK (ang. mitogen-activated protein kinase) NGF przyczynia się natomiast do powstawania przetrzutów (Masoudi i wsp., 2009). Poza tym działając poprzez receptory TrkA NGF może również wspomagać przeżywanie neuronów (Johnson i wsp., 2011). Podobne działanie wykazują wszystkie czynniki neurotroficzne (Reichardt, 2006).



Rycina 1 Szlaki oddziaływania czynnika wzrostu nerwów

Wenfang Wang, Jinhua Chen, Xiuli Guo. The role of nerve growth factor and its receptors in tumorigenesis and cancer pain, *BioScience Trends*. 2014; 8(2):68-74 w modyfikacji własnej (p75NTR -p75 neurotrophin receptor, NGF-nerve growth factor, TrkA – ang.tropomyosin-related kinase A, outside-przestrzeń zewnątrzkomórkowa, inside- środowisko wewnątrzkomórkowe, JNK- ang. Jun N terminal kinases, Jun- białko kodowane przez gen JUN, czynnik transkrypcyjny, cytochrome C-cytochrom C, caspase3/9- ang.cysteine-aspartic proteases 3/9, apoptosis-apoptoza, NF-κB- ang.nuklear factor kappa-light-chain-enhancer or activated B cells, PI3K- ang.phospatidylositol-4,5 bisphosphate 3-kinase, kinaza 3 fosfatydylo-4,5-bisfosforanu, AKT-kinaza, mTOR –ang. mammalian target of rapamycin kinase, kinaza białkowa treininowo-serynowa, RAS- proto-onkogenna serynowo/treoninowa kinaza, MEK- ang. serine/threonine-selective protein kinase,kinaza tyrozyny/treoniny,ERK- ang. extracellular Signal-regulated kinase,p38-kinaza, MAPK- ang. mitogen-acivated protein kinases, proliferation-prolifracja, metastasis-przerzuty

Następstwa oddziaływania neurotrofin poprzez receptor p75NTR nie zostało w pełni wyjaśnione, niemniej jednak jak dotąd ustalono, że pośredniczy ono w procesach zaprogramowanej śmierci neuronów (Bamji i wsp., 1998), migracji komórki Schwanna (Anton i wsp., 1994), ekspresji genów (Shernaz i wsp., 1998) i regulacji receptora TrkA (Barker i wsp., 1998).

W ostatnich latach bada się wpływ czynników neurotroficznych na miRNA, który jest małą, endogenną cząsteczką mającą działanie regulujące ekspresję genów poprzez wiązanie się z mRNA. miRNA wpływa ograniczająco na wzrost guza i hamuje powstawanie przerzutów. Wykazano, że BDNF może zmniejszać ekspresję miRNA, a przez to wpływać pośrednio na procesy migracji komórek nowotworowych i zwiększać ekspansję procesu nowotworowego (Imam i wsp., 2012).

Czynniki neurotroficzne wykazują również wpływ na wsteczny transport aksonalny. Odbywa się to poprzez aktywację drogi PI3K (ang. phosphatidylinositol-4,5 biphosphate 3-kinase) w obrębie dystalnego odcinka aksonu oraz poprzez procesy przebudowy w obrębie ciała komórki nerwowej (Kuruvilla i wsp., 2000) oraz poprzez aktywację MAPK i następnie zewnątrzkomórkowej drogi Erk5 (ang. extracellular signal-related protein kinase 5), która jest unikalnym mechanizmem aktywowania wstecznego transportu aksonalnego (Watson i wsp., 2001).

3. Znaczenie czynników neurotroficznych w patofizjologii chorób układu nerwowego

3.1. Choroby demielinizacyjne

Spośród chorób demielinizacyjnych najczęściej uwagi badaczy czynników neurotroficznych skupia stwardnienie rozsiane (MS, ang. multiple sclerosis) w postaci rzutowo-remisyjnej. W czasie trwania choroby u 45-65% pacjentów dochodzi do upośledzenia funkcji poznawczych (Rao i wsp., 1991), które najczęściej dotyczą zaburzeń pamięci i trudności w uczeniu się (Kujala i wsp., 1996). Wykazano, że ekspresja NGF w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC, ang. peripheral blood mononuclear cells) stanowić może czynnik protekcyjny wobec zaburzeń funkcji poznawczych u chorych na MS. Poprawa w zakresie funkcji poznawczych w przebiegu stwardnienia rozsianego związana jest z pobudzeniem aktywności acetylocholinesterazy i z właściwą ekspresją NGF (Kalinowska-Łyszczarz i wsp., 2012), który działa ochronnie na neurony cholinergiczne (Chen i wsp., 1997). Poznanie tych mechanizmów otwiera możliwości terapeutyczne u

chorych na stwardnienie rozsiane z deficytami poznawczymi w postaci stosowania inhibitorów acetylocholinesterazy. Wykazano również pozytywną korelację pomiędzy ekspresją czynnika wzrostu nerwów beta a pamięcią semantyczną (Kalinowska-Łyszczarz i wsp., 2012).

Ekspresja neutrofiny 3 w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej w przebiegu stwardnienia rozsianego koreluje pozytywnie z atrofią mózgu zlokalizowaną na przekroju ciała modelowego. Lokalizacja ta nie jest związana z zanikami w przebiegu procesu starzenia. Ponadto wykazano negatywną korelację pomiędzy ekspresją NGF w PBMC a czasem trwania choroby niezależnie od wieku chorego. Dlatego zwiększenie ekspresji NGF hipotetycznie mogłoby zmniejszać postęp choroby (Kalinowska-Łyszczarz i wsp., 2011). Tongiorgi i współpracownicy wykazali, że poziom BDNF (zarówno mBDNF jaki i pro-BDNF) w przebiegu postaci rzutowo-remisyjnej jest obniżony, przy nie zmienionym poziomie formy monomerycznej (trunc BDNF), w porównaniu do zdrowych osób (Tongiorgi i wsp., 2012). Jednakże zmiany w ekspresji BDNF nie wykazywały żadnego związku z czasem trwania choroby, wiekiem chorych, niesprawnością fizyczną oraz roczną liczbą rzutów. Ponadto w czasie rzutu oraz całkowitej remisji sekrecja BDNF przez jednojądrzaste komórki krwi obwodowej ulega zwiększeniu (Caggiula i wsp., 2005). W postaci pierwotnie postępującej natomiast progresja choroby koreluje z obniżonym stężeniem BDNF w surowicy, jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym (Sarchielli P i wsp., 2002). Podsumowując, w świetle najnowszych badań, obniżony poziom mBDNF może sprzyjać zmniejszonej gotowości do neuroprotekcji, natomiast obniżony poziom pro-BDNF w niedostateczny sposób wpływa na apoptozę autoreaktywnych limfocytów T. (Tongiorgi i wsp., 2012). Leczenie immunomodulujące regulujące liczbę limfocytów T wpływa także na ekspresję neurotrofin. Stosowanie interferonu beta zwiększa stężenie czynnika wzrostu nerwów beta we wczesnym stadium choroby. Octan glatilameru nasila ekspresję NT-3, NT-4 i BDNF (Aharoni i wsp., 2005). Poza tym zwiększenie poziomu BDNF wykazano po zastosowaniu interferonu beta (Lalive i wsp., 2008), alemtuzumabu (Jones i wsp., 2010) i laquinimodu (Thöne i wsp., 2012).

3.2. Choroby neurodegeneracyjne

Wpływ czynników neurotroficznych badano również w wielu chorobach neurodegeneracyjnych. W przebiegu choroby Alzheimera wykazano zmiany gęstości i funkcjonowania receptorów neurotrofin. Nagromadzenie cząsteczek beta-amyloidu,

powodowuje zmniejszenie liczby receptorów TrkA oraz zwiększenie lub pozostawanie bez zmian liczby receptorów p75NTR (Ginsberg i wsp., 2006). Z drugiej strony NGF poprzez aktywację receptora p75NTR wzmacnia tworzenie cząsteczek beta-amyloidu (Costantini i wsp., 2005). Ponadto w przebiegu choroby Alzheimera wykazano obniżenie ekspresji BDNF w hipokampie i korze skroniowej (Connor i wsp., 1997), obecność receptorów TrkA i TrkB w obrębie plak amyloidowych w hipokampie (Connor i wsp., 1996) i zmniejszenie gęstości receptorów TrkA, TrkB i TrkC w korze podstawnej przodomózgowia (Salehi i wsp., 1996).

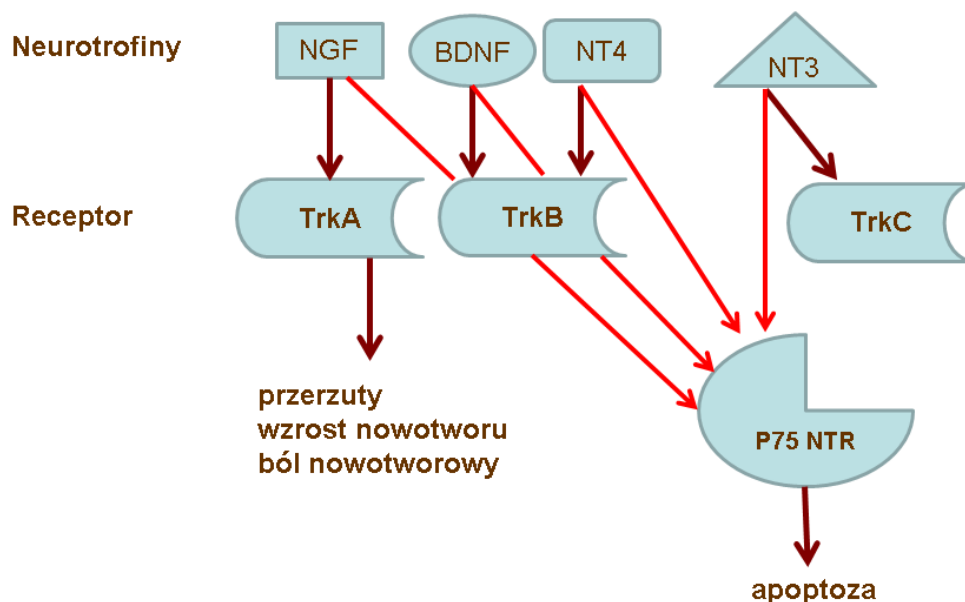
W modelu mysim choroby Huntingtona nadekspresja prawidłowego białka huntingtyny wspiera działanie ochronne neuronów poprzez zwiększanie ekspresji mózgowo pochodnego czynnika neurotroficznego. Natomiast zmutowane białko huntingtyna powoduje obniżenie produkcji BDNF (Zuccato i wsp., 2001). Z kolei w modelu doświadczalnym choroby Parkinsona wykazano, że zastosowanie BDNF zwiększa liczbę neuronów dopaminergicznych i ilość uwalnianej dopaminy (Spenger i wsp., 1995).

W stwardnieniu zanikowym bocznym (ALS, ang. amyotrophic lateral sclerosis) w pośmiertnej biopsji mięśnia wykazano 140% wyższą ekspresję NGF niż w zdrowym mięśniu (Stuerenburg i Kunze, 1998). Wykazano także w innym badaniu zwiększone poziomy pozostałych czynników neurotroficznych tj; NT3, NT4 i BDNF. (Kust i wsp., 2002). W badaniu rdzenia kręgowego w przebiegu SLA wykazano nieprawidłowe funkcjonowanie receptora TrkB, zwiększone jego ekspresji i nieprawidłową fosforylację. Ustabilizowanie działania receptora TrkB może być nowym, hipotetycznym schematem leczenia (Mutoh T i wsp., 2000).

3.3. Czynniki neurotroficzne a nowotwory

Czynniki neurotroficzne poprzez oddziaływanie na receptory Trk i p75NTR wywołują mogą następstwa istotne dla przebiegu choroby nowotworowej (Rycina 2). W zależności od rodzaju pobudzonego receptora efekty te mogą być korzystne lub niekorzystne dla chorego na nowotwór. Wśród nowotworów, w których czynniki neurotroficzne mogą odgrywać szczególną rolę znajdują się raki płuc, rak piersi i rak jelita grubego (Rycina 3, 4 i 5).

Czynniki neurotroficzne a proces nowotworowy



Rycina 2. Udział neurotrofin w procesie nowotworowym

3.3.1. Czynniki neurotroficzne a rak płuca

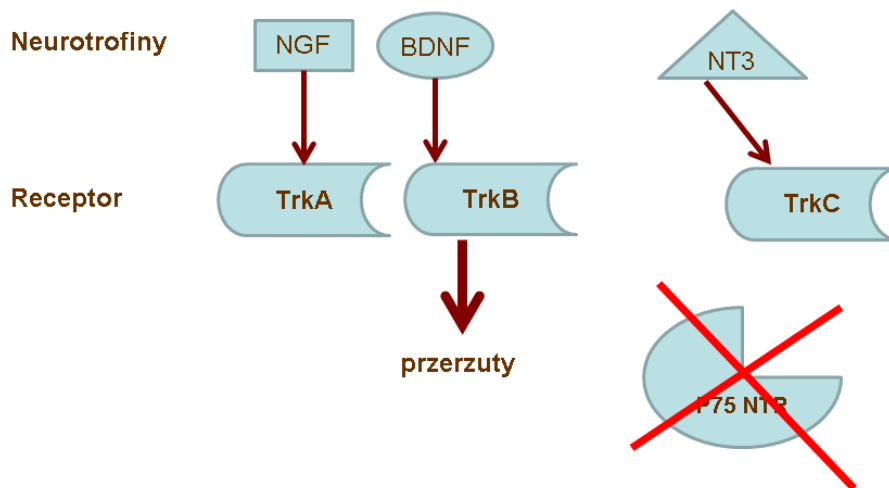
Nowotworem obarczonym największym odsetkiem zgonów zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn jest rak płuca. Średnie pięcioletnie przeżycie wynosi ok 17%. Mimo wczesnego rozpoznania i leczenia operacyjnego nowotwór ten ma tendencje do wznów i tworzenia przerzutów (Siegel i wsp., 2013). Wyróżnia się dwa główne typy raka płuca: drobnokomórkowy (SCLS, ang. small cell lung cancer) występujący u 20% oraz niedrobnokomórkowy (NSCLC, ang. non-small cell lung cancer), występujący u 80% chorych na raka płuca. Z kolei w obrębie niedrobnokomórkowego raka płuca wyróżnia się: raki gruczołowe, wielkomórkowe i płaskonabłonkowe.

Jak wspomniano powyżej czynniki neurotroficzne wspierają przeżywanie, dojrzewanie i różnicowanie zdrowych komórek nerwowych oraz wykazują działanie ochronne (Lee i wsp., 2001). Natomiast w przebiegu choroby nowotworowej ich fizjologiczne oddziaływanie przybiera odmienną, nie zawsze korzystną dla gospodarza, postać (Rycina 3).

W raku płuca dochodzi do nadekspresji receptora TrkB oraz do zwiększenia stężenia mózgowopochodnego czynnika neurotroficznego, wydzielanego przez fibroblasty oraz przez komórki nowotworowe. Nadekspresja (a nie onkogenna mutacja) receptora TrkB powodowana jest przez hipoksję wewnątrz guza i oddziaływanie czynnika HIF-1 (ang. hypoxia-inducible factor-1). Doprowadza to do nasilonej proliferacji i migracji komórek guza i powstawania przerzutów (Sinkevicius i wsp., 2014). Nasilenie ekspresji receptora TrkB jest większe u chorych z obecnymi przerzutami do węzłów chłonnych (Zhang i wsp., 2010). W komórkach raka płuca nie występuje receptor p75NTR, który pobudza apoptozę. Dlatego przy jego nieobecności występuje zwiększona możliwość progresji raka (Ricci i wsp. 2001).

Czynnik wzrostu nerwów oddziałujący przez receptory TrkA w badaniach nad rakiem drobnokomórkowym płuca wykazuje podobnie działanie hamujące na komórki nowotworowe zmniejszając ich potencjał onkogenny oraz tworzenie przerzutów (Missale i wsp., 1998, Fiorentini i wsp., 2002).

Czynniki neurotroficzne a rak płuca

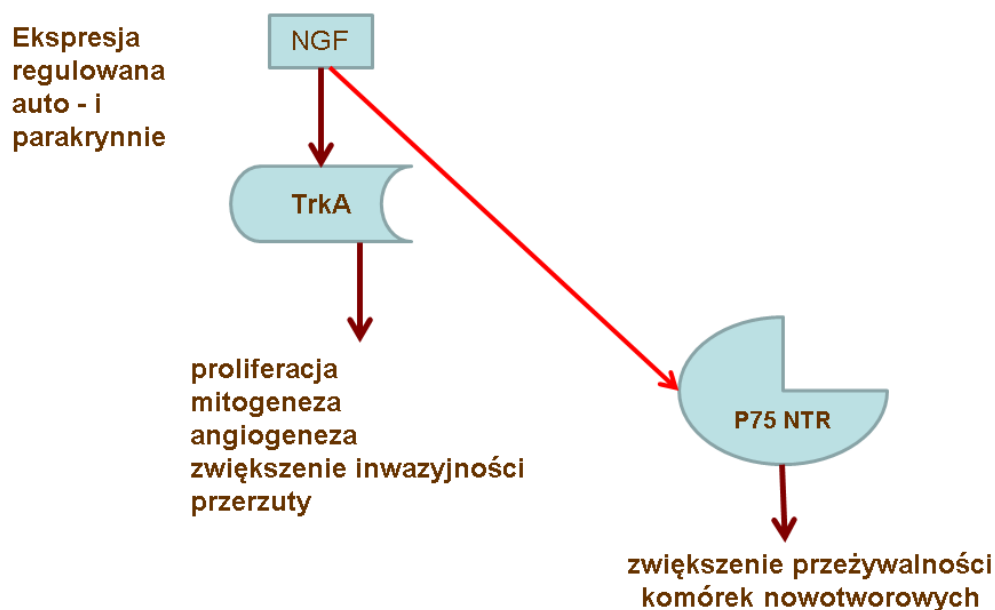


Rycina 3. Rola czynników neurotroficznych w przebiegu raka płuca

3.3.2. Czynniki neurotroficzne w raku piersi

Komórki raka piersi wykazują zwiększoną ekspresję receptorów TrkA, które aktywowane są poprzez czynnik wzrostu nerwów. Aktywacja receptorów TrkA nasila wzrost raka piersi, angiogenezę, inwazyjności nowotworu i tworzenie przerzutów (Lagadec i wsp., 2009). Ponadto wykazano, że zmniejszenie liczby receptorów TrkA hamowało proliferację komórek nowotworowych oraz zwiększało ich wrażliwość na chemioterapię (Zhang i wsp., 2015). Czynniki wzrostu nerwów oddziałując przez receptor p75NTR zwiększa przeżywalność komórek nowotworowych (Rycina 4)(Descamps i wsp., 2001). Natomiast BDNF i NT-4 za pomocą receptora p75NTR i receptora TrkB w postaci izoformy TrkB.T1 stymuluje komórki nowotworu do przeżycia oraz blokuje apoptozę (Vanhecke i wsp., 2012). Cząsteczka prekursorowa NGF, czyli pro-NGF jest także produkowana przez komórki guza i może oddziaływać poprzez receptory TrkA i sortiliny, prowadząc do stymulacji inwazyjności raka (Demont i wsp., 2012).

Czynniki neurotroficzne a rak piersi

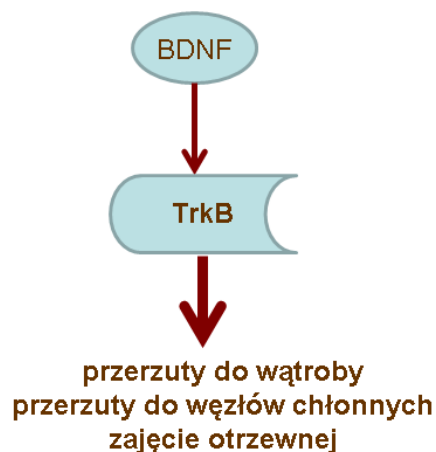


Rycina 4. Rola czynników neurotroficznych w przebiegu raka piersi

3.3.3. Czynniki neurotroficzne a rak jelita grubego

W raku jelita grubego, podobnie jak w powyższych nowotworach, zwiększona ekspresja BDNF oraz receptorów TrkB działa ochronnie na nowotwór poprzez działanie anti-apoptocyczne i stymulowanie proliferacji komórek (Akil i wsp., 2011). Zwiększona ekspresja receptorów TrkB wiąże się z gorszym rokowaniem u chorych na raka jelita grubego (Fujikawa, i wsp., 2012).

Czynniki neurotroficzne a rak jelita grubego



Rycina 5. Rola czynników neurotroficznych w przebiegu raka jelita grubego

Potencjalnie korzystny wpływ czynników neurotroficznych w chorobach demielinizacyjnych i neurodegeneracyjnych oraz dwoistość natury ich oddziaływania w przebiegu choroby nowotworowej stał się podstawą i motywacją dla podjęcia badań, których wyniki przedstawiono w niniejszej pracy. Jak dotąd nie zostało poznane znaczenie neurotrofin w kontekście powikłań chemioterapii, szczególnie w obrębie układu nerwowego.

Zaplanowano badanie prospektywne, w którym analizowany będzie wpływ potencjału neurotroficznego jednojądrzastych komórek krwi obwodowej na tolerancję chemioterapii i ryzyko rozwoju uszkodzenia układu nerwowego w jej przebiegu. Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej, jak wykazano w chorobach demielinizacyjnych, stanowią dobry model do takich badań. W tej frakcji występują komórki z linii limfocytów i makrofagów, które mogą penetrować zarówno guza, jak i układ nerwowy. Następstwem tego zjawiska mogą być korzystne, jak i niekorzystne efekty dla gospodarza nowotworu.

II. Cel pracy

Celem pracy jest ocena znaczenia czynników neurotroficznych w rozwoju powikłań chemioterapii w obrębie układu nerwowego poprzez:

- 1/ określenie częstości występowania objawów ze strony układu nerwowego oraz ich profilu klinicznego,
- 2/ skorelowanie ekspresji BDNF, NGF, NT3 i NT4 w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej z wynikami oceny klinicznej i klinimetrycznej przed rozpoczęciem i po zakończeniu chemioterapii,
- 3/ zbadanie związku powikłań chemioterapii i ekspresji neurotrofin w w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej z uruchomieniem anty-neuralnej / onkoneuralnej humoralnej odpowiedzi immunologicznej.

III. Pacjenci i metodyka

1. Pacjenci

1.1 Grupa badana

Do badania włączono osoby z rozpoznaną chorobą nowotworową hospitalizowane w Oddziałach Onkologii w Wielkopolskim Centrum Onkologii w Poznaniu oraz w Wielkopolskim Centrum Pulmunologii i Torakochirurgii w Poznaniu. Badanie objęło 133 chorych, w tym 80 mężczyzn i 53 kobiet. Wśród badanych znalazło się 110 chorych na nowotwory płuc hospitalizowanych w Wielkopolskim Centrum Pulmunologii i Torakochirurgii. Natomiast grupa 23 chorych na nowotwory hospitalizowanych w Oddziale Chemioterapii Wielkopolskiego Centrum Onkologii obejmowała:

- 12 chorych na raka piersi,
- 11 chorych na raka jelita grubego

Chorzy poddawaniu byli chemioterapii według poniższych schematów:

- rak piersi:
 - antracykliny (u wszystkich chorych) oraz
 - taksany (u części),
- rak jelita grubego :
 - folfox- 5 fluorouracyl, oksaliplatyna, leukoworyna
- nowotwory płuc
 - drobnokomórkowy – KE / PE
 - niedrobnokomórkowy :
 - gruczołowy – AP/ PN/PK/KG/Erlotynib
 - płaskonabłonkowy – PN/PK/ KN/KG
 - wielkokomórkowy neuroendokryny- PE/KE.

1.2. Kryteria włączenia/wyłączenia z badania

Do analizy zakwalifikowano dorosłych pacjentów z rozpoznaną chorobą nowotworową.

Z badania wyłączono chorych, u których stwierdzono współwystępowanie: ognisk przerzutowych do mózgu i rdzenia kręgowego oraz stosowanie leków cytostatycznych w przeszłości.

1.3. Grupa porównawcza do badań przy zastosowaniu platformy PEBL (The Psychology Experiment Building Language).

W celu porównania wyników testów neuropsychologicznych prowadzonych w oparciu o platformę PEBL u chorych na nowotwory do badania włączono grupę kontrolną składającą się z 19 zdrowych ochotników dobranej pod względem wieku – średnia 56 ± 11 lat. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy wiekiem grupy kontrolnej i grupy badanej ($P > 0,05$).

2. Metodyka

Badanie neurologiczne prowadzono według poniższych protokołów.

2.1. Badanie neurologiczne i ocena klinimetryczna

Badanie neurologiczne

Objawy deficytu neurologicznego oceniano na podstawie zebranego od pacjenta wywiadu lekarskiego oraz ujednoliconego protokołu badania neurologicznego. Z uwagi na tematykę niniejszej pracy szczegółowo analizowano dane mogące sugerować uszkodzenie obwodowego układu nerwowego oraz uszkodzenie mięśni (występowanie parestezji, męczliwości, osłabienia mięśni, kurczów mięśni, bólu, uczucia pieczenia). Protokół badania neurologicznego przedstawiono w załączniku 1.

Dla klinimetrycznej określenia nasilenia i rozpoznania neuropatii cukrzycowej opracowano skalę Katzenwadela (Katzenwadel i wsp. 1987, załącznik 2), którą w niniejszej pracy wykorzystano również do oceny osób z chorobami nowotworowymi.

2.2. Badania laboratoryjne

2.2.1. Ocena ekspresji neurotrofin

Od chorych pobierano **krw pełną** w celu uzyskania surowicy – oznaczano obecność **przeciwciał onkoneuralnych** (immunofluorescencja pośrednia i Line blot) i **antyneuralnych** (immunofluorescencja pośrednia), **krw heparynizowaną** w celu izolacji jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (**PBMC**, peripheral blood mononuclear cells). PBMC izolowano poprzez wirowanie w gradiencie stężeń (Histopaque, Sigma-Aldrich). Do wyizolowanej frakcji komórek dodawano koktailu inhibitorów proteaz (Sigma-Aldrich). Następnie frakcję PBMC porcjowano i przechowywano do czasu analiz w temperaturze -80°C .

Następnie przeprowadzono lizę PBMC, a w uzyskanym po wirowaniu supernatancie oznaczano:

- stężenie białka metodą Lowry (Lowry i wsp. 1951),
- ekspresję czynnika wzrostu nerwów (**NGF**, nerve growth factor),
- ekspresję neurotrofiny 3 (**NT3**),
- ekspresję neurotrofiny 4 (**NT4**) metodą ELISA (R&D, USA).

Ekspresję neurotrofin wyrażano w pg na miligram białka.

2.2.2. Badanie dokładnie określonych przeciwciał onkoneuralnych i innych autoprzeciwciał

Zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami wykrywanie obecności i różnicowanie dokładnie określonych przeciwciał onkoneuralnych (anty-Hu, anty-Yo, anty-Ri, anty-Ma/Ta, anty-CV2, anty-amfizyna) przeprowadzono w dwóch etapach.

Metoda immunofluorescencji pośredniej (EUROIMMUN, Niemcy) stanowiła test przesiewowy, w którym surowica osoby badanej inkubowana była z substratami tkankowymi małpy: mózdzkiem, nerwem obwodowym, trzustką i jelitem.

W przypadku stwierdzenia obecności charakterystycznych wzorców reakcji surowicy badanej z substratem tkankowym obecność dokładnie określonych przeciwciał onkoneuronalnych (anty-Hu, anty-Yo, anty-Ri, anty-Ma/Ta, anty-CV2, anty-amfifizyna) potwierdzano techniką Line blotting z wykorzystaniem rekombinowanych białek antygenów.

Metoda immunofluorescencji pośredniej z zastosowaniem wspomnianych powyżej substratów tkankowych pozwala ponadto na wykrycie obecności innych autoprzeciwciał nie zaliczanych do grupy dokładnie określonych: anty-MAG (ang. myelin-associated glycoprotein), anty-Tr, anty-GAD (ang. glutamic acid decarboxylase), anty-mielina, anty-neuroendothelium, anty-GFAP (ang. glial fibrillary acidic protein) oraz autoprzeciwciał reagujących z antygenami nukleoplazmy.

2.3. Ocena funkcji poznawczych i nastroju

W celu przesiewowej oceny czynności poznawczych wykorzystano test MMSE (ang. Mini-Mental Status Examination) oraz Test Łączenia Punktów (Trail Making Test A & B). Nastrój chorych badano w oparciu o skalę Hamiltona.

2.4. Ocena sprawności chorych za pomocą zobiektywizowanych testów neuropsychologicznych

Analiza sprawności neuropsychologicznej pacjentów przeprowadzona została na podstawie wyników uzyskanych w testach wchodzących w skład platformy PEBL (The Psychology Experiment Building Language).

Wykorzystano następujące testy:

1. powtarzanie cyfr (Digit Span, DSpan) – dla oceny pamięci operacyjnej,
2. czas prostej reakcji (Simple Reaction Time, SRT) – czas odpowiedzi na jeden bodziec,
3. czas reakcji z wyborem (Choice Reaction Time, CRT) – odpowiedź na różne bodźce.

2.4. Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Wyniki badań przedstawiano jako średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe lub medianę i zakres międzykwartyłowy

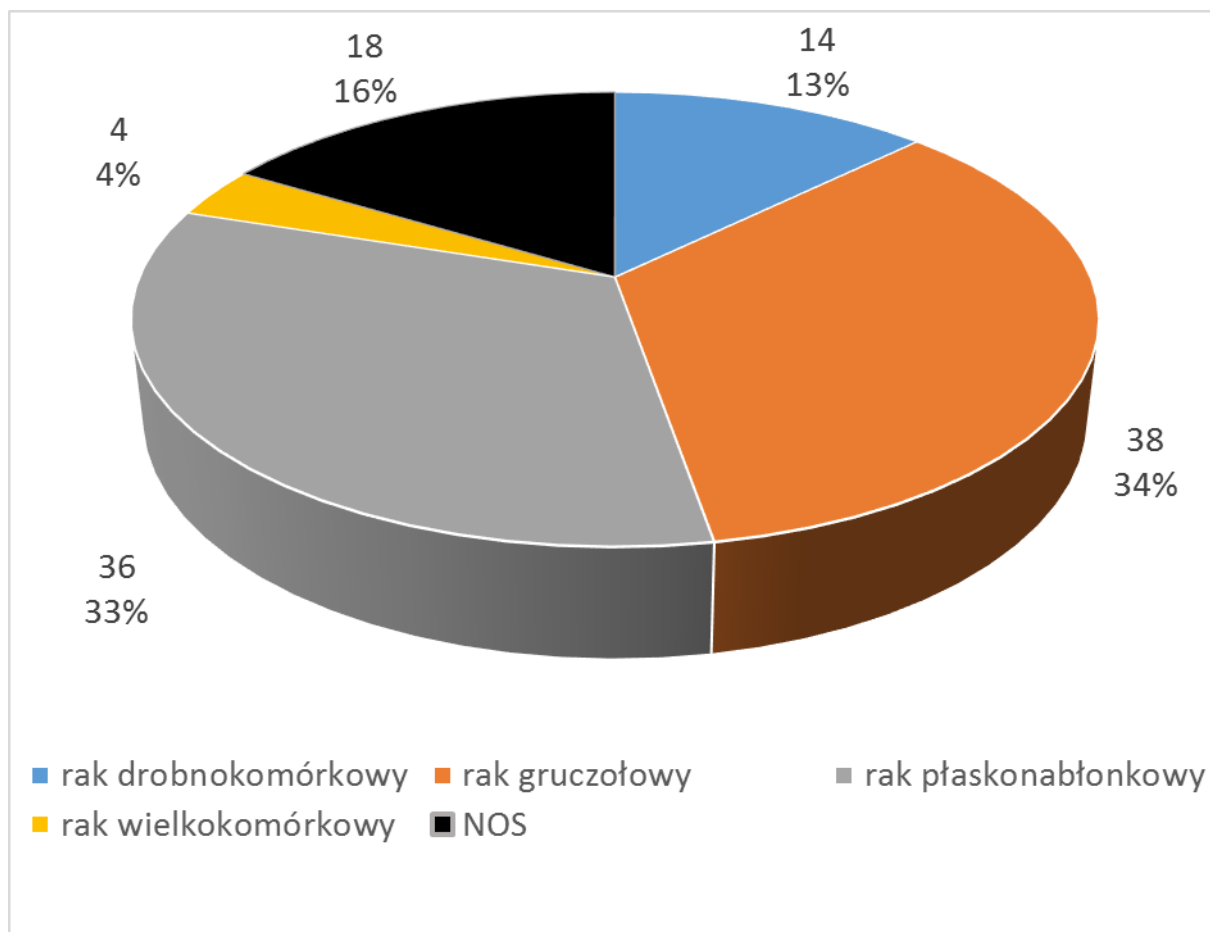
w zależności od charakteru rozkładu zmiennych. Weryfikacji normalności rozkładu zmiennych dokonano testem D'Agostino-Pearsona.

Jeśli zmienne nie spełniały warunku normalności rozkładu dalsze obliczenia wykonywano z wykorzystaniem testów nieparametrycznych. Test U Manna – Whitneya stosowano dla porównania danych niepowiązanych w skali porządkowej lub ilościowej pomiędzy grupami. Zmienne powiązane o rozkładzie niegaussowskim porównywano testem Wilcoxon. Badania statystyczne wykonano z wykorzystaniem licencjonowanego oprogramowania MedCalc. Hipotezy weryfikowano na ustalonym poziomie istotności 0,05.

Niniejsze badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu nr 425/2012.

V. Wyniki

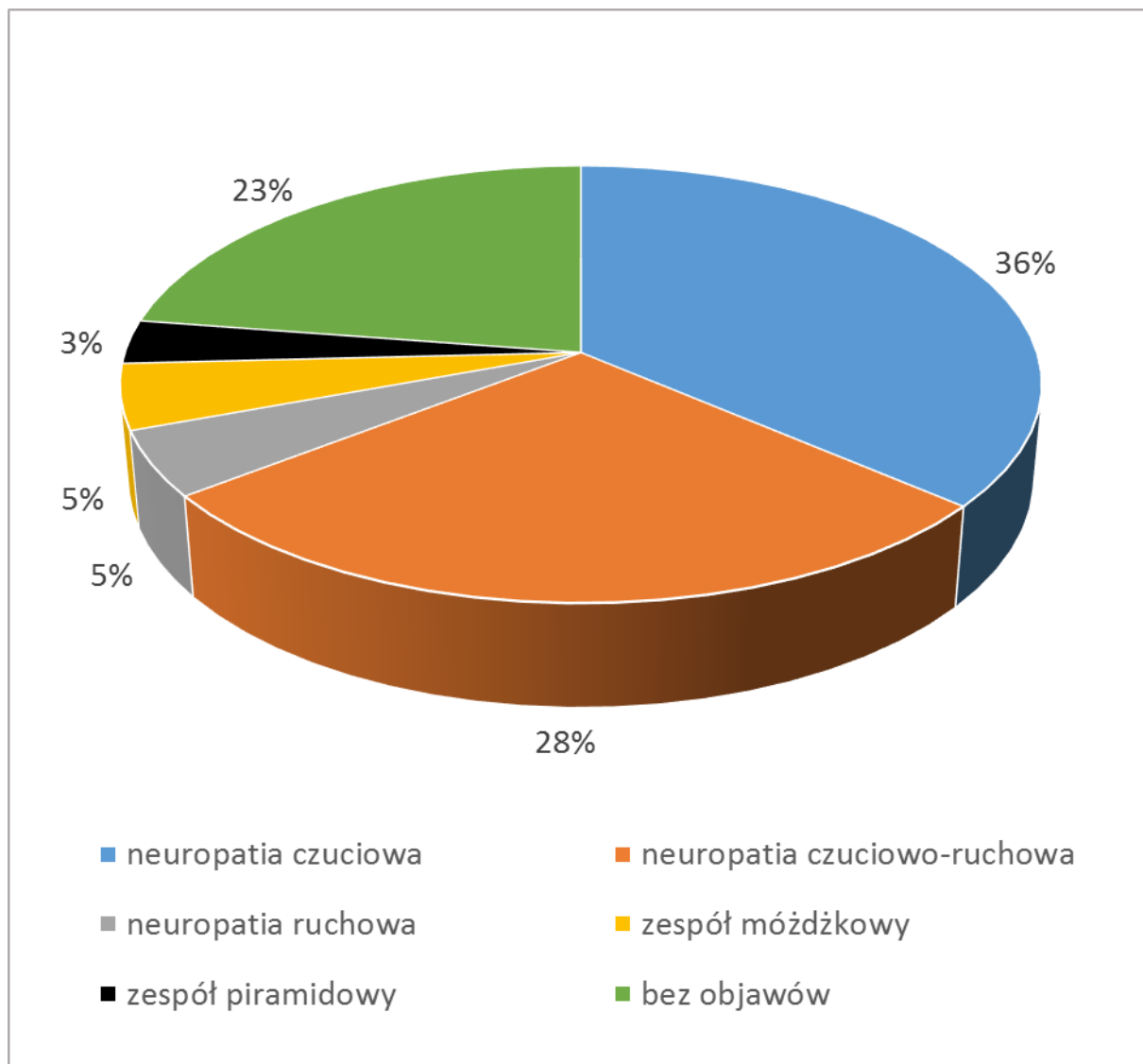
Do badania włączono 133 chorych, w tym 53 kobiet w wieku 59 ± 9 lat i 80 mężczyzn w wieku 62 ± 8 lat. Nie stwierdzono różnic wieku pomiędzy kobietami i mężczyznami. Spośród 110 chorych na raka płuc u 38 chorych rozpoznano raka gruczołowego, u 14 - raka drobnokomórkowego, u 36 - raka płaskonabłonkowego, u 4 - raka wielkokomórkowego, a u 18 - raka nieskalsyfikowanego (NOS, ang. not otherwise specified) (Rycina 6). Ponadto w badaniu uczestniczyło 12 chorych na raka piersi oraz 11 chorych na raka jelita grubego.



Rycina 6. Typy histopatologiczne raka płuca w badanej grupie chorych

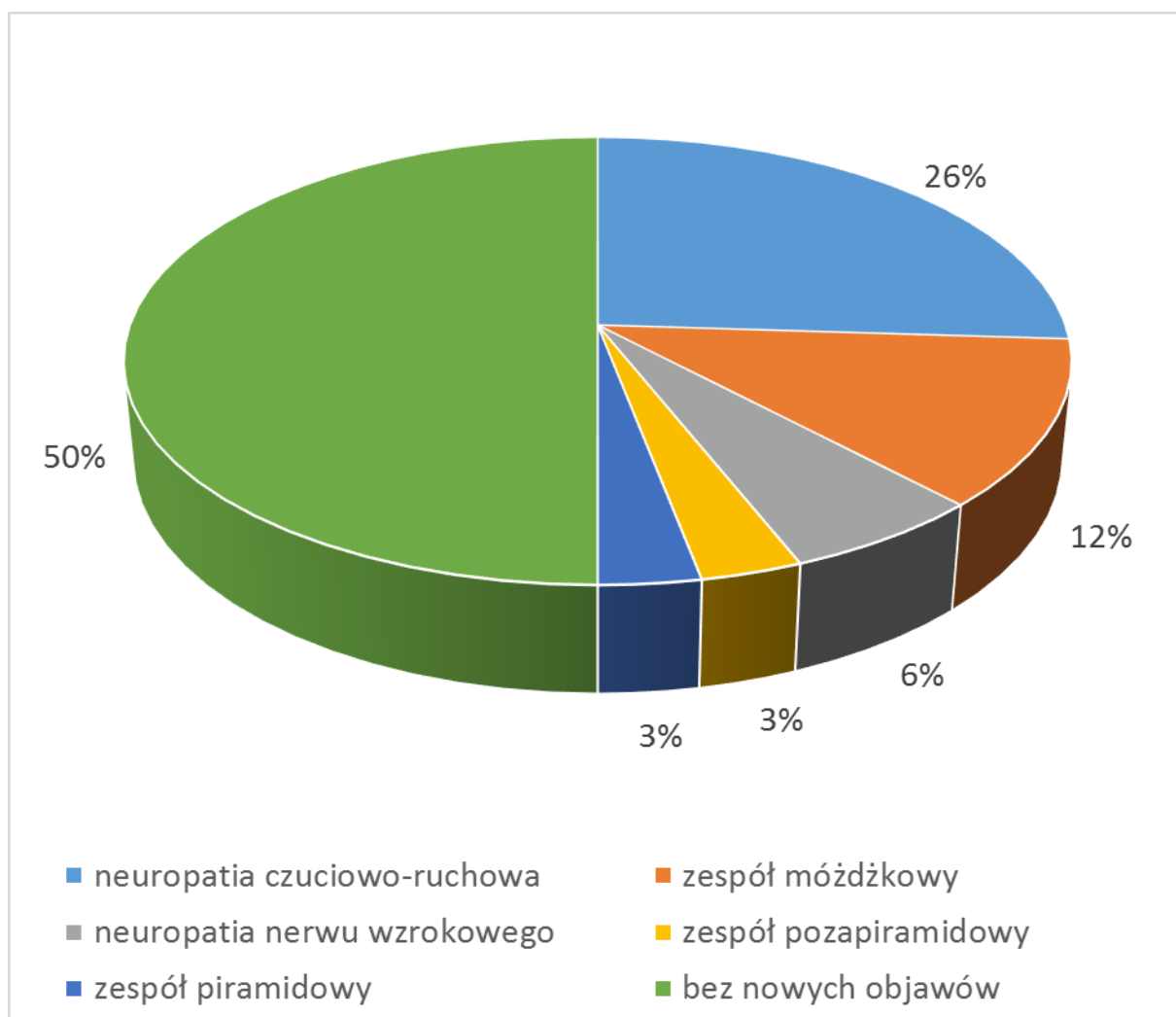
Przy włączaniu do badania odchylenia w badaniu neurologicznym stwierdzano u 77% i dotyczyły one w obwodowego układu nerwowego u 69% chorych, a u 8% – ośrodkowego

układu nerwowego. Wśród objawów dominowała neuropatia czuciowa, neuropatia czuciowo-ruchowa i zespół mózdkowy (Rycina 7).



Rycina 7. Profil objawów ze strony układu nerwowego w badanej grupie chorych na nowotwory przy włączaniu do badania

Po 6 miesiącach u 50% badanych chorych stwierdzono nowe objawy w badaniu neurologicznym, wśród których dominowała neuropatia czuciowo-ruchowa i zespół mózdkowy (Rycina 8). Ocena stopnia nasilenia objawów neuropatii wykazała pogorszenie po 6 miesiącach obserwacji (3,0; 2,0 – 4,0, $P < 0,0001$) w porównaniu z oceną przy włączeniu do badania (2,0; 1,0 – 2,0; mediana, zakres międzykwartyłowy.)



Rycina 8. Profil nowych objawów w badanej grupie chorych na nowotwory po 6 miesiącach obserwacji

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w skali MMSE, TMTA i B ani w skali depresji Hamiltona pomiędzy wartościami wyjściowymi a oceną po 6 miesiącach obserwacji (Tabela 1). Ponadto stwierdzono wyższą punktację w skali MMSE oraz lepsze wyniki TMT A u chorych na nowotwory w porównaniu z wartościami referencyjnymi (Tabela 1). Natomiast wyniki TMT B u badanych chorych na nowotwory były gorsze niż podawane w literaturze wartości referencyjne (Tabela 1). Wykazano również u chorych na nowotwory pogorszenie pamięci operacyjnej w teście DSpan przy włączeniu do badania i w czasie 6-miesięcznej obserwacji w porównaniu z grupą kontrolną (Tabela 1).

Tabela 1. Wyniki oceny chorych w MMSE, TMT A i B, DSpan i skali Hamiltona przy włączaniu i po 6 miesiącach obserwacji

	Wartości wyjściowe	Po 6 miesiącach	Wartości referencyjne (Klich-Rączka A. i wsp.2014; Tombaugh T.N. 2004) / Grupa kontrolna
MMSE (mediana; zakres międzykwartyłowy)	28,0 # 26,0 - 29,0	28,0 # 26,0 - 29,0	26,0 22,0 – 28,0
TMT A [s] (mediana; zakres międzykwartyłowy)	6,4 x 5,4 - 11,0	7,6 x 6,0 - 10,0	33,00 20–49
TMT B [s] (mediana; zakres międzykwartyłowy)	113,5 & 89,5 - 158	137,5 & 104,5 - 171	72,00 40–138
Skala Hamiltona (mediana; zakres międzykwartyłowy)	4,0 2,0 - 8,3	7,0 3,0 - 8,3	0 - 7
DSpan (mediana; zakres międzykwartyłowy)	4,1 * 3,9 - 4,4	4,0 + 3,8 - 4,3	4,7 4,2 - 6,0

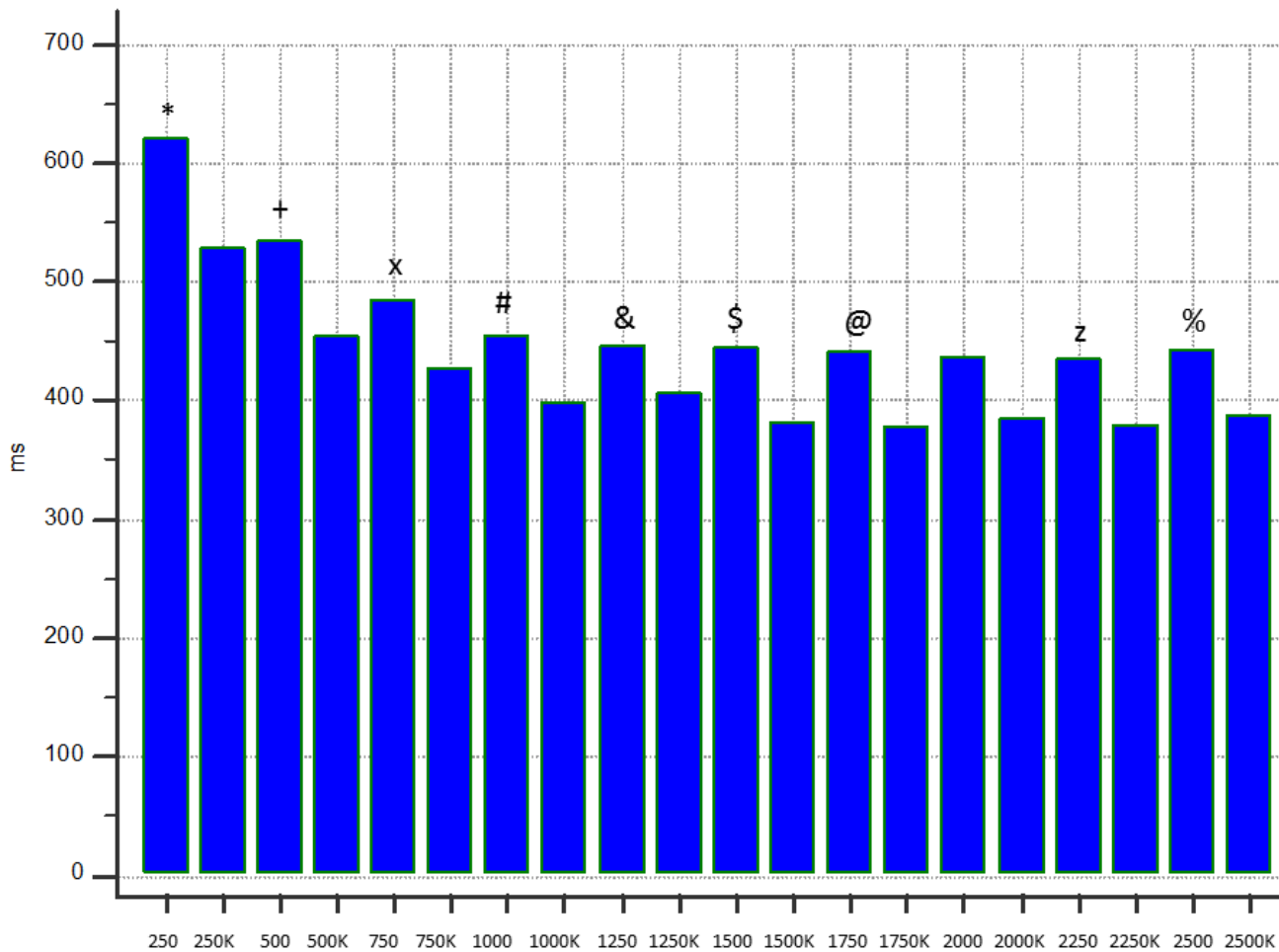
- $P < 0,0001$ – w porównaniu z wartościami referencyjnymi (Klich-Rączka A. i wsp.2014)

X - $P < 0,0001$ - w porównaniu z wartościami referencyjnymi (Tombaugh T.N. 2004)

& - $P < 0,0001$ - w porównaniu z wartościami referencyjnymi (Tombaugh T.N. 2004)

*- $P = 0,0002$, + - $P = 0,0008$ – w porównaniu z grupą kontrolną

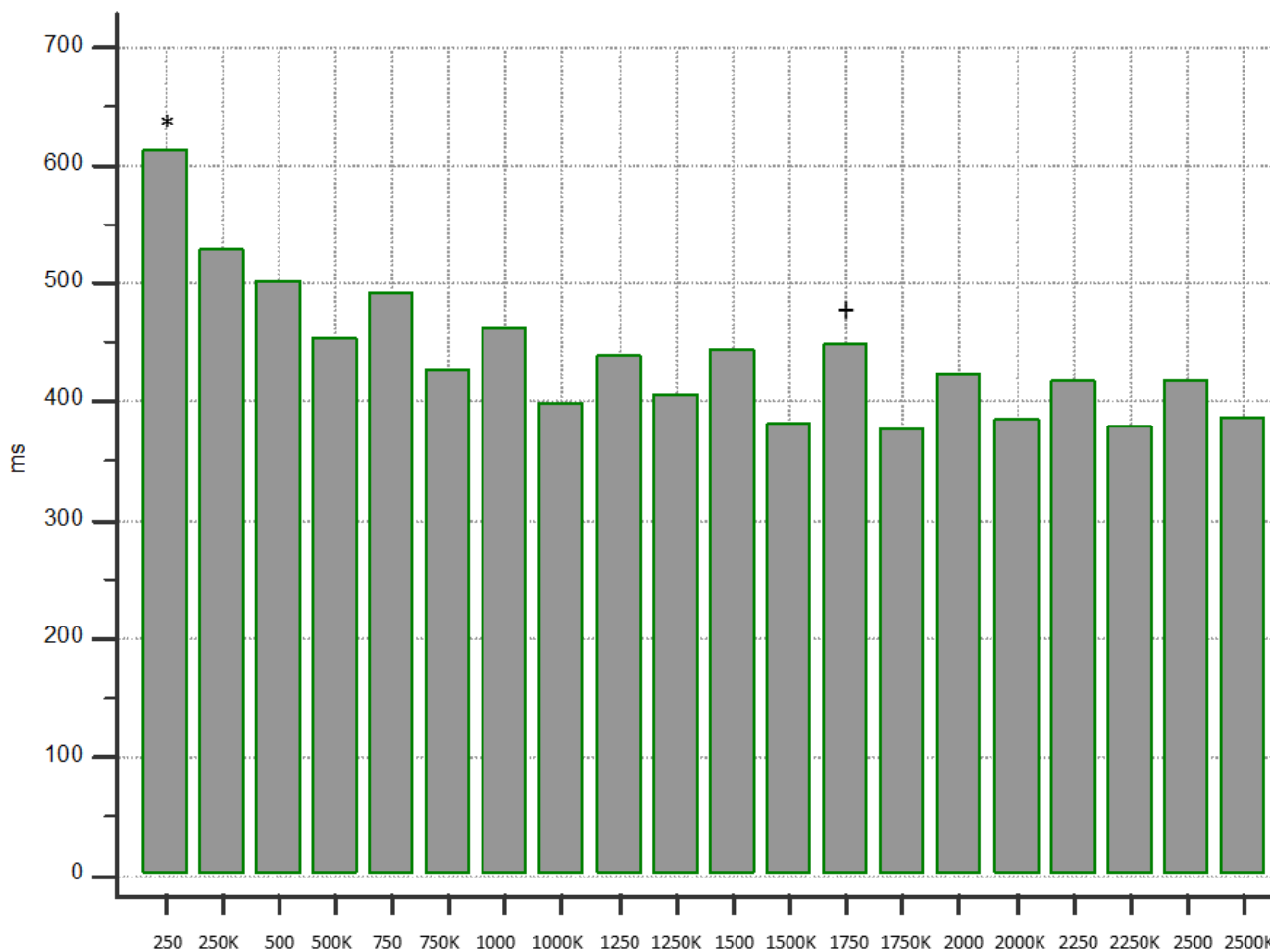
W badaniu czasu reakcji prostej u chorych na nowotwory stwierdzano jego wydłużenie przy niemalże wszystkich czasach stymulacji w porównaniu z grupą kontrolną (Rycina 9), natomiast po 6 miesiącach obserwacji – tylko przy najkrótszych i dłuższych czasach stymulacji (Rycina 10).



Rycina 9. Wyniki oceny chorych na nowotwory w teście reakcji prostej (SRT) przy włączaniu do badania w porównaniu z grupą kontrolną (K)

*- $P = 0,0367$, + - $P = 0,0062$, x- $P = 0,0464$, #- $P = 0,0444$, &- $P = 0,0246$, \$ - $P = 0,0097$,

@- $P = 0,0072$, z - $P = 0,0021$, % - $P = 0,0192$



Rycina 10. Wyniki oceny chorych na nowotwory w teście reakcji prostej (SRT) po 6 miesiącach obserwacji w porównaniu z grupą kontrolną (K)

*- $P = 0,0268$, + - $P = 0,0224$

Grupa kontrolna włączona do porównania wyników w testach wykonywanych na platformie PEBL nie różniła się pod względem wieku od grupy badanej ($P = 0,0833$).

Nie stwierdzano różnic w czasie reakcji prostej u chorych na nowotwory przy włączaniu do badania i po 6 miesiącach obserwacji.

Wyniki oceny czasu reakcji z wyborem zarówno przy włączaniu do badania, jak i po 6 miesiącach obserwacji u chorych na nowotwory były gorsze niż w grupie kontrolnej (Tabela 2). Nie stwierdzono natomiast progresji zaburzeń w CRT pomiędzy wartościami wyjściowymi i po 6 miesiącach u chorych na nowotwory.

Tabela 2. Wyniki badania czasu reakcji z wyborem przy włączaniu chorych do badania, po 6 miesiącach obserwacji oraz w grupie kontrolnej

	Wartości wyjściowe	Po 6 miesiącach	Grupa kontrolna
CRT1 [ms]	10086 *	11252 +	1760
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	7434 - 22776	5611- 17700	1546 -2044
CRT2 [ms]	4509 *	4788 +	1260
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	3387 - 5965	2348 - 7935	1043 - 1835
CRT3 [ms]	3574 *	2522 +	1364
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	1989 - 6664	1809 - 4883	1008 - 1618
CRT4 [ms]	3010 *	2854 +	1310
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	1869 - 5174	1875 - 3941	1066- 1410
CRT5 [ms]	3148 *	2479 +	1184
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	1905 - 5055	1587 -3540	1029 - 1459
CRT6 [ms]	3127 *	2689 +	1146
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	1883 - 4429	1795 - 4855	933 - 1356
CRT7 [ms]	3118 *	3086 +	1088
[mediana; zakres międzykwartyłowy]	2141 - 5532	1720 - 4720	957 - 1416
CRTśrednia [ms]	5493 *	5305 +	5226
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	3765 - 7908	3492 - 9015	3606 - 7138
CRT delta [ms]	-5809 *	-8296,5 +	-7756,0000
(mediana; zakres międzykwartyłowy)	-9488 - 3655	-14979 - 2486	-13750 - 3079

*- $P < 0,0001$ – porównanie CRT przy włączeniu do badania chorych na nowotwory z grupą kontrolną

+ $P < 0,0001$ – porównanie CRT po 6 miesiącach u chorych na nowotwory z grupą kontrolną

W porównaniu grupy badanej podczas pierwszej wizyty do grupy kontrolnej wykazano istotną statystycznie różnicę w teście reakcji z wyborem - CRT1, CRT2, CRT3 , CRT4 , CRT5 , CRT6 , CRT7 , CRT średnia, CRT delta (różnica pomiędzy CRT7 i CRT1). Wyniki te wskazują na wpływ rozwijającej się choroby nowotworowej na pogorszenie funkcji

poznawczych. Wykazano również pogarszanie funkcji wykonawczych po 6 miesiącach obserwacji chorych na nowotwory w porównaniu z grupą kontrolną CRT1, CRT2, CRT3, CRT4, CRT5, CRT6, CRT7, CRT średnia oraz CRT delta (różnica między wartością CRT7 i CRT1) (Tabela 2).

U chorych na raka płuca ekspresja NT4 w PBMC była niższa (0,0; 0,0-0,0 pg/mg białka; mediana; zakres międzykwartylowy; $P=0,0467$) niż u chorych na raka piersi (0,0; 0,0 - 11,3 pg/mg białka). Nie wykazano różnic ($P>0,05$) pomiędzy ekspresją pozostałych neurotrofin w PBMC od chorych z rakiem płuc, piersi i jelita grubego.

Wykazano, że ekspresja NGF w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej koreluje z wynikiem oceny w Teście Łączenia Punktów A wykonanym przy pierwszej wizycie ($r=0,200$ $P=0,0397$) oraz z wynikiem w skali depresji Hamiltona przy pierwszej wizycie ($r=0,196$, $P=0,0469$), jak i po zakończeniu leczenia ($r = 0,345$, $P = 0,0341$).

Wyniki ekspresji NT3 korelowały z wynikami w skali depresji Hamiltona po zakończeniu leczenia ($r = 0,221$, $P = 0,0496$).

Ekspresja neurotrofiny 4 w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej chorych na nowotwory korelowała z wynikami oceny czasu reakcji prostej po stymulacji 1250M podczas pierwszej wizyty ($r = 0,156$, $P=0,0408$). Ponadto ekspresja NT4 w czasie pierwszego badania korelowała z wynikami w oceny czasu reakcji z wyborem przy pierwszej wizycie (CRT5: $r = 0,200$ $P = 0,0074$) i po zakończeniu leczenia (CRT2: $r = 0,313$ $P = 0,0361$; CRT3: $r = 0,391$ $P = 0,0085$; CRT5: $r = 0,326$ $P = 0,0289$). Ekspresja NT4 korelowała również ze średnim czasem reakcji z wyborem badanym po 6 miesiącach obserwacji ($r = 0,300$ $P = 0,0448$). Wykazano również korelację ekspresji NT4 z wynikami testu powtarzania cyfr zarówno przy włączaniu do badania ($r = - 0,159$ $P=0,0358$), jak i po 6 miesiącach obserwacji ($r = 0,394$ $P = 0,0147$).

Wykazano trendy wskazujące na związek ekspresji neurotrofiny BDNF u pacjentów z obecnym deficytem neurologicznym, zwłaszcza w obrębie obwodowego układu nerwowego (Tabela 3).

Tabela 3. Porównanie ekspresji BDNF u chorych bez deficytu i z deficytem neurologicznym

BDNF [pg/mg białka] (mediana; minimum - maksimum)	Chorzy bez deficytu neurologicznego	Chorzy z deficytem neurologicznym	
	2222 0,0 - 3788	5276 * 2361 -10828	
		Chorzy z deficytem w obrębie obwodowego układu nerwowego	Chorzy z deficytem w obrębie ośrodkowego układu nerwowego
		5276 * 2361 -10828	3714

*-P = 0,0590, #- P = 0,0533 (bez deficytu vs chorzy z deficytem obwodowym)

Nie wykazano istotności statystycznej pomiędzy ekspresją NGF (Tabela 4), NT3 (Tabela 5), NT4 (Tabela 6) a obecnością deficytu neurologicznego.

Tabela 4. Porównanie ekspresji NGF u chorych bez deficytu i z deficytem neurologicznym

NGF [pg/mg białka] (mediana; minimum-maksimum)	Chorzy bez deficytu neurologicznego	Chorzy z deficytem neurologicznym	
	0,0 0,0 - 26,4	0,0 0,0 - 58,1	
		Chorzy z deficytem w obrębie obwodowego układu nerwowego	Chorzy z deficytem w obrębie ośrodkowego układu nerwowego
		0,0 0,0 -58,1	0,0 0,0 - 1,0

Tabela 5. Porównanie ekspresji NT3 u chorych z deficytem i bez deficytu neurologicznego.

NT3 [pg/mg białka] (mediana; minimum - maksimum)	Chorzy bez deficytu neurologicznego	Chorzy z deficytem neurologicznym	
	0,0	0,0	
	0,0 - 12,3	0,0 - 52,4	
		Chorzy z deficytem w obrębie obwodowego układu nerwowego	Chorzy z deficytem w obrębie ośrodkowego układu nerwowego
	0,0	0,0	
	0,0 - 53,3	0,0 - 7,3	

Tabela 6. Porównanie ekspresji NT4 u chorych z deficytem i bez deficytu neurologicznego.

NT4 [pg/mg białka] (mediana; minimum - maksimum)	Chorzy bez deficytu neurologicznego	Chorzy z deficytem neurologicznym	
	0,0	0,0	
	0,0 - 173,2	0,0 - 527,2	
		Chorzy z deficytem w obrębie obwodowego układu nerwowego	Chorzy z deficytem w obrębie ośrodkowego układu nerwowego
	0,0	0,0	
	0,0 - 527,2	0,0 - 9,8	

Spośród osób włączonych do badania 105 chorych osiągnęło jeden z trzech punktów końcowych: wizyta kontrolna po zakończeniu leczenia onkologicznego, odmowa dalszego uczestnictwa w badaniu lub zgon. Zależności pomiędzy ekspresją neurotrofin a osiągnięciem punktu końcowego w ocenie katamnesticznej przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 7. Ekspresja neurotrofin w podgrupach badanych chorych w zależności od osiągnięcia punktu końcowego badania

	ukończenie katamnezy	przerwanie chemioterapii z powodu powikłań	wycofanie zgody	zgon
BDNF [pg/mg białka] (mediana; zakres międzykwartylowy)	7841 1362 - 14911	12 458^x	3740 3100 - 5708	2350 1696 - 10828
NGF [pg/mg białka] (mediana; zakres międzykwartylowy)	0,0 0,0 - 12	224 0 - 447⁺	0 0,0 - 52	0 0,0 - 50
NT3 [pg/mg białka] (mediana; zakres międzykwartylowy)	4,3 0,0 - 38	210[#] 0 - 421	0 0,0 - 59,7	0 0,0 - 58
NT4 [pg/mg białka] (mediana; minimum - maksimum)	0 0 - 527	0 0 - 0[*]	0 0 - 0[*]	0 0 - 12

+ - P = 0,008 – w porównaniu do ukończenia katamnezy, wycofania zgody, zgonu

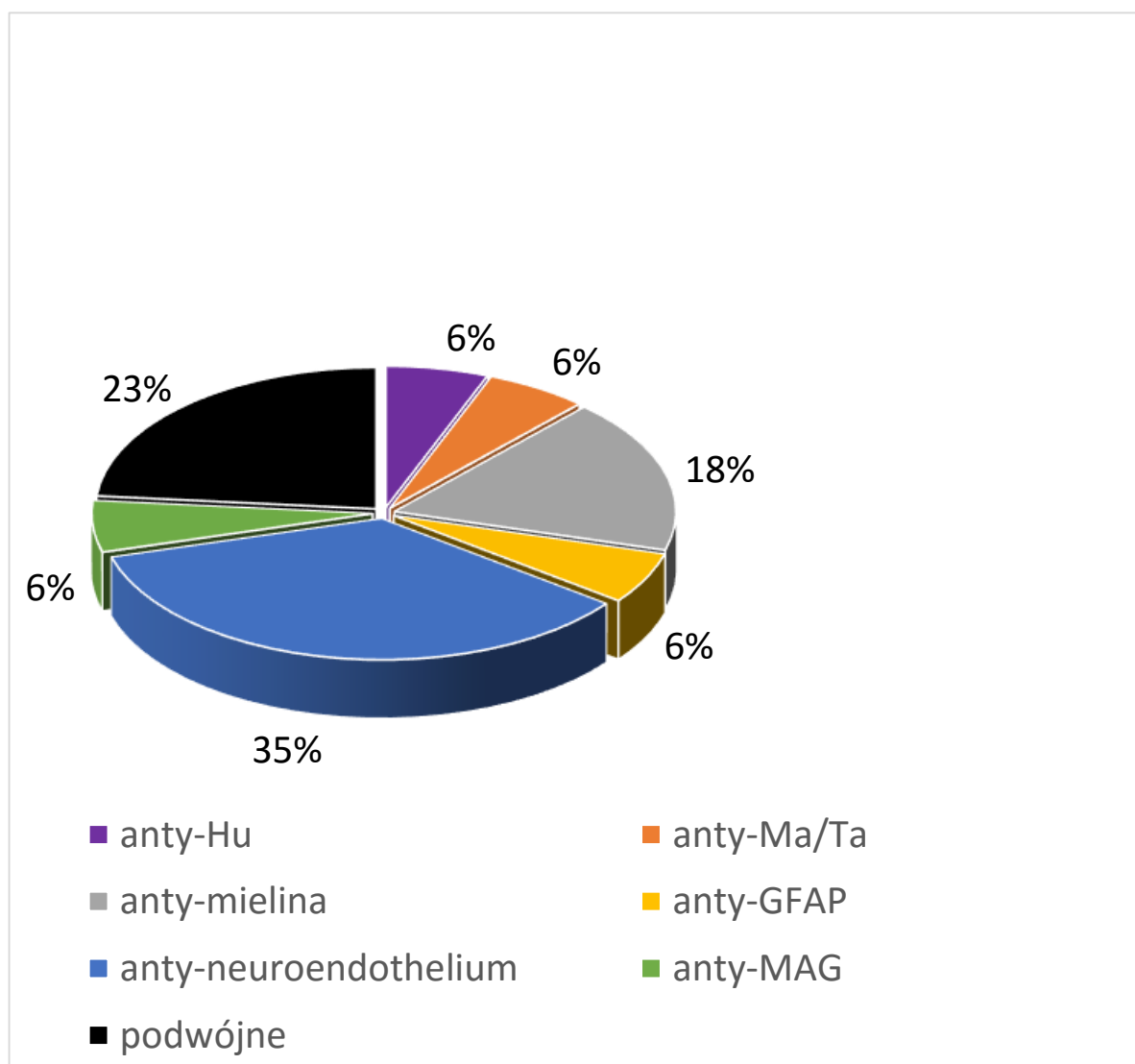
- P < 0,001 - w porównaniu do ukończenia katamnezy, wycofania zgody, zgonu

*- P = 0,0326 – w porównaniu z ukończeniem katamnezy

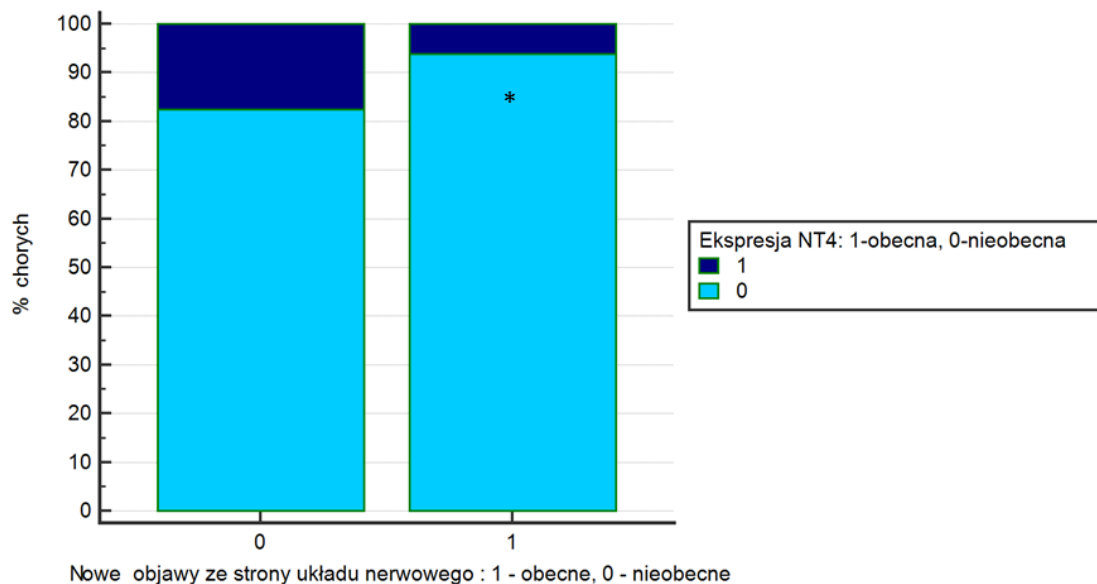
x – pojedynczy przypadek

Autoprzeciwciała wykryto u 36% chorych, z tego u 23% przeciwciała antyneuralne, których charakterystykę przedstawiono na Rycinie 11. Przeciwciała onkoneuronalne (anty-Hu, anty-Ma/Ta) wykryto u 3% chorych. U 12 % chorych wykryto przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu, a w 5% przypadków obserwowano współistnienie przeciwciał (anty-nukleosom + anty-GFAP, anty-nukleosom + anty-mielina; anty-GFAP + anty-neuroendothelium).

Zahamowanie ekspresji NT4 w PBMC związane jest z wystąpieniem nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji chorych na nowotwory (Rycina 12). Natomiast nie wykazano wpływu zmian ekspresji BDNF, NGF i NT3 na pojawienie się nowych objawów.



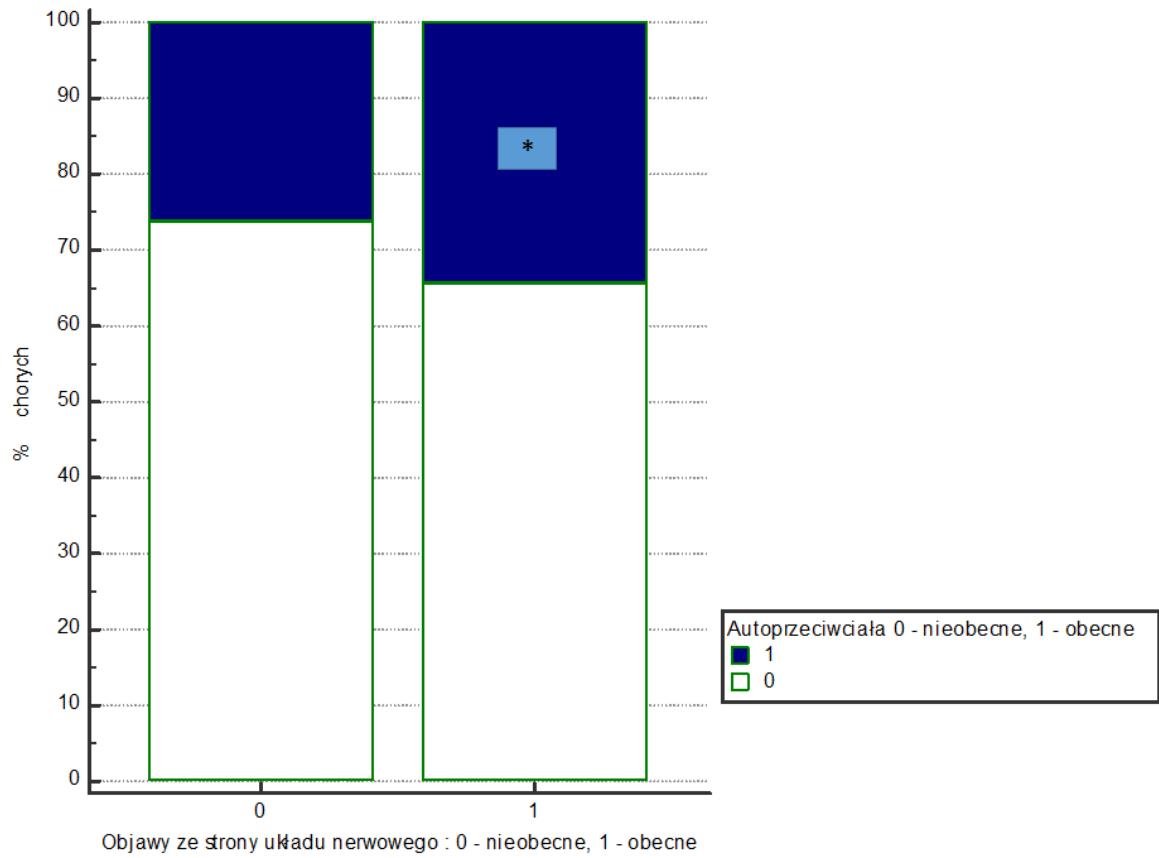
Rycina 11. Profil przeciwciał antyneuralnych u chorych na nowotwory



Rycina 12. Zależność pomiędzy zahamowaniem ekspresji NT4 w PBMC a wystąpieniem nowych objawów u chorych na nowotwory ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji

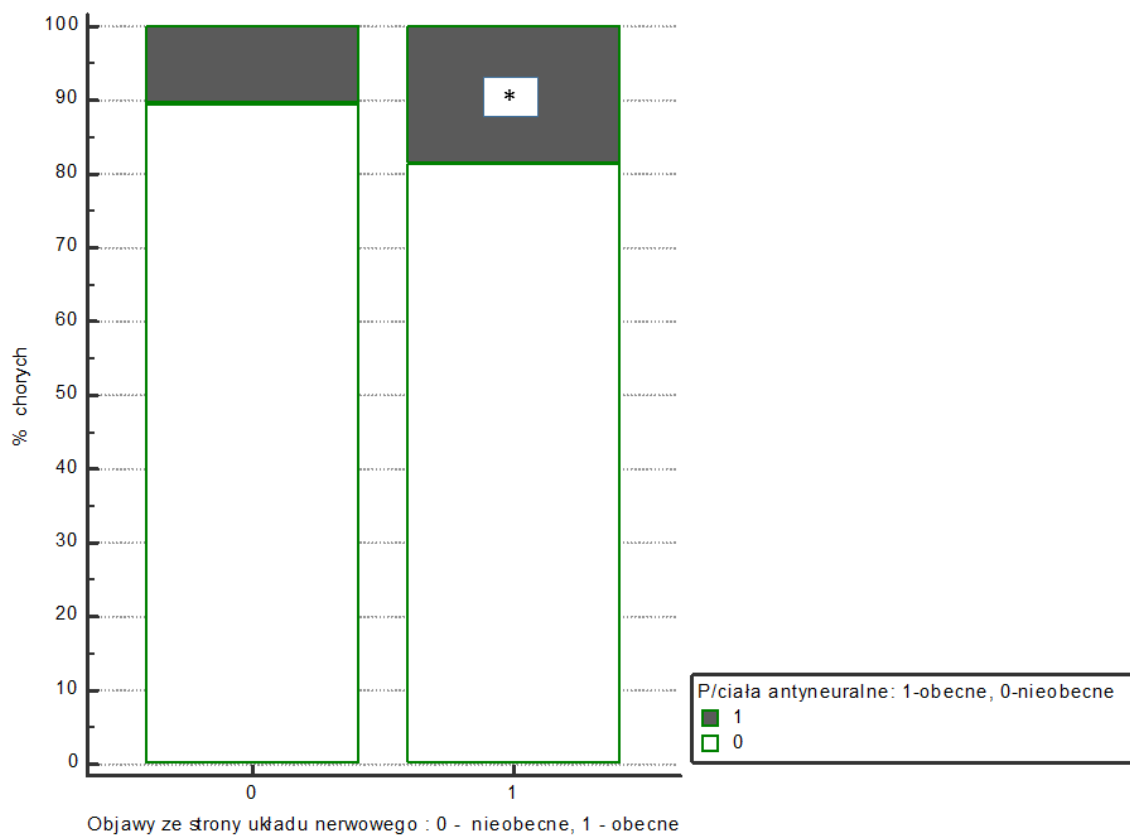
*- P = 0,0075

U chorych z autoprzeciwciałami niezależnie od ich rodzaju częściej występowały objawy ze strony układu nerwowego przy włączeniu do badania (Rycina 13). Związek występowania przeciwciał antyneuralnych wykazano u chorych z deficytem neurologicznym stwierdzanym przy włączeniu do badania (Rycina 14).



Rycina 13. Zależność pomiędzy występowaniem objawów ze strony układu nerwowego u chorych na nowotwory przy włączaniu do badania od obecności wszystkich typów autoprzeciwciał

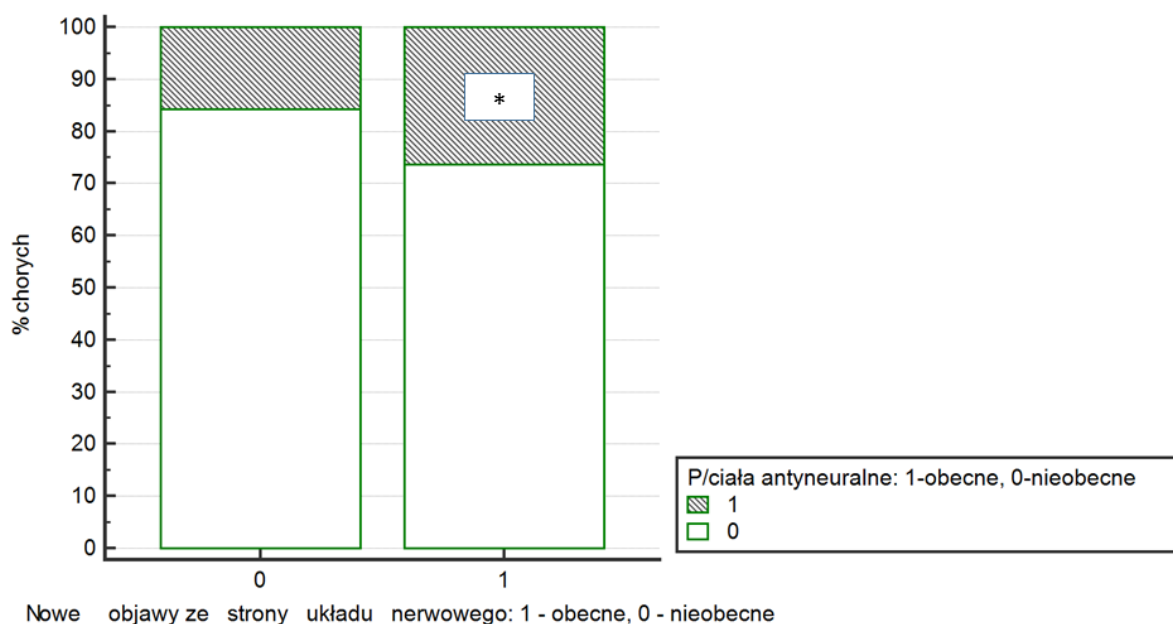
*- $P = 0,0025$



Rycina 14. Zależność pomiędzy występowaniem objawów ze strony układu nerwowego u chorych na nowotwory przy włączaniu do badania od obecności przeciwciał antyneuralnych

* - $P < 0,0001$

Nie wykazano związku pomiędzy występowaniem wszystkich autoprzeciwciał a pojawieniem się nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji, natomiast zależność taka była obserwowana w przypadku obecności przeciwciał antyneuralnych (Rycina 15).



Rycina 15. Zależność pomiędzy występowaniem nowych objawów ze strony układu nerwowego u chorych na nowotwory po 6 miesiącach obserwacji od obecności przeciwciał antyneuralnych

*- P = 0,0127

Względne ryzyko wystąpienia nowych objawów u chorych z ekspresją BDNF w PBMC było zmniejszone o blisko połowę (RR= 0,5455, 95% CI: 0,3180 - 0,9355, P = 0,0277). w porównaniu z chorymi, u których ekspresja BDNF w PBMC została całkowicie zahamowana.

U chorych z nasilonymi objawami neuropatii przy włączeniu do badania (ocena w skali Katzenwadela = 6) stwierdzono zwiększoną ekspresję NT4 (Tabela 8). Zjawisko to utrzymywało się po 6 miesiącach obserwacji (Tabela 8). Zależności takich nie obserwowano w przypadku pozostałych badanych neurotrofin.

Tabela 8. Związek nasilenia objawów neuropatii z ekspresją NT4 w PBMC

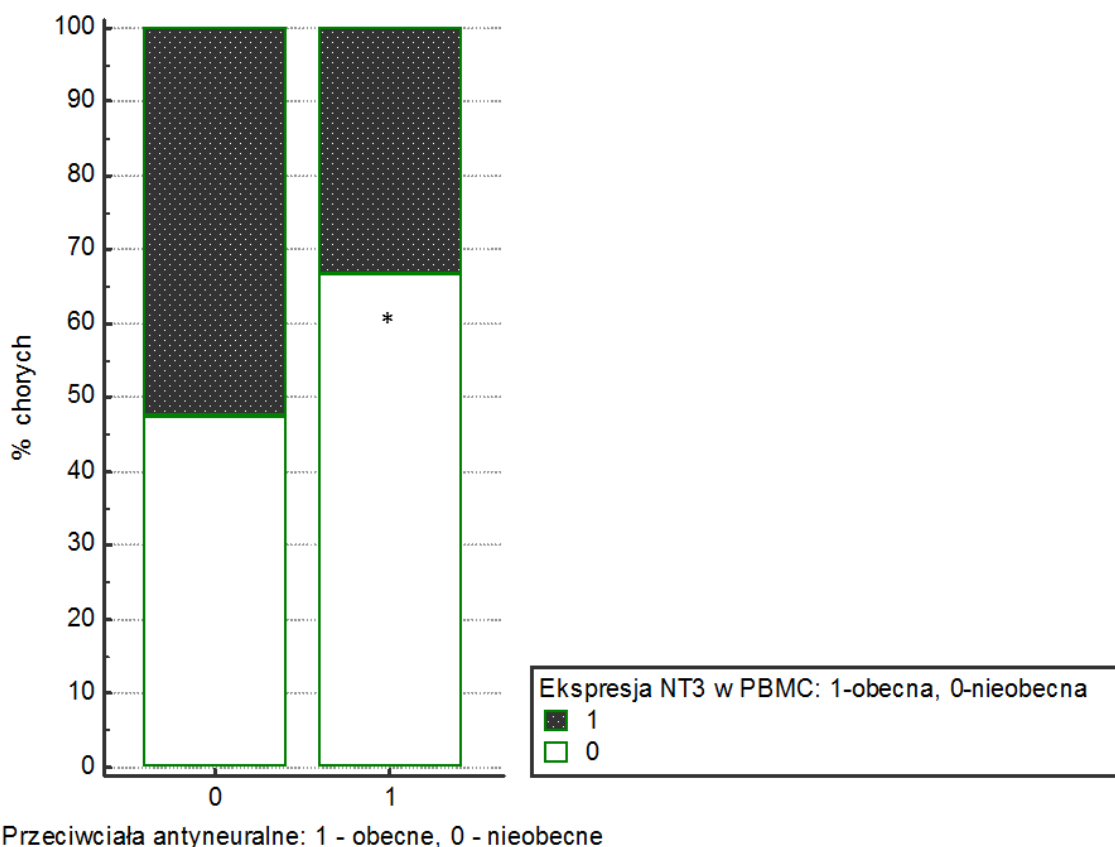
Ocena w skali Katzenwadela	Ekspresja NT4 w odniesieniu do nasilenia objawów neuropatii Przy włączeniu do badania	Ekspresja NT4 w odniesieniu do nasilenia objawów neuropatii po 6 miesiącach obserwacji
1	0,0 0,0 – 0,0	0,0 0,0 – 0,0
2	0,0 0,0 - <u>25,7</u>	0,0 0,0 - <u>25,7</u>
3	0,0 0,0 – 0,0	0,0 0,0 – 0,0
4	0,0 0,0 - <u>527,2</u> *	0,0 0,0 - <u>3,7</u>
5	x	527,2 +
6	x	0,0 0,0 – 0,0

*- P = 0,005 w porównaniu do nasilenia neuropatii w skali Katzenwadela 1,2 i punkty

+ - P < 0,001

x – nie stwierdzono nasilenia neuropatii sięgającego 5 i 6 punktów w skali Katzenwadela

Obecność przeciwciał antyneuralnych związana jest z całkowitym zahamowaniem ekspresji NT3 w PBMC (Rycina 16). Nie stwierdzono takiej zależności dla innych neurotrofin.



Rycina 16. Zależność pomiędzy występowaniem przeciwciał antyneuralnych a zahamowanie ekspresji NT3 w PBMC

*- $P = 0,0059$

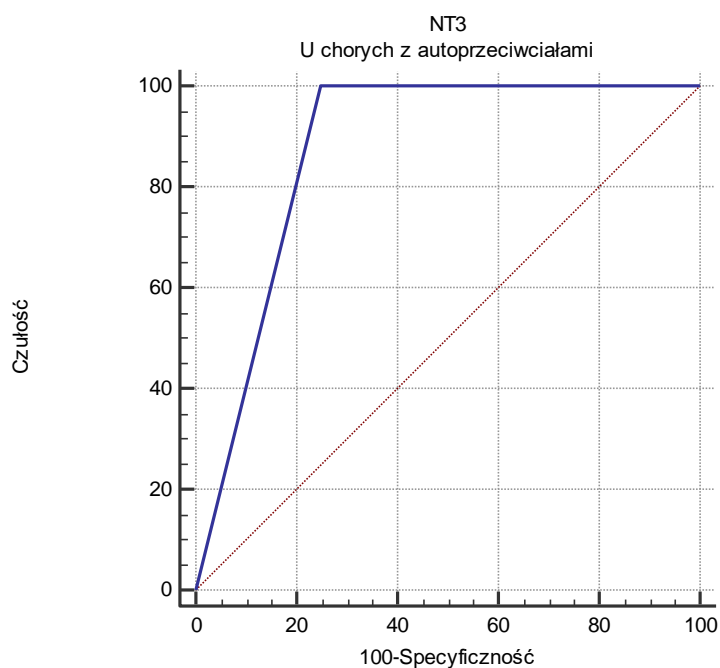
Oceniając czynniki wpływające na obecność autoprzeciwciał u chorych na nowotwory w modelu regresji wielorakiej obejmującym wiek, ekspresję BDNF, NGF, NT3 i NT4 wykazano, że obniżenie w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej ekspresji NT4 (beta = - 0,12, $P < 0,05$) i NGF (beta = - 0,16, $P < 0,05$) wiąże się z odpowiedzią humoralną.

W modelu regresji wielorakiej obejmującym wpływ wieku, obecności autoprzeciwciał, oceny w teście MMSE, TMT-A i B, ekspresję BDNF, NGF, NT3 i NT4 na występowanie deficytu neurologicznego przy włączaniu chorych do badania wiek był niezależnym czynnikiem (beta = 0,169; $P < 0,05$).

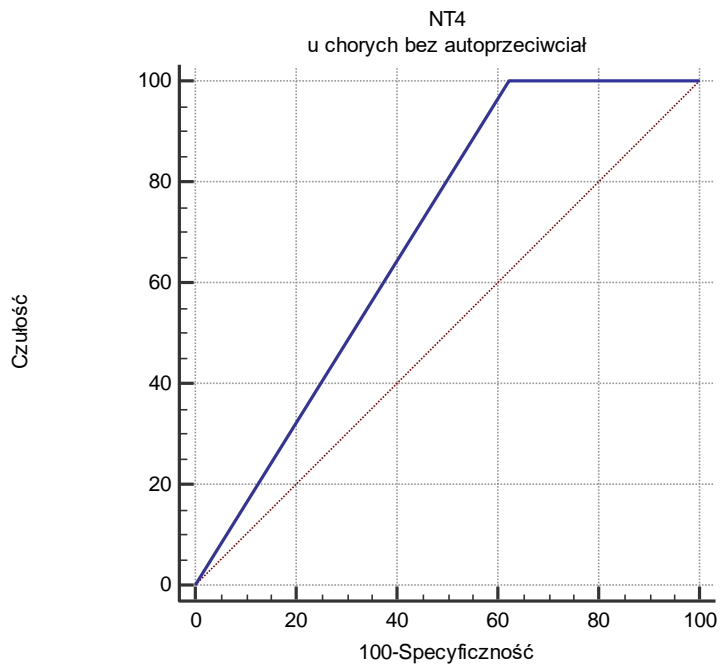
W modelu regresji wielorakiej obejmującym wpływ wieku, obecności autoprzeciwciał, oceny w teście MMSE, TMT-A i B, ekspresji BDNF, NGF, NT3 i NT4 na wystąpienie nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji –

neurotrofina 4 okazała się być niezależnym czynnikiem, którego niedobór w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej wpływał na wystąpienie nowych objawów w przebiegu chemioterapii ($\beta = -0,13$; $P < 0,0001$).

Ocena przydatności oznaczania ekspresji neurotrofin w zakresie prognozowania wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego podczas chemioterapii na podstawie krzywych ROC wykazała, że istotnym markerem w tym zakresie jest NT3 u chorych z obecnością autoprzeciwciał (area under the ROC curve, pole pod krzywą - $AUC = 0,875$, $P = 0,0027$) (Rycina 17) oraz NT4 u chorych bez autoprzeciwciał ($AUC = 0,688$, $P = 0,0404$) (Rycina 18).



Rycina 17. Krzywa ROC dla NT3 jako markera wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego u chorych z obecnością autoprzeciwciał



Rycina 18. Krzywa ROC dla NT4 jako markera wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego u chorych bez obecności autoprzeciwciał

V. Dyskusja

W przebiegu choroby nowotworowej dochodzi do rozwoju objawów deficytu neurologicznego, które wymagają różnicowania etiologicznego. Mogą być one następstwem bezpośredniego wpływu nowotworów przyjmując postać przerzutów do układu nerwowego lub nacieku, spowodować je mogą również zaburzenia homeostazy związane z nowotworem (dyselektrolitemie, zaburzenia gospodarki kwasowo-zasadowej, zaburzenia hormonalne, kacheksja itd.) lub neurologiczne zespoły paranowotworowe. W niniejszej pracy obserwowano występowanie nowych objawów ze strony ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, pogarszanie się funkcji poznawczych, rozwój humoralnej odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciw antygenom układu nerwowego oraz zmiany w ekspresji czynników neurotroficznych w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej.

W niniejszym badaniu przeważająca liczba chorych już podczas badania kwalifikującego wykazywała kliniczne cechy deficytów neurologicznych. Obserwacja ta jest zgodna z wynikami dotychczas publikowanych badań. Wykazywały one, że objawy związane z uszkodzeniem układu nerwowego w przebiegu choroby nowotworowej płuc stwierdza się u 64% procent chorych, a najczęściej - w 30 % przyjmowały one postać neuropatii czuciowej lub - w 12 % zespołu mózdkowego (Stefens-Stawna i wsp. 2013). Natomiast u grupy chorych na raka piersi nawet 78% zgłaszało objawy neuropatii czuciowej-ruchowej przed włączeniem jakiegokolwiek leczenia onkologicznego (Peterson i wsp. 1994). Często także w przebiegu nowotworów piersi, jak i układu rozrodczego u kobiet rozwijają się objawy zespołu mózdkowego (Rojas-Marcos 2003). Znacznie rzadziej objawy zespołu mózdkowego występują w przebiegu nowotworów głowy i szyi. Opisywane są w tej grupie chorych pojedyncze przypadki pod postacią ataksji chodu oraz zawrotów głowy (Huemer i wsp. 2015). W niniejszej pracy najczęstszą postacią deficytu neurologicznego stwierdzanego przy włączaniu chorych do badania stanowiła neuropatia czuciowa, neuropatia czuciowo-ruchowa oraz zespół mózdkowy. Po sześciomiesięcznej obserwacji u połowy chorych stwierdzono nowe objawy w badaniu neurologicznym, wśród których dominowała

neuropatia czuciowo-ruchowa i zespół mózdkowy. Spośród przyczyn ich wystąpienia należy wziąć pod uwagę wpływ stosowanej chemioterapii.

Chemioterapeutyki wywołują niekorzystny wpływ na układ nerwowy w stopniu uzależnionym od wieku chorego, wysokości dawki leku, skumulowanej dawki leku, czasu trwania leczenia, stosowania innych leków lub współistniejących chorób, a zwłaszcza cukrzycy i zespołu zależności alkoholowej (Wolf i wsp. 2008). Wrażliwość chorych na neurotoksyczny wpływ chemioterapeutyków jest indywidualnie zmienna i uwarunkowana genetycznie. Wpływ czynników genetycznych na neurotoksyczne działanie chemioterapeutyków dotyczy 20 do 95% przypadków (Scripture i wsp. 2005). Wśród nich znaczenie mają polimorfizmy genów kodujących enzymy zaangażowanych w detoksykację chemioterapeutyków takich jak transferazy glutationowe (Ekhart i wsp. 2009).

Wśród chorych leczonych neurotoksyczną chemioterapią nawet 90% rozwija objawy neuropatii (Fallon 2013). Leczenie oksaliplatyną raka jelita grubego powoduje głównie uszkodzeniem obwodowego układu nerwowego i objawy neuropatii czuciowej (Argyriou i wsp. 2007). Objawy mogą pojawić się w czasie 24-48 godzin od wlewu leku, występują również w czasie odległym od zakończenia leczenia. Leczenie przewlekłe oksaliplatyną prowadzi do nadreaktywności nerwów obwodowych i do neuropatii aksonalnej (Lehky i wsp. 2004). Natomiast stosowanie taksanów u chorych na raka piersi powoduje neuropatię czuciową w około 50% przypadków (Kus i wsp. 2015).

Zaburzenia funkcji poznawczych w przebiegu choroby nowotworowej mogą być powikłaniem chemioterapii, radioterapii oraz rozwinąć się na skutek reakcji immunologicznej w przebiegu neurologicznych zespołów paranowotworowych. W przebiegu drobnokomórkowego raka płuca (SCLC) często dochodzi do zaburzeń funkcji poznawczych. Szacuje się, że ich występowanie dotyczy 15-90% chorych (Kanard 2004), a zaburzenia pamięci zaobserwowano aż u 70-80% chorych. Objawy związane z dysfunkcją płata czołowego objawy prezentowało 38% chorych, natomiast zaburzenia koordynacji ruchowej występowały u ok 30% pacjentów (Myers 1995). Po leczeniu cytostatykami, głównie związkami platyny, u chorych na drobnokomórkowego raka płuca dochodzi do polekowego pogorszenia funkcji poznawczych. Dotyczą one głównie zdolności wzrokowo-przestrzennych oraz pogorszenia fluencji słownej. Natomiast w przebiegu niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) jeszcze przed włączeniem leczenia można zaobserwować pogorszenie werbalnej pamięci operacyjnej w porównaniu do chorych na drobnokomórkowego raka płuca i do zdrowych chorych z grupy kontrolnej. Zaburzenia funkcji poznawczych nieco częściej

występują u chorych na SCLC (39%) niż na NSCLC (30%) (Simó i wsp. 2015). Podobnie zaburzenia funkcji poznawczych głównie pod postacią pogorszenia pamięci operacyjnej występują u chorych na raka piersi w porównaniu do zdrowych pacjentów stanowiących grupę kontrolną. Leczenie cytostatykami nie wpływało na powyższe funkcje i nie stwierdzano różnic pomiędzy badaniem przed leczeniem i po zakończonej terapii (Jim i wsp. 2012). Badania funkcji poznawczych chorych na raka jelita grubego nie wykazały ich związku ze stosowaną w tych przypadkach chemioterapią w schemacie FOLFOX (oksaliplatyna, leukoworyna, 5-fluorouracyl) (Andreis i wsp. 2013).

W niniejszej pracy wykazano pogorszenie pamięci operacyjnej badanej testem DSpan oraz funkcji wykonawczych ocenianych w Teście Łączenia Punktów B oraz w testach SRT i CRT z platformy PEBL w porównaniu z grupą kontrolną. U badanych chorych nie występowały czynniki ryzyka powikłań chemioterapii, ani choroby współistniejące mogące wpływać na funkcje poznawcze. Nie wykazano również pogarszania nastroju u chorych na nowotwory podczas 6-miesięcznej obserwacji.

Wpływ ekspresji neurotrofin na procesy poznawcze badano w wielu jednostkach chorobowych. U chorych na schizofrenię badano zależności pomiędzy ekspresją neurotrofiny BDNF w porównaniu występujących zaburzeń funkcji poznawczych. Wykazano dodatnie korelacje między stężeniem BDNF we krwi obwodowej a zdolnością do rozwiązywania problemów i zadań (Ahmed i wsp. 2015).

Zaburzenia funkcji poznawczych i depresja obserwowane są w przebiegu choroby nowotworowej. Klinicznie ważnym jest jednak różnicowanie depresji ze stanami smutku i przygnębienia związanymi z otrzymanymi informacjami o rozpoznaniu i możliwym przebiegu choroby. Poza tym depresja i zaburzenia funkcji poznawczych mogą dodatkowo pogarszać obniżoną już jakość życia pacjentów poddawanych chemioterapii i odczuwanie związanych z nią powikłań wczesnych, jak i późnych. W związku z tym, że BDNF jest możliwym markerem depresji, jego ekspresja była oceniana u pacjentów z rozpoznaną chorobą nowotworową i depresji. Nie wykazano wpływu BDNF na nasilenie objawów depresji i ciężkości jej przebiegu u chorych na nowotwory. Wykazano natomiast, że zmniejszenie ekspresji BDNF wpływa na pogorszenie pamięci w zakresie pamięci świeżej (McIntyre i wsp. 2013).

Piśmiennictwo dostarcza rozbieżnych danych dotyczących wpływu ekspresji BDNF na funkcje poznawcze u osób w podeszłym wieku. Wykazywano znaczne zmniejszenie się stężenia BDNF w surowicy (Ziegenhorn i wsp. 2007), jak i jego wzrost (Elfvig i wsp.,

2012). Natomiast u osób w wieku podeszłym obniżenie stężenia BDNF w osoczu związane jest z gorszymi wynikami w teście MMSE (Navarro-Martínez i wsp. 2015).

BDNF nabiera znaczenia w kontekście zaburzeń funkcji poznawczych u osób z chorobą Parkinsona. W czasie trwania choroby jednocześnie z nasilaniem się zaburzeń poznawczych, obserwuje się wadliwą produkcję i obniżone stężenie BDNF w surowicy. Wykazano również dodatnią korelację pomiędzy stężeniem BDNF a lepszymi wynikami w testach neuropsychologicznych dotyczących uwagi i procesów wykonawczych w przebiegu choroby Parkinsona (Costa i ws 2015). Natomiast trening funkcji poznawczych w przebiegu choroby Parkinsona prowadzi do wzrostu stężenia BDNF. Działania takie są szczególnie korzystne dla osób z chorobą Parkinsona i łagodnymi zaburzeniami funkcji poznawczych (Angelucci i wsp. 2015).

Wśród doniesień dotyczących wpływu neurotrofiny BDNF na funkcje poznawcze w przebiegu choroby Alzheimerera znajdują się rozbieżne dane. Z jednej wykazano obniżenie stężenia BDNF we krwi w miarę pogłębiania się otępienia (Forlenza i wsp. 2015). Z drugiej natomiast wykazano zwiększenie stężenia BDNF w przebiegu otępienia tłumacząc to zjawisko jako efekt kompensacyjny na objawy degeneracji komórek nerwowych (Faria i wsp. 2014).

Spośród niewielu doniesień dotyczących zmian pozostałych czynników neurotroficznych i ich związków z zaburzeniami funkcji poznawczych wykazano że, w przebiegu choroby Alzheimerera narastanie otępienia związane jest z obniżeniem stężenia NGF w surowicy (Forlenza i wsp. 2015). W przebiegu stwardnienia rozsianego, w postaci rzutowo-remisyjnej, NGF wykazał wpływ ochronny na procesy poznawcze (Kalinowska-Łyszczarz i wsp., 2012).

Zasoby piśmiennictwa są bardzo ubogie w publikacje dotyczące wpływu ekspresji czynników neurotroficznych na funkcje poznawcze w przebiegu choroby nowotworowej. BDNF wykazał ochronny wpływ przed pojawieniem się zaburzeń poznawczych w przebiegu chemioterapii wczesnego raka piersi. Niestety mechanizmy tego działania nie zostały jeszcze poznane (Ng i wsp., 2016).

W niniejszej pracy wykazano że zwiększona ekspresja NGF w PBMC u chorych na nowotwory jest związana z pogorszeniem w zakresie funkcji wykonawczych. Poza tym zwiększona ekspresja NGF jak i NT3 związane jest z nasileniem objawów depresji w przebiegu choroby nowotworowej. Wykazano, że wzrost ekspresji NT4 w PBMC u chorych włączanych do badania towarzyszy zaburzeniom funkcji poznawczych. Podobnie leczenie

chemioterapią u pacjentów ze zwiększoną ekspresją NT4 związane jest z pogorszeniem w zakresie funkcji poznawczych. Zjawiska te związane mogą być z kompensacyjnym pobudzeniem ekspresji neurotrofin u chorych z zaburzeniami czynności poznawczych. Takie zjawisko opisywane było już w literaturze przedmiotu. Wykazano zależność pomiędzy stężeniem neurotrofin a rozwojem reakcji zapalnej. Zjawisko takie obserwowano w przebiegu choroby Alzheimera wykazując wzrost stężenia BDNF w surowicy związany z odczynem zapalnym i neurodegeneracją (Faria i wsp. 2014). Stężenie BDNF wzrastało również u chorych, którzy rozwijali zespół majaczeniowy w oddziałach intensywnej terapii (Grandi i wsp. 2011). Stwierdzono również, że produkcja BDNF i NGF przez makrofagi i mikroglej potwierdza ich związek z reakcją zapalną oraz kompensacyjny neuroprotekcyny wpływ (Batchelor i wsp., 1999, Frade i wsp. 1998). Z kolei u chorych na nowotwory, u których rozwijał się zespół majaczeniowy, jak też i u osób bez zaburzeń świadomości stwierdzano obniżenie stężenia BDNF w surowicy (Brum i wsp. 2015). Natomiast u chorych onkologicznych z depresją odnotowano istotny wzrost stężenia interleukiny 6 w surowicy przy utrzymującym się niezmiennym stężeniu BDNF w porównaniu z chorymi bez depresji (Jehn i wsp. 2015). Obserwacje te wskazują zarówno na złożoność zależności produkcji i wydzielania neurotrofin o innych ogólnoustrojowych procesów i patologii oraz na występowanie wielu możliwych czynników zakłócających. Zjawiska te mają przede wszystkim wpływ na wyniki analiz stężeń neurotrofin w surowicy lub osoczu. Mając świadomość tych ograniczeń w niniejszej pracy prowadzono oznaczenia ekspresji neurotrofin w PBMC, które stanowią łatwo dostępny materiał komórkowy. Jednakże nie są dostępne w literaturze dane dotyczące wpływu choroby nowotworowej i chemioterapii na ekspresję neurotrofin w PBMC.

W niniejszym badaniu określono także zależności pomiędzy ekspresją neurotrofin a stanem neurologicznym chorych w przebiegu leczenia onkologicznego. U chorych z deficytem neurologicznym ekspresja BDNF w PBMC była zwiększona przy włączaniu do badania. Natomiast zahamowanie ekspresji NT4 i BDNF wiązało się z pojawieniem się nowych objawów po 6 miesiącach obserwacji. Wyniki te wskazują na potencjalnie ochronny wpływ neurotrofin produkowanych w PBMC na rozwój nowych objawów ze strony układu nerwowego w przebiegu chemioterapii. Takie obserwacje nie były jak dotąd przedstawiane w literaturze przedmiotu.

Na podstawie analizy krzywych ROC ekspresja NT3 okazała się być predyktorem wystąpienia nowych objawów u chorych z uruchomioną odpowiedzią humoralną przeciw

antygenom układu nerwowego, a ekspresja NT4 – u chorych seronegatywnych. Rozwój odpowiedzi immunologicznej w przebiegu choroby nowotworowej może mieć istotne znaczenie dla jej przebiegu oraz sprawności chorych. Krzyżowe reakcje z antygenami onkoneuronalnymi, których ekspresja zachodzi zarówno w tkance nowotworu, jak i w układzie nerwowym prowadzić mogą do rozwoju neurologicznych zespołów paranowotworowych (NZZ) (Pelosof 2010). Z definicji NZZ wyklucza się bezpośredni wpływ guza na układ nerwowy powodujący jego dysfunkcję oraz wpływ chemioterapii. Rozpoznanie stawiane jest w oparciu o kryteria diagnostyczne, w których kluczowym elementem rozpoznania jest obecność przeciwciał onkoneuronalnych w surowicy pacjenta i obraz kliniczny (Graus i wsp, 2004).

Do klasycznych NZZ najczęściej obserwowanych u chorych na raka płuc należą: zapalenie układu limbicznego (Gultekin 2000), paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, podostra neuropatia czuciowa, zespół miasteniczny Lamberta – Eatona, przewlekła rzekoma niedrożność jelit i zespół opsoklonie-mioklonie (O’Neil 1998, Gozzard and Maddison 2010). Natomiast nie-klasyczne NZZ u chorych na raka płuc przyjmują postać zapalenia pnia mózgu, neuromiotonii i zespołu sztywnego człowieka (Gozzard and Maddison 2010).

Przeciwciała onkoneuronalne wykrywane są znacznie częściej u chorych na raka drobnokomórkowego płuca (SCLC) niż na raka niedrobnokomórkowego płuca (NSCLC). Spośród wszystkich neurologicznych zespołów paranowotworowych aż 60% stanowią chorzy seropozytywni z dobrze scharakteryzowanymi przeciwciałami (Raspotnig i wsp., 2015). U chorych na drobnokomórkowego raka płuca najczęściej wykrywane są przeciwciała anti-Hu (Ni i wsp., 2015), ale również przeciwciała anti-CV2 (Rosencher i wsp., 2012, Arés-Luque i wsp., 2007), anti-amfifizyna (Coppens i wsp., 2006) i anti-Ri (O’Leary i wsp., 2016). Ponadto u chorych na raka niedrobnokomórkowego płuca wykryć można przeciwciała anti-MAG (ang. anti-myelin associated glycoprotein) (Rossato i wsp., 2013).

Neurologiczne zespoły paranowotworowe występują u 1 do 3% chorych na raka piersi, a do ich najczęstszych postaci klinicznych u chorych na raka piersi należy paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, neuropatia czuciowa, neuropatia czuciowo-ruchowa i zapalenie mózgu irdzenia kręgowego. Rzadziej obserwowana jest paranowotworowa retinopatia, zespół opsoklonie–mioklonie, choroba dolnego neuronu ruchowego, zespół sztywnego człowieka, zapalenie skórno-mięśniowe i zapalenie układu limbicznego (Gatti i wsp. 2003, Rojas-Marcos i wsp., 2003). Przeciwciała onkoneuronalne

wykrywane u chorych na raka piersi obejmują anty-Yo (Adama i wsp., 2016), anty-Ri (Lugue i wsp., 1991) i anty-amfifizyna (Coppens i wsp., 2006).

W przebiegu choroby nowotworowej wykrywane są również przeciwciała przeciw powierzchniowym antygenom neuronalnym. Należą do nich przeciwciała przeciw neuronalnym receptorom i kanałom jonowym. Przeciwciała anty-VGCC (ang. voltage-gated calcium channel-autoimmunity, kanały wapniowe bramkowane napięciem) stwierdza się u chorych na nowotwory płuc i raka piersi (Zalewski i wsp., 2016). Przeciwciała anty-AMPA R (ang. alphaamino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor, receptor kwasu α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izooksazolopropionowego) występują u chorych na raka płuc (Lai i wsp., 2009).

Neurologiczne zespoły paranowotworowe u chorych na raka jelita grubego opisywane są sporadycznie ponieważ występują znacznie rzadziej niż w przypadkach raka płuca lub raka piersi. Wśród zawartych w literaturze przedmiotu przypadków znajduje się paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, zapalenie układu limbicznego (Tsukamoto i wsp. 1993), zapalenie skórno-mięśniowe (Callen i wsp. 2001), neuropatia czuciowo-ruchowa (Pantalone i wsp. 2002). W większości opisywanych przypadków u chorych nie wykrywano obecności przeciwciał onkoneuronalnych. Przyczyną seronegatywności w zakresie rutynowo analizowanych przeciwciał onkoneuronalnych (anty-Hu, anty-Yo, anty-Ri, anty-CV2, anty-Ma/Ta, anty-amfifizyna) może być występowanie nie zidentyfikowanych jak dotąd przeciwciał (Sio i wsp., 2012). Natomiast wśród seropozytywnych przypadków chorych na raka jelita grubego znaleźli się chorzy z przeciwciałami anty-Hu (Tsukamoto i wsp. 1993), anty-Ma/Ta (Dalmau i wsp. 1999). W jednym przypadku neuropatii czuciowo-ruchowej u chorego wykryto obecność przeciwciał p-ANCA (ang. anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, przeciwciała przeciw cytoplazmie neutrofilów) (Pantalone i wsp. 2002).

Wykładniki uruchomionej odpowiedzi humoralnej w przebiegu choroby nowotworowej wykryto w niniejszej pracy u nieco ponad 1/3 badanych chorych. Do wykrytych przeciwciał onkoneuronalnych należały tylko anty-Hu i anty-Ma/Ta. Zidentyfikowano również przeciwciała przeciw innym antygenom układu nerwowego. Należały do nich przeciwciała anty-neuroendothelium, anty-mielina, anty-GFAP i anty-MAG. Obserwowano również współistnienie autoprzeciwciał u pojedynczych chorych.

Uwagę zwraca występowanie w badanej grupie chorych przeciwciał przeciw antygenom nukleosomu. Jak dotąd nie poznano znaczenia rozwoju odpowiedzi immunologicznej przeciw antygenom a jądrowym / nukleosomu u chorych na nowotwory.

Przeciwciała przeciwjądrowe wykrywano u 40% chorych na raka jajnika (Heegaard i wsp., 2012). Stwierdzano w immunofluorescencji pośredniej świecenie ziarniste u ponad 17% przypadków, cytoplazmatyczne u ponad 9% i jąderkowe u blisko 8% (Heegaard i wsp., 2012). Z kolei u chorych z łagodnymi guzami jajnika obecność przeciwciał reagujących z antygenami jądrowymi zidentyfikowano u nieco ponad 11% kobiet. Ponadto wykazano rokownicze znaczenie obecności tych przeciwciał, ponieważ czas przeżycia chorych na raka jajnika z przeciwciałami przeciw antygenom jądrowym był krótszy niż chorych seronegatywnych (Heegaard i wsp., 2012). Obecność przeciwciał przeciwjądrowych stwierdzano również ostatnio u chorych na raka piersi (Mohammed i Abdelhafiz 2015). W tej grupie chorych prowadzono analizy ilościowe przeciwciał przeciwjądrowych i wykazały one zwiększenie ich poziomu u chorych na raka piersi w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych, a częstość ich występowania wahała się od 45 do 100% chorych (Mohammed i Abdelhafiz 2015). Ponadto obserwowano pojawianie się przeciwciał przeciwjądrowych (serokonwersję) w podczas leczenia raka piersi tamoksyfenem (Mohammed i Abdelhafiz 2015). Kolejną grupą chorych, w której donoszono o obecności przeciwciał przeciwjądrowych byli chorzy na raka płuca. Obecność przeciwciał przeciw centromerom - anti-CENP-B/ACA (ang. anti-centromere autoantibodies) opisywano u nich nawet przed wystąpieniem klinicznych objawów raka drobnokomórkowego płuca (Briasoulis i wsp., 2008). W materiale Zakładu Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. K.Marcinkowskiego w Poznaniu (dane niepublikowane) obecność przeciwciał przeciw antygenom nukleosomu wykryto u 7% chorych na raka jajnika, u 15% chorych na raka płuca, u 17,5% chorych na raka endometrium, u 27% chorych na raka piersi, u 8% chorych na chłoniaki nieziarnicze oraz u 4% u chorych na dyskrację plazmocytowe. Obecność tych przeciwciał może być związana z wtórną i niespecyficzną narządowo odpowiedzią immunologiczną, która inicjowana jest przez antygeny jądrowe ulegających apoptozie lub martwicy komórek nowotworowych. Proces ten może wskazywać zarówno na agresywność nowotworu, w którym w wyniku intensywnego wzrostu masy guza dochodzi do hipoksji, jak też na znaczne pobudzenie układu immunologicznego przez rozwijający się nowotwór. Z tego powodu w cytowanych powyżej badaniach wskazywano na prognostyczne znaczenie tych przeciwciał.

W niniejszej pracy wykazano także że obecność wszystkich autoprzeciwciał, jak i przeciwciał antyneuralnych związana była ze stwierdzeniem deficytu neurologicznego przy włączaniu chorych na nowotwory do badania. Zatem współwystępowanie deficytu

neurologicznego z laboratoryjnymi wykładnikami humoralnej odpowiedzi immunologicznej przeciw antygenom układu nerwowego przy włączaniu chorych do badania wskazuje na neurologiczne zespoły paranowotworowe.

Natomiast wykrycie przeciwciał antyneuralnych przy włączaniu do badania związana była z pojawieniem się nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji. Obserwacja ta prowadzić może do pozornie oczywistego wniosku wskazującego na rozwój neurologicznych zespołów podczas prowadzonej katamnezy. Jednakże nie jest możliwe odróżnienie takiego mechanizmu wystąpienia nowych objawów deficytu neurologicznego od wtórnej reakcji immunologicznej indukowanej leczeniem chemioterapeutykami, które jednocześnie wykazały neurotoksyczny efekt. W literaturze opisywane są przypadki wyzwolenia odpowiedzi autoimmunologicznej przez chemioterapeutyki. U chorych na raka piersi leczonych cyklofosfamidem lub tamoksyfenem obserwowano rozwój zapalenia wielostatkowego lub tocznia układowego (Warner i wsp. 1997). Leczenie cyklofosfamidem raka jajnika wyzwolić może objawy choroby reumatycznej (Raderer i Scheithauer, 1994). Ponadto opisywano zespół Reitera i zapalenia naczyń u chorych poddawanych chemioterapii (Kurzrock i wsp. 1994). Nowotwory, których leczenie chemioterapeutykami wyzwolić może reakcje autoimmunologiczne obejmują również chłoniaka nieziarniczego oraz raka płuca (Amiri i Jaferian, 2012). U chorych na raka płuca po chemioterapii wykryto w ponad ¼ przypadków obecność przeciwciał przeciwjądrowych (Amiri i Jaferian, 2012). Do chemioterapeutyków, które mogą indukować odpowiedź autoimmunologiczną, poza wspomnianymi powyżej, należą 5-fluorouracyl, cisplatyna, doksorubicyna, mitomycyna-C i paklitaksel. W piśmiennictwie nie opisywano, jak dotąd, związku pomiędzy chemioterapią a produkcją przeciwciał antyneuralnych.

W niniejszym badaniu zaobserwowano związek pomiędzy zahamowaniem ekspresji NT3, NT4 i NGF w PBMC a humoralną odpowiedzią immunologiczną przeciw antygenom układu nerwowego. Ponadto wykazano odmienną przydatność NT3 i NT4 jako markerów wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego w zależności od stanu antyneuralnej odpowiedzi immunologicznej. U chorych z obecnością autoprzeciwciał istotnym markerem w tym zakresie jest NT3, a u chorych seronegatywnych – NT4.

Można na tej podstawie spekulować, że ekspresja NT4 w PBMC stanowi marker o wartości predykcyjnej neurologicznych powikłań chemioterapii niezależnych od rozwoju antyneuralnej odpowiedzi immunologicznej. Ponadto w przypadku wszystkich badanych neurotrofin u chorych z deficytem neurologicznym zahamowanie ich ekspresji w PBMC interpretować można jako zjawisko niezależne od odpowiedzi immunologicznej. Natomiast stymulacja ekspresji neurotrofin wiązać się może ze stymulacją układu immunologicznego. Nasilenie produkcji neurotrofin wykazano w chorobach autoimmunologicznych nie związanych z chorobą nowotworową. Stężenia NGF są zwiększone u chorych na astmę oskrzelową (Bonini i wsp. 1996) a BDNF u chorych na atopowe zapalenie skóry (Raap i wsp. 2006). Konieczne jest prowadzenie dalszych badań i oceny zależności neurologicznych powikłań chemioterapii z ekspresją neurotrofin i markerów reakcji zapalnej oraz autoimmunologicznej u chorych na nowotwory.

Podsumowując, u chorych onkologicznych jeszcze przed włączeniem chemioterapii występują objawy deficytu neurologicznego przyjmujące postać neuropatii czuciowej, neuropatii czuciowo-ruchowej oraz zespołu mózdkowy. Nowe objawy występujące po 6 miesiącach obserwacji chorych poddawanych chemioterapii obejmują przede wszystkim neuropatię czuciowo-ruchową i zespół mózdkowy. Przed rozpoczęciem chemioterapii u badanych chorych stwierdzano zaburzenia pamięci operacyjnej i funkcji wykonawczych, a po chemioterapii pogarszały się jedynie funkcje wykonawcze. Ekspresja wszystkich badanych neurotrofin w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej może być wykorzystana do oceny ryzyka rozwoju powikłań choroby nowotworowej w obrębie układu nerwowego, jednakże NT3 i NT4 mogą być przydatne jako czynniki prognostyczne powikłań chemioterapii.

VI. Wnioski

1. Nowotwory płuc, piersi i jelita grubego u przeważającej liczby chorych, jeszcze przed włączeniem chemioterapii, powodują występowanie deficytu neurologicznego przyjmującego najczęściej postać neuropatii czuciowej, neuropatii czuciowo-ruchowej oraz zespołu mózdkowego. Natomiast nowe objawy występujące po 6 miesiącach obserwacji chorych poddawanych chemioterapii obejmują przede wszystkim neuropatię czuciowo-ruchową i zespół mózdkowy.
2. Przed rozpoczęciem chemioterapii u badanych chorych stwierdzano zaburzenia pamięci operacyjnej i funkcji wykonawczych, a po chemioterapii pogarszały się jedynie funkcje wykonawcze.
3. Ekspresja BDNF, NGF, NT3 i NT4 w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej może być wykorzystana do oceny ryzyka rozwoju powikłań choroby nowotworowej w obrębie układu nerwowego, jednakże NT3 i NT4 mogą być przydatne jako czynniki prognostyczne powikłań chemioterapii.
4. Rozwój antyneuralnej humoralnej odpowiedzi immunologicznej wiąże się z zahamowaniem ekspresji NT3 i NGF w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej zwiększając ryzyko rozwoju neurologicznych powikłań chemioterapii.

VII. Streszczenie

Znaczny wzrost zachorowań na choroby nowotworowe, bardziej skuteczne leczenie onkologiczne oraz wydłużanie czasu przeżycia powodują częstsze pojawianie się problemów klinicznych związanych z opieką nad tą szczególną grupą chorych. Większość cytostatyków szeroko używanych w onkologii wykazuje wpływ neurotoksyczny. W zakresie uszkodzenia obwodowego układu nerwowego do najczęstszych powikłań należą: polineuropatia czuciowa, czuciowo-ruchowa, ruchowa oraz autonomiczna. W obrębie ośrodkowego układu nerwowego na skutek podawania chemioterapeutyków dochodzi do zespołu polekowego uszkodzenia mózgu, zespołu PRES, encefalopatii i zespołu mózdkowego. Do najbardziej neurotoksycznych cytostatyków należą: arabinozyd cytozyny, alkaloidy barwinka-winkrystyna, winblastyna, związki platyny (cisplatyna, karboplatyna, oksaliplatyna), a także taksany (paklitaksel i docetaksel), ifosfamid i metotreksat.

Czynniki neurotroficzne są małymi polipeptydami należące do czynników wzrostu. Spełniają one funkcje regulatorowe procesów różnicowania, wzrostu oraz przeżycia neuronów. Należą do nich: czynnik wzrostu nerwów (NGF, ang. nerve growth factor), neurotrofina 3 (NT3, ang. neurotrophin 3), neurotrofina 4 (NT4, ang. neurotrophin 4) i mózgowopochodny czynnik neurotroficzny (BDNF, ang. brain derived neurotrophic factor). Pełnią one funkcje neuroprotekcyjne zarówno w przebiegu chorób demielinizacyjnych, jak i neurodegeneracyjnych. Natomiast w przebiegu chorób nowotworowych, a szczególnie w kontekście neurotoksycznego wpływu chemioterapii ich działanie nie zostało dokładnie poznane. Mogą one być zaangażowane w powstawanie przerzutów, wzrost komórek guza i angiogenezę wpływając na przebieg choroby nowotworowej i rokowanie.

Celem pracy była ocena znaczenia czynników neurotroficznych w rozwoju powikłań chemioterapii w obrębie układu nerwowego.

Do badania włączono osoby z rozpoznaną chorobą nowotworową hospitalizowane w Oddziałach Onkologii w Wielkopolskim Centrum Onkologii (WCO) oraz w Wielkopolskim Centrum Pulmunologii i Torakochirurgii w Poznaniu. Badanie objęło 133 chorych, wśród których znalazło się 110 chorych na nowotwory płuc hospitalizowanych w Wielkopolskim Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii, 12 chorych na raka piersi oraz 11 chorych na raka jelita grubego hospitalizowanych w WCO. Chorych badano neurologicznie przed włączeniem chemioterapii i po 6 miesiącach leczenia. Ponadto przeprowadzano ocenę sprawności chorych

za pomocą zobiektywizowanych testów neuropsychologicznych opartych o platformę PEBL, Testy Łączenia Punktów A i B (TMT A i B), MMSE (ang. mini-mental state examination) oraz skalę depresji Hamiltona. Po włączeniu do badania pobierano krew pełną w celu uzyskania surowicy i oznaczano obecność przeciwciał onkoneuralnych i antyneuralnych oraz krew heparynizowaną w celu izolacji jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMC, peripheral blood mononuclear cells). Ekspresję neurotrofin NGF, BDNF, NT3 i NT4 oznaczano metodą ELISA.

Przy włączaniu do badania odchylenia w badaniu neurologicznym stwierdzano u 77% i dotyczyły one obwodowego układu nerwowego u 69% chorych, a u 8% – ośrodkowego układu nerwowego. Wśród objawów dominowała neuropatia czuciowa i czuciowo-ruchowa. Po 6 miesiącach u 50% badanych chorych stwierdzono nowe objawy w badaniu neurologicznym, wśród których dominowała neuropatia czuciowo-ruchowa i zespół mózdkowy. Stwierdzono wyższą punktację w skali MMSE oraz lepsze wyniki TMT-A u chorych na nowotwory w porównaniu z wartościami referencyjnymi. Natomiast wyniki TMT-B u badanych chorych na nowotwory były gorsze niż wartości referencyjne.

W badaniu czasu reakcji prostej u chorych na nowotwory stwierdzano jego wydłużenie w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast po 6 miesiącach obserwacji – wydłużenie dotyczyło tylko przy krótszych i dłuższych czasach stymulacji. Wyniki oceny czasu reakcji z wyborem zarówno przy włączaniu do badania, jak i po 6 miesiącach obserwacji u chorych na nowotwory były gorsze niż w grupie kontrolnej. Wykazano dodatnią korelację ekspresji NGF w PBMC z wynikiem oceny w TMT-A wykonanym przy pierwszej wizycie oraz wynikiem w skali depresji Hamiltona przy pierwszej wizycie, jak i po zakończeniu leczenia. Ekspresja NT4 w PBMC korelowała dodatnio z wynikami oceny czasu reakcji prostej po stymulacji 1250M, korelowała również dodatnio z wynikami w oceny czasu reakcji z wyborem przy pierwszej wizycie i po zakończeniu leczenia, ze średnim czasem reakcji z wyborem badanym po 6 miesiącach obserwacji oraz ujemnie z wynikami testu powtarzanie cyfr przy włączaniu do badania, a dodatnio po 6 miesiącach obserwacji. Ponadto ekspresja NT3 w PBMC korelowała dodatnio z wynikami w skali depresji Hamiltona po zakończeniu leczenia.

Autoprzeciwciała wykryto u 36% chorych, a u 23% były to przeciwciała antyneuralne. Przeciwciała onkoneuralne (anty-Hu, anty-Ma/Ta) wykryto u 3% chorych. U 12 % chorych wykryto przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu, a w 5% przypadków obserwowano

współistnienie przeciwciał (anty-nukleosom + anty-GFAP, anty-nukleosom + anty-mielina; anty-GFAP + anty-neuroendothelium). U chorych z autoprzeciwciałami niezależnie od ich rodzaju częściej występowały objawy ze strony układu nerwowego przy włączaniu do badania.

Zahamowanie ekspresji NT4 w PBMC związane jest z wystąpieniem nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji. Obecność przeciwciał antyneuralnych związana jest z całkowitym zahamowaniem ekspresji NT3 w PBMC. Oceniając czynniki wpływające na obecność autoprzeciwciał u chorych na nowotwory w modelu regresji wielorakiej obejmującym wiek, ekspresję BDNF, NGF, NT3 i NT4 wykazano, że obniżenie ekspresji NT4 i NGF wiąże się z odpowiedzią humoralną.

W modelu regresji wielorakiej obejmującym wpływ wieku, obecności autoprzeciwciał, oceny w teście MMSE, TMT-A i B, ekspresję BDNF, NGF, NT3 i NT4 na występowanie deficytu neurologicznego przy włączaniu chorych do badania wiek był niezależnym czynnikiem. Natomiast w modelu regresji wielorakiej obejmującym wpływ wieku, obecności autoprzeciwciał, oceny w teście MMSE, TMT-A i B, ekspresji BDNF, NGF, NT3 i NT4 na wystąpienie nowych objawów ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji – NT4 okazała się być niezależnym czynnikiem, którego niedobór w PBMC wpływał na wystąpienie nowych objawów w przebiegu chemioterapii.

Powyższe wyniki pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków z przeprowadzonego badania. Nowotwory płuc, piersi i jelita grubego u przeważającej liczby chorych, jeszcze przed włączeniem chemioterapii, powodują występowanie deficytu neurologicznego w postaci neuropatii czuciowej, czuciowo-ruchowej oraz zespołu mózdkowego. Natomiast nowe objawy występujące po 6 miesiącach obserwacji chorych poddawanych chemioterapii obejmują przede wszystkim neuropatię czuciowo-ruchową i zespół mózdkowy. Przed rozpoczęciem chemioterapii u badanych chorych stwierdzano zaburzenia pamięci operacyjnej i funkcji wykonawczych, a po chemioterapii pogarszały się jedynie funkcje wykonawcze. Ekspresja wszystkich badanych neurotrofin w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej może być wykorzystana do oceny ryzyka rozwoju powikłań choroby nowotworowej w obrębie układu nerwowego, jednakże NT3 i NT4 mogą być przydatne jako czynniki prognostyczne powikłań chemioterapii. Rozwój antyneuralnej humoralnej odpowiedzi immunologicznej wiąże się z zahamowaniem ekspresji NT3 i NGF w

jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej zwiększając ryzyko rozwoju neurologicznych powikłań chemioterapii.

VIII. Summary

The increased incidence of cancer, more effective treatment and prolonged lifespan of oncological patients lead to frequent clinical problems in the healthcare carried in this particular group of patients. The majority of chemotherapeutics widely used in oncology show neurotoxic effects. Peripheral nervous system complications of chemotherapy include sensory polyneuropathy, motor and autonomic polyneuropathy. Central nervous system complications of chemotherapy manifest as: chemobrain, posterior reversible encephalopathy syndrome, encephalopathy and cerebellar syndrome. The most neurotoxic cytostatics include cytosine arabinoside, vinca alkaloids (vincristine, vinblastine), platinum compounds (cisplatin, carboplatin, oxaliplatin), taxanes (paclitaxel, docetaxel), ifosfamide and metotrexate.

Neurotrophic factors (neurotrophins) are small polypeptides, which belong to the growth factors family. Neurotrophins regulate differentiation, survival and proliferation of neuronal cells. They consist of: NGF - nerve growth factor, NT3- neurotrophin 3, NT4 - neurotrophin 4 and BDNF - brain derived neurotrophic factor. Neurotrophins are neuroprotective factors during demyelinating and neurodegenerative diseases. On the other hand they can cause cancer proliferation, metastasis and angiogenesis and may affect the course of neoplasm as well as prognosis.

The aim of the study was to evaluate the significance of neurotrophic factors in development of chemotherapy complications in the nervous system.

The study included cancer patients hospitalized in Wielkopolskie Centrum Onkologii (WCO) and in Wielkopolskie Centrum Pulmunologii i Torakochirurgii in Poznań. There were 133 patients included 110 patients suffering from lung cancer hospitalized in Wielkopolskie Centrum Pulmunologii i Torakochirurgii, 12 breast cancer and 11 colon cancer patients hospitalized in WCO. In all patients neurological examination was performed at baseline and after 6 months of chemotherapy. Moreover, MiniMental State Examination (MMSE), Trail Making Test A and B, Hamilton Scale were evaluated at baseline and after 6 months follow-up. The Psychology Experiment Building Language was used for Digit Span test (DSpan), Simple Reaction Time (SRT) and Choice Reaction Time (CRT) evaluation. Whole blood was withdrawn to obtain serum for onconeural and antineural antibodies analyses. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from heparinized blood by density gradient

centrifugation. Neurotrophic factors: NGF, BDNF, NT3 and NT4 were analysed by means of ELISA.

At baseline 77% patients manifested abnormalities in neurological examination including periphery nervous system - 69% and central nervous system 8% disorders. Among the peripheral nervous system symptoms the most common was sensory neuropathy, and sensori-motor neuropathy. After 6 months 50% of patients presented new symptoms in neurological examination including predominantly sensory neuropathy and cerebellar syndrome. Cancer patients had higher scores in MMSE and better scores in TMT A tests than reference subjects. However, TMT B scores were worse comparing to controls. SRT was longer in cancer patients than healthy controls, but after 6 months of chemotherapy it was prolonged only at shortest and longest stimulation time. We found out that CRT was longer in cancer patients at baseline and after 6 months follow-up comparing to controls.

NGF expression in PBMC correlated positively with TMT-A score at baseline and with Hamilton Scale at baseline and after 6 months of treatment. NT4 expression in PBMC in cancer patients correlated positively with SRT score after 1250M stimulation at baseline, with CRT scores at baseline and after chemotherapy, with average CRT after 6 months follow-up, negatively correlated Digit Span scores both at baseline and after 6 months treatment. NT3 expression correlated positively with Hamilton scale score after 6 months observation.

Autoantibodies were detected in 36% of cancer patients, in which 23% it were antineural antibodies. Onconeural antibodies (anti-Hu, anti-Ma/Ta) were detected in 3% patients, anti-nucleosome antigens antibodies in 12% patients, and in 5% cases the coexistence of two antibodies was observed (anti-nucleosome + anti-GFAP, anti-nucleosome + anti-myelin; anti-GFAP + anti-neuroendothelium). Seropositive patients had more frequently neurological symptoms at baseline.

The inhibition of NT4 expression in PBMC is connected with the appearance of new neurological signs in cancer patients after 6 months observation. The presence of antineural antibodies is associated with complete inhibition NT3 expression in PBMC. The assessment of factors influencing the presence of autoantibodies in cancer patients in multiple regression model including age, expression of BDNF, NGF, NT3 and NT4, showed that reduction of the NT4 and NGF expression in PBMCs is associated with the humoral response.

Multiple regression model assessing the effect of age, presence of autoantibodies, MMSE, TMT-A and B scores, expression of BDNF, NGF, NT3 and NT4 on the presence of neurological deficit at the time of enrollment, showed that age was an independent risk factor. Moreover, multiple regression model assessing the effect of age, presence of autoantibodies, MMSE, TMT-A and B scores, expression of BDNF, NGF, NT3 and NT4 on the emergence of new neurological signs at 6-month follow-up, showed that NT4 is an independent risk factor its deficit in PBMCs is related to the occurrence of new signs in the course of chemotherapy.

To conclude, lung, breast and colon cancer is associated with neurological deficits already before chemotherapy in majority of patients, who manifest sensory neuropathy, sensori-motor neuropathy and cerebellar syndrome. New neurological symptoms after chemotherapy include sensori-motor neuropathy and cerebellar syndrome. Moreover, cancer patients present operational memory and executive functions impairment before chemotherapy, and remaining abnormalities are executive functions problems. The expression of all studied neurotrophins can be used as prognostic factors for indirect effects of malignancy, however NT3 and NT4 can predict neurological complications of chemotherapy. Humoral antineural immune response is associated with down-regulation of NT3 and NGF expression in PBMC leading to neurological complications of chemotherapy.

IX. Piśmiennictwo

- 1/Adama D, Moussa B, Emmanuel M, Dennis U. Breast cancer revealed by a paraneoplastic cerebellar syndrome: about one case and literature review. *Pan Afr Med J* 2015; 22: 25. doi: 10.11604/pamj.2015.22.25.6217.
- 2/Adelsberger H, Quasthoff S, Grosskreutz J, Lepier A, Eckel F, Lersch C. The chemotherapeutic oxaliplatin alters voltage-gated Na(+) channel kinetics on rat sensory neurons. *Eur J Pharmacol* 2000; 406(1): 25-32.
- 3/Aharoni R, Eilam R, Domev H, Labunskay G, Sela M, Arnon R. The immunomodulator glatiramer acetate augments the expression of neurotrophic factors in brains of experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102(52):19045-19050.
- 4/Ahles TA, Saykin AJ, Noll WW, Furstenberg CT, Guerin S, Cole B, Mott LA. The relationship of APOE genotype to neuropsychological performance in long-term cancer survivors treated with standard dose chemotherapy. *Psychooncology* 2003; 12(6):612-619.
- 5/Ahmed AO, Mantini AM, Fridberg DJ. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and neurocognitive deficits in people with schizophrenia: a meta-analysis. *Psychiatry Res* 2015 ; 226(1):1-13.
- 6/Akil H, Perraud A, Mélin C, Jauberteau MO, Mathonnet M. Fine-tuning roles of endogenous brain-derived neurotrophic factor, TrkB and sortilin in colorectal cancer cell survival. *PLoS One* 2011; 6(9):e25097. doi: 10.1371/journal.pone.0025097.
- 7/ Amiri AH, Jaferian S. Post-chemotherapy arthralgia and arthritis in lung cancer. *South Asian J Cancer* 2012; 1(2): 72–75.
- 8/Andrč N, Braguer D, Brasseur G, Goncalves A, Lemesle-Meunier D, Guise S, Jordan M.A, Briand C. Paclitaxel induces release of cytochrome c from mitochondria isolated from human neuroblastoma cells, *Cancer Res* 2000; 60: 5349–5353.
- 9/Andreis F, Ferri M, Mazzocchi M, Meriggi F, Rizzi A, Rota L, Di Biasi B, Abeni C, Codignola C, Rozzini R, Zaniboni A. Lack of a chemobrain effect for adjuvant FOLFOX chemotherapy in colon cancer patients. A pilot study. *Support Care Cancer* 2013 ; 21(2): 583-590.

- 10/Angelucci F, Peppe A, Carlesimo GA, Serafini F, Zabberoni S, Barban F, Shofany J, Caltagirone C, Costa A. A pilot study on the effect of cognitive training on BDNF serum levels in individuals with Parkinson's disease. *Front Hum Neurosci* 2015; 9:130. doi:10.3389/fnhum.2015.00130.
- 11/Anton ES, Weskamp G, Reichardt LF, Matthew WD. Nerve growth factor and its low-affinity receptor promote Schwann cell migration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(7): 2795-2799.
- 12/Arés-Luque A, García-Tuñón LA, Saiz A, Cabezas BC, Hernández-Echebarría LE, Franco M, Toribio A, Tejada J, Graus F. Isolated paraneoplastic optic neuropathy associated with small-cell lung cancer and anti-CV2 antibodies. *J Neurol* 2007; 254(8): 1131-1132.
- 13/Argyriou AA, Polychronopoulos P, Iconomou G, Koutras A, Kalofonos HP, Chroni E. Paclitaxel plus carboplatin-induced peripheral neuropathy. A prospective clinical and electrophysiological study in patients suffering from solid malignancies. *J Neurol* 2005; 252(12): 1459-1464.
- 14/Argyriou AA, Polychronopoulos P, Iconomou G, Koutras A, Makatsoris T, Gerolymos MK, Gourzis P, Assimakopoulos K, Kalofonos HP, Chroni E. Incidence and characteristics of peripheral neuropathy during oxaliplatin-based chemotherapy for metastatic colon cancer. *Acta Oncol* 2007; 46(8): 1131-1137.
- 15/Armstrong JG, Dyje RW, Fouts PJ, Gahimer JE. Hodgkin's disease, carcinoma of the breast, and other tumors treated with vinblastine sulfate. *Cancer Chemother Rep* 1962; 18:49-71.
- 16/Aplin CG, Russell-Jones R. Acute dysarthria induced by low dose methotrexate therapy in a patient with erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: an unusual manifestation of neurotoxicity. *Clin Exp Dermatol* 1999; 24(1): 23-24.
- 17/Ayas S, Uygur L, Bostanci E, Gürbüz A. A successful pregnancy during the treatment of cervical sarcoma botryoides and advantage of fertility sparing management: A case report. *Iran J Reprod Med* 2015; 13(2): 113-116.
- 18/Bamji SX, Majdan M, Pozniak CD, Belliveau DJ, Aloyz R, Kohn J, Causing CG, Mille R. The p75 neurotrophin receptor mediates neuronal apoptosis and is essential for naturally occurring sympathetic neuron death. *J Cell Biol* 1998; 140(4): 911-923.
- 19/Barker PA, Shooter EM. Disruption of NGF binding to the low affinity neurotrophin receptor p75^{LNTR} reduces NGF binding to TrkA on PC12 cells. *Neuron* 1994; 13:203-215.

- 20/Bartkowska K, Turlejski K, Djavadian RL. Neurotrophins and their receptors in early development of the mammalian nervous system. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2010; 70:454-446.
- 21/Batchelor PE, Liberatore GT, Wong JY, Porritt MJ, Frerichs F, Donnan GA, Howells DW. Activated macrophages and microglia induce dopaminergic sprouting in the injured striatum and express brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Neurosci* 1999; 19: 1708–1716.
- 22/Bates S, McKeever P, Masur H, Levens D, Macher A, Armstrong G, Magrath IT. Myelopathy following intrathecal chemotherapy in a patient with extensive Burkitt's lymphoma and altered immune status. *Am J Med* 1985; 78(4):697-702.
- 23/Bernardi P, Krauskopf A, Basso E, Petronilli V, Blachly-Dyson E, Di Lisa F, Forte M.A., The mitochondrial permeability transition from in vitro artifact to disease target, *FEBS J* 2006; 273: 2077–2099.
- 24/Bonini S, Lambiase A, Bonini S, Angelucci F, Magrini L, Manni L, Aloe L. Circulating nerve growth factor levels are increased in humans with allergic diseases and asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 10955–10960.
- 25/Bower JE, Ganz PA, Irwin MR, Castellon S, Arevalo J, Cole SW. Cytokine genetic variations and fatigue among patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2013;31(13):1656–1661.
- 26/ Briasoulis E, Kamposioras K, Tzovaras V, Pafitanis G, Kostoula A, Mavridis A, Pavlidis N. CENP-B specific anti-centromere autoantibodies heralding small-cell lung cancer. A case study and review of the literature. *Lung Cancer* 2008; 60(2): 302-306.
- 27/Brum C, Stertz L, Borba E, Rumi D, Kapczinski F, Camozzato A. Association of serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-a) with diagnosis of delirium in oncology inpatients. *Rev Bras Psiqu* 2015; 37:197–202.
- 28/Caggiula M, Batocchi AP, Frisullo G, Angelucci F, Patanella AK, Sancricca C, Nociti V, Tonali PA, Mirabella M. Neurotrophic factors and clinical recovery in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Scand J Immunol* 2005; 62(2):176-182.
- 29/Callen JP. Relation between dermatomyositis and polymyositis and cancer. *Lancet* 2001; 357:85–86.

- 30/Carvalho AL, Caldeira MV, Santos SD, Duarte CB. Role of the brain-derived neurotrophic factor at glutamatergic synapses. *Br J Pharmacol* 2008;153 Suppl 1:S310-324.
- 31/Cavaletti G, Fabbri D, Minoia C, Frattola L, Tredici G. Carboplatin toxic effects on the peripheral nervous system of the rat. *Ann Oncol* 1998; 9(4): 443-447.
- 32/Chen KS, Nishimura MC, Armanini MP, Crowley C, Spencer SD, Phillips HS. Disruption of a single allele of the nerve growth factor gene results in atrophy of basal forebrain cholinergic neurons and memory deficits. *J Neurosci* 1997; 17(19): 7288-7296.
- 33/Ch'ien LT, Aur RJ, Verzosa MS, Coburn TP, Goff JR, Hustu HO, Price RA, Seifert MJ, Simone JV. Progression of methotrexate-induced leukoencephalopathy in children with leukemia. *Med Pediatr Oncol* 1981; 9(2):133-141.
- 34/Churchill CD, Klobukowski M, Tuszynski JA. Elucidating the mechanism of action of the clinically-approved taxanes: A comprehensive comparison of local and allosteric effects. *Chem Biol Drug Des* 2015 May 29. doi: 10.1111/cbdd.12595. [Epub ahead of print]
- 35/Connor B, Young D, Lawlor P, Gai W, Waldvogel H, Faull RL, Dragunow M. Trk receptor alterations in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 1996; 42(1):1-17.
- 36/Connor B, Young D, Yan Q, Faull RL, Synek B, Dragunow M. Brain-derived neurotrophic factor is reduced in Alzheimer's disease. *Brain Res Mol Brain Res* 1997; 49(1-2): 71-81.
- 37/Coppens T, Van den Bergh P, Duprez TJ, Jeanjean A, De Ridder F, Sindic CJ. Paraneoplastic rhombencephalitis and brachial plexopathy in two cases of amphiphysin autoimmunity. *Eur Neurol* 2006; 55(2):80-83.
- 38/Costa A, Peppe A, Carlesimo GA, Zabberoni S, Scalici F, Caltagirone C, Angelucci F. Brain-derived neurotrophic factor serum levels correlate with cognitive performance in Parkinson's disease patients with mild cognitive impairment. *Front Behav Neurosci*. 2015; 9: 253. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00253
- 39/Costantini C, Weindruch R, Della Valle G, Puglielli LA. TrkA-to-p75NTR molecular switch activates amyloid beta-peptide generation during aging. *Biochem J* 2005; 391(Pt 1): 59-67.
- 40/ Dalmau J, Gultekin SH, Voltz R, Hoard R, DesChamps T, Balmaceda C, Batchelor T, Gerstner E, Eichen J, Frennier J, Posner JB, Rosenfeld MR. Ma1, a novel neuron- and testis-specific protein, is recognized by the serum of patients with paraneoplastic neurological disorders. *Brain* 1999; 122 (Pt 1):27-39.

- 41/Demont Y, Corbet C, Page A, Ataman-Önal Y, Choquet-Kastylevsky G, Fliniaux I, Le Bourhis X, Toillon RA, Bradshaw RA, Hondermarck H. Pro-nerve growth factor induces autocrine stimulation of breast cancer cell invasion through tropomyosin-related kinase A (TrkA) and sortilin protein. *J Biol Chem* 2012; 287(3): 1923-1931.
- 42/Descamps S, Toillon RA, Adriaenssens E, Pawlowski V, Cool SM, Nurcombe V, Le Bourhis X, Boilly B, Peyrat JP, Hondermarck H. Nerve growth factor stimulates proliferation and survival of human breast cancer cells through two distinct signaling pathways. *J Biol Chem* 2001; 276(21): 17864-1770.
- 43/Eberhardt B, S. Dilger, F. Musial, U. Wedding, T. Weiss, W.H. Miltner. Short-term monitoring of cognitive functions before and during the first course of treatment. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132 (4):234–240.
- 44/Eeles R, Tait DM, Peckham MJ. Lhermitte's sign as a complication of cisplatin-containing chemotherapy for testicular cancer. *Cancer Treat Rep* 1986; 70(7): 905-907.
- 45/Ekhardt C, Rodenhuis S, Smits PHM, Beijnen JH, Huitema ADR. An overview of the relations between polymorphisms in drug metabolising enzymes and drug transporters and survival after cancer drug treatment. *Cancer Treat Rev* 2009; 35: 18– 31.
- 46/Elfving B, Buttenschön HN, Foldager L, Poulsen PH, Andersen JH, Grynderup MB, Hansen ÅM, Kolstad HA, Kaerlev L, Mikkelsen S, Thomsen JF, Børghlum AD, Wegener G, Mors O. Depression, the Val66Met polymorphism, age, and gender influence the serum BDNF level. *J Psychiatr Res* 2012; 46(9):1118-1125
- 47/ElShamy WM, Ernfors P. Brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin-3, and neurotrophin-4 complement and cooperate with each other sequentially during visceral neuron development. *J Neurosci* 1997; 17(22): 8667-8675.
- 48/Fairley GH, Freeman JE. Blood and neoplastic diseases. Treatment of the lymphomas. *Br Med J* 1974; 4(5947): 761-765.
- 49/Fahnestock M, Yu G, Michalski B, Mathew S, Colquhoun A, Ross GM, Coughlin MD. The nerve growth factor precursor proNGF exhibits neurotrophic activity but is less active than mature nerve growth factor. *J Neurochem*. 2004; 89:581-592.
- 50/Fallon MT. Neuropathic pain in cancer. *Br J Anaesth* 2013; 111(1): 105-111.

- 51/Faria MC, Gonçalves GS, Rocha NP, Moraes EN, Bicalho MA, Gualberto Cintra MT, Jardim de Paula J, José Ravic de Miranda LF, Clayton de Souza Ferreira A, Teixeira AL, Gomes KB, Carvalho Md, Sousa LP. Increased plasma levels of BDNF and inflammatory markers in Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res* 2014; 53: 16672. doi:10.1016/j.jpsychires.2014.01.019.
- 52/Feng D, Kim T, Özkan E, Light M, Torkin R, Teng KK, Hempstead BL, Garcia KC. Molecular and structural insight into proNGF engagement of p75NTR and sortilin. *J Mol Biol* 2010; 396:967-984.
- 53/Fiorentini C, Facchetti M, Finardi A, Sigala S, Páez-Pereda M, Sher E, Spano P, Missale C. Nerve growth factor and retinoic acid interactions in the control of small cell lung cancer proliferation. *Eur J Endocrinol* 2002; 147(3): 371-379.
- 54/Fitch MI, Armstrong J, Tsang S. Patients' experiences with cognitive changes after chemotherapy. *Can Oncol Nurs J* 2008;18(4):180-192.
- 55/Flatters S.J.L, Bennett G.J. Studies of peripheral sensory nerves in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy: evidence for mitochondrial dysfunction. *Pain* 2006; 122 : 247–257.
- 56/Fleming GF, Waggoner SE, Rotmensch J, Langhauser C. Absence of major peripheral neuropathy in a phase II trial of ifosfamide with vinorelbine in patients with ovarian cancer previously treated with platinum and paclitaxel. *Am J Clin Oncol* 2001; 24(1): 52-57.
- 57/Forlenza OV, Miranda AS, Guimar I, Talib LL, Diniz BS, Gattaz WF, Teixeira AL. Decreased Neurotrophic Support is Associated with Cognitive Decline in Non-Demented Subjects. *J Alzheimers Dis* 2015; 46(2): 423-429.
- 58/ Frade JM, Barde YA. Microglia-derived nerve growth factor causes cell death in the developing retina. *Neuron* 1998; 20: 35–41
- 59/Frisk P, Stålberg E, Strömberg B, Jakobson A. Painful peripheral neuropathy after treatment with high-dose ifosfamide. *Med Pediatr Oncol* 2001; 37(4):379-382.
- 60/Fujikawa H, Tanaka K, Toiyama Y, Saigusa S, Inoue Y, Uchida K, Kusunoki M. High TrkB expression levels are associated with poor prognosis and EMT induction in colorectal cancer cells. *J Gastroenterol* 2012; 47(7): 775-784.
- 61/Gatti G, Simsek S, Kurne A, Zurrída S, Naninato P, Veronesi P, Frasson A, Millen E, Rososchansky J, Luini A. Paraneoplastic neurological disorders in breast cancer. *Breast* 2003; 12(3):203-207.

- 62/Gielen A, Khademi M, Muhallab S, Olsson T, Piehl F. Increased brain-derived neurotrophic factor expression in white blood cells of relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Scand J Immunol* 2003; 57(5): 493-497.
- 63/Ginsberg SD, Che S, Wu J, Counts SE, Mufson EJ. Down regulation of trk but not p75NTR gene expression in single cholinergic basal forebrain neurons mark the progression of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2006; 97(2): 475-487.
- 64/Glantz MJ, Jaeckle KA, Chamberlain MC, Phuphanich S, Recht L, Swinnen LJ, Maria B, LaFollette S, Schumann GB, Cole BF, Howell SB. A randomized controlled trial comparing intrathecal sustained-release cytarabine (DepoCyt) to intrathecal methotrexate in patients with neoplastic meningitis from solid tumors. *Clin Cancer Res* 1999; 5(11): 3394-3402.
- 65/Gomber S, Dewan P, Chhonker DV. Vincristine induced neurotoxicity in cancer patients. *Indian J Pediatr* 2010; 77(1): 97-100.
- 66/Gorman DJ, Kefford R, Stuart-Harris R. Focal encephalopathy after cisplatin therapy. *Med J* 1989; 150(7): 399-401.
- 67/Gozzard P, Maddison P. Which antibody and which cancer in which paraneoplastic syndromes? *Pract Neurol* 2010; 10: 260-270.
- 68/Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, Honnorat J, Smitt PS, Vedeler Ch, Verschuuren JJ, Vincent A, Voltz R. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75(8):1135-1140.
- 69/Grandi C, Tomasi CD, Fernandes K, Stertz L, Kapczinski F, Quevedo J, Dal-Pizzol F, Ritter C. Brain-derived neurotrophic factor and neuron-specific enolase, but not S100b, levels are associated to the occurrence of delirium in intensive care unit patients. *J Crit Care* 2011; 26: 133-137.
- 70/Grunberg SM, Sonka S, Stevenson LL, Muggia FM. Progressive paresthesias after cessation of therapy with very high-dose cisplatin. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 25(1):62-64.
- 71./Guillin O, Diaz J, Carroll P, Griffon N, Schwartz JC, Sokoloff P. BDNF controls dopamine D3 receptor expression and triggers behavioural sensitization. *Nature* 2001; 411(6833): 86-89.
- 72/ Gultekin SH, Rosenfield MR, Voltz R, Eichen J, Posner JB, Dalmau J. Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological findings and tumour association in 50 patients. *Brain* 2000; 7: 1481-1494.

73/Gutierrez EG, Banks WA, Kastin AJ Murine tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse. *J Neuroimmunol* 1993; 47(2):169-176.

74/Haim N, Barron SA, Robinson EM Muscle cramps associated with vincristine therapy. *Acta Oncol* 1991; 30(6):707-11

75/Haykin ME, Gorman M, van Hoff J, Fulbright RK, Baehring JM. Diffusion-weighted MRI correlates of subacute methotrexate-related neurotoxicity. *J Neurooncol* 2006; 76(2):153-157.

76/Heegaard NH, West-Nørager M, Tanassi JT, Houen G, Nedergaard L, Høgdall C, Høgdall E. Circulating antinuclear antibodies in patients with pelvic masses are associated with malignancy and decreased survival. *PLoS One* 2012; 7(2):e30997. doi: 10.1371/journal.pone.0030997.

77/Henderson IC, Berry DA, Demetri GD, Cirincione CT, Goldstein LJ, Martino S, Ingle JN, Cooper MR, Hayes DF, Tkaczuk KH, Fleming G, Holland JF, Duggan DB, Carpenter JT, Frei E 3rd, Schilsky RL, Wood WC, Muss HB, Norton L. Improved outcomes from adding sequential Paclitaxel but not from escalating Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21(6): 976-983.

78/Hershman DL, Weimer LH, Wang A, Kranwinkel G, Brafman L, Fuentes D, Awad D, Crew KD. Association between patient reported outcomes and quantitative sensory tests for measuring long-term neurotoxicity in breast cancer survivors treated with adjuvant paclitaxel chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 125(3): 767-74.

79/Himes RH, Kersey RN, Heller-Bettinger I, Samson FE. Action of the vinca alkaloids vincristine, vinblastine, and desacetyl vinblastine amide on microtubules in vitro. *Cancer Res.* 1976; 36(10): 3798-802.

80/Hinchey J, Chaves C, Appignani B, Breen J, Pao L, Wang A, Pessin MS, Lamy C, Mas JL, Caplan LR. A reversible posterior leukoencephalopathy syndrome. *N Engl J Med* 1996; 334(8): 494-500.

81/Hoffman DL, Howard JR Jr, Sarma R, Riggs JE. Encephalopathy, myelopathy, optic neuropathy, and anosmia associated with intravenous cytosine arabinoside. *Clin Neuropharmacol.* 1993 Jun;16(3):258-62.

82/Holland JF, Scharlau C, Gailani S, Krant MJ, Olson KB, Horton J, Shnider BI, Lynch JJ, Owens A, Carbone PP, Colsky J, Grob D, Miller SP, Hall TC Vincristine treatment of advanced cancer: a cooperative study of 392 cases. *Cancer Res* 1973; 33(6): 1258-1264.

- 83/Huemer F, Melchardt T, Tränkenschuh W, Neureiter D, Moser G, Magnes T, Weiss L, Schlattau A, Hufnagl C, Ricken G, Höftberger R, Greil R, Egle A. Anti-Hu Antibody Associated Paraneoplastic Cerebellar Degeneration in Head and Neck Cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 996. doi: 10.1186/s12885-015-2020-4.
- 84/Ibrahim A, Hirschfeld S, Cohen MH, Griebel DJ, Williams GA, Pazdur RFD. A drug approval summaries: oxaliplatin. *Oncologist*. 2004;9(1):8-12.
- 85/Imam JS, Plyler JR, Bansal H, Prajapati S, Bansal S, Rebeles J, Chen HI, Chang YF, Panneerdoss S, Zoghi B, Buddavarapu KC, Broaddus R, Hornsby P, Tomlinson G, Dome J, Vadlamudi RK, Pertsemlidis A, Chen Y, Rao MK Genomic loss of tumor suppressor miRNA-204 promotes cancer cell migration and invasion by activating AKT/mTOR/Rac1 signaling and actin reorganization. *PLoS One*. 2012;7(12):e52397. doi: 10.1371/journal.pone.0052397.
- 86/Jaggi A.S., Singh N. Analgesic potential of intrathecal farnesyl thiosalicylic acid and GW5074 in vincristine-induced neuropathic pain in rats, *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 1295–1301.
- 87/Jaggi A.S, Singh N. Differential effect of spironolactone in chronic constriction injury and vincristine-induced neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol* 2010; 648: 102–109.
- 88/Janelsons MC, Mustian KM, Palesh OG, Mohile SG, Peppone LJ, Sprod LK, Heckler CE, Roscoe JA, Katz AW, Williams JP, Morrow GR. Differential expression of cytokines in breast cancer patients receiving different chemotherapies: implications for cognitive impairment research. *Support Care Cancer* 2012; 20(4): 831–839.
- 89/Jehn CF, Becker B, Flath B, Nogai H, Vuong L, Schmid P, Lüftner D. Neurocognitive function, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and IL-6 levels in cancer patients with depression. *J Neuroimmunol* 2015; 287: 88–92.
- 90/Jim HS, Phillips KM, Chait S, Faul LA, Popa MA, Lee YH, Hussin MG, Jacobsen PB, Small BJ. Meta-analysis of cognitive functioning in breast cancer survivors previously treated with standard-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 2012; 30(29): 3578-87.
- 91/Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Neurotrophic factor delivery as a protective treatment for glaucoma. *Exp Eye Res* 2011; 93:196-203.
- 92/Jones JL, Anderson JM, Phuah CL, Fox EJ, Selmaj K, Margolin D, Lake SL, Palmer J, Thompson SJ, Wilkins A, Webber DJ, Compston DA, Coles AJ. Improvement in disability after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis is associated with neuroprotective autoimmunity. *Brain* 2010; 133(Pt 8):2232-2247.

- 93/Jones KR, Reichardt LF. Molecular cloning of a human gene that is a member of the nerve growth factor family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(20): 8060-8064
- 94/Joo W, Hippenmeyer S, Luo L. Neurodevelopment. Dendrite morphogenesis depends on relative levels of NT-3/TrkC signaling. *Science* 2014; 346(6209): 626-629.
- 95/Joshi G, Sultana R, Tangpong J, Cole M.P, St Clair D.K., Vore M., Estus S, Butterfield D.A. Free radical mediated oxidative stress and toxic side effects in brain induced by the anti cancer drug adriamycin: insight into chemobrain. *Free Radical Res* 2005; 39:1147–1154.
- 96/Kalcheim C, Carmeli C, Rosenthal A. Neurotrophin 3 is a mitogen for cultured neural crest cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(5): 1661-1665.
- 97/Kalinowska-Łyszczarz A, Pawlak MA, Michalak S, Losy J. Cognitive deficit is related to immune-cell beta-NGF in multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* 2012; 321(1-2): 43-48.
- 98/Kalinowska-Łyszczarz A, Pawlak MA, Michalak S, Paprzycki W, Losy J. Immune cell NT-3 expression is associated with brain atrophy in multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2011; 240-241.
- 99/Kanard A, Frytak S, Jatoi A. Cognitive dysfunction in patients with small-cell lung cancer: incidence, causes, and suggestions on management. *J Supp Oncol* 2004; 2(2): 127-132.
- 100/Karagoz B, Bilgi O, Akyol I, Ozgun A, Turken O, Kandemir EG. Cerebrovascular accident after chemotherapy for testicular cancer. *Mil Med* 2009; 174(3): 320-321.
- 101/Katzenwadel A, Sachse G, Federlin K. Messung von Vibrationsempfinden und Temperaturdiskrimination bei der peripheren diabetischen Neuropathie. *Akt Endokrin Stoffw* 1987; 8: 155-160.
- 102/Klich-Rączka A, Piotrowicz K, Mossakowska M, Skalska A, Wizner B, Broczek K, Wieczorowska-Tobis K, Grodzicki T. The assessment of cognitive impairment suspected of dementia in Polish elderly people: results of the population-based PolSenior Study. *Exp Gerontol* 2014; 57:233-42.
- 103/Koshimizu H, Kiyosue K, Hara T, Hazama S, Suzuki S, Uegaki K, Nagappan G, Zaitsev E, Hirokawa T, Tatsu Y, Ogura A, Lu B, Kojima M. Multiple functions of precursor BDNF to CNS neurons: negative regulation of neurite growth, spine formation and cell survival. *Mol Brain* 2009; 2:27. doi: 10.1186/1756-6606-2-27.
- 104/Krishnan AV, Goldstein D, Friedlander M, Kiernan MC. Oxaliplatin-induced neurotoxicity and the development of neuropathy. *Muscle Nerve* 2005; 32(1):51-60.
- 105/Kujala P, Portin R, Ruutiainen J. Memory deficits and early cognitive deterioration in MS. *Acta Neurol Scand* 1996; 93(5):329-335.

- 106/Kurzrock R, Cohen PR, Markowitz A. Clinical manifestations of vasculitis in patients with solid tumors. A case report and review of the literature. *Arch Intern Med* 1994; 154(3): 334-340.
- 107/Kuruville R, Ye H, Ginty DD. Spatially and functionally distinct roles of the PI3-K effector pathway during NGF signaling in sympathetic neurons. *Neuron* 2000; 27(3):499-512.
- 108/Kus T Aktas G, Kalender ME, Sevinc A, Kul S, Suner A, Ulker E, Camci C. Taxane-induced peripheral sensorial neuropathy in cancer patients is associated with duration of diabetes mellitus: a single-center retrospective study. *Support Care Cancer* 2016; 24(3):1175-1179.
- 109/Kust BM, Copray JC, Brouwer N, Troost D, Boddeke HW. Elevated levels of neurotrophins in human biceps brachii tissue of amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol* 2002; 177:419-427.
- 110/Lalive PH, Kantengwa S, Benkhoucha M, Juillard C, Chofflon M. Interferon-beta induces brain-derived neurotrophic factor in peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2008; 197(2):147-151.
- 111/Lavoie Smith EM, Li L, Hutchinson RJ, Ho R, Burnette WB, Wells E, Bridges C, Renbarger J. Measuring vincristine-induced peripheral neuropathy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Nurs* 2013; 36(5): E49-60.
- 112/Lehky TJ, Leonard GD, Wilson RH, Grem JL, Floeter MK. Oxaliplatin-induced neurotoxicity: acute hyperexcitability and chronic neuropathy. *Muscle Nerve* 2004; 29(3): 387-392
- 113/Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall R. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
- 114/Luque FA, Furneaux HM, Ferziger R, Rosenblum MK, Wray SH, Schold SC Jr, Glantz MJ, Jaekle KA, Biran H, Lesser M. Anti-Ri: an antibody associated with paraneoplastic opsoclonus and breast cancer. *Ann Neurol* 1991; 29(3):241-251.
- 115/Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichman AJ, Shu H, Matà S, Kremens D, Vitaliani R, Geschwind MD, Bataller L, Kalb RG, Davis R, Graus F, Lynch DR, Balice-Gordon R, Dalmau J. AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Ann Neurol* 2009; 65(4): 424-434.
- 116/Lagadec C, Meignan S, Adriaenssens E, Foveau B, Vanhecke E, Romon R, Toillon RA, Oxombre B, Hondermarck H, Le Bourhis X. TrkA overexpression enhances growth and metastasis of breast cancer cells. *Oncogene* 2009; 28(18): 1960-1970.

117/Lee R, Kermani P, Teng KK, Hempstead BL. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins *Science* 2001; 294(5548): 1945-1948.

118/Li Y, Chen K, Li L, Li R, Zhang J, Ren W. Overexpression of SOX2 is involved in paclitaxel resistance of ovarian cancer via the PI3K/Akt pathway. *Tumour Biol* 2015 Jul 11. [Epub ahead of print]

119/Łyskawa W. Chemioterapia w leczenie choroby nowotworowej i jej neurotoksyczność., *Anestezjologia i Ratownictwo* 2009; 3: 80-87

120/Mancino M, Ametller E, Gascón P, Almendro V. The neuronal influence on tumor progression. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1816(2): 105-118.

121/Martino RL, Benson AB 3rd, Merritt JA, Brown JJ, Lesser JR. Transient neurologic dysfunction following moderate-dose methotrexate for undifferentiated lymphoma. *Cancer*. 1984; 54(9): 2003-2005.

122/Masoudi R, Ioannou MS, Coughlin MD, Pagadala P, Neet KE, Clewes O, Allen SJ, Dawbarn D, Fahnestock M. Biological activity of nerve growth factor precursor is dependent upon relative levels of its receptors. *J Biol Chem* 2009; 284(27): 18424-18433.

123/ Materazzi S, Fusi C, Benemei S, Pedretti P, Patacchini R, Nilius B, Prenen J, Creminon C, Geppetti P, Nassini R. TRPA1 and TRPV4 mediate paclitaxel-induced peripheral neuropathy in mice via a glutathione-sensitive mechanism, *Pflugers Arch* 2012; 463: 561–569.

124/Matsubara K, Nigami H, Harigaya H, Osaki M, Baba K. Peroneal mononeuropathy in pediatric Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma* 2000; 40(1-2): 205-207.

125/McIntyre RS, Cha DS, Soczynska JK, Woldeyohannes HO, Gallagher LA, Kudlow P, Alsuwaidan M, Baskaran A. Cognitive deficits and functional outcomes in major depressive disorder: determinants, substrates, and treatment interventions. *Depress Anxiety* 2013 ; 30(6):515-527.

126/McLean DR, Clink HM, Ernst P, Coates R, al Kawi MZ, Bohlega S, Omer S. Myelopathy after intrathecal chemotherapy. A case report with unique magnetic resonance imaging changes. *Cancer* 1994; 73(12): 3037-3040.

127/Meyers ChA, Byrne KS, Komaki R. Cognitive deficits in patients with small cell lung cancer before and after chemotherapy. *Lung Cancer* 1995; 12: 231-235.

128/Missale C, Codignola A, Sigala S, Finardi A, Paez-Pereda M, Sher E, Spano PF. Nerve growth factor abrogates the tumorigenicity of human small cell lung cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(9): 5366-5371.

- 129/Mehlsen M, Pedersen AD, Jensen AB, Zachariae R. No indications of cognitive side-effects in a prospective study of breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *Psychooncology* 2009; 18(3): 248-257.
- 130/Melli G, Taiana M, Camozzi F, Triolo D, Podini P, Quattrini A, Taroni F, Lauria G. Alpha-lipoic acid prevents mitochondrial damage and neurotoxicity in experimental chemotherapy neuropathy. *Exp Neurol* 2008; 214: 276–284.
- 131/Mohammed ME, Abdelhafiz K. Autoantibodies in the sera of breast cancer patients: Antinuclear and anti-double stranded DNA antibodies as example. *J Cancer Res Ther* 2015; 11(2):341-344. doi: 10.4103/0973-1482.157314.
- 132/Mollman JE, Cisplatin neurotoxicity. *N Engl J Med* 1990;322:126-127.
- 133/Mössner R, Daniel S, Albert D, Heils A, Okladnova O, Schmitt A, Lesch KP. Serotonin transporter function is modulated by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not nerve growth factor (NGF). *Neurochem Int* 2000; 36(3): 197-202.
- 134/Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG, Murphy RA. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor. *J Biol Chem* 2001; 276(16):12660-12666.
- 135/Mutoh T, Sobue G, Hamano T, Kuriyama M, Hirayama M, Yamamoto M, Mitsuma T. Decreased phosphorylation levels of TrkB neurotrophin receptor in the spinal cords from patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurochem Res* 2000; 25(2): 239-245.
- 136/Nassini R, Gees M, Harrison S, De Siena G, Materazzi S, Geppetti P. Oxaliplatin elicits mechanical and cold allodynia in rodents via TRPA1 receptor stimulation. *Pain* 2011; 152: 1621–1631.
- 137/Navarro-Martínez R, Fernández-Garrido J, Buigues C, Torralba-Martínez E, Martínez-Martínez M, Verdejo Y, Mascarós MC, Cauli O. Brain-derived neurotrophic factor correlates with functional and cognitive impairment in non-disabled older individuals. *Exp Gerontol* 2015; 72:129-137.

- 138/Ng T, Teo SM, Yeo HL, Shwe M, Gan YX, Cheung YT, Foo KM, Cham MT, Lee JA, Tan YP, Fan G, Yong WS, Preetha M, Loh WJ, Koo SL, Jain A, Lee GE, Wong M, Dent R, Yap YS, Ng R, Khor CC, Ho HK, Chan A. Brain-derived neurotrophic factor genetic polymorphism (rs6265) is protective against chemotherapy-associated cognitive impairment in patients with early-stage breast cancer. *Neuro Oncol* 2016; 18(2): 244-251.
- 139/Ni J, Weng L, Liu M, Yang H, Wang Y. Small Cell Lung Cancer Accompanied by Tonsillar Metastasis and Anti-Hu Antibody-Associated Paraneoplastic Neuropathy: A Rare Case Report With Long-Term Survival. *Medicine (Baltimore)* 2015 ; 94(50):e2291. doi: 10.1097/MD.0000000000002291.
- 140/Nieto F.R, Entrena J.M, Cendán C.M, Pozo E.D, Vela J.M, Baeyens J.M. Tetrodotoxin inhibits the development and expression of neuropathic pain induced by paclitaxel in mice. *Brain* 2008;137: 520–531.
- 141/Nieto Y, Cagnoni PJ, Bearman SI, Shpall EJ, Matthes S, DeBoom T, Barón A, Jones RB. Acute encephalopathy: a new toxicity associated with high-dose paclitaxel *Clin Cancer Res* 1999 ; 5(3): 501-506.
- 142/Nishida K, Kuchiiwa S, Oiso S, Futagawa T, Masuda S, Takeda Y, Yamada K. Up-regulation of matrix metalloproteinase-3 in the dorsal root ganglion of rats with paclitaxel-induced neuropathy. *Cancer Sci* 2008; 99:1618–1625.
- 143/O'Leary CG, Battley JE, O'Reilly S. Anti-Ri antibody associated small cell lung carcinoma. *Ir J Med Sci.* 2016 Feb 1. [Epub ahead of print]
- 144/Omura GA, Moffitt S, Vogler WR, Salter MM. Combination chemotherapy of adult acute lymphoblastic leukemia with randomized central nervous system prophylaxis. *Blood* 1980; 55(2): 199-204.
- 145/ O'Neill JH, Murray NMF, Newsom-Davis J. The Lambert–Eaton myasthenic syndrome. A review of 50 cases. *Brain* 1988; 111: 577-596.
- 146/Ostermann K, Pels H, Kowoll A, Kuhnhen J, Schlegel U. Neurologic complications after intrathecal liposomal cytarabine in combination with systemic polychemotherapy in primary CNS lymphoma. *J Neurooncol* 2011; 103(3): 635-640.

- 147/Pantalone D, Muscas GC, Tings T, Paolucci R, Nincheri-Kunz M, Borri A, Taruffi F, Pernice LM, Liguori P, Andreoli F. Peripheral paraneoplastic neuropathy, an uncommon clinical onset of sigmoid cancer. Case report and review of the literature. *Tumori* 2002; 88(4):347-349.
- 148/Pelosof LC, Gerber DE. Paraneoplastic syndromes: an approach to diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc* 2010; 85(9): 838-854
- 149/Perry JR, Warner E. Transient encephalopathy after paclitaxel (Taxol) infusion. *Neurology* 1996; 46(6): 1596-1599.
- 150/Peterson K, Forsyth PA, Posner JB. Paraneoplastic sensorimotor neuropathy associated with breast cancer. *J Neurooncol* 1994;21(2):159-170.
- 151/Pinkerton CR, Rogers H, James C, Bowman A, Barbor PR, Eden OB, Pritchard J
A phase II study of ifosfamide in children with recurrent solid tumours. *Cancer Chemother Pharmacol* 1985;15(3):258-262.
- 152/ Podratz J.L, Knight A.M, Ta L.E, Staff N.P., Gass J.M., Genelin K, Schlattau A. ,
Lathroum L, Windebank A.J. Cisplatin induced mitochondrial DNA damage
in dorsal root ganglion neurons. *Neurobiol Dis* 2011; 41 : 661–668.
- 153/Pomykała KL, Ganz PA, Bower JE, Kwan L, Castellon SA, Mallam S, Cheng I, Ahn R, Breen EC, Irwin MR, Silverman DH. The association between pro-inflammatory cytokines regional cerebral metabolism, and cognitive complaints following adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Brain Imaging Behav* 2013;7(4):511–23.
- 154/Postma TJ, van Groenigen CJ, Witjes RJ, Weerts JG, Kralendonk JH, Heimans JJ. Neurotoxicity of combination chemotherapy with procarbazine, CCNU and vincristine (PCV) for recurrent glioma. *J Neurooncol* 1998; 38(1): 69-75.
- 155/Primavera A, Audenino D, Cocito L. Ifosfamide encephalopathy and nonconvulsive status epilepticus. *Can J Neurol Sci* 2002; 29(2):180-183.
- 156/ Raap U, Werfel T, Goltz C, Deneka N, Langer K, Bruder M, Kapp A, Schmid-Ott G, Wedi B. Circulating levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with disease severity in the intrinsic type of atopic dermatitis. *Allergy* 2006; 61: 1416–1418
- 157/Raderer M, Scheithauer W. Postchemotherapy rheumatism following adjuvant therapy for ovarian cancer. *Scand J Rheumatol* 1994; 23(5): 291-292.
- 158/Raspotnig M, Vedeler C, Storstein A. Paraneoplastic neurological syndromes in lung cancer patients with or without onconeural antibodies. *J Neurol Sci* 2015; 348(1-2):41-45.

- 159/Rao SM, Leo GJ, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology*. 1991 May;41(5):685-91.
- 160/Reichardt LF, Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361(1473):1545-1564.
- 161/Renard D, Westhovens R, Vandebussche E, Vandenberghe R. Reversible posterior leucoencephalopathy during oral treatment with methotrexate. *J Neurol* 2004; 251(2): 226-228.
- 162/Reyes-Gibby CC, Morrow PK, Buzdar A, Shete S. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy as a predictor of neuropathic pain in breast cancer patients previously treated with paclitaxel. *J Pain* 2009; 10(11): 1146-1150. .
- 163/Ricci A, Greco S, Mariotta S, Felici L, Bronzetti E, Cavazzana A, Cardillo G, Amenta F, Bisetti A, Barbolini G. Neurotrophins and neurotrophin receptors in human lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25(4):439-446.
- 164/Rita Levi-Montalcini Aloe L. and the discovery of NGF, the first nerve cell growth factor. *Arch Ital Biol* 2011; 149:175-181
- 165/Levi-Montalcini R. Effects of mouse tumor transplantation on the nervous system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1952; 55:330–3440.
- 166/Roberts JJ, Knox RJ, Friedlos F, Lydall D.A. DNA as the target for the cytotoxic and anti-tumour action of platinum coordination complexes: comparative in vitro and in vivo studies of cisplatin and carboplatin. D.C.H. McBrien, T.F. Slater (Eds.), *Biochemical Mechanisms of Platinum Antitumour Drugs*, IRL Press, Oxford (1986), pp. 29–64
- 167/Rojas-Marcos I, Rousseau A, Keime-Guibert F, Reñé R, Cartalat-Carel S, Delattre JY, Graus F. Spectrum of paraneoplastic neurologic disorders in women with breast and gynecologic cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2003 ; 82(3): 216-223.
- 168/Rosencher L, Maisonobe T, Lavole A, Milleron B, Ferroir JP. Neurologic paraneoplastic syndrome with anti-CV2/CRMP5 antibodies revealing a small cell lung cancer. Effectiveness of the lung cancer treatment. *Rev Neurol (Paris)* 2012; 168(4): 371-374.
- 169/Rossato M, Zabeo E, Burei M, Cecchin D, Guzzardo V, Fassina A, Vettor R. Lung cancer and paraneoplastic neurologic syndromes. Case report and review of the literature *Clin Lung Cancer* 2013;14(3):301-309.
- 170/Rowinsky EK, Cazenave LA, Donehower RC. Taxol: a novel investigational antimicrotubule agent. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82(15): 1247-1259.

171/Rubinstein LJ, Herman MM, Long TF, Wilbur JR. Disseminated necrotizing leukoencephalopathy: a complication of treated central nervous system leukemia and lymphoma. *Cancer* 1975; 35(2): 291-305.

172/Russmann S, Winkler A, Lövblad KO, Stanga Z, Bassetti C. Lethal ischemic stroke after cisplatin-based chemotherapy for testicular carcinoma and cannabis inhalation. *Eur Neurol* 2002; 48(3):178-180.

173/Saito B, Nakamaki T, Nakashima H, Usui T, Hattori N, Kawakami K, Tomoyasu S. Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome after repeat intermediate-dose cytarabine chemotherapy in a patient with acute myeloid leukemia. *Am J Hematol* 2007; 82(4):304-306.

174/Saito T, Asai O, Dobashi N, Yano S, Osawa H, Takei Y, Takahara S, Ogasawara Y, Yamaguchi Y, Minami J, Usui N. Peripheral neuropathy caused by high-dose cytosine arabinoside treatment in a patient with acute myeloid leukemia. *J Infect Chemother* 2006; 12(3):148-151.

175/Salehi A, Verhaagen J, Dijkhuizen PA, Swaab DF. Co-localization of high-affinity neurotrophin receptors in nucleus basalis of Meynert neurons and their differential reduction in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1996; 75(2):373-387.

176/Sarchielli P, Greco L, Stipa A, Floridi A, Gallai V. Brain-derived neurotrophic factor in patients with multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2002; 132(1-2):180-188.

177/Scripture CD, Sparreboom A, Figg WD. Modulation of cytochrome P450 activity: implications for cancer therapy. *Lancet Oncol* 2005; 6(10):780-789.

178/Seidah NG, Benjannet S, Pareek S, Savaria D, Hamelin J, Goulet B, Laliberte J, Lazure C, Chrétien M, Murphy RA Cellular processing of the nerve growth factor precursor by the mammalian pro-protein convertases. *Biochem J* 1996; 314 (Pt 3): 951-960.

179/Seretny M, Currie GL, Sena ES, Ramnarine S, Grant R, MacLeod MR, Colvin LA, Fallon M. Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain* 2014; 155(12): 2461-2470.

180/Schagen SB, Boogerd W, Muller MJ, Huinink WT, Moonen L, Meinhardt W, Van Dam FS. Cognitive complaints and cognitive impairment following BEP chemotherapy in patients with testicular cancer. *Acta Oncol* 2008; 47(1): 63-70.

181/Schagen SB, Muller MJ, Boogerd W, Mellenbergh GJ, van Dam FS.. Change in cognitive function after chemotherapy: a prospective longitudinal study in breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(23):1742-1745.

182/Schell MJ, McHaney VA, Green AA, Kun LE, Hayes FA, Horowitz M, Meyer WH. Hearing loss in children and young adults receiving cisplatin with or without prior cranial irradiation. *J Clin Oncol* 1989; 7(6):754-760.

183/Scuteri A, Galimberti A, Ravasi M, Pasini S, Donzelli E, Cavaletti G, Tredici G. NGF protects dorsal root ganglion neurons from oxaliplatin by modulating JNK/Sapk and ERK1/2. *Neurosci Lett* 2010; 486: 141–145.

184/Sharief U, Perry DJ Delayed reversible posterior encephalopathy syndrome following chemotherapy with oxaliplatin. *Clin Colorectal Cancer* 2009; 8(3):163-165.

185/Sheline GE, Wara WM, Smith V. Therapeutic irradiation and brain injury. *J Radiat Oncol Biol Phys* 1980; 6(9):1215-1228.

186/Shernaz X, Bamji, Marta Majdan, Christine D. Pozniak, Daniel J. Belliveau, Raquel Aloyz, Judi Kohn, Carrie G. Causing, and Freda D. Miller The p75 Neurotrophin Receptor Mediates Neuronal Apoptosis and Is Essential for Naturally Occurring Sympathetic Neuron Death *J Cell Biol* 1998; 140(4): 911–923.

187/Siau C, Bennett G.J. Dysregulation of cellular calcium homeostasis in chemotherapy-evoked painful peripheral neuropathy. *Anesth Analg* 2006; 102: 1485–1490.

188/Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2013 ; 63(1):11-30.

189/Simó M, Root JC, Vaquero L, Ripollés P, Jové J, Ahles T, Navarro A, Cardenal F, Bruna J, Rodríguez-Fornells A. Cognitive and brain structural changes in a lung cancer population. *J Thor Oncol* 2015; 10(1): 38-45.

190/Singer S, Grommes C, Reiner AS, Rosenblum MK, DeAngelis LM. Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome in Patients With Cancer. *Oncologist* 2015 Jun 1. pii: theoncologist.2014-0149.

191/Sinkevicius KW, Kriegel C, Bellaria KJ, Lee J, Lau AN, Leeman KT, Zhou P, Beede AM, Fillmore CM, Caswell D, Barrios J, Wong KK, Sholl LM, Schlaeger TM, Bronson RT, Chirieac LR, Winslow MM, Haigis MC, Kim CF. Neurotrophin receptor TrkB promotes lung adenocarcinoma metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(28): 10299-10304.

192/Sio TT, Paredes M, Uzair Ch. Neurological manifestation of colonic adenocarcinoma. *Rare Tumors*. 2012; 4(2): e32, doi: 10.4081/rt.2012.e32

- 193/Soejima K, Naoki K, Ishioka K, Nakamura M, Nakatani M, Kawada I, Watanabe H, Nakachi I, Yasuda H, Satomi R, Nakayama S, Yoda S, Ikemura S, Terai H, Sato T, Ohgino K, Arai D, Tani T, Kuroda A, Nishino M, Betsuyaku T. A phase II study of biweekly paclitaxel and carboplatin in elderly patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2015; 75(3):513-519.
- 194/Sparano JA, Wang M, Martino S, Jones V, Perez EA, Saphner T, Wolff AC, Sledge GW Jr, Wood WC, Davidson NE. Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 2008; 358(16):1663-1671.
- 195/Speck RM, Sammel MD, Farrar JT, Hennessy S, Mao JJ, Stineman MG, DeMichele A. Impact of chemotherapy-induced peripheral neuropathy on treatment delivery in nonmetastatic breast cancer. *J Oncol Pract* 2013; 9(5): e234-240.u8iii
- 196/Spenger C, Hyman C, Studer L, Egli M, Evtouchenko L, Jackson C, Dahl-Jørgensen A, Lindsay RM, Seiler RW. Effects of BDNF on dopaminergic, serotonergic, and GABAergic neurons in cultures of human fetal ventral mesencephalon. *Exp Neurol* 1995;133(1):50-63.
- 197/Stefens-Stawna P, Piorunek T, Gabryel-Batura H, Kozubski W, Michalak S. Neurological paraneoplastic syndromes in lung cancer patients. *Adv Exp Med Biol* 2013; 756:333-9.
- 198/Stuerenburg HJ, Kunze K. Tissue nerve growth factor concentrations in neuromuscular diseases. *Eur J Neurol* 1998;5(5):487-490.
- 199/Ta LE, Bieber AJ, Carlton SM, Loprinzi CL, Low PA, Windebank AJ. Transient receptor potential vanilloid 1 is essential for cisplatin-induced heat hyperalgesia in mice. *Mol Pain* 2010; 6: 15. doi: 10.1186/1744-8069-6-15.
- 200/Teng HK, Teng KK, Lee R, Wright S, Tevar S, Almeida RD, Kermani P, Torkin R, Chen ZY, Lee FS, Kraemer RT, Nykjaer A, Hempstead BL. ProBDNF induces neuronal apoptosis via activation of a receptor complex of p75^{NTR} and sortilin. *J Neurosci* 2005; 25(22): 5455-5463.
- 201/Thöne J, Ellrichmann G, Seubert S, Peruga I, Lee DH, Conrad R, Hayardeny L, Comi G, Wiese S, Linker RA, Gold R. Modulation of autoimmune demyelination by laquinimod via induction of brain-derived neurotrophic factor. *Am J Pathol* 2012; 180(1): 267-274.
- 202/Tombaugh TN. Trail Making Test A and B: Normative data stratified by age and education. *Arch Clin Neuropsychol* 2004; 19: 203–214.
- 203/Tongiorgi E, Sartori A, Baj G, Bratina A, Di Cola F, Zorzon M, Pizzolato G. Altered serum content of brain-derived neurotrophic factor isoforms in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2012; 320(1-2): 161-165.

204/Torii H, Yan Z, Hosoi J, Granstein R.D. Expression of neurotrophic factors and neuropeptide receptors by Langerhans cells and the Langerhans cell-like cell line XS52 further support for a functional relationship between Langerhans cells and epidermal nerves. *J Invest Dermatol* 1997; 109: 586–591.

205/Tsukamoto T, Mochizuki R, Mochizuki H, Noguchi M, Kayama H, Hiwatashi M, Yamamoto T. Paraneoplastic cerebellar degeneration and limbic encephalitis in a patient with adenocarcinoma of the colon. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1993; 56(6): 713-716.

206/Usta Y, Ismailoglu UB, Bakkaloglu A, Orhan D, Besbas N, Sahin-Erdemli I, Ozen S. Effects of pentoxifylline in adriamycin-induced renal disease in rats. *Pediatr Nephrol* 2004 ; 19(8): 840-843.

207/van den Bent MJ¹, Hilkens PH, Sillevius Smitt PA, van Raaij-van den Aarssen VJ, Bontenbal M, Verweij J.Lhermitte's sign following chemotherapy with docetaxel. *Neurology* 1998; 50(2): 563-564.

208/ Wolf S, Barton D, Kottschade L, Grothey A, Loprinzi Ch. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Prevention and treatment strategies. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1507-1515.

209/Yang C, Boyson CA, Di Liberto M, Huang X, Hannah J, Dorn DC, Moore MA, Chen-Kiang S, Zhou P. CDK4/6 Inhibitor PD 0332991 Sensitizes Acute Myeloid Leukemia to Cytarabine-Mediated Cytotoxicity. *Cancer Res* 2015; 75(9): 1838-1845.

210/Vanhecke E, Adriaenssens E, Verbeke S, Meignan S, Germain E, Berteaux N, Nurcombe V, Le Bourhis X, Hondermarck H. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-4/5 are Expressed in breast cancer and can be targeted to inhibit tumor cell survival. *Clinical Cancer Res* 2011;17:1741–1752.

211/Vardy J, Tannock I. Cognitive function after chemotherapy in adults with solid tumours. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2007; 63: 183–202.

212/Varon S, Nomura J, Shooter E. The Isolation of the Mouse Nerve Growth Factor Protein in a High Molecular Weight Form. *Biochemistry* 1967; 6: 2202-2209.

213/Vogel H, Horoupian DS. Filamentous degeneration of neurons. A possible feature of cytosine arabinoside neurotoxicity. *Cancer* 1993; 71(4): 1303-1308.

214/Wang YC, Hsieh TC, Chen SW, Yen KY, Kao CH, Chang KC. Concurrent chemoradiotherapy potentiates vascular inflammation: increased FDG uptake in head and neck cancer patients *JACC Cardiovasc Imaging* 2013; 6(4): 512-514.

215/Warner E, Keshavjee al-N, Shupak R, Bellini A. Rheumatic symptoms following adjuvant therapy for breast cancer. *Am J Clin Oncol* 1997; 20(3): 322-326.

- 216/Watson FL, Heerssen HM, Bhattacharyya A, Klesse L, Lin MZ, Segal RA. Neurotrophins use the Erk5 pathway to mediate a retrograde survival response. *Nat Neurosci* 2001; 4(10): 981-988.
- 217/Wefel JS, Lenzi R, Theriault R, Buzdar AU, Cruickshank S, Meyers CA. 'Chemobrain' in breast carcinoma?: a prologue., *Cancer* 2004; 101(3): 466-475.
- 218/Wang W, Chen J, Guo X. The role of nerve growth factor and its receptors in tumorigenesis and cancer pain. *BioScience Trends* 2014; 8(2):68-74.
- 219/Wernick R, Smith DL. Central nervous system toxicity associated with weekly low-dose methotrexate treatment. *Arthritis Rheum* 1989; 32(6): 770-775.
- 220/Wilding G, Caruso R, Lawrence TS, Ostchega Y, Ballantine EJ, Young RC, Ozols RF. Retinal toxicity after high-dose cisplatin therapy. *J Clin Oncol* 1985; 3(12): 1683-1689.
- 221/Winkelman MD, Hines JD. Cerebellar degeneration caused by high-dose cytosine arabinoside: a clinicopathological study. *Ann Neurol* 1983; 14(5): 520-527
- 222/Xiao W, Boroujerdi A, Bennett GJ, Luo ZD. Chemotherapy-evoked painful peripheral neuropathy: analgesic effects of gabapentin and effects on expression of the alpha-2-delta type-1 calcium channel subunit. *Neuroscience* 2007; 144: 714–720.
- 223/Qureshi AA, Hosoi J, Xu S, Takashima A, Granstein R.D, Lerner E.A. Langerhans cells express inducible nitric oxide synthase and produce nitric oxide. *J Investig Dermatol* 1996;107: 815–821.
- 224/Yang H, Ma Y, Liu Z, Wang Z, Han B, Ma L. Benefit from ifosfamide treatment in small-cell lung cancer: A meta-analysis. *Mol Clin Oncol* 2015; 3(2): 420-424.
- 225/Yeshurun M, Marsot Dupuch K. Acute cerebellar syndrome following intermediate-dose cytarabine. *Br J Haematol* 2001; 113(4):846.
- 226/Yoon JH, Yoon JY, Park HJ, Son MH, Kim SH, Kim W, Kim HJ, Lee SH, Park BK. Diffuse cerebral vasospasm with infarct after intrathecal cytarabine in childhood leukemia. *Pediatr Int* 2014; 56(6): 921-924.
- 227/Zalewski N, Lennon VA, Lachance DH, Klein CJ, Pittock SJ, McKeon A. P/Q- & N-type calcium channel antibodies: Oncological, neurological & serological accompaniments. *Muscle Nerve* 2016 Jan 20. doi: 10.1002/mus.25027. [Epub ahead of print]
- 228/Zhang J, Wang LS, Ye SL, Luo P, Wang BL. Blockage of tropomyosin receptor kinase a (TrkA) enhances chemo-sensitivity in breast cancer cells and inhibits metastasis in vivo. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(1): 634-641.

229/Zhang S, Guo D, Luo W, Zhang Q, Zhang Y, Li C, Lu Y, Cui Z, Qiu X. TrkB is highly expressed in NSCLC and mediates BDNF-induced the activation of Pyk2 signaling and the invasion of A549 cells. *BMC Cancer* 2010; 10:43. doi: 10.1186/1471-2407-10-43.

230/Ziegenhorn AA, Schulte-Herbrüggen O, Danker-Hopfe H, Malbranc M, Hartung HD, Anders D, Lang UE, Steinhagen-Thiessen E, Schaub RT, Hellweg R. Serum neurotrophins--a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. *Neurobiol Aging*. 2007; 28(9): 1436-1445.

231/Zuccato C, Ciammola A, Rigamonti D, Leavitt BR, Goffredo D, Conti L, MacDonald ME, Friedlander RM, Silani V, Hayden MR, Timmusk T, Sipione S, Cattaneo E. Loss of huntingtin-mediated BDNF gene transcription in Huntington's disease. *Science* 2001; 293(5529): 493-498.

X. Załączniki

Załącznik 1.

Protokół badania internistycznego i neurologicznego

Imię i nazwisko:

Data:

Pesel:

WYWIAD:

Dolegliwości:

Wiek w momencie zachorowania (lata):

Wiek w chwili badania (lata):

Czas trwania choroby (lata) :

Leczenie chemioterapeutykami: tak/nie

Urazy nn. obwodowych i niedobory:

Wykształcenie:

Znajomość komp: tak/nie

BADANIE INTERNISTYCZNE:

Waga: kg; Wzrost: cm; BMI: kg/m² ; obwód talii/obwód bioder:

Budowa:

Odżywienie:

Skóra:

Węzły chłonne:

Jama ustna, migdałki, język:

Szyja:

Układ oddechowy:

Układ krążenia:

Jama brzuszna:

Układ kostno stawowy:

BADANIE NEUROLOGICZNE:

GCS :

Kontakt logiczny:

Objawy oponowe :

 Szttywność karku :

 Objaw Kerniga :

 Inne :

Czaszka:

Nerwy czaszkowe:

n. I:

n. II:

n. III, IV, VI:

n. V:

n. VII:

n. VIII:

n. IX i X:

n. XI:

n. XII:

Kończyny górne:

Mięśnie:

Ułożenie:

Napięcie mięśni:

Siła mięśni:

Ruchy kończyn w stawach:

 Odruchy :

 -z mięśnia trójgłowego

 -z mięśnia dwugłowego

 -z kości promieniowej

Czucie powierzchowne i głębokie:

Objawy korzeniowe i rozciągowe:

Zborność:

Próba palec-nos :

Kończyny dolne:

Mięśnie:

Ułożenie:

Napięcie mięśni:

Siła mięśni:

Ruchy kończyn w stawach:

Odruchy :

-kolanowy

-skokowy

-podeszwowy

Objawy patologiczne:

-Babińskiego:

-Rossolimo:

-Oppenheima:

Czucie powierzchowne i głębokie:

Objawy korzeniowe i rozciągowe:

Zborność:

Próba pięta-kolano:

Tułów :

Czucie powierzchowne:

Odruchy brzuszne:

-górne:

-środkowe:

-dolne:

Zaburzenia zwieraczy:

Objawy pozapiramidowe :

Próba Romberga:

Chód:

Załącznik 2.

Skala Katzenwadela

Punktacja	Funkcje ruchowe	Wywiad dotyczący dolegliwości bólowych	Czucie	Koordinacja ruchów	Odruchy ścięgniste
0	bez zaburzeń	bez dolegliwości	bez zaburzeń	bez zaburzeń	bez zaburzeń
1	dyskretny niedowład	“tolerowane” zaburzenia czucia pod postacią przeczulicy i dysestezji	osłabione czucie dyskryminacyjne w obrębie dłoni lub stopy	zaburzona próba palec – nos i pieta - kolano	wyraźne osłabienie lub zniesienie odruchu skokowego
2	wyraźny niedowład oraz zaniki mięśni szkieletowych	bolesne kłucia i pieczenia o lokalizacji typu “skarpetek”	wyraźne zaburzenia czucia rozprzestrzeniające się proksymalnie	dodatkowo ataksja chodu	zniesienie lub osłabienie pozostałych odruchów

Ocena: 0 -2 punkty – brak neuropatii, 3 - 4 punkty – wątpliwa neuropatia,
5 - 10 punktów – jawna klinicznie neuropatia

XI. Spis rycin

Rycina 1 Szlaki oddziaływania czynnika wzrostu nerwów

Rycina 2. Udział neurotrofin w procesie nowotworowym

Rycina 3. Rola czynników neurotroficznych w przebiegu raka płuca

Rycina 4. Rola czynników neurotroficznych w przebiegu raka piersi

Rycina 5. Rola czynników neurotroficznych w przebiegu raka jelita grubego

Rycina 6. Typy histopatologiczne raka płuca w badanej grupie chorych

Rycina 7. Profil objawów ze strony układu nerwowego w badanej grupie chorych na nowotwory przy włączaniu do badania

Rycina 8. Profil nowych objawów w badanej grupie chorych na nowotwory po 6 miesiącach obserwacji

Rycina 9. Wyniki oceny chorych na nowotwory w teście reakcji prostej (SRT) przy włączaniu do badania w porównaniu z grupą kontrolną (K)

Rycina 10. Wyniki oceny chorych na nowotwory w teście reakcji prostej (SRT) po 6 miesiącach obserwacji w porównaniu z grupą kontrolną (K)

Rycina 11. Profil przeciwciał antyneuralnych u chorych na nowotwory

Rycina 12. Zależność pomiędzy zahamowaniem ekspresji NT4 w PBMC a wystąpieniem nowych objawów u chorych na nowotwory ze strony układu nerwowego po 6 miesiącach obserwacji

Rycina 13. Zależność pomiędzy występowaniem objawów ze strony układu nerwowego u chorych na nowotwory przy włączaniu do badania od obecności wszystkich typów autoprzeciwciał

Rycina 14. Zależność pomiędzy występowaniem objawów ze strony układu nerwowego u chorych na nowotwory przy włączaniu do badania od obecności przeciwciał antyneuralnych

Rycina 15. Zależność pomiędzy występowaniem nowych objawów ze strony układu nerwowego u chorych na nowotwory po 6 miesiącach obserwacji od obecności przeciwciał antyneuralnych

Rycina 16. Zależność pomiędzy występowaniem przeciwciał antyneuralnych a zahamowanie ekspresji NT3 w PBMC

Rycina 17. Krzywa ROC dla NT3 jako markera wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego u chorych z obecnością autoprzeciwciał

Rycina 18. Krzywa ROC dla NT4 jako markera wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego u chorych bez obecności autoprzeciwciał

XII. Spis tabel

Tabela 1. Wyniki oceny chorych w MMSE, TMT A i B, DSpan i skali Hamiltona przy włączaniu i po 6 miesiącach obserwacji

Tabela 2. Wyniki badania czasu reakcji z wyborem przy włączaniu chorych do badania, po 6 miesiącach obserwacji oraz w grupie kontrolnej

Tabela 3. Porównanie ekspresji BDNF u chorych bez deficytu i z deficytem neurologicznym

Tabela 4. Porównanie ekspresji NGF u chorych bez deficytu i z deficytem neurologicznym

Tabela 5. Porównanie ekspresji NT3 u chorych z deficytem i bez deficytu neurologicznego.

Tabela 6. Porównanie ekspresji NT4 u chorych z deficytem i bez deficytu neurologicznego.

Tabela 7. Ekspresja neurotrofin w podgrupach badanych chorych w zależności od osiągnięcia punktu końcowego badania

Tabela 8. Związek nasilenia objawów neuropatii z ekspresją NT4 w PBMC