

Lekarz Joanna Gazdulska

Metabolizm neuroprzekaźników w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej jako model neurologicznych powikłań chemioterapii

**Transmitter substance metabolism in peripheral blood mononuclear cells as
a model for the neurological complications of chemotherapy**

Rozprawa Doktorska

Promotor: prof. dr hab. Rodryg Ramlau

Uniwersytet Medyczny

im. Karola Marcinkowskiego

w Poznaniu

POZNAŃ 2017

Słowa kluczowe: zaburzenia poznawcze, chemobrain, chemofog, neuroprzekąźniki

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	8
1.1. WPROWADZENIE	8
1.2. NEUROTOKSYCZNY WPŁYW CHEMIOTERAPII.....	9
1.2.1. Zaburzenia funkcji poznawczych.....	10
1.2.2. Chemioterapia i jej toksyczny wpływ na neurony	11
1.2.3. Cytokiny i czynniki modulujące ich wydzielanie.....	14
1.2.4. Polimorfizm genów kontrolujących neuroprzeżytkowość	16
1.2.5. Stres oksydacyjny	17
1.3. BARIERA KREW–MÓZG	17
1.4. NAJWAŻNIEJSZE NEUROPRZEŻYTKOWNIKI I ICH METABOLIZM.....	18
1.4.1. <i>Glutaminian</i>	18
1.4.1.1. Metabolizm glutaminianu w neuronach.....	19
1.4.1.2. Metabolizm glutaminianu w komórkach nowotworowych.....	20
1.4.2. <i>Tryptofan</i>	21
1.4.2.1. Szlak kinureninowy	22
1.5. NEUROLOGICZNE ZESPOŁY PARANOWOTWOROWE	24
1.5.1. <i>Mechanizm powstawania zespołów paranowotworowych</i>	24
1.5.2. <i>Kryteria rozpoznania neurologicznych zespołów paranowotworowych</i>	25
1.5.3. <i>Klasyczne zespoły paranowotworowe</i>	25
1.5.4. <i>Diagnostyka neurologicznych zespołów paranowotworowych</i>	28
1.6. JEDNOJĄDRZASTE KOMÓRKI KRWI OBWODOWEJ.....	29
1.6.1. <i>Metoda izolacji jednojądrzastych komórek z krwi obwodowej</i>	30
2. CEL PRACY	31
3. CHOROZY I METODYKA	32
3.1. CHOROZY	32
3.1.1. <i>Kryteria kwalifikacji</i>	32
3.1.2. <i>Grupa kontrolna</i>	33
3.2. METODYKA	33
3.2.1. <i>Ocena neurologiczna i klinimetryczna</i>	33
3.2.2. <i>Badania laboratoryjne</i>	34
3.2.3. <i>Analiza statystyczna</i>	36
4. WYNIKI	36
5. DYSKUSJA	53
6. WNIOSKI	63
7. STRESZCZENIE	64
8. SUMMARY	66
9. BIBLIOGRAFIA	68

10. ZAŁĄCZNIKI	89
11. SPIS RYCIN	108
12. SPIS TABEL	109

Wykaz skrótów

ABC – transport błonowy, ang. *ATP-binding cassette*,

anty-GAD – przeciwciało przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego,

ang. *anti-glutamic acid decarboxylase*,

anty-GFAP – przeciwciało przeciwko kwaśnemu włóknkowemu białku glejowemu,

ang. *anti-glia fibrillary acidic protein*,

anty-MAG – przeciwciało przeciwko glikoproteinie związanej z mieliną,

ang. *anti-myelin-associated glycoprotein*,

ApoE – apolipoproteina E,

Bax – białko odgrywające rolę w regulacji apoptozy,

ang. *BCL2-associated X protein*,

Bcl-2 – białko odgrywające rolę w procesie apoptozy, ang. *B-cell lymphoma*,

CIPN – obwodowa neuropatia indukowana chemioterapią,

ang. *chemotherapy-induced peripheral neuropathy*,

COMT – katecholo-O-metylotransferaza,

CRCD – zaburzenia funkcji poznawczych związanych z nowotworem,

ang. *cancer-related cognitive dysfunction*,

CRT – test czasu reakcji z wyborem, ang. *choice reaction time*,

DSpan – test powtarzania cyfr, ang. *digit span*,

EATS – transporter ekscytotoksyczny aminokwasów,

ang. *excitatory amino acid transporters*,

EGFR – nabłonkowy receptor czynnika wzrostu,

ang. *epithelial growth factor receptor*,

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

GABA – kwas gamma-aminomasłowy, ang. *gamma aminobutric acid*,

GAD – dekarboksylaza glutaminianu,

GDH – dehydrogenaza glutaminianu,

GLAST – transporter glutaminianu i kwasu asparaginowego,
ang. *GLutamate ASpartate Transporter*,

GLS – aktywność glutaminazy, ang. *glutaminase*,

GLT-1 – transporter glutaminianu, ang. *glutamate transporter*,

GPR 35 – receptor białka G, ang. *G-protein receptor 35*,

5HTA2 – receptor serotoninowy, ang. *Serotonin 5-HT_{2A} receptors*,

IDO – indolodioxygenaza, ang. *indoleamine 2,3-dioxygenase*,

INFα – interferon alfa,

IL 1 – interleukina 1,

IL 2 – interleukina 2,

IL 6 – interleukina 6,

IL 8 – interleukina 8,

MMSE – skala Mini Mental oceny funkcji poznawczych,
ang. *Mini-Mental State Examination*,

MDRI – białko wielotransportowe, ang. *multidrug resistance transporter*,

mTOR – kinaza białkowa treoninowo-serynowa,
ang. *mammalian target of rapamycin*,

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

MYC – protoonkogen MYC, ang. *MYC proto-oncogene*,

NMDA – receptor glutaminowy NMDA, ang. *N-methyl-D-aspartate receptor*,

NOS – niesklasyfikowany rak płuca, ang. *not otherwise specified carcinoma*,

PEBL – Platforma PEBL, ang. *The Psychology Experiment Building Language*,

p53 – białko p53, ang. *protein 53*,

PMBC – jednojądrzaste komórki krwi obwodowej,

PTA – Prolek cis-3-(9H-purin-6-ylthio) acrylic acid,

RAS – kinaza serynowo-treoninowa biorąca udział w przekazywaniu
wewnątrzkomórkowym, ang. *rat sarcoma viral oncogene*,

SRT – test czasu reakcji prostej, ang. *simple reaction time*,

TMT A – test łączenia punktów A, ang. *Trail Making Test A*,

TMT B – test łączenia punktów B, ang. *Trail Making Test B*,

TNF α – czynnik martwicy guza, ang. *tumor necrosis factor*,

sTNF-RII – rozpuszczalny receptor typu II dla czynnika martwicy guza.

1. WSTĘP

1.1. Wprowadzenie

Nowotwory złośliwe są aktualnie drugą przyczyną zgonów w Polsce. W ciągu ostatnich trzech dekad zachorowalność na nie zwiększyła się ponad dwukrotnie. W 2013 roku nastąpił wzrost zachorowań o 4 tys. nowych przypadków, natomiast zmniejszyła się liczba zgonów w stosunku do 2012 roku [94]. Z chorobą nowotworową rozpoznaną w ciągu poprzedzających 10 lat żyje 574 tys. osób [45, 46].

Na świecie w 2012 roku zachorowało na nowotwór około 14 mln osób, a zmarło z powodu choroby nowotworowej 8,2 mln osób. Zachorowalność na nowotwory złośliwe u mężczyzn aktualnie osiągnęła plateau po zanotowanym wzroście w latach 80. ubiegłego wieku. Po 1991 roku obserwuje się tendencję spadkową [45, 46].

U kobiet standaryzowane współczynniki zachorowalności wzrosły około 60% w ciągu ostatnich 30 lat ($152/10^5$ w 1980 roku wobec $205/10^5$ w 2010 roku). Jednak od ubiegłej dekady mają tendencję spadkową [45, 46].

W związku z postępem medycyny, pojawieniem się nowych leków oraz wcześniejszym wykrywaniem nowotworów odnotowano w ciągu ostatniej dekady XXI wieku wzrost wskaźników przeżyć u mężczyzn z 32,9% do 37,3% i u kobiet z 51,2% do 53,5%. Moor w swojej analizie przewiduje wzrost liczby ozdowieńców do 35% – z 13,7 mln w 2012 roku do 18 mln w 2022 roku (dane dotyczą Stanów Zjednoczonych) [44].

Choroba nowotworowa nabiera statusu choroby przewlekłej – według definicji (Pilecka za Shontz 1972): „wszelkie zaburzenia lub odchylenia od normy, które mają jedną lub więcej z następujących cech charakterystycznych: są trwałe, pozostawiają po sobie inwalidztwo, spowodowane są nieodwracalnymi zmianami patologicznymi, wymagają specjalnego postępowania rehabilitacyjnego albo według wszelkich oczekiwań wymagać będą długiego okresu nadzoru, obserwacji czy opieki”. Coraz więcej młodych „ozdowieńców”, chorych po leczeniu onkologicznym lub w trakcie, próbuje powrócić do pracy, aktywności zawodowej i rodzinnej. W związku z tymi tendencjami narasta również skala powikłań po leczeniu onkologicznym. Zwiększa się również wpływ samej choroby nowotworowej na stan ogólny chorych.

Działania niepożądane związane z chemioterapią i chorobą nowotworową stają się coraz poważniejszym problemem ze względu na wzrost zachorowań na nowotwory złośliwe i jednocześnie wydłużenie czasu przeżycia chorych. Następstwem powikłań po chemioterapii w obwodowym układzie nerwowym są neuropatie, natomiast w ośrodkowym układzie nerwowym zaburzenia funkcji poznawczych, depresja lub zespół przewlekłego zmęczenia. Patomechanizm tych zaburzeń nie został do końca wyjaśniony. Nadal brakuje specyficznych biomarkerów, testów i badań obrazowych, które pozwoliłyby na ocenę ryzyka, wyodrębnienie grupy chorych szczególnie narażonych na dane powikłania lub monitorowanie neurologicznych powikłań po chemioterapii.

Neurologiczne powikłania po chemioterapii należy różnicować z paranowotworowymi zespołami neurologicznymi. Wspólnymi ich cechami są jednak występowanie neurodegeneracji, rzadkie rozpoznawanie, utrudniona diagnostyka, a także trudności w różnicowaniu i leczeniu obu jednostek.

W ostatnich latach nastąpił wzrost zainteresowania neurologicznymi powikłaniami po chemioterapii, ich diagnostyką i leczeniem. Powstają międzynarodowe organizacje, które mają na celu wspierać chorych ozdrowieńców. Mechanizmy rozwoju neurologicznych powikłań po chemioterapii poznane zostały jak dotąd wycinkowo i w odniesieniu do wybranych chemioterapeutyków. Zauważalny jest niedostatek danych pochodzących z usystematyzowanych badań populacyjnych z uwzględnieniem oceny funkcji poznawczych u chorych przed leczeniem i po leczeniu onkologicznym w porównaniu ze zdrową populacją.

Zdefiniowania wymagają: indywidualne predyspozycje, czynniki genetyczne, typy nowotworów oraz leki onkologiczne, które cechują się największym ryzykiem wystąpienia zaburzeń funkcji poznawczych. Badania z zastosowaniem technik obrazowania strukturalnego i funkcjonalnego oraz testy neuropsychologiczne umożliwiają rozpoznanie zaburzeń funkcji poznawczych. Wymagają one jednak standaryzacji. Sytuacja ta skłania do dalszych badań i poszukiwań.

1.2. Neurotoksyczny wpływ chemioterapii

Neurologiczne powikłania po chemioterapii można podzielić na uszkodzenia obwodowego układu nerwowego oraz ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Do

obwodowej neuropatii zalicza się: neuropatię czuciową, autonomiczną i czuciowo-ruchową.

Obwodowa neuropatia indukowana chemioterapią (CIPN, ang. *chemotherapy-induced peripheral neuropathy*) może pojawić się na każdym etapie leczenia. Do najczęściej zgłaszanych objawów należą: mrowienie, drętwienie dłoni i stóp (parestezje), zaburzenia czucia wibracji oraz osłabienie siły mięśniowej. Do objawów uszkodzenia autonomicznego układu nerwowego należą: zaparcia, zaburzenia w mikcji czy zaburzenia potencji oraz obniżanie ciśnienia tętniczego przy zmianie pozycji ciała.

Ośrodkowe uszkodzenie układu nerwowego w przebiegu chemioterapii nazwane zostało zespołem polekowego uszkodzenia mózgu, którego głównym objawem jest zaburzenie funkcji poznawczych. Do rzadziej występujących powikłań zalicza się uogólnione napady toniczno-kloniczne [124], ostry zespół mózdkowy [160] i tylną odwracalną leukoencefalopatię [151]. Do objawów ostrego zespołu mózdkowego zalicza się nagłe wystąpienie objawów pod postacią oczopląsu, dyzartrii oraz ataksji chodu [193, 186]. Tylną odwracalną encefalopatię cechuje pojawienie się: bólów głowy, wymiotów, zaburzeń świadomości, ślepoty korowej oraz ogniskowych napadów padaczkowych [159].

1.2.1. Zaburzenia funkcji poznawczych

„Chemobrain” lub „chemofog” [142] to zespół zaburzeń poznawczych, które pojawiają się u chorych na nowotwory oraz podczas lub po zakończeniu leczenia choroby podstawowej.

Do najczęściej zgłaszanych dolegliwości należą: zaburzenia koncentracji, uwagi, pamięci, koordynacji wzrokowo-przestrzennej, wydłużenie czasu reakcji, pogorszenie płynności mowy i zdolności do wykonywania złożonych czynności oraz wydłużenie czasu ich wykonywania [23, 171].

Zespół powyższych objawów przyczynia się do obniżenia jakości życia, zwłaszcza u chorych po zakończonym leczeniu, którzy planują powrócić do aktywności zawodowych.

Wśród głównych przyczyn zespołu zaburzeń poznawczych związanych z chemioterapią, obok leczenia chemioterapeutykami, uwzględnia się również wpływ takich czynników jak: hormonoterapia, radioterapia, zabiegi chirurgiczne

i znieczulenie związane z ich przeprowadzeniem, menopauza farmakologiczna, stres, lęk, depresja, zmęczenie oraz uwarunkowania genetyczne [168]. Ze względu na złożoność tego zjawiska proponuje się wprowadzenie nazewnictwa o szerszym znaczeniu, jak np. zaburzenia funkcji poznawczych związanych z nowotworem (ang. *cancer-related cognitive dysfunction CRCO*) [128] lub „mózg w stanie krytycznym” (ang. *crisis brain*) [77].

Przyczyny zaburzeń funkcji poznawczych można podzielić na bezpośrednie i pośrednie. Do bezpośrednich czynników zalicza się przerzuty do mózgu, następstwa chemioterapii, hormonoterapii lub radioterapii. Leczenie onkologiczne wykazuje działanie neurotoksyczne polegające na uszkodzeniu neuronów i gleju, zaburzeniu procesów naprawczych, zmniejszeniu poziomu neurotransmiterów oraz zaburzeniu i zmianach w przepuszczalności bariery krew–mózg [4].

Wśród pośrednich przyczyn wyróżnia się mechanizmy związane z odległym wpływem choroby nowotworowej, czyli zaburzenia immunologiczne, zaburzenia układu krzepnięcia, mutacje genetyczne, nadprodukcję cytokin prozapalnych oraz zespoły paranowotworowe [168].

1.2.2. Chemioterapia i jej toksyczny wpływ na neurony

Chemioterapeutyki wywołują neurotoksyczny efekt poprzez uszkadzający wpływ na mikrotubule oraz zahamowanie metabolicznej aktywności mitochondriów, stres oksydacyjny lub indukcję stanu zapalnego. W wyniku tych patomechanizmów rozwija się upośledzenie transportu aksonalnego oraz dochodzi do uszkodzenia DNA, które wyzwala mechanizmy zaprogramowanej śmierci w neuronach [185]. Zwiększenie poziomu endogennych kortykosteroidów związane z przewlekłym stresem oraz steroidy stosowane często w leczeniu onkologicznym mogą powodować neurodegenerację neuronów hipokampa, prowadząc do zaburzeń funkcji poznawczych [28, 81].

Efekt działania cytostatyków może wynikać z bezpośredniego toksycznego wpływu na komórki nerwowe i ich metabolizm, jak również z zaburzenia bariery krew–mózg u chorych poddanych radioterapii ośrodkowego układu nerwowego lub leczeniu dokanałowym cytostatyków.

Pochodne platyny (cisplatyna, karboplatyna) łączą się z zasadami purynowymi DNA. Wewnątrzłańcuchowe połączenia pomiędzy zasadami DNA

blokują aktywność polimerazy DNA i RNA oraz promują apoptozę. Kiedy liczba nieprawidłowych podstawników przekracza zdolność naprawy DNA, białko p53 inicjuje proces apoptozy. Ponadto pochodne platyny mogą niszczyć molekuly zaangażowane w dostarczanie komórce energii (adenozynotrifosforanu, ATP), jak również białka bezpośrednio i pośrednio zaangażowane w proces apoptozy oraz mitochondrialne białka antyoksydacyjne – dochodzi wówczas do nekrozy komórki [56] oraz obniżenia tolerancji komórek na stres oksydacyjny [107]. Wpływ tych cytostatyków jest niezależny od fazy cyklu komórkowego. Ich toksyczność koreluje natomiast z czasem trwania fazy G₂ [95]. Na modelach zwierzęcych wykazano, że cisplatyna powoduje zmiany aktywności proliferacji zewnętrznej warstwy ziarnistej i migracji komórek [133], a także zmiany w immunoreaktywności receptora glutaminianowego, GABA i monoaminergicznego, szczególnie komórek Purkiniego u szczurów narażonych na działanie cisplatyny podczas rozwoju macierzystego mózdzku [7, 131, 132]. Działanie niepożądane cisplatyny zależy od podanej dawki. Do pierwszych objawów uszkodzenia obwodowego układu nerwowego dochodzi najczęściej w ciągu 3 do 6 miesięcy leczenia, kiedy dawka sumaryczna cisplatyny wynosi około 400–500 mg/m² [53, 125]. Ta L.E. i współpracownicy udowodnili silne powinowactwo cisplatyny do DNA komórek zwoju rdzeniowego [167, 137]. Ten mechanizm działania, jak i wiązanie pochodnych platyny z mitochondrialnym DNA, uważa się za prawdopodobną przyczynę obumierania neuronów. Cisplatyna wpływa również na wzrost ekspresji receptorów serotoninowych 5HTA₂. Hamują one wzrost komórek Purkiniego i najprawdopodobniej migrację gleju z warstwy ziarnistej zewnętrznej do wewnętrznej.

Do głównych powikłań po cisplatynie zalicza się: neuropatię obwodową, uszkodzenia słuchu u około 30%, szумы uszne [151], jak również encefalopatie [57]. Karboplatyna cechuje się mniejszą neurotoksycznością, natomiast w większych dawkach i w przebiegu dłuższych terapii daje objawy podobne jak cisplatyna.

Taksany, stabilizują mikrotubule. Leki te hamują tworzenie się i rozrywanie wrzeciona mitotycznego oraz blokują cykl komórkowy w fazie M, inicjując apoptozę [95]. Blokują również antyapoptyczne działanie genu Bcl-2 i wpływają na aktywację genu p53. Taksany najczęściej powodują neuropatię obwodową pod postacią parestezji, zaburzenia czucia i dyzestezji, rzadziej uszkodzenie słuchu. Istnieją przypuszczenia, iż neurodegeneracja jako efekt neurotoksycznego działania

chemioterapii może prowadzić do aktywacji mikrogleju w ośrodkowym układzie nerwowym [198]. Docetaksel jest bardziej neurotoksyczny niż paklitaksel.

Alkaloidy barwinka (vinorelbina, windezyna, winkrystyna) wiążą się z β -tubuliną, zapobiegając powstawaniu mikrotubul. Blokują one mitozę poprzez wyeliminowanie wrzeciona podziałowego [79]. Alkaloidy barwinka z trudnością przenikają przez barierę krew–mózg, stąd też objawy dotyczą przede wszystkim uszkodzenia obwodowego układu nerwowego [150, 127]. Ryzyko wystąpienia neuropatii również w przypadku tej grupy leków zależy od dawki. Cięższy przebieg mają neuropatie obwodowe po leczeniu winkrystyną i windezyną, natomiast vinorelbina charakteryzuje się mniejszą neurotoksycznością [95].

Większe prawdopodobieństwo wystąpienia objawów uszkodzenia układu nerwowego wiąże się z podawaniem vinorelbiny u chorych leczonych uprzednio za pomocą paklitakselu [95, 50]. Do powikłań po alkaloidach barwinka zalicza się: neuropatie obwodową oraz autonomiczną, nierzadko również osłabienie siły mięśniowej, szczególnie nadgarstka i kłębu kciuka. Opisywane są także przypadki mononeuropatii kończyny dolnej, podwójnego widzenia czy zaburzeń słuchu [22]. Objawy pojawiają się w ciągu pierwszych trzech miesięcy leczenia.

Etopozyd jest inhibitorem topoizomerazy II, który łączy się z kompleksem DNA, hamując scalenie się jednoniciowego DNA w dwuniciowy. Etopozyd wywołuje zaprogramowaną śmierć komórek zwłaszcza w neuronach mniej dojrzałych.

Analogi pirymidyn np. gemcytabina wbudowuje własne nukleotydy w nić DNA, przyczyniając się w ten sposób do apoptozy. Dwufosforan gemcytabiny jest najsilniejszym inhibitorem reduktazy rybonukleotydowej. Polimeraza DNA wbudowuje trójfosforan gemcytabiny jako fałszywy substrat oraz jako deoksyrybozyd. Hamując syntezę DNA, prowadzi do apoptozy komórki. Gemcytabina wykazuje swoje działanie głównie w fazie S cyklu komórkowego [95]. Wśród działań niepożądanych wymienia się bóle mięśniowe i/lub stawowe, parestezje, stany podgorączkowe i ogólne zmęczenie. Dolegliwości te występują u około 10% chorych. Nie opublikowano dotychczas doniesień na temat neuropatii obwodowej w wyniku stosowania gemcytabiny w monoterapii [95, 36].

Arabinozyd cytozyny to antymetabolit pirymidyny. Mechanizm jego działania nie jest dokładnie poznany. Uważa się, iż najprawdopodobniej hamuje on aktywność polimerazy DNA [192]. Arabinozyd cytozyny pobudza apoptozę komórek

warstwy ziarnistej mózdzku, co może klinicznie objawiać się: ataksją chodu, oczopląsem i dyzartrią [186]. Opisywane są również przypadki tylnej odwracalnej encefalopatii [149].

5-Fluorouracyl w wysokich dawkach może prowadzić do uszkodzenia mózdzku, co objawiać się może dyzartrią, oczopląsem i ataksją.

Taksany, alkaloidy barwinka oraz pochodne platyny mogą wpływać na zaburzenia funkcjonowania kanałów wapniowych [156], co często prowadzi do pojawienia się dolegliwości bólowych o charakterze neuropatycznym [190].

Oksaliplatyna oraz paklitaksel poprzez zaburzenie funkcjonowania kanałów sodowych bramkowanych napięciem mogą powodować allodynię [1, 118].

Komórki mikrogleju pełnią funkcję podobną do makrofagów. Migrują one do miejsc urazów, uszkodzeń, stanów zapalnych lub pod wpływem chemioterapii uwalniają cytokiny prozapalne (IL-1 β , IL-6 and TNF α), chemokiny, tlenek azotu (NO), reaktywne formy tlenu i azotu, metaloproteinazy oraz proliferują w tych miejscach. Substancje te prowadzą do ostrych lub przewlekłych uszkodzeń układu nerwowego.

1.2.3. Cytokiny i czynniki modulujące ich wydzielanie

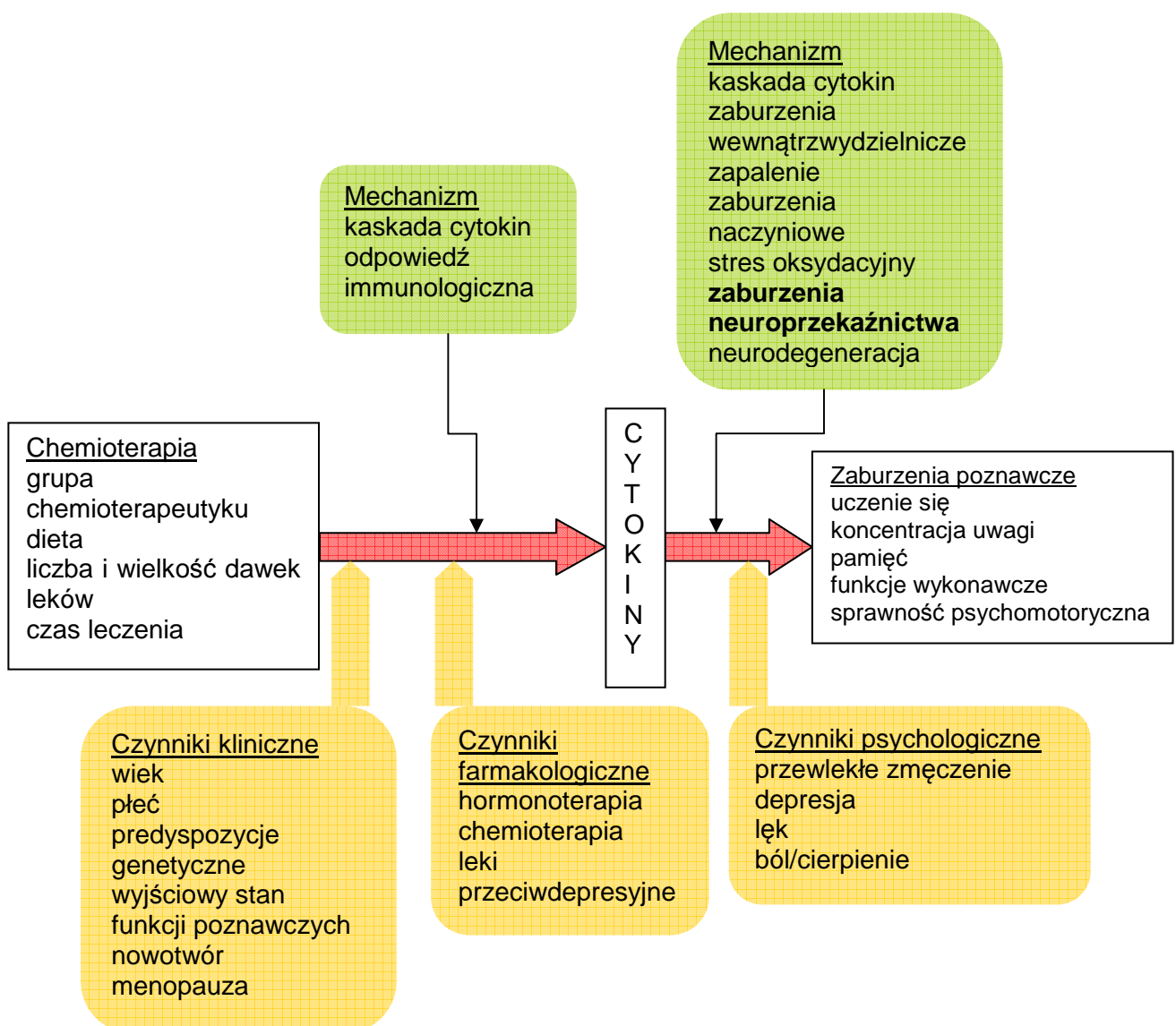
Do czynników uczestniczących w pośrednim wpływie chemioterapii na rozwój zaburzeń funkcji poznawczych należą cytokiny [6, 32, 143]. Mechanizm ich działania nie jest do końca poznany. Uważa się jednak, że przewlekłe utrzymywanie się ich wysokiego poziomu wyzwała stres oksydacyjny, zaburza metabolizm neuroprzekazników i procesy naprawy DNA oraz indukuje śmierć komórek.

Według Cheunga i wsp. na zaburzenia wydzielania cytokin wpływa chemioterapia, hormonoterapia, czas trwania leczenia, depresja, stosowanie leków przeciwdepresyjnych, lęk, wiek, płeć oraz predyspozycje genetyczne (Rycina 1).

W wyniku przeprowadzonych metaanaliz wykazano korelację między podwyższonym poziomem cytokin a pogorszeniem funkcjonowania poznawczego [42]. Meyers i wsp. wykazali u chorych na ostrą białaczkę szpikową i zespoły mielodysplastyczne ujemną korelację pomiędzy poziomem interleukiny 6 (IL-6) a pamięcią i dodatnią korelację między poziomem interleukiny 8 (IL-8) a pamięcią [110].

Capuron i wsp. stwierdzili zależność pomiędzy leczeniem interleukiną 2 (IL2) a zaburzeniami pamięci krótkotrwałej i pogorszeniem funkcji wykonawczych [25].

Doksorubicyna stosowana w leczeniu raka piersi powoduje uwolnienie cytokin zapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor*, TNF α), w odpowiedzi na uszkodzenie komórek guza. TNF α jest ponadto produkowany przez komórki gleju w mechanizmie związanym również z pobudzeniem syntetazy tlenu azotu. Wyzwala to powstawanie reaktywnych form azotu, które indukują stres oksydacyjny, dysfunkcje mitochondriów, śmierć komórek nerwowych, a w obrazie klinicznym rozwój zaburzeń funkcji poznawczych [6]. Wykazano także pogorszenie sprawności psychomotorycznej u chorych leczonych interferonem alfa (IFN α) [109, 141].



Rycina 1. Rola cytokin oraz innych determinantów w powstawaniu zaburzeń poznawczych
Źródło: Cheung et al., 2013, w modyfikacji własnej.

Sherwin i wsp. wykazali korzystny wpływ estrogenów na funkcje poznawcze, a zwłaszcza pamięć. Zmniejszenie poziomu estrogenów u kobiet po menopauzie związane jest ze zwiększeniem poziomu pro-zapalnych cytokin IL-6 i TNF α [154].

Do czynników wpływających na wydzielanie cytokin należą również uwarunkowania genetyczne. Apolipoproteina E (*APOE*) jest kompleksem glikoproteinowym odpowiedzialnym za transport i dystrybucję lipidów oraz odgrywającym ważną rolę w mechanizmie naprawy neuronów. Polimorfizm genu *APOE* ma związek ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na najczęstsze otępienie pierwotne zwyrodnieniowe, jakim jest choroba Alzheimera [184]. Obecność allelu $\epsilon 4$ *APOE* związana jest z pogorszeniem funkcji poznawczych u chorych na nowotwory, głównie pamięci wzrokowej i orientacji wzrokowo-przestrzennej [3]. Ponadto jest on związany również ze zwiększeniem przepuszczalności bariery krew–mózg i uszkodzeniem białka transportowego MDR-1 (ang. *multidrug resistance transporter*) [4].

Przewlekłe zmęczenie często współistnieje z pogorszeniem funkcji poznawczych. Ganz i wsp. wykazali wpływ cytokin prozapalnych (głównie TNF α) na współwystępowanie skarg dotyczących zaburzeń pamięci oraz przewlekłego zmęczenia zgłaszanego przez kobiety poddawane chemioterapii [55].

1.2.4. Polimorfizm genów kontrolujących neuroprzebieżność

Katecholo-O-metylotransferaza (*COMT*) należy do istotnych enzymów regulujących neuroprzebieżność poprzez zaangażowanie w degradację amin biogennych takich jak dopamina, adrenalina i noradrenalina. Polimorfizm genu *COMT* wykazuje udowodniony wpływ na procesy poznawcze.

Typowy polimorfizm genu *COMT* charakteryzuje się pojedynczą zamianą nukleotydów G i A w pozycji 472, która powoduje zmianę waliny na metioninę. Wpływa to znacząco na wydajność enzymatyczną *COMT*. U chorych na raka piersi i chłoniaka poddawanych chemioterapii w przypadkach z prawidłowym *COMT-Met* obserwowano zaburzenia funkcji poznawczych o mniejszym nasileniu niż u chorych ze stwierdzonym polimorfizmem genu dla tego enzymu [28].

Neurotoksyczny wpływ chemioterapeutyków związany jest również z polimorfizmem genów kodujących enzymy uczestniczące w procesach detoksykacji. Do takich enzymów należą transferazy glutationowe, które katalizują

reakcje sprzężania glutationu z różnymi endo- lub egzogennymi związkami chemicznymi, prowadząc do ich unieczynniania lub aktywacji [48, 90]. Prolek cis-3-(9H-purin-6-ylthio) acrylic acid (PTA) będący prekursorem 6-merkaptopuryny o działaniu przeciwnowotworowym i immunosupresyjnym jest aktywowany w mechanizmie sprzężenia z glutationem [70]. Z kolei przyłączenie glutationu do cyklofosfamidu zwiększa jego toksyczność [70]. Polimorfizm genów kodujących transferazy glutationowe może zatem wpływać na skuteczność, ale także toksyczność, w tym neurotoksyczność chemioterapeutyków.

1.2.5. Stres oksydacyjny

Stres oksydacyjny jest związany z patomechanizmami wielu patologii ośrodkowego układu nerwowego. Dlatego uwzględniono go również wśród mechanizmów neurotoksycznego wpływu chemioterapeutyków.

Najlepiej został on zbadany w przypadku doxorubicyny. Lek ten podany dożylnie powoduje wzrost stężenia prozapalnych cytokin takich jak TNF α zarówno w surowicy, jak i ich ekspresji w mózgowiu [170]. Doxorubicyna nie przenika przez barierę krew–mózg. Natomiast cytokiny prozapalne, przechodząc przez barierę krew–mózg, wywołują w komórkach nerwowych efekty związane z neurotoksycznością leku.

W mitochondriach neuronalnych pod wpływem TNF α dochodzi do translokacji białka p53, która powoduje blokadę białka antyapoptycznego Bcl2 oraz wzrost poziomu czynnika transkrypcyjnego NF-KB. Następnie dochodzi do nasilenia generacji wolnych rodników, które uszkadzają mitochondria i prowadzą do śmierci komórki, rozwoju mechanizmów neurodegeneracji, a w konsekwencji zaburzeń funkcji poznawczych [24].

1.3. Bariera krew–mózg

Większość leków, w tym chemioterapeutyków, nie przenika przez barierę krew–mózg. W transporcie leków przeciwnowotworowych przez barierę krew–mózg uczestniczy glikoproteina P (P-gp, zwana też białkiem oporności wielolekowej 1-MDR1, ang. *multidrug resistance protein 1*). Jest ona transporterem błonowym cechującym się występowaniem motywu kasety wiążącej ATP (ABC, ang. *ATP-binding cassette*). Polimorfizm genu *MDR1* może mieć wpływ na biodostępność

leków będących substratami P-gp, a tym samym decydować o skuteczności farmakoterapii, jak też jej neurotoksyczności [140].

Wpływ chemioterapeutyków na barierę krew–mózg może przyczyniać się do rozwoju powikłań w obrębie ośrodkowego układu nerwowego. W patomechanizmy patologii układu nerwowego zaangażowane mogą być prozapalne cytokiny, których stężenie fluktuuje pod wpływem chemioterapii. W surowicy krwi obwodowej wykazano zwiększenie stężenia TNF alfa [140], który po przejściu przez barierę krew–mózg wpływa na lokalną produkcję cytokin zapalnych w mózgu i powoduje aktywację komórek glejowych i makrofagów [71]. W konsekwencji dochodzi do nasilenia generacji wolnych rodników tlenowych, uszkodzenia mitochondriów [87], zwiększenia produkcji proapoptotycznych białek (p53 i Bax), uwolnienia z mitochondriów cytochromu c, aktywacji kaspazy 3 oraz indukowania apoptozy [170]. Prozapalne cytokiny wpływają na rozwój zaburzeń funkcji poznawczych u chorych poddawanych chemioterapii. U chorych na raka piersi leczonych chemioterapeutykami wykazano zwiększenie stężenia receptora TNF (TNF-RII), które korelowało z nasileniem zaburzeń pamięci [138]. Natomiast stężenie TNF alfa i interleukiny 6 (IL-6) korelowało z pogorszeniem pamięci i nasileniem zespołu przewlekłego zmęczenia [21], a zwiększenie stężenia interleukiny 8 (IL-8) z ograniczeniem zdolności do rozwiązywania zagadnień problemowych [84].

1.4. Najważniejsze neuroprzekaźniki i ich metabolizm

1.4.1. *Glutaminian*

Glutaminian jest głównym neuroprzekaźnikiem pobudzającym w ośrodkowym układzie nerwowym oraz aminokwasem odgrywającym ważną rolę w patofizjologii tkanek obwodowych [47]. Należy do neuroprzekaźników uczestniczących w regulacji aktywności neurohormonalnej [196]. Toksyczne działanie glutaminianu jest obserwowane w wielu schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego, takich jak: niedokrwienie, urazy mózgowia i padaczka. Istnieją doniesienia naukowe mówiące o kluczowej roli metabolizmu glutaminianu w chorobach Alzheimera [72], Huntingtona [103] czy stwardnieniu zanikowym bocznym [148]. Glutamina jako aminokwas jest wykorzystywana przez komórki w cyklu Krebsa do produkcji ATP. Jest ona również cennym źródłem grupy azotowej niezbędnej do produkcji białek oraz prekursorem glutationu-komórkowego antyutleniacza.

1.4.1.1. Metabolizm glutaminianu w neuronach

W warunkach fizjologicznych glutaminian jest produkowany z glutaminy w neuronie presynaptycznym w reakcji katalizowanej przez glutaminazę. Stąd uwalniany jest z pęcherzyków synaptycznych do szczeliny synaptycznej. Z przestrzeni synaptycznej glutaminian usuwany jest w mechanizmie zwrotnego wychwytu do zakończeń synaptycznych lub przez wypustki astrocytów zlokalizowanych w przestrzeni okołosynaptycznej [40, 196]. Astrocyty wychwytyują glutaminian ze szczeliny synaptycznej za pomocą transporterów ekscytotoksycznych aminokwasów (ang. *excitatory amino acid transporters*, EAATs). Następnie wewnątrz astrocytów glutaminian jest metabolizowany do glutaminy w reakcji katalizowanej przez syntetazę glutaminową (enzym, który nie występuje w komórkach nerwowych).

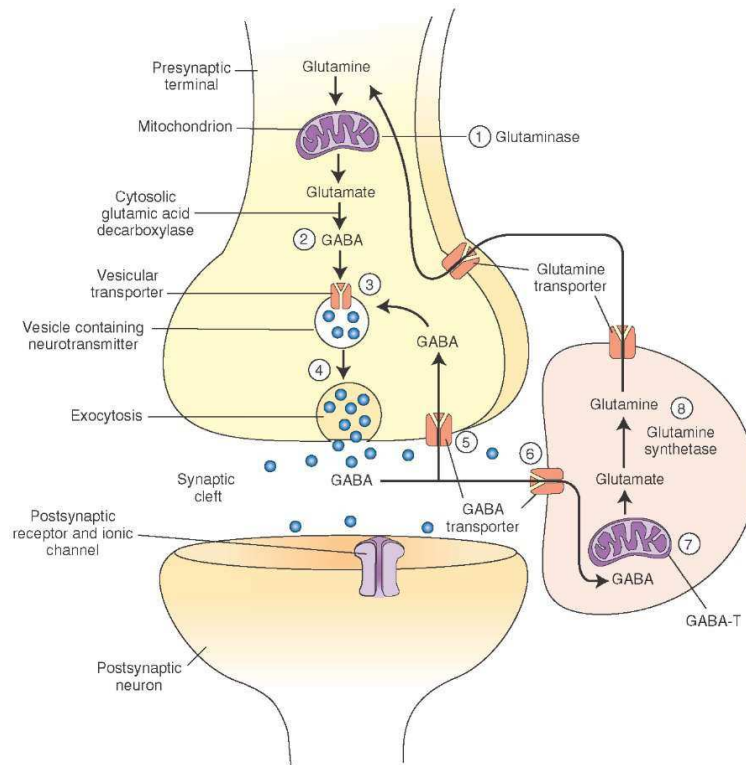
Glutamina jest następnie przekazywana do neuronów przy udziale Na^+ zależnych transporterów i wchodzi w cykl przemian prowadzących do powstania aktywnego glutaminianu (Rycina 2). Aktywowane astrocyty zwiększają zużycie glukozy w sposób zależny od stężenia glukozy. Zjawisko to zależy od transporterów (EAAT).

Transport glutaminianu do astrocytów jest sprzężony z wprowadzaniem jonów Na^+ . Podwyższenie poziomu Na^+ w astrocytach stymuluje pompę jonową Na/K ATP-azę. Powoduje to wyczerpanie ATP, co z kolei stymuluje enzymy glikolizy: fosfofruktokinazę i heksokinazę. W ten sposób metabolizm glukozy związany jest z aktywnością neuronalną.

Glutaminian w dużych ilościach jest toksyczny dla neuronów. Pod jego wpływem dochodzi do pobudzenia receptorów w zakończeniach postsynaptycznych. Prowadzi to do wzrostu poziomu wapnia wewnątrz neuronu, wzrostu aktywności proteaz, lipaz oraz endonukleaz. W końcu powoduje uszkodzenie komórki i jej śmierć. Zjawiska te klinicznie prowadzić mogą do upośledzenia funkcji poznawczych [51].

Dekarboksylaza oraz dehydrogenaza glutaminianu zaangażowane są w jego degradację.

Glutaminian wpływa istotnie na poziom wewnątrzkomórkowego wapnia, a dokomórkowy napływ jonów wapnia zwiększa poziom glutaminianu [23, 41].



Rycina 2. Metabolizm glutaminianu w neuronach i astrocytach

Źródło: <http://what-when-how.com/neuroscience/neurotransmitters-the-neuron-part-3/>.

W zwierzęcym modelu doświadczalnym z zastosowaniem taksolu zaobserwowano zmniejszenie ekspresji transporterów glutaminianu (GLAST i GLT-1) w rdzeniu kręgowym pod wpływem tego chemioterapeutyku [181]. W innym zwierzęcym modelu doświadczalnym z zastosowaniem paklitakselu wykazano zmniejszenie klirensu glutaminianu w ośrodkowym układzie nerwowym, wskazując na niewydolność procesów usuwania tego pobudzającego neuroprzekaźnika [27]. Badania te wskazują na znaczenie przekaźnictwa glutaminergicznego w rozwoju powikłań chemioterapii w układzie nerwowym, jednakże jak dotąd nie prowadzono tego rodzaju badań u ludzi.

1.4.1.2. Metabolizm glutaminianu w komórkach nowotworowych

Komórki nowotworowe charakteryzują się nasilonym metabolizmem niezbędnym do ich podziału i wzrostu. Preferują beztlenową formę pozyskiwania energii nawet w obecności dostatecznej ilości tlenu. Zjawisko to nazywane jest efektem Warburga, który jest najprawdopodobniej efektem aktywacji

protoonkogenów (*MYC*, *RAS*) mutacji innych genów np. p53 i zmian szlaków sygnałowych. Nasilony proces glikolizy związany z efektem Warburga prowadzi do wzrostu stężenia kwasu mlekowego [179]. Warunki beztlenowe wiążą się z powstaniem zjawiska oporności wielolekowej nowotworów.

Glutamina jest wykorzystywana przez komórki nowotworowe w celu uzyskania grupy azotowej i węgla niezbędnych do produkcji białek i kwasów nukleinowych [47].

Glutamina wykazuje pobudzający wpływ na szlak mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*), który wpływa na regulację proliferacji, wzrostu, dojrzewania i różnicowania komórek. Komórki nowotworowe są glutaminozależne [195].

Inna hipoteza związana z tzw. odwrotnym efektem Warburga wskazuje na współdziałanie fibroblastów podścieliska guza z komórkami nowotworowymi, w którym fibroblasty w przebiegu procesu glikolizy tlenowej dostarczają komórkom nowotworowym wysokoenergetycznych substratów, takich jak mleczały, ketony i glutamina. Służą one w komórkach nowotworowych do produkcji wysokoenergetycznych związków, np. ATP [195].

1.4.2. Tryptofan

Egzogennym aminokwasem istotnym w procesach neuroprzebieżnictwa jest tryptofan. W ośrodkowym układzie nerwowym jest on przekształcany do serotoniny i melatoniny.

Metabolizm tryptofanu aktywowany jest głównie w stanach zapalnych lub poprzez stymulację interferonem γ [173, 108]. Następuje wówczas obniżenie stężenia tryptofanu w surowicy krwi i wzrost stężenia kwasu kinureninowego [161].

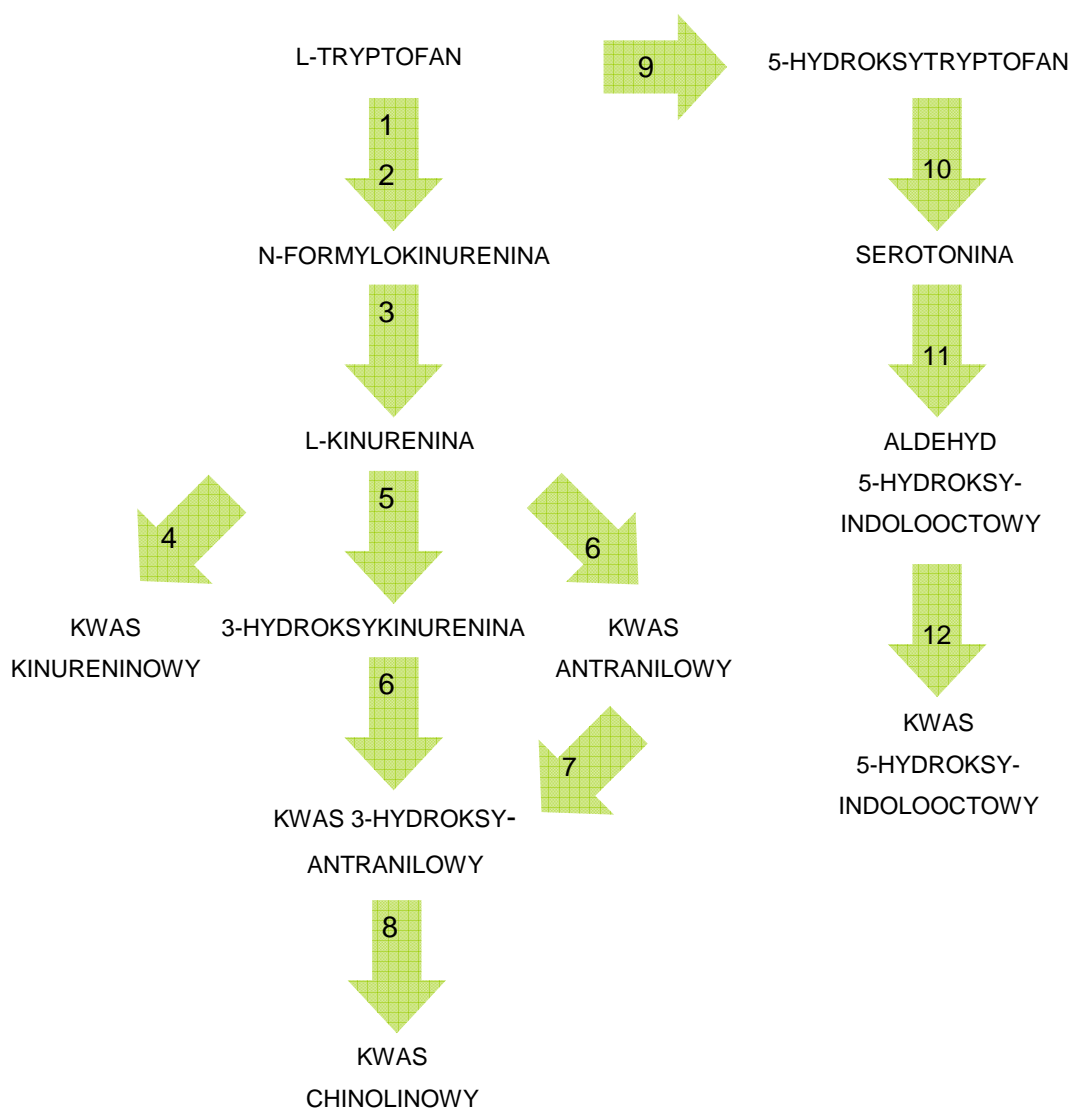
Pod wpływem cytokin prozapalnych, takich jak interferon gamma, 2-, 3-indolo dioksygenaza (IDO) katalizuje on reakcję przekształcenia tryptofanu do kinureniny [33, 41, 183]. Interferon gamma pobudza równocześnie aktywność GTP-cyklohydrolazy I w makrofagach, co powoduje produkcję neopteryny z guanozynotryfosforanu (GTP) [80, 96, 182]. U chorych na nowotwory narządów płciowych żeńskich, choroby rozrostowe układu krwiotwórczego, raka jelita grubego i raka płuca stwierdzono zwiększoną aktywność IDO oraz stężenia neopteryny w surowicy. Wzrost aktywności IDO i stężenia neopteryny związane są z zaburzeniami funkcji poznawczych, przewlekłym zmęczeniem oraz obniżeniem jakości życia u chorych na nowotwory. Ponadto wykazano, że wysoki poziom

produktów katabolizmu tryptofanu korelował z wysokim poziomem cytokin prozapalnych. Stężenie tryptofanu może mieć również związek z proliferacją i zdolnością do przerzutowania [96, 145].

1.4.2.1. Szlak kinureninowy

Kwas kinureninowy jest jednym z aktywnych metabolitów tryptofanu oraz jedynym znanym endogennym nieselektywnym antagonistą wszystkich typów receptorów jonotropowych dla aminokwasów pobudzających w mózgu, przez co ma działanie neuroprotektcyjne. Zaburzenia metabolizmu kwasu kinureninowego są opisywane w wielu schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego, takich jak: niedokrwienie, niedotlenienie, depresja [175], padaczka [104], choroba Alzheimera [10], choroba Huntingtona [14] i choroba Parkinsona [120, 74]. Przypuszcza się, że zjawisko ekscytotoksyczności może prowadzić do niedoboru kwasu kinureninowego. Natomiast wzrost stężenia kwasu może wywierać działanie neuroprotektcyjne. Szlak kinureninowy może przebiegać drogą katalizowaną przez aminotransferazę kinureniny do kwasu kinureninowego (szlak „neuroprotektyjny”) lub przez 3-monooksygenazę kinureniny (szlak „neurotoksyczny”) do kwasu chinolinowego (Rycina 3). Kwas kinureninowy jest także ligandem receptora GPR 35 (z ang. *G-protein receptor 35*), który pełni funkcję w regulacji układu odpornościowego oraz występuje w przewodzie pokarmowym. Kwas kinureninowy pobudza wiązanie GTP, indukuje internalizację receptora, hamuje wydzielanie interferonu α przez monocyty w krwi obwodowej, przez to uważa się, iż ma działanie przeciwzapalne. Dokładny mechanizm działania i funkcje receptora GPR35 nie zostały dotychczas zbadane [176]. Wykazano, że receptor GPR35 jest potencjalnym onkogenem raka żołądka, a kwas kinureninowy produkowany przez monocyty może indukować nieprawidłowy wzrost komórek z ekspresją receptora GPR35 [121].

L-kinurenina jest źródłem niezbędnym do syntezy metabolitów szlaku kinureninowego. Z łatwością przenika przez barierę krew–mózg. W mózgowiu jest metabolizowana do czterech produktów: 3-hydroxykinureniny, kwasu chinolinowego, kwasu antranilowego i kinureninowego. Komórki mikrogleju w porównaniu do neuronów mają zdolność do biosyntezy kinurenin [66].



Rycina 3. Schemat szlaku kinureninowego;

1 – 2,3 dioksygenaza tryptofanowa; **2** – 2,3 dioksygenaza indolowa; **3** – formamidaza;
4 – aminotransferaza kinureninowa; **5** – hydroksylaza kinureninowa; **6** – kinureninaza;
7 – hydroksylaza kwasu 3-hydroksyantranilowego; **8** – 3,4 dioksygenaza kwasu 3-hydroksyantranilowego; **9** – monooksygenaza tryptofanu; **10** – hydroksylaza tryptofanu,
11 – monoaminooksydaza; **12** – dehydrogenaza aldehydowa

Hartai i wsp. wykazali we krwi chorych na chorobę Parkinsona obniżoną aktywność aminotransferazy kinureninowej, której towarzyszył niski poziom kwasu kinureninowego. Zjawisko to związane było z brakiem działania neuroprotekcynowego [66].

Wykazano podwyższone stężenie kwasu chinolinowego oraz 3-hydroksykinureny w surowicy krwi w chorobach związanych z zapaleniem mózgu [78, 129].

Kwas chinolinowy, łącząc się z receptorem NMDA, którego jest agonistą, hamuje apoptozę komórek. Natomiast 3-hydroksykinureny generuje powstanie wolnych rodników i peroksydację lipidów [31].

W badaniu Katharina Kurz i wsp. przeprowadzonym na 50 chorych na raka płuca wykazano związek metabolizmu tryptofanu z rozwojem przewlekłego zmęczenia [96].

1.5. Neurologiczne zespoły paranowotworowe

Neurologiczne zespoły paranowotworowe są to zaburzenia ośrodkowego, obwodowego układu nerwowego oraz złącza nerwowo-mięśniowego niezwiązane z naciekiem, z przerzutami, uciskiem rozwijającego się nowotworu, z nieprawidłowościami naczyniowymi i metabolicznymi oraz infekcjami czy też toksycznym działaniem leków [75, 139]. Zespoły te nie są charakterystyczne dla jednego typu nowotworu. Pojawienie się ich wyprzedza często o kilka lat wystąpienie choroby nowotworowej, co utrudnia diagnostykę i wczesne rozpoznanie.

Jednym z nowotworów najczęściej towarzyszących zespołom paranowotworowym jest rak płuca, zwłaszcza rak drobnokomórkowy [59, 160].

Częstość występowania tych zespołów jest zależna od badanej populacji i waha się od 1% w populacji ogólnej do nawet 50% u chorych na osteosklerotyczną postać szpiczaka. Z uwagi na niecharakterystyczne objawy, trudności diagnostyczne, problemy z postawieniem właściwej diagnozy zespołów dane te często są niedoszacowane [98].

1.5.1. Mechanizm powstawania zespołów paranowotworowych

Wśród przyczyn powstawania zespołów paranowotworowych wyróżnia się [169]:

- zaburzenia wydzielania hormonów, czynników wzrostu, cytokin, zaburzenia metabolizmu przez tkanki nowotworowe,
- powstawanie przeciwciał skierowanych na antygeny komórek nowotworowych lub na komórki nerwowe (przeciwciała onkoneuralne),

- komórkową odpowiedź cytotoksyczną, w którą zaangażowane są limfocyty T i B.

1.5.2. Kryteria rozpoznania neurologicznych zespołów paranowotworowych

Na pewne rozpoznanie neurologicznych zespołów paranowotworowych pozwala stwierdzenie:

- typowego klasycznego zespołu neurologicznego i nowotworu rozpoznanego w ciągu pięciu lat,
- nietypowego zespołu neurologicznego, który wycofuje się lub stanu chorego poprawiającego się w wyniku leczenia nowotworu bez jednoczesnego zastosowania immunoterapii, z wykluczeniem podejrzenia samoistnej remisji guza,
- nietypowego zespołu neurologicznego z określeniem (lub nie) obecności przeciwciał onkoneuronalnych i rozpoznaniem nowotworu w ciągu pięciu lat,
- zespołu neurologicznego (typowego i nietypowego) z dokładnie określonymi przeciwciałami onkoneuronalnymi (anty-Hu, anty-Yo, anty-CV2, anty-Ri, anty-Ma i anty-amfifizyna), ale bez obecności nowotworu.

Rozpoznanie jest możliwe w przypadkach, gdy występuje:

- typowy zespół neurologiczny bez rozpoznanej obecności nowotworu i przeciwciał onkoneuronalnych, ale obciążony wysokim ryzykiem wystąpienia nowotworu,
- zespół neurologiczny (typowy lub nietypowy) z częściowo scharakteryzowanymi przeciwciałami onkoneuronalnymi i bez nowotworu,
- nietypowy zespół neurologiczny bez obecności przeciwciał i jeśli nowotwór rozpoznano w ciągu dwóch lat.

1.5.3. Klasyczne zespoły paranowotworowe

Do klasycznych zespołów paranowotworowych zalicza się według Grausa [59]:

- 1. Zapalenie układu limbicznego** – do jego objawów należy szybko postępujący niepokój, depresja, zaburzenia snu, napady padaczkowe

i omamy. Najczęściej towarzyszy on nowotworom: jąder, płuca, piersi i jajnika. U większej liczby chorych w badaniu rezonansu magnetycznego w sekwencjach T2 i FLAIR widoczne są zmiany hiperintensywne w płatach skroniowych. Nasilenie poszczególnych objawów klinicznych koreluje z rodzajem stwierdzonego przeciwciała onkoneuralnego (Tabela 1) [59, 98].

- 2. Opsoklonie/mioklonie** – zespół ten charakteryzuje się nieskoordynowanymi ruchami gałek ocznych. Towarzyszy nowotworom piersi oraz płuca u dorosłych, natomiast u dzieci – rdzeniakowi zarodkowemu (neuroblastoma). W badaniu rezonansu magnetycznego mogą wystąpić ogniska hiperintensywne w pniu mózgu. Do najczęściej stwierdzanych przeciwciał należą: anty-Ri, anty-Hu oraz przeciw amfifizynie (Tabela 1) [59, 98].
- 3. Zespół Lamberta-Eatona** – najczęściej towarzyszy rakowi drobnokomórkowemu płuca, jajnika i piersi. Objawami z reguły są osłabienie siły mięśni proksymalnych, suchość w ustach, osłabienie odruchów ścięgnistych lub ich zanik. Podstawą diagnostyki jest badanie neurofizjologiczne (Tabela 1) [59, 98].
- 4. Podostra neuropatia czuciowa** – cechą charakterystyczną tego zespołu są asymetryczne zaburzenia czucia dotyczące według kolejności pojawiania się: kończyn górnych, twarzy i tułowia. W badaniu neurofizjologicznym stwierdza się brak lub zmniejszony potencjał we włóknach czuciowych. Do najczęściej stwierdzanych przeciwciał należą anty-Hu i anty amfifizynie (Tabela 1) [59, 98].
- 5. Zapalenie pnia mózgu** – objawy związane mogą być z zajęciem nerwów czaszkowych, niezbornością, ataksją, polidypsją, sennością i żarłocznością. Towarzyszy ono nowotworom płuca, piersi i prostaty (Tabela 1) [59, 98].
- 6. Zapalenie skórno-mięśniowe** – objawia się tkliwością, obrzękiem, zaczerwienieniem, a niekiedy osutką pęcherzową okolic oczodołów oraz symetrycznym osłabieniem siły mięśniowej z zanikiem mięśni. W diagnostyce kluczową rolę odgrywają biopsja mięśnia oraz badanie elektromiograficzne. W biopsji mięśnia stwierdza się nacieki zapalne, okołonaczyniowy rozplem tkanki łącznej z towarzyszącą martwicą włókien mięśniowych. Stwierdzanymi przeciwciałami są anty-Ri, Anty-Jo i Anty-Mi-2 (Tabela 1) [59, 98].

7. Paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku – ma kliniczne cechy zespołu mózdkowego: zaburzenia chodu, równowagi, niezborność ruchową, drżenie zamiarowe, mowę skandowaną i oczopląs. Może towarzyszyć nowotworom piersi, jajnika, rakowi drobnokomórkowemu płuca czy chłoniakowi Hodgkina. W zaawansowanej postaci choroby w badaniu tomografii jądrowego rezonansu magnetycznego widoczne są cechy zaniku mózdzku. W zespole tym obserwuje się szerokie spektrum przeciwciał onkoneuralnych. Rola ich w rozwoju tego zespołu jest niejednoznaczna (Tabela 1) [59, 98].

Tabela 1. Klasyczne zespoły paranowotworowe według Grausa i wsp. [59]

Zespół paranowotworowy	Najczęstsze nowotwory	Przeciwciała	Objawy
Zapalenie układu limbicznego	rak drobnokomórkowy płuca, grasiczak, nowotwory jąder, rak piersi, chłoniak	anty-Hu, anty-CV2/CRMP5, anty-amfifizyna, anty-NMDA, anty-VGKC	niepokój, depresja, zaburzenia snu, napady padaczkowe
Opsoklonie/mioklonie	rak drobnokomórkowy płuca, neuroblastoma, rak piersi, rak jajnika	anty-Ri, anty-amfifizyna, anty-Hu	zaburzenia ruchów gałek ocznych
Zespół Lamberta-Eatona	rak anaplastyczny drobnokomórkowy płuc, rak piersi, rak prostaty	anty-Hu, VGCC	osłabienie siły mięśniowej, zniesienie odruchów ścięgnistych
Podostrą neuropatię czuciową	rak drobnokomórkowy płuca, rak piersi, rak jajnika	anty-Hu, anty-CV2, anty-Ma2, anty-amfifizyna	zaburzenia czucia, zaburzenia chodu
Zapalenie pnia mózgu	rak anaplastyczny drobnokomórkowy płuc, rak piersi, rak jajnika, rak przełyku, żołądka, rak prostaty	anty-Hu, anty-CV2, anty-Ma2, anty-amfifizyna, anty-Ri	padaczka, objawy związane z zapaleniem nerwów czaszkowych, ataksja, senność
Zapalenie skórno-mięśniowe	rak piersi, rak płuc, rak prostaty i jelita grubego	anty-Ri, anty-Jo-1, anty-Mi-2	osłabienie mięśni proksymalnych, tkliwość, bolesność, obrzęk

Paranowotworowe zwyrodnienie mózdżku	rak jajnika, rak piersi, ziarnica złośliwa, rak anaplastyczny drobnokomórkowy	anty-Yo, anty-Hu	nagły początek, ataksja, zawroty głowy, podwójne widzenie, zaburzenia połykania, oczopląs,
---	---	---------------------	---

1.5.4. Diagnostyka neurologicznych zespołów paranowotworowych

Zgodnie z obowiązującym algorytmem diagnostycznym [59] istotne w rozpoznaniu jest oznaczenie obecności przeciwciał onkoneuralnych w surowicy krwi obwodowej. Proces diagnostyczny uzupełniają badania neuroobrazowe, neurofizjologiczne oraz płynu mózgowo-rdzeniowego.

Dokładnie określone przeciwciała onkoneuralne to:

- anty-Hu (ang. ANNA-1 antineuronal nuclear antibody 1) – reagują z jądrami neuronów i występują w przebiegu raka drobnokomórkowego płuca, nerwiaka zarodkowego, raka niedrobnokomórkowego płuca, raka gruczołu krokowego oraz nasieniaka,
- anty-Yo (ang. PCA-A, anti-Purkinje cell antibody 1) – w immunofluorescencji pośredniej reagują z cytoplazmą komórek Purkiniego, z aksonami i dendrytami. Stwierdza się je u chorych na raka piersi i jajnika,
- anty-Ri (ang. ANNA-2 antineuronal nuclear antibody 2) – reagują z jądrami wszystkich neuronów mózdzku. Do nowotworów, z którymi są związane, należą rak piersi i rak drobnokomórkowy płuc,
- anty-CV2 (ang. anti-CRMP5 collapsin response-mediated protein 5) – reagują z cytoplazmą oligodendrocytów w mózdzku. Obserwuje się je u chorych na raka drobnokomórkowego płuca, grasiczaka i mięsaka macicy,
- anty-Ma/anty-Ta – reagują z jąderkami neuronów w mózgu i mózdzku. Najczęściej występują u chorych na raka jądra,
- anty-amfifizyna – reagują z zakończeniami presynaptycznymi. Związane są z rakiem drobnokomórkowym płuca i rakiem jajnika,
- anty-Tr – reagują z cytoplazmą komórek Purkiniego oraz częściowo dendrytów i aksonów.

1.6. Jednojądrzaste komórki krwi obwodowej

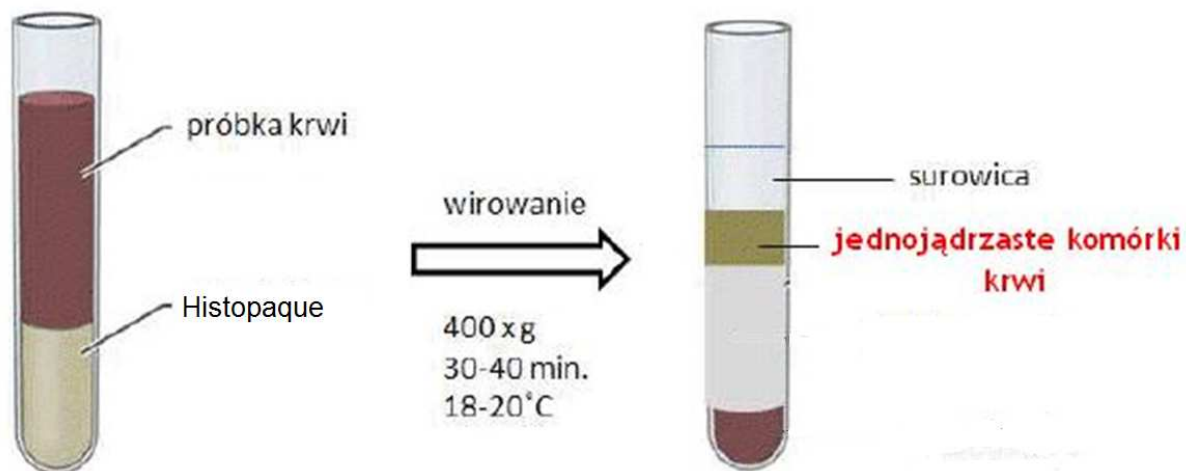
Jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PBMC, ang. *peripheral blood mononuclear cells*) są frakcją komórek krwi obwodowej, która obejmuje: limfocyty T cytotoksyczne (Tc), limfocyty T pomocnicze (Th), komórki NK, monocyty oraz limfocyty B. Rola jednojądrzastych komórek krwi obwodowej została dobrze zbadana w trakcie badań nad stwardnieniem rozsianym. Monocyty uczestniczą w zapaleniu okołonaczyniowym w SM. Jako jedyne komórki mają one możliwość przenikania przez naczynia krwionośne. Monocyty są prekursorami komórek dendrytycznych w ośrodkowym układzie nerwowym i makrofagów [126]. Limfocyty mają zdolność endogennej produkcji katecholamin, magazynowania oraz ich degradacji. Ponadto wykazano interakcje w jądrach komórkowych limfocytów pomiędzy katecholaminami a receptorem NF-KB. Może to sugerować ich wpływ na procesy transkrypcji [17, 19]. Wpływ katecholamin na funkcjonowanie limfocytów może odgrywać ogromną rolę w procesie degeneracji w ośrodkowym układzie nerwowym [18, 37, 105].

W badaniach nad patomechanizmem stwardnienia rozsianego wysunięto hipotezę, iż pobudzenie limfocytów Th1 powoduje wzrost stężenia epinefryny w leukocytach we krwi obwodowej, która zwiększa migrację limfocytów przez barierę krew–mózg. Limfocyty w ośrodkowym układzie nerwowym po połączeniu z antygenem ulegają aktywacji i w procesie sprzężenia zwrotnego dochodzi w ich komórkach do spadku stężenia epinefryny i zahamowania aktywności leukocytów [144].

Jednojądrzaste komórki krwi obwodowej stanowią model komórki nerwowej, ponieważ wykazują podobną do neuronalnej ekspresję neuroprzebieżników. Dodatkowo część populacji mikrogleju rekrutuje z komórek obwodowych do ośrodkowego układu nerwowego w przebiegu urazów, stanów zapalnych i innych chorób ośrodkowego układu nerwowego. Obecność glicyny, produktów metabolizmu glutaminianu, kwasu gamma aminomasłowego (GABA, ang. *gamma aminobutyric acid*) i innych produktów metabolizmu neuroprzebieżników w makrofagach sugeruje możliwą komunikację pomiędzy ośrodkowym układem nerwowym a układem immunologicznym [164].

1.6.1. Metoda izolacji jednojądrzastych komórek z krwi obwodowej

W celu izolacji PMBC pobraną krew żylną na heparynę poddaje się wirowaniu w gradiencie stężeń uzyskując warstwę komórek, którą należy wyizolować. Uzyskane komórki umieszczane są w mieszaninie inhibitorów proteaz i przechowywane w temperaturze -80°C (Rycina 4).



Rycina 3. Metoda izolacji jednojądrzastych komórek z krwi obwodowej

2. CEL PRACY

Celem niniejszej pracy była ocena metabolizmu neuroprzekaźników u chorych w przebiegu neurotoksycznego wpływu chemioterapii poprzez:

1. Ocenę metabolizmu neuroprzekaźników w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej oraz w surowicy krwi u chorych poddawanych chemioterapii poprzez oznaczenie wybranych wykładników metabolizmu glutaminianu i tryptofanu.
2. Określenie wartości prognostycznej ekspresji najważniejszych wykładników metabolizmu glutaminianu i tryptofanu w kontekście neurotoksycznego wpływu chemioterapii.
3. Zbadanie relacji pomiędzy obecnością przeciwciał onkoneuralnych a markerami metabolizmu glutaminianu i tryptofanu.

3. CHORZY I METODYKA

Badanie uzyskało Zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Uchwała nr 47/13 z dnia 03.01.2013 (Załącznik 10).

Badanie zostało sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki: UMO-2012/07 / B / NZ7 / 04354.

3.1. Chorzy

Badaniem objęto 221 chorych na raka płuca powyżej 18. roku życia leczonych cytostatykami w Oddziale Onkologii Klinicznej Wielkopolskiego Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii w okresie od lutego 2013 roku do listopada 2014.

Chorzy na raka drobnokomórkowego otrzymali chemioterapię zawierającą cisplatinę z etoposydem lub karboplatinę z etopozydem. Chorzy na raka gruczołowego byli leczeni cisplatiną z premetreksedem, cisplatiną z gemcytabiną, cisplatiną z winorelbina, karboplatiną z winorelbina, karboplatiną z gemcytabiną lub erlotynibem w przypadku potwierdzonej mutacji EGFR. Chorzy z rozpoznaniem raka wielkokomórkowego leczeni byli schematami zawierającymi cisplatinę z etopozydem lub karboplatinę z etopozydem. Chorzy na NOS w przypadku potwierdzonej mutacji w genie receptora naskórkowego czynnika wzrostu EGFR otrzymywali erlotynib, a pozostali schematy zawierające cisplatinę z winorelbina, karboplatinę z winorelbina, cisplatinę z gemcytabiną, karboplatinę z gemcytabiną. Chorzy na raka płaskonabłonkowego otrzymywali cisplatinę z winorelbina, karboplatinę z winorelbina, cisplatinę z gemcytabina lub karboplatinę z gemcytabiną (Rycina 6).

Dane osobowe chorych są traktowane zgodnie z obowiązującą na terenie Rzeczypospolitej Polski Ustawą z dnia z dnia 29 sierpnia 1997 r. o ochronie danych osobowych (t.j. Dz.U. z 2016 r. poz. 922) oraz Rozporządzeniem 8 Ustawy o Ochronie Danych Osobowych w Unii Europejskiej z 1998 roku.

3.1.1. Kryteria kwalifikacji

Do badania byli rekrutowani chorzy z rozpoznaniem raka płuca powyżej 18. roku życia, nieleczeni wcześniej chemioterapią oraz radioterapią, z jednym nowotworem, u których nie stwierdzono zmian przerzutowych do ośrodkowego

układu nerwowego, kręgosłupa i chorób neurologicznych. Każdy chory wyraził pisemną zgodę na udział w badaniu (Załącznik 2, 3).

3.1.2. Grupa kontrolna

Wyniki badań przeprowadzonych w teście PEBL zostały porównane do wyników grupy kontrolnej, którą stanowiło 19 zdrowych ochotników w wieku 56 ± 11 lat ($P > 0,05$). Wiek grupy kontrolnej nie różnił się istotnie statycznie od wieku grupy badanej.

3.2. Metodyka

3.2.1. Ocena neurologiczna i klinimetryczna

Każdy chory był poddany badaniu neurologicznemu oraz ocenie stopnia neuropatii według skali Katzenwadel (Załącznik 4) przez neurologa przed rozpoczęciem leczenia oraz po sześciu miesiącach leczenia. W badaniu neurologicznym oceniano: nerwy czaszkowe oraz obwodowe, układ ruchowy: zakres ruchów biernych, czynnych, zborność, napięcie mięśniowe, siłę mięśniową, chód, objawy oponowe i prawidłowość mowy (Załącznik 1).

Chorzy poddawani byli ocenie klinimetrycznej za pomocą:

- skali Rankin i Bartel (Załącznik 5 i 6),
- Krótkiej Skali Oceny Funkcji Poznawczych – test MMSE, ang. *Mini-Mental Status Examination* (Załącznik 9),
- Testu Łączenia Punktów A i B (Załącznik 8),
- skali depresji Hamiltona (Załącznik 7).

Oceny zaburzeń poznawczych dokonano również za pomocą skomputeryzowanych testów neuropsychologicznych, takich jak: oprogramowanie PEBL (ang. *The Psychology Experiment Building Language*), w którym skorzystano z następujących testów:

- testy powtarzania cyfr DSpan (ang. *Digit Span*),
- czas reakcji prostej SRT (ang. *Simple Reaction Time*),
- czas reakcji z wyborem CRT (ang. *Choice Reaction Time*).

3.2.2. Badania laboratoryjne

Od uczestników badania pobierana była krew przed leczeniem oraz sześć miesięcy po chemioterapii w ilości 7,5 ml na heparynę, celem wyizolowania jednojądrzastych komórek krwi obwodowej oraz 7,5 ml na skrzep, celem uzyskania surowicy i oznaczenia poziomu przeciwciał onko- i anty-neuralnych.

Przeciwciała onkoneuralne anty-Hu, anty-Yo, anty-Ri, anty-CV2, anty-Ma/Ta, anty-amfifizyna w surowicy krwi chorych były badane dwuetapowo: metodą przesiewową – immunofluorescencją pośrednią (EUROIMMUN, Niemcy) i testem potwierdzającym – techniką Line blotting (EUROIMMUN, Niemcy).

Antyneuralne przeciwciała: anty-MAG (ang. *myelin-associated glycoprotein*), anty-mielina, anty-GFAP (ang. *glial fibrillary acidic protein*), anty-GAD (ang. *glutamic acid decarboxylase*), anty-neuroendothelium oraz przeciwciała przeciw antygenom nukleosomu były oznaczone za pomocą immunofluorescencji pośredniej.

Jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PBMC) wyizolowano z krwi heparynowej poprzez wirowanie w gradiencie stężeń (Histopaque, Sigma-Aldrich). Następnie po umieszczeniu w mieszaninie inhibitorów proteaz komórki (Sigma Aldrich) porcjowano i przechowywano w temperaturze -80°C .

Metabolizm glutaminianu oceniano następującymi metodami:

- **aktywność dekarboksylazy** (ang. *decarboxylase activity*, GAD), za pomocą metody kolorymetrii opracowaną przez Yu et.al [194]. Mieszanina reakcyjna składała się z buforu octanowego (20 mM, pH 4,8), 70 μM bromokrezolu zielonego, 10 mM 5-Fosforanu pirydoksalu, 2 μl glutaminianu (od 1M w 20 mM buforze octanowym, pH 4,8) i 5 μl ekstraktu PBMC lub 50 ml surowicy. Zmianę absorbancji przy 620 nm monitorowano w temperaturze 40°C . Aktywność GAD wyrażono w PMBC w jednostkach na miligram białka, a w surowicy w jednostkach na litr,
- **aktywność dehydrogenazy glutaminianu** (ang. *glutamate dehydrogenase activity*, GDH), oceniano przy użyciu zestawu kolorymetrycznego (Abcam). Aktywność dehydrogenazy w PMBC wyrażono w milijednostkach na miligram białka, a aktywność w surowicy w milijednostkach na mililitr,
- **aktywność glutaminazy** (ang. *glutaminase activity*, GLS). Roztwór składający się z 0.04 M L-glutaminy (Sigma-Aldrich) w 0,1 M buforu fosforanowego o pH = 7.0 inkubowano w temperaturze 37°C przez 30 min.

Następnie dodawano 1.5 M roztworu kwasu trichlorooctowego (TCA) (Sigma-Aldrich) i odwirowano. Do uzyskanego supernatantu dodawano odczynnik Nesslera (Sigma-Aldrich) i mieszaninę inkubowano w temperaturze pokojowej przez 10 min. Absorbancja mierzona była przy 450 nm w czytniku mikroplątek ELx800 (Bio-Tek). Ślepe próby zawierały wodę, TCA, L-glutaminę i odczynnik Nesslera. Standardowa krzywa została przygotowana dla szeregu stężeń $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Jedna jednostka glutaminazy określona jest jako ilość glutaminazy, która uwalnia 1 mikromol amoniaku. Aktywność glutaminazy w PMBC wyrażono w milijednostkach na miligram białka, a w surowicy w milijednostkach na litr,

- **ekspresja glutaminianu** oceniana była zestawem kolorymetrycznym firmy Abcam. Zawartość glutaminianu w PMBC określono w nanomolach na miligram białka, w surowicy w mikromolach na litr.

Zawartość białka w PMBC została określona za pomocą metody Lowry'ego [101].

Szlak kinureniny badano w oparciu o ocenę:

- **aktywności aminotransferazy kinureniny I (KAT I)**. Mieszanina reakcyjna składała się z: 10% (vol/vol) dimetylosulfotlenku (dimethyl sulfoxide, DMSO), 90 μM L-kinureniny, 0.001% Tween 20, 1 μM fosforanu pirydoksalu (PLP), i 1 mM pirogronianu sodu w 150 mM buforze 2-amino-2-metylo-1-propanolu (AMP) o pH 9.5 i badanej próbki. Reakcję enzymatyczną zatrzymywano dodaniem 1 N HCl. Aktywność KAT I oceniano na podstawie ilości powstającego kwasu kinureninowego (KYNA) mierzonej w buforze zawierającym 50 mM NaOAc i 350 mM ZnOAc przy pH = 5.47 dodawanym do mieszaniny reakcyjnej. Pomiaru fluorescencji dokonywano za pomocą fluorometru Flx800 (BioTek, USA) z wzbudzeniem przy długości fali 344 nm oraz emisją przy 398 nm. Aktywność KAT wyrażano jako μmol kwasu kinureninowego powstającego w ciągu jednej godziny na mililitr [189],
- **stężenia kwasu chinolinowego (QA)**, które oznaczano w mieszaninie inkubacyjnej zawierającej 10U/Lperoksydazy chrzanowej, 0.5 M H_2O_2 , 0.1 M bufor mleczanowy o pH = 5.0 oraz badaną próbkę. Po 90 min inkubacji w 30°C mierzono fluorescencję za pomocą fluorometru Flx800 (BioTek, USA)

z wzbudzeniem przy długości fali 328 nm oraz emisją 377 nm. Krzywą standardową przygotowywano, stosując szereg rozcieńczeń QA w zakresie 1.0 do 5.0 nmol QA [119],

- **stężenia kinureniny**, które oznaczano metodą spektrofotometryczną z odczynnikiem Ehrlicha (p-dimetyloaminobenzaldehyd w kwasie octowym lodowatym). Pomiarów absorbancji dokonywano w spektrofotometrze Elx800 (BioTek, USA) przy długości fali 492 nm. Krzywą standardową przygotowywano przy użyciu szeregu rozcieńczeń L-kynureniny w zakresie od 0 μ M do 5000 μ M [5].

3.2.3. Analiza statystyczna

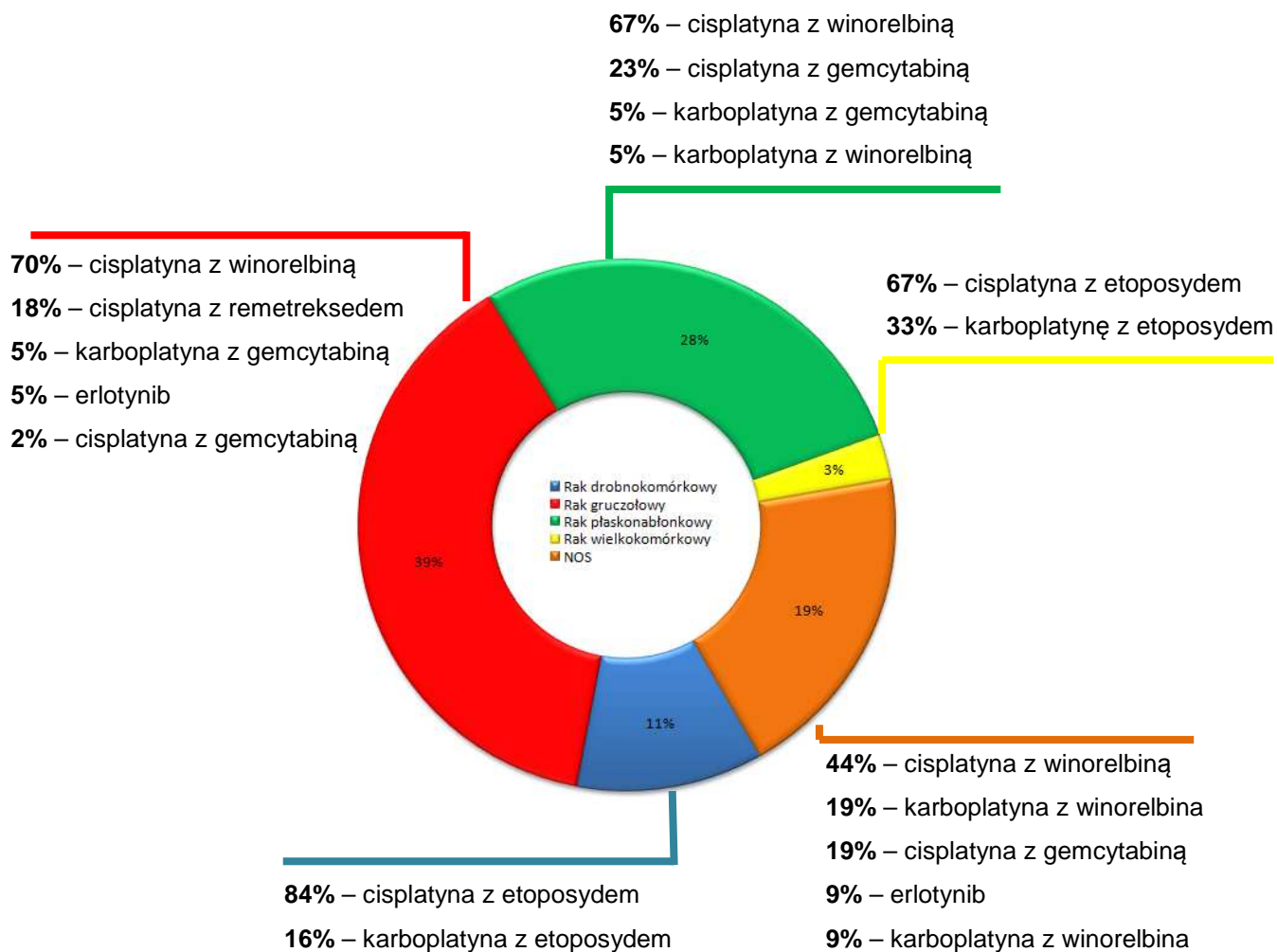
Analiz statystycznych dokonywano przy wykorzystaniu licencjonowanej wersji programu MedCalc 17.8 ver 64-bit. Najpierw badano rozkład zmiennych testem d'Agostino-Pearsona. Wszystkie zmienne miały rozkład nienormalny. W związku z tym do ich porównywania wykorzystywano test Manna-Whitney'a w przypadku zmiennych niepowiązanych lub Wilcoxon'a w przypadku zmiennych powiązanych. Badano również korelacje pomiędzy zmiennymi oraz oceniano krzywe ROC.

4. WYNIKI

W badaniu uczestniczyło 221 chorych: 152 mężczyzn w wieku $62,1 \pm 7,8$ lat oraz 69 kobiet w wieku $62,6 \pm 5,9$ lat. Rak drobnokomórkowy płuca występował u 25 chorych, rak gruczołowy u 85 chorych, rak płaskonabłonkowy u 62 chorych, rak wielkokomórkowy u 6 chorych oraz NOS (ang. *not otherwise specified*) u 43 chorych (Rycina 5).

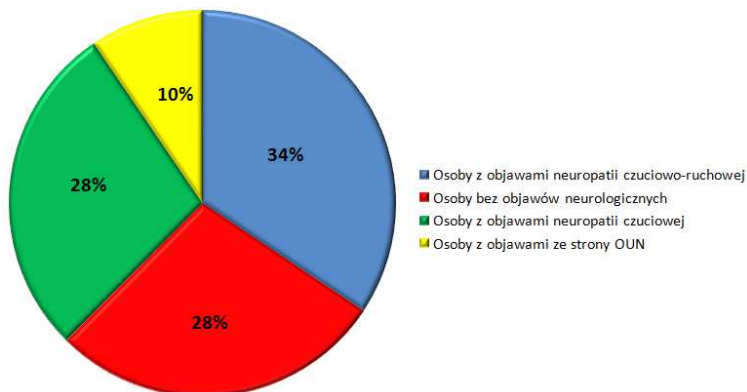


Rycina 5. Typy histologiczne raka płuca w badanej grupie chorych



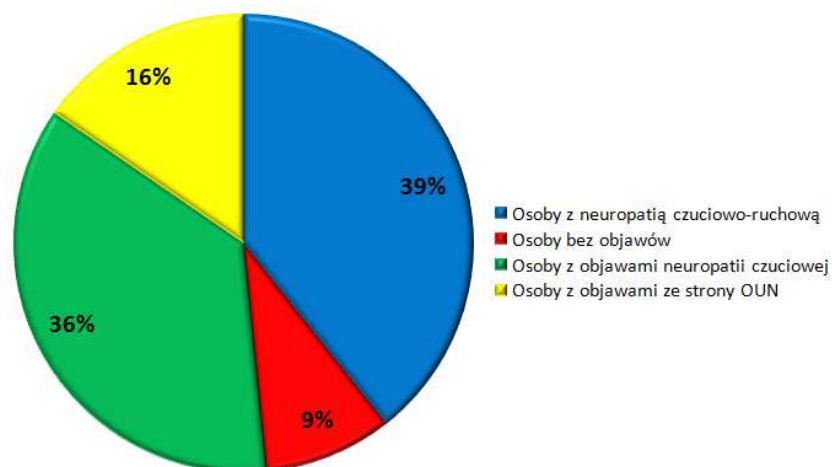
Rycina 6. Rodzaje chemioterapii w badanej grupie chorych

W badaniu neurologicznym u 72% chorych stwierdzono deficyty neurologiczne. U 63% dotyczyły one obwodowego układu nerwowego, głównie pod postacią neuropatii czuciowej i czuciowo-ruchowej, a u 9% ośrodkowego układu nerwowego, gdzie dominującym był zespół mózdkowy (Rycina 7).



Rycina 7. Profil zaburzeń neurologicznych w badanej grupie chorych przed leczeniem

Po 6 miesiącach leczenia pojawiły się nowe objawy u 68% chorych. Dominowała wśród nich neuropatia czuciowo-ruchowa i zespół mózdkowy (Rycina 8).



Rycina 8. Profil zaburzeń neurologicznych w badanej grupie chorych 6 miesięcy po leczeniu

U chorych ze stwierdzoną wyjściowo neuropatią nastąpiło nasilenie objawów ($P < 0.05$) ocenianych w skali Katzenwadel (3.1 ± 1.5) w porównaniu do wartości wyjściowych (1.8 ± 1.2) (Tabela 2).

Tabela 2. Ocena nasilenia objawów ze strony obwodowego układu nerwowego na podstawie skali Katzenwadela przed leczeniem oraz po sześciu miesiącach chemioterapii. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartylowy [112]

	Wartości wyjściowe	Po 6 miesiącach	P
Skala Katzenwadela	2,0 0,0–5,0	3,0 0,0–6,0	$P = 0,0002$

W analizie metabolizmu glutaminianu stwierdzono wzrost stężenia glutaminianu w surowicy oraz jego ekspresji w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej, spadek stężenia glutaminazy w PMBC oraz wzrost aktywności dehydroksylazy glutaminianu w PMBC po sześciu miesiącach chemioterapii. Aktywność dekarboksylazy glutaminianu w trakcie leczenia w stosunku do wartości wyjściowych przed leczeniem, w surowicy oraz w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej był stabilny (Tabela 3 i 4) [112].

Tabela 3. Ekspresja glutaminianu, aktywność GLS, GDH i GAD w **jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej** w przebiegu chemioterapii [112].

	Wartości wyjściowe	Po 6 miesiącach terapii
Glutaminian [nmol/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	1.03 0–5543.42	253.5 0–41615.30 P < 0.01
Glutaminaza [mU/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	0.42 0–91.33	0.089 0–31.97 P < 0.05
Dehydrogenaza glutaminianu [mU/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	3.67 1.57–1594.61	15.99 4.08–3185.02 P < 0.001
Dekarboksylaza glutaminianu [U/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	0.85 0–33.25	0.93 0–79.98 P = 0.3411

Tabela 4. Stężenie glutaminianu, aktywność GLS, GDH i GAD w **surowicy krwi** w przebiegu chemioterapii [112]

	Wartości wyjściowe	Po 6 miesiącach terapii
Glutaminian [nmol/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	412.83 85.41–5456.27	3971.83 399.74–4937.04 P < 0.01
Glutaminaza [mU/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	1.66 0–3.02	0.63 0.33–2.61 P = 0.2136
Dehydrogenaza glutaminianu [mU/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	89.81 25.73–154.88	105.78 66.60–134.65 P = 0.2181
Dekarboksylaza glutaminianu [U/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	405.06 0–1589.09	611.49 210.32–903.60 P = 0.2425

Aktywność aminotransferazy kinureniny w surowicy krwi była wyższa po 6 miesiącach leczenia (16,6; 7,9–21,4 $\mu\text{U/l}$) w porównaniu do wartości wyjściowych (9,5; 5,4–16,4; $P = 0,0492$) (Tabela 5).

Ekspresja aminotransferazy kinureniny w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej była niska zarówno przed leczeniem, jak i wyjściowo (Tabela 5).

Ekspresja receptora GPR35 uległa zmniejszeniu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej podczas leczenia chemioterapią [0,348; 0,114–1,290 ng/mg białka] w porównaniu do wartości przed leczeniem [0,879; 0,568–1,536 ng/mg białka, $P = 0,0212$].

Tabela 5. Markery szlaku „neuroprotekcynowego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem i po sześciu miesiącach chemioterapii

	Wartości wyjściowe	Po 6 miesiącach	P
Aktywność aminotransferazy kinureniny w surowicy [$\mu\text{U/l}$] mediana; zakres międzykwartylowy	9,5 5,4–16,4	16,6 7,9–21,4	$P = 0,0492$
Ekspresja aminotransferazy kinureniny w PBMC [pg/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	0,0 0,0–58,9	0,0 0,0–0,0	$P = 0,7135$
Ekspresja GPR35 w PBMC [ng/mg białka] mediana; zakres międzykwartylowy	0,879 0,568–1,536	0,348 0,114–1,290	$P = 0,0212$

Stężenie kinureniny i kwasu chinolinowego było stabilne zarówno przed, jak i po leczeniu (Tabela 6).

Tabela 6. Markery szlaku „neurotoksycznego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem i po sześciu miesiącach chemioterapii

	Wartości wyjściowe	Po 6 miesiącach	P
Stężenie kinureniny w surowicy [$\mu\text{mol/l}$] mediana; zakres międzykwartylowy	55,08 54,49–55,90	55,19 54,49–56,13	$P = 0,7747$
Stężenie kwasu chinolinowego w surowicy [$\mu\text{mol/ml}$] mediana; zakres międzykwartylowy	6,09 5,00–7,62	6,72 5,69–8,47	$P = 0,0599$ trend

W analizie markerów metabolizmu glutaminianu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej u chorych z nowymi objawami ze strony układu nerwowego w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych nie wykazano różnic istotnych statystycznie (Tabela 7).

Tabela 7. Markery metabolizmu glutaminianu w **PBMC** u chorych z nowymi objawami i bez nowych objawów ze strony układu nerwowego

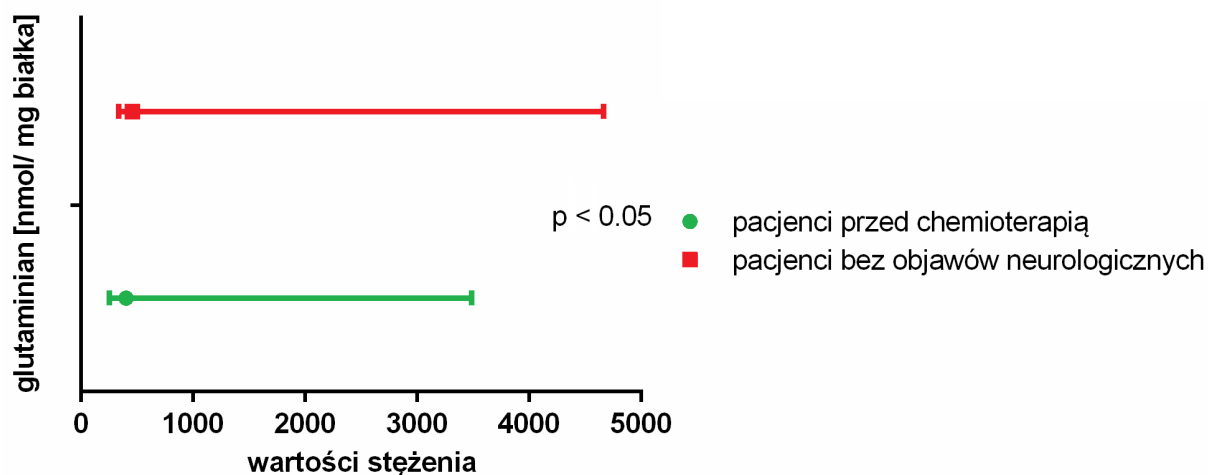
	Chorzy z nowymi objawami ze strony układu nerwowego	Chorzy bez nowych objawów ze strony układu nerwowego	P
Glutaminian – wartości wyjściowe [nmol/mg białka] mediana; minimum–maksimum	0,0 0,0–81,5	0,0 0,0–2148,99	P = 0,9366
Glutaminian – po 6 miesiącach chemioterapii [nmol/mg białka] mediana; minimum–maksimum	390,29 0,0–8594,15	59,08 1,45–116,70	P = 0,4386
Glutaminaza – wartości wyjściowe [mU/mg białka] mediana; minimum–maksimum	0,79 0,0–5,71	0,59 0,14–1,36	P = 0,6232
Glutaminaza – po 6 miesiącach chemioterapii [mU/mg białka] median; minimum–maksimum	0,12 0,11–0,14	0,022 0,0–0,50	P = 0,2453
Dehydrogenaza glutaminianu – wartości wyjściowe [mU/mg białka] mediana; minimum–maksimum	3,56 2,18–167,98	3,75 2,55–4,89	P = 0,9517
Dehydrogenaza glutaminianu – po 6 miesiącach chemioterapii [mU/mg białka] mediana; minimum–maksimum	23,24 4,08–576,19	6,96 5,17–8,75	P = 0,6985
Dekarboksylaza glutaminianu – wartości wyjściowe [U/mg białka] mediana; minimum–maksimum	0,30 0,0–11,44	0,0 0,0–1,66	P = 0,5680
Dekarboksylaza glutaminianu – po 6 miesiącach chemioterapii [U/mg białka] mediana; minimum–maksimum	0,28 0,0–52,69	0,93 0,83–1,03	P = 0,6985

W analizie metabolizmu glutaminianu w surowicy krwi u chorych z nowymi objawami neurologicznymi i bez nowych objawów tylko stężenie glutaminianu i aktywność dehydrogenazy wykazywały różnice istotne statystycznie (Tabela 8).

Tabela 8. Markery metabolizmu glutaminianu w **surowicy krwi** u chorych z nowymi objawami i bez nowych objawów ze strony układu nerwowego

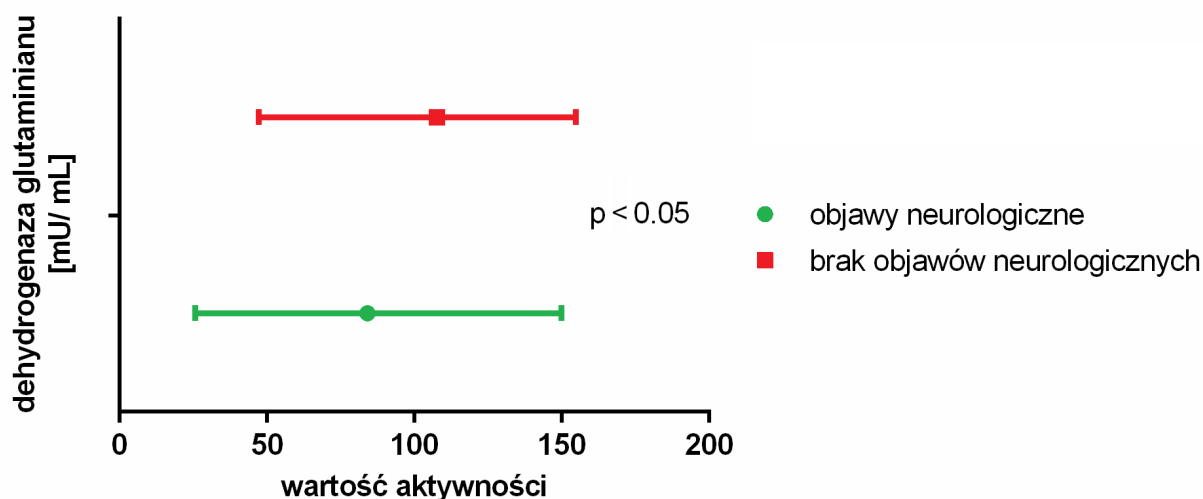
	Chorzy z nowymi objawami ze strony układu nerwowego	Chorzy bez nowych objawów ze strony układu nerwowego	P
Glutaminian – wartości wyjściowe [$\mu\text{mol/L}$] mediana; minimum–maksimum	401,03 254.29–3484.48	457,88 335.38–4664.32	P < 0,05
Glutaminian – po 6 miesiącach chemioterapii [$\mu\text{mol/L}$] mediana; minimum–maksimum	3506,03 399,74–4937,04	2512,27 441,36–4583,17	P = 0,6985
Glutaminaza – wartości wyjściowe [mU/L] mediana; minimum–maksimum	2,12 1,71–2,61	1,84 0,0–3,02	P = 0,1416
Glutaminaza – po 6 miesiącach chemioterapii [mU/L] mediana; minimum–maksimum	0,67 0,54–2,61	1,49 0,52–2,46	P = 0,6985
Dehydrogenaza glutaminianu – wartości wyjściowe [mU/mg białka] mediana; minimum–maksimum	84,06 25.73–149.92	107,67 47.16–154.88	P < 0,05
Dehydrogenaza glutaminianu – po 6 miesiącach chemioterapii [mU/mg białka] mediana; minimum–maksimum	104,2937 66,60–134,65	119,47 110,24–128,70	P = 0,2453
Dekarboksylaza glutaminianu – wartości wyjściowe [U/L] mediana; minimum–maksimum	459,59 0,0–1589,09	381,69 179,16–607,59	P=0,1416
Dekarboksylaza glutaminianu – po 6 miesiącach chemioterapii [U/L] mediana; minimum–maksimum	677,70 210,32–903,60	346,64 334,96–358,32	P = 0,2454

U chorych z objawami neurologicznymi zaobserwowano podwyższone stężenie glutaminianu w surowicy krwi przed leczeniem chemioterapią (401.03; 254.29–3484.48 $\mu\text{mol/L}$; $P < 0.05$) w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych (457.88; 335.38–4664.32 $\mu\text{mol/L}$) (Rycina 9).



Rycina 9. Stężenie glutaminianu w surowicy krwi u pacjentów przed leczeniem chemioterapią oraz u pacjentów bez objawów neurologicznych

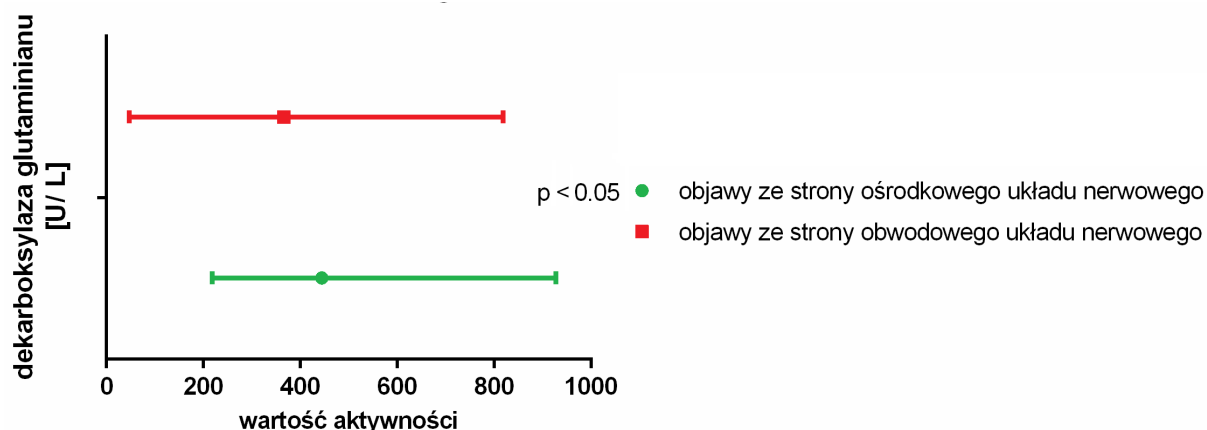
Natomiast aktywność dehydrogenazy glutaminianu była niższa u chorych z objawami neurologicznymi (84.06; 25.73–149.92 mU/mL, $P < 0.05$) w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych (107.67; 47.16–154.88 mU/mL) (Rycina 10).



Rycina 10. Aktywność dehydrogenazy glutaminianu u chorych z objawami i bez objawów neurologicznych

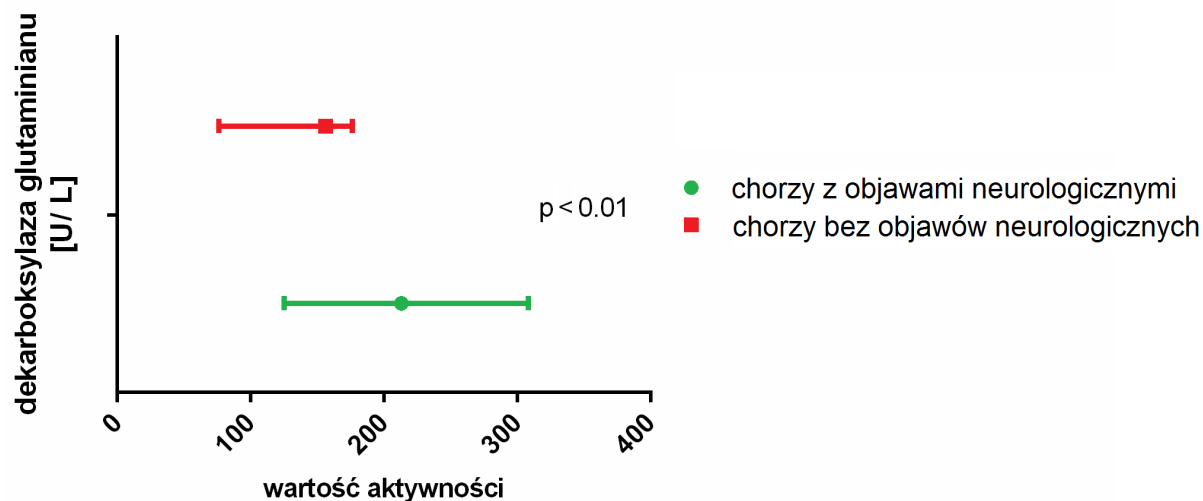
Chorzy z objawami ze strony ośrodkowego układu nerwowego mieli wyższą aktywność dekarboksylazy glutaminianu w surowicy krwi (444.01; 218.11–926.97

U/L; $P < 0.05$) niż chorzy z objawami ze strony obwodowego układu nerwowego (366.11; 46.73–817.92 U/L) (Rycina 11).



Rycina 11. Aktywność dekarboksylazy glutaminianu w surowicy krwi u chorych z objawami ze strony ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego

Pojawieniu się nowych objawów neurologicznych po 6 miesiącach leczenia chemioterapią towarzyszyła podwyższona aktywność dekarboksylazy glutaminianu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (213.0; 125.0–308.0 U/mg protein; $P < 0.01$) w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych (156; 76–176 U/mg białka) (Rycina 12).



Rycina 12. Aktywność dekarboksylazy glutaminianu w PMBC po sześciu miesiącach leczenia u chorych z nowymi objawami neurologicznymi i u chorych bez objawów neurologicznych

Aktywność aminotransferazy kinureniny w surowicy krwi była stabilna u chorych z objawami neurologicznymi (9,43; 5,12–15,66), jak i u chorych bez objawów przed leczeniem chemioterapią (12,12; 4,75–18,37, $P = 0,6879$) (Tabela 9).

Ekspresja aminotransferazy kinureniny w PMBC była całkowicie zahamowana u chorych z objawami neurologicznymi w porównaniu do chorych bez objawów (Tabela 9).

Wystąpienie nowych objawów podczas leczenia chemioterapeutykami wiązało się ze znacznym zwiększeniem ekspresji aminotransferazy kinureniny w PBMC (673,47; 0–1346,94 pg/mg białka; mediana; zakres międzykwartyłowy; $P < 0,05$) w porównaniu z całkowitym zahamowaniem jej ekspresji u chorych bez nowych objawów w przebiegu chemioterapii (0; 0 - 0 pg/mg białka).

Tabela 9. Markery szlaku „neuroprotektynowego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem chemioterapii w zależności od występowania deficytu neurologicznego

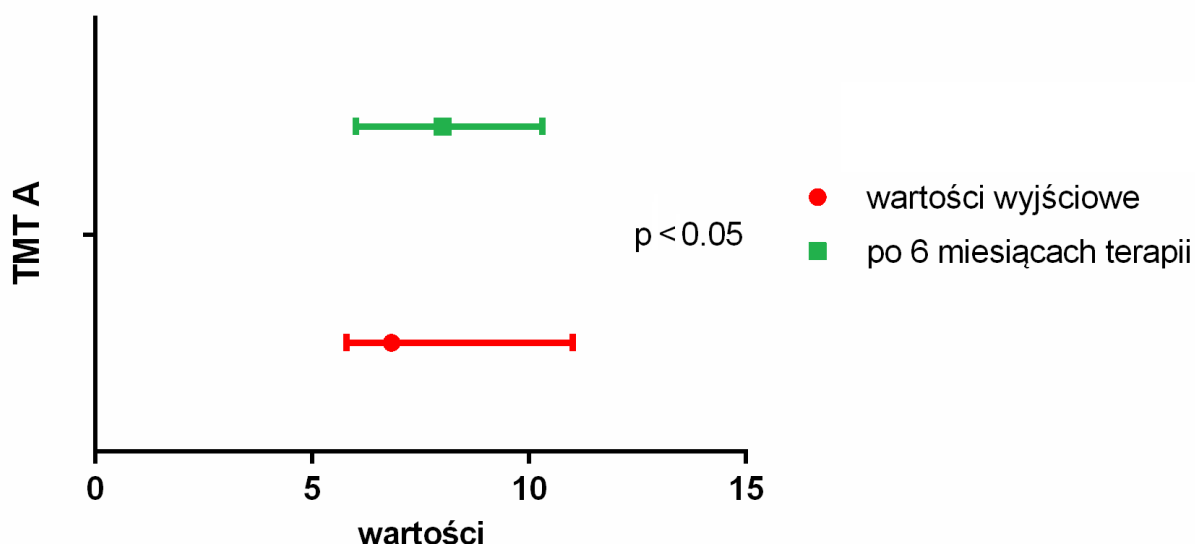
	Chorzy bez objawów ze strony układu nerwowego	Chorzy z objawami ze strony układu nerwowego	P
Aktywność aminotransferazy kinureniny w surowicy [μ U/l] mediana; zakres międzykwartyłowy	12,12 4,75–18,37	9,43 5,12–15,66	P = 0,6879
Ekspresja aminotransferazy kinureniny w PBMC [pg/mg białka] mediana; zakres międzykwartyłowy	100,62 53,83–1933,63	0,00 0,00–0,00	P = 0,0070
Ekspresja GPR35 w PBMC [ng/mg białka] mediana; zakres międzykwartyłowy	0,80	0,93	P = 0,2562

Stężenie markerów szlaku neurotoksycznego, czyli kwasu kinureninowego oraz chinolinowego było stabilne u chorych z objawami, jak i bez objawów neurologicznych (Tabela 10).

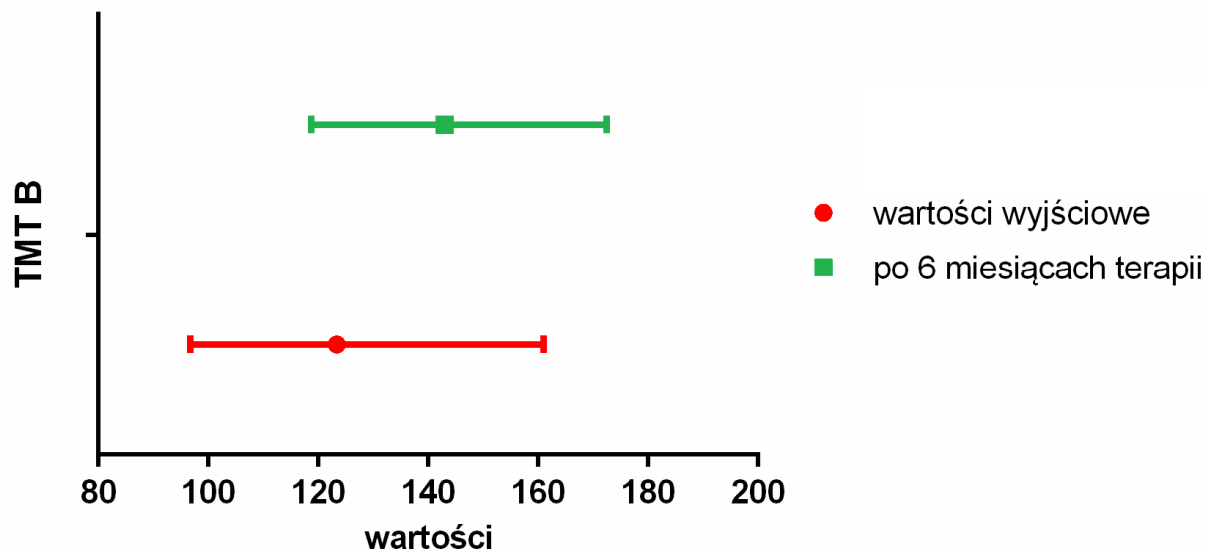
Tabela 10. Markery szlaku „neurotoksycznego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem chemioterapii w zależności od występowania deficytu neurologicznego

	Chorzy bez objawów ze strony układu nerwowego	Chorzy z objawami ze strony układu nerwowego	P
Stężenie kinureny w surowicy [$\mu\text{mol/l}$] mediana; zakres międzykwartyłowy	55,66 54,61–56,22	55,02 54,49–55,90	P = 0,3652
Stężenie kwasu chinolinowego w surowicy [$\mu\text{mol/ml}$] mediana; zakres międzykwartyłowy	6,67 4,78–7,99	6,09 5,11–7,52	P = 0,6236

W wykonanych testach: w teście łączenia punktów po 6 miesiącach wykazano pogorszenie funkcji poznawczych $P < 0.05$ TMT A (8.0; 6.0–10.31, mediana i zakres międzykwartyłowy) oraz TMT B (143.0; 118.75–172.5) w porównaniu do wartości wyjściowych (TMT A: 6.83; 5.79–11.0, TMT B: 123.38; 96.75–161.0) [112] (Rycina 13 i 14).



Rycina 13. Test łączenia punktów TMT A u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem leczenia i po sześciomiesięcznej chemioterapii



Rycina 14. Test łączenia punktów TMT B u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem leczenia i po sześciomiesięcznej chemioterapii

W skali MMSE oraz skali depresji Hamiltona nie wykazano różnic istotnych statystycznie [112].

W ocenie neuropsychologicznej w platformie PEBL w teście Digit Span wykazano pogorszenie wartości wyjściowych (4.00; 3.64–4.44; mediana i zakres międzykwartylowy; $P < 0.0001$), jak i po 6 miesiącach chemioterapii (4.00; 3.64–4.36; $P < 0.0001$) w porównaniu do grupy kontrolnej zdrowych ochotników (5.52; 4.56–6.22). Również w teście oceniającym czas reakcji prostej SRT oraz czas reakcji z wyborem CRT wyniki chorych na raka płuca w chwili rozpoczęcia leczenia, jak i po 6 miesiącach chemioterapii, były gorsze w stosunku do grupy kontrolnej zdrowych ochotników [112].

Stężenie glutamianu w surowicy krwi korelowało ujemnie z wynikami testu Dspan oceniającym funkcje poznawcze chorych na raka płuca przed leczeniem chemioterapią ($rS = -0,253$; $P < 0.05$) [112].

W teście oceniającym prosty czas reakcji (SRT) przed rozpoczęciem leczenia stężenie poziomu glutamianu korelowało dodatnio $rS = 0.288$, $P = 0.0311$ dla krótkiego opóźnienia $rS = 0.266$; $P = 0.0476$ i długiego opóźnienia, natomiast po 6 miesiącach chemioterapii korelowało ujemnie $rS = -0.583$, $P = 0.0227$ dla krótkiego opóźnienia, $rS = -0.583$, $P = 0.0227$ dla długiego opóźnienia [112].

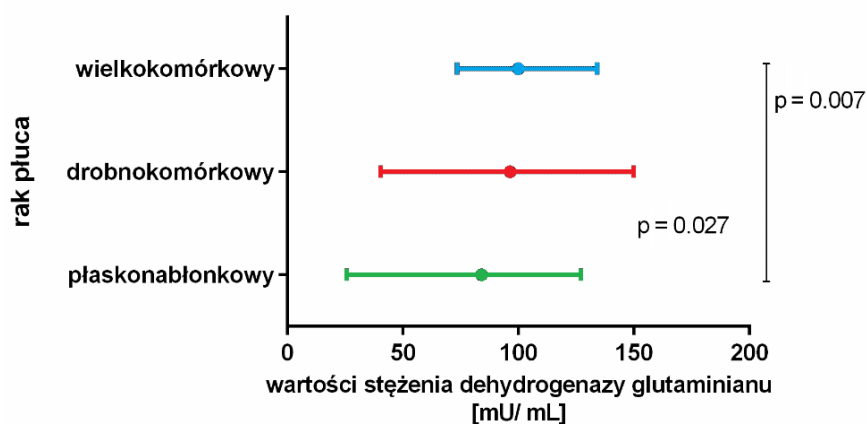
Aktywność glutaminazy w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej korelowało ujemnie z testem Dspan ($rS = -0.362$; $P < 0.001$) po 6 miesiącach

chemioterapii. W grupie badanych przed rozpoczęciem leczenia w teście czasu reakcji prostej SRT aktywność glutaminazy korelowała ujemnie CRT $rS = -0.350$, $P = 0.0082$ dla krótkiego opóźnienia $rS = -0.298$, $P = 0.0259$ dla długiego opóźnienia, podobnie w teście czasu reakcji z wyborem CRT $rS = -0.339$, $P = 0.0197$ [112].

Aktywność dehydrogenazy glutaminianu w PMBC ujemnie koreluje z wynikami testu MMSE $rS = -0.581$; $P = 0.0046$, natomiast aktywność GDH w surowicy krwi koreluje dodatnio z wynikami badań MMSE $rS = 0.778$; $P = 0.0392$. Stężenie GDH w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej mierzone u chorych przed leczeniem wykazywało ujemną zależność z wynikami testu DSpan wykonanymi po 6 miesiącach leczenia $rS = -0.766$, $P < 0.001$. Po 6 miesiącach leczenia aktywność dehydrogenazy glutaminianu w surowicy krwi korelowała dodatnio z wynikami testu łączenia punktów B TMTB $rS = 0.919$; $P < 0.01$ [112].

Aktywność dekarboksylazy glutaminianu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej w badanej grupie chorych przed leczeniem wykazuje ujemną korelację z wynikami testu DSpan ($rS = -0.362$; $P = 0.0004$), jak również z wynikami testu (MMSE $rS = -0.360$; $P < 0.0001$). Podobnie w surowicy krwi aktywność GAD ujemnie koreluje z wynikami testu (MMSE $rS = -0,355$; $P = 0,0003$). W teście czasu reakcji z wyborem CRT aktywność GAD korelowała dodatnio ($rS = 0.209$, $P = 0.0351$) [112].

Stężenie dehydrogenazy glutaminianu było niższe u chorych na raka płaskonabłonkowego płuca (84.06; 25.73–126.91 mU/mL) w porównaniu do chorych na raka drobnokomórkowego (96.36; 40.41–149.92 mU/mL; $P = 0.027$) i raka wielkokomórkowego płuca (99.93; 73.54–134.05 mU/mL; $P = 0.007$) [112] (Rycina 15).

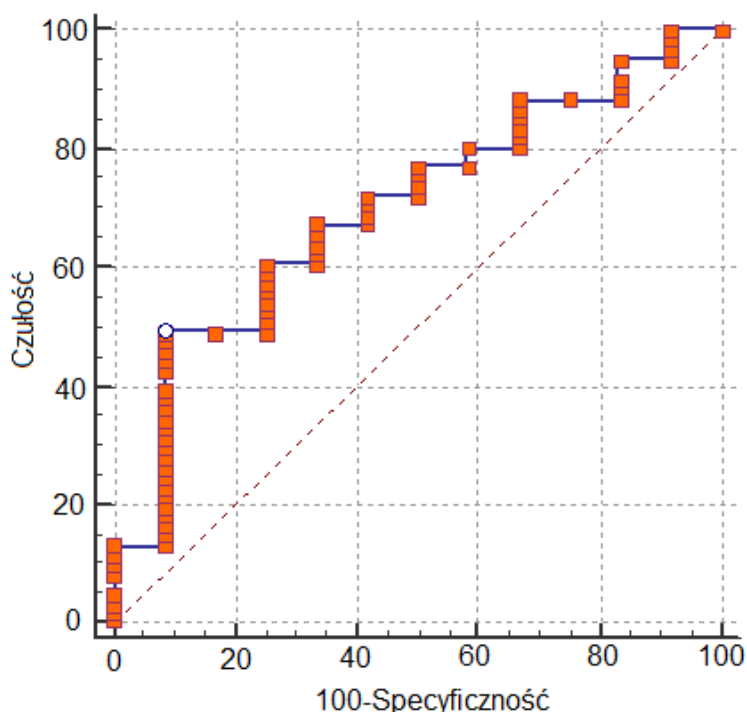


Rycina 15. Stężenie dehydrogenazy glutaminianu w raku płaskonabłonkowym, w raku drobnokomórkowym i w raku wielkokomórkowym

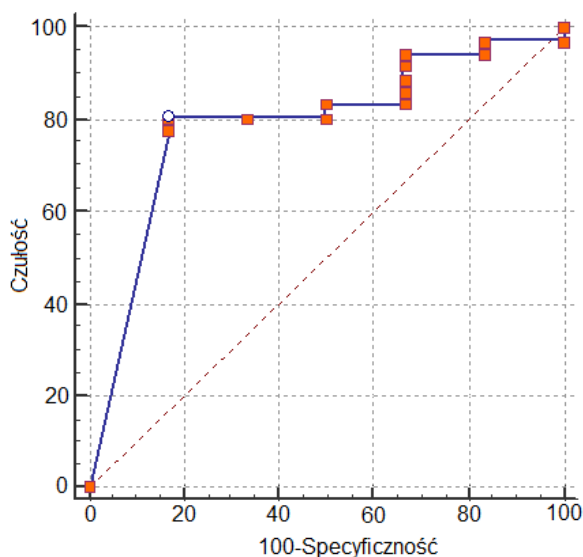
Ekspresja aminotransferazy kinureny w PBMC oznaczona po 6 miesiącach chemioterapii silnie korelowała dodatnio ($r_s = 0,709$; $P = 0,0216$) z wynikami Testu Łączenia Punktów A. Pobudzenie ekspresji aminotransferazy kinureny w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej chorych na raka płuca związane było z lepszym wynikiem oceny funkcji poznawczych w skali MMSE po 6 miesiącach ($28,4 \pm 0,7$) w porównaniu z chorymi, u których ekspresja ta uległa zahamowaniu ($27,1 \pm 1,8$). Wykazano dodatnią korelację ekspresji aminotransferazy kinureny II z wynikiem oceny w skali MMSE po 6 miesiącach (tau Kendalla = $0,308$; $P = 0,0234$). Wykazano również jej ujemną korelację z nasileniem objawów neuropatii w skali Katzenwadela przed rozpoczęciem chemioterapii ($r_s = -0,355$, $P = 0,0209$).

Stężenie kinureny w surowicy oznaczone przed rozpoczęciem chemioterapii korelowało ujemnie ($r_s = -0,279$; $P = 0,0297$) z wynikami Testu Łączenia Punktów A.

Aktywność aminotransferazy kinureny mierzona w surowicach chorych na raka płuca po 6 miesiącach chemioterapii była wyższa ($P = 0,0167$) w przypadkach z wykrytą odpowiedzią humoralną ($24,91$; $19,90-39,98 \mu\text{U/l}$; mediana; zakres międzykwartylowy) w porównaniu z osobami seronegatywnymi ($12,62$; $8,60-17,14 \mu\text{U/l}$).

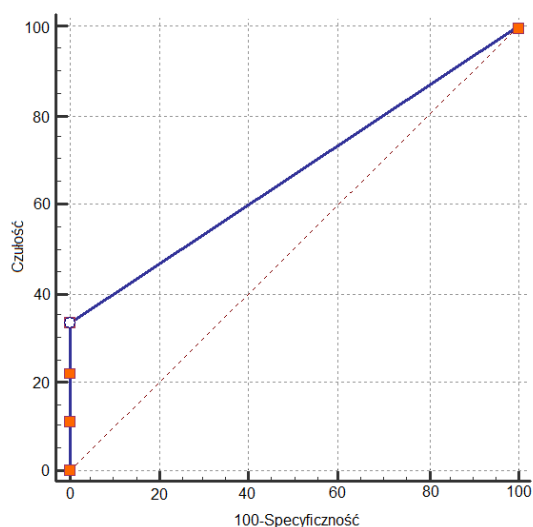


Rycina 16. Stężenie glutaminianu w surowicy a występowanie deficytu neurologicznego
 Area under the ROC curve (AUC) = $0,701$, $P = 0,0118$
 przy wartościach $\leq 395,88 \mu\text{mol/L}$ czułość wynosi **49,18%**, a specyficzność **91,67%**



Rycina 17. Ekspresja aminotransferazy kinureny w PBMC [pg/mg białka] a występowanie deficytu neurologicznego
 Area under the ROC curve (AUC) = 0,792, P = 0,0024, przy wartościach $\leq 19,97$ pg/mg białka czułość wynosi **80,56%**, specyficzność **83,33%**

Analiza krzywych ROC wykazała jedynie istotne prognostyczne znaczenie ekspresji aminotransferazy kinureny w PBMC [pg/mg białka] – w kontekście wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego (Rycina 16, 17, 18).



Rycina 18. Ekspresja aminotransferazy kinureny w PBMC [pg/mg białka] a występowanie nowych objawów neurologicznych
 Area under the ROC curve (AUC) = 0,667, P = 0,0455, przy wartościach > 0 czułość wynosi **100%**, specyficzność **66%**

W grupie 36% chorych wykazano autoprzeciwiactwa w immunofluorescencji pośredniej, w tym 20% stanowiły przeciwiactwa antyneuralne, a 18% przeciwiactwa przeciw antygenom nukleosomu, takie jak: RNP A, Sm, anty-centromerom B, SS-A, Ro-52, anty-ds-DNA i Scl-70. Za pomocą testu Line Blot potwierdzono obecność

przeciwciał onkoneuralnych anti-Hu i anti-Ma/Ta u 11% chorych. W grupie około 14% chorych stwierdzono współistnienie przeciwciał przeciw antygenom nukleosomu z anti-GFAP (przeciw kwaśnemu białku włóknkowemu), przeciw antygenom nukleosomu i anti-mielinie oraz anti-GFAP i anti-neuroendotelium.

W analizie poziomu i ekspresji markerów metabolizmu glutaminianu i tryptofanu z obecnością przeciwciał onko- i antyneuralnych jedynie aktywność dehydrogenazy glutaminianu w surowicy była istotnie statystycznie obniżona w grupie chorych z odpowiedzią humoralną (70,96; 41,79–109,65 mU/ml) w porównaniu do chorych bez autoprzeciwciał (99,93 74,34–130,68 mU/ml, $P = 0,0424$) (Tabela 11, 12, 13).

W analizie poziomów markerów metabolizmu glutaminianu i tryptofanu w zależności od aktywności humoralnej po 6 miesiącach chemioterapii aktywność aminotransferazy kinureniny w surowicy była wyższa ($P = 0,0167$) w przypadkach z wykrytą odpowiedzią humoralną (24,91; 19,90–39,98 μ U/l; mediana; zakres międzykwartylowy) w porównaniu z osobami seronegatywnymi (12,62; 8,60–17,14 μ U/l).

Tabela 11. Markery metabolizmu glutaminianu w PBMC u chorych z autoprzeciwciałami i bez autoprzeciwciał przed leczeniem

	Chorzy z autoprzeciwciałami	Chorzy bez autoprzeciwciał	P
Glutaminian – wartości wyjściowe [nmol/mg białka] mediana; minimum–maksimum	0,00 0,0–0,38	0,0 0,0–3,08	$P > 0,05$
Glutaminaza – wartości wyjściowe [mU/mg białka] mediana; minimum–maksimum	0,51 0,39–0,91	0,45 0,0–1,36	$P > 0,05$
Dehydrogenaza glutaminianu – wartości wyjściowe [mU/mg białka] mediana; minimum–maksimum	3,57 2,23–4,08	3,91 2,98–5,67	$P > 0,05$
Dekarboksylaza glutaminianu – wartości wyjściowe [U/mg białka] mediana; minimum–maksimum	0,27 0,0–2,07	0,48 0,0–8,29	$P > 0,05$

Tabela 12. Markery metabolizmu glutaminianu w surowicy u chorych z autooprzeciwiaciami i bez autooprzeciwiaciami przed leczeniem

	Chorzy z autooprzeciwiaciami	Chorzy bez autooprzeciwiaciami	P
Glutaminian – wartosci wyjsciowe [μmol/L] mediana; minimum–maksimum	389,44 271,88–482,98	422,48 329,80–455,09	P > 0,05
Glutaminaza – wartosci wyjsciowe [mU/L] mediana; minimum–maksimum	2,09 1,76–3,02	1,85 1,48–2,12	P > 0,05
Dehydrogenaza glutaminianu – wartosci wyjsciowe [mU/ml] mediana; minimum–maksimum	70,96 41,79–109,65	99,93 74,34–130,68	P = 0,0424
Dekarboksylaza glutaminianu – wartosci wyjsciowe [U/L] mediana; minimum–maksimum	327,17 202,53–490,75	311,59 85,69–740,02	P > 0,05

Tabela 13. Markery szlaku „neuroprotekcynowego” przemiany tryptofanu u chorych na raka pluc z autooprzeciwiaciami i bez autooprzeciwiaciami przed leczeniem

	Chorzy z autooprzeciwiaciami	Chorzy bez autooprzeciwiaciami	P
Aktywnosc aminotransferazy kinureniny w surowicy [μU /l] mediana; minimum–maksimum	9,62 5,56–22,59	9,23 0,0–34,38	P = 0,6565
Ekspresja aminotransferazy kinureniny w PBMC [pg /mg bialka] mediana; minimum–maksimum	0,0 0,0–3575,23	0,0 0,0–5545,78	P = 0,5710
Ekspresja GPR35 w PBMC [ng/mg bialka] mediana; minimum–maksimum	0,87 0,34–2,30	0,80 0,35–3,08	P = 0,9639

5. DYSKUSJA

W przebiegu choroby nowotworowej oraz leczenia onkologicznego dochodzi do uszkodzenia układu nerwowego zarówno obwodowego, jak i ośrodkowego. Najczęściej zgłaszane objawy ze strony obwodowego układu nerwowego są związane z neuropatiami czuciowymi, ruchowymi i czuciowo-ruchowymi. Głównym objawem uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego są zaburzenie funkcji poznawczych. Do rzadziej występujących powikłań zalicza się uogólnione napady padaczkowe toniczno-kloniczne [124], ostry zespół mózdkowy [160] i tylna odwracalna leukoencefalopatia [149].

W niniejszej pracy obserwowano u około 72% chorych już przed rozpoczęciem leczenia objawy deficytów neurologicznych, w tym u około 63% objawy neuropatii obwodowej, a u około 9% objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego, głównie pod postacią zespołu mózdkowego. Dane te są zbliżone do opisywanych w piśmiennictwie. W 2012 roku w analizie przeprowadzonej u chorych na raka piersi w Memorial Sloan Kettering Cancer Center wykazano, że u około 17–75% chorych występowały objawy związane z zaburzeniami funkcji poznawczych. Chore te były badane w okresie od 6 miesięcy po zakończonej terapii, do 20 lat po zakończonym leczeniu [2]. W Polskiej analizie przeprowadzonej na grupie 50 chorych na raka płuca wykazano, iż u około 64% chorych przed leczeniem wykazywało objawy związane z uszkodzeniem układu nerwowego. Najczęstszymi objawami były neuropatia czuciowa (30%) i objawy zespołu mózdkowego (13%) [160].

W niniejszej pracy po 6 miesiącach chemioterapii wykazano pojawienie się nowych objawów neurologicznych u 80% chorych, głównie pod postacią neuropatii obwodowej (68%) i zespołu mózdkowego (11%). W badanej grupie chorych z wyjściowo stwierdzoną neuropatią obwodową pod wpływem chemioterapii nastąpiło istotne statystycznie pogorszenie objawów mierzonych w skali Katzenwadela.

W przebiegu choroby nowotworowej dochodzi do pogorszenia funkcji poznawczych, które może być spowodowane toksycznym działaniem chemioterapii, radioterapii, zespołami paranowotworowymi oraz bezpośrednio chorobą nowotworową [30].

W analizie Kanarda i wsp. w 2004 roku, w grupie chorych na raka drobnokomórkowego płuca u 15–90% stwierdzono zaburzenia funkcji poznawczych

[88]. Podobnie w badaniu przeprowadzonym przez Grosshans i wsp. zaburzenia funkcji poznawczych stwierdzono u 47% badanych [61].

W analizie Meyersa i wsp. z 1995 roku oceniono zaburzenia funkcji poznawczych w dwóch grupach chorych: nieleczonych oraz chorych po chemoterapii przed profilaktyczną radioterapią mózgowia. Wyniki wykazały w obu grupach deficyt funkcji poznawczych, a w szczególności objawy związane z dysfunkcją płatów czołowych (38%) i koordynacji ruchowej (30%). Nie stwierdzono różnicy pomiędzy dwiema grupami chorych w żadnym z przeprowadzonych testów [111].

Zaburzenia funkcji poznawczych głównie w postaci: zaburzeń fluencji słownej oraz zdolności wzrokowo-przestrzennych występują częściej u chorych na drobnokomórkowego raka płuca (39%) niż na niedrobnokomórkowego (30%) [158]. U chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca najczęściej występują zaburzenia werbalnej pamięci operacyjnej [158].

W licznych analizach w wyniku przeprowadzonych testów nie wykazano pogorszenia funkcji poznawczej, choć wielu chorych zgłaszało dolegliwości. Pomimo częstego występowania zjawiska „chemobrain”, nadal wyzwaniem klinicznym jest jego potwierdzenie w obiektywnych testach, które zwykle wskazują na nieznaczne zaburzenia i słabo korelują ze zgłaszanymi przez chorych objawami, lub ich intensywność ulega zmniejszeniu w czasie [82, 178]. W wielu retrospektywnych, jak i prospektywnych metaanalizach wykazano, że do wykrycia zaburzeń funkcji poznawczych bardziej przydatne są testy subiektywne niż obiektywne [76, 82, 123].

International Cognition and Cancer Task Force (ICCTF) rekomenduje następujące testy w ocenie zaburzeń funkcji poznawczych u chorych na nowotwory: test Hopkins Verbal Learning Test-Revised (HVLTR), Test Łączenia Punktów (TMT A i TMT B) oraz testy Controlled Oral Word Association (COWA) [180].

Niestety w Polsce, oprócz TMT A i TMT B, testy te są niedostępne. Do badania chorych w niniejszej pracy wykorzystano testy z polską walidacją oceniające: uwagę, szybkość psychomotoryczną, pamięć, zdolność uczenia się, percepcję wzrokową, funkcje motoryczne i wykonawcze, czyli obszary badań rekomendowane przez ICCTF.

W niniejszej pracy wykazano pogorszenie pamięci operacyjnej w teście DSpan w badanej grupie chorych przed leczeniem, jak i 6 miesięcy po leczeniu, w porównaniu do zdrowej grupy ochotników.

W testach SRT oraz CRT również obserwowano pogorszenie funkcji wykonawczej przed leczeniem, jak i po leczeniu, w porównaniu do grupy zdrowych ochotników.

W testach łączenia punktów TMTA i TMTB uzyskano pogorszenie uwagi, umiejętności planowania i kontrolowania działań umysłowych po 6 miesiącach leczenia w porównaniu do wartości wyjściowych przed leczeniem.

Wyniki testu MMSE oceniającego wybrane funkcje poznawcze były podobne w grupie chorych przed leczeniem i po jego zakończeniu.

W metaanalizie przeprowadzonej [123] na podstawie 27 przeanalizowanych badań prospektywnych, jak i badań przekrojowych, prowadzonych u chorych na raka piersi wykazano, że:

- w przekrojowych badaniach zaburzenia poznawcze u chorych leczonych chemioterapią i bez leczenia były podobne, natomiast w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną wykazano zaburzenia funkcji poznawczych,
- w badaniach prospektywnych zaburzenia funkcji poznawczych u chorych przed leczeniem, jak i po leczeniu były podobne, natomiast wykazano tendencje do cofania się objawów w ciągu 6–18 miesięcy po zakończeniu leczenia. Wyniki niniejszej analizy pokrywają się z wynikami badań o charakterze przekrojowym. Niestety z uwagi na charakter przebiegu klinicznego raka płuca nie udało się w niniejszej pracy przeprowadzić testów u chorych po 12 lub 18 miesiącach po zakończonym leczeniu.

Wśród głównych przyczyn rozwoju powikłań w trakcie leczenia onkologicznego podaje się toksyczne działanie chemioterapii. Różne schematy chemioterapii stosowane w leczeniu choroby nowotworowej mają szeroki zakres efektów biologicznych. Pomimo to zaburzenia funkcji poznawczych, które pojawiają się w przebiegu leczenia, mają charakter „stereotypowy” [178]. Kesler i wsp. odnotowali pogorszenie pamięci werbalnej towarzyszące podwyższonym poziomom TNF α i obniżeniu poziomu IL-6 u chorych na raka piersi otrzymujących chemioterapię [84, 91]. Ganz i wsp. wykazali, że wyższe poziomy rozpuszczalnego receptora typu II dla czynnika martwicy guza (sTNF-RII) korelują z obniżeniem metabolizmu w płatach czołowych obserwowanym w badaniu PET-TK u chorych na raka piersi [55]. Ponadto stwierdzono dodatnią korelację między poziomem sTNF-RII a nasileniem skarg na

zaburzenia pamięci [55]. W badaniu przeprowadzonym u chorych poddawanych chemioterapii uzupełniającej, z zastosowaniem obrazowania czynnościowym rezonansem magnetycznym ośrodkowego układu nerwowego, obserwowano zmniejszenie aktywności w obrębie kory przedczołowej po stronie prawej oraz zakrętu parahipokampalnego, w którym zlokalizowane są ośrodki odpowiedzialne za efektywność procesów pamięciowych [83, 106]. Badania przeprowadzone z zastosowaniem PET-TK również wykazały zmniejszenie metabolizmu glukozy w zakręcie czołowym, mózdzku i jądrach podstawy, utrzymujące się nawet do 10 lat po zakończonym leczeniu [157]. Silverman wykazał, że połączenie chemioterapii z hormonoterapią u chorych na raka piersi istotnie zmniejsza aktywność metaboliczną mózgowia. Lekami wykazującymi najbardziej niekorzystny wpływ są inhibitory aromatazy (ok. 9-krotnie silniej) i tamoksifen (5-krotnie silniej), w porównaniu do zdrowej populacji [16, 35]. U chorych na chłoniaka z dużych komórek B w pojedynczych przypadkach zaburzenia funkcji poznawczych obserwowano niezależnie od stosowanego leczenia [28]. Ponadto przy braku wykładników zajęcia ośrodkowego układu nerwowego upośledzenie funkcji poznawczych wiązano z produkcją prozapalnych cytokin przez proliferujące komórki B [28].

Zmiany metaboliczne wywołane chemioterapią czy „burzą cytokinową” mają raczej charakter krótkotrwały [49]. Można więc przypuszczać, że przyczyn wystąpienia zjawiska „chemobrain” jest wiele.

Coraz częściej przyczyn zaburzeń funkcji poznawczych, które mogą mieć charakter przetrwały, dopatruje się w metylacji i hydroksymetylacji DNA, zmianach białek histonowych i niekodujących odcinkach RNA. W dotychczas przeprowadzonych badaniach wykazano, że regulacja ekspresji genów jest związana z zaburzeniami mózgu w takich schorzeniach jak depresja czy choroba Alzheimera. Metylacja DNA i acetylacja białek histonowych odgrywa kluczową rolę w rozwoju mózgu oraz w procesie uczenia się i pamięci [97, 113, 114, 166].

Lyon D. i wsp. w 2014 roku wykazali, że metylacja grupy genów utrzymywała się tylko u chorych z objawami neuropsychologicznymi po chemioterapii [102].

Innym ważnym obszarem badań jest poznanie metabolizmu komórki nowotworowej. Obok glukozy, glutamina jest jednym z głównych źródeł energetycznych komórek nowotworowych. Bode i wsp. w 2002 roku wykazali, że

transport glutaminy w komórkach nowotworowych jest większy niż w komórkach zdrowych [20]. Już w 1969 roku Knox i Horowitz wykazali, że aktywność glutaminazy koreluje z szybkością wzrostu nowotworów. Obserwacje te potwierdził później Perez-Gomez [92, 99, 130]. Marii Yuneva i wsp. w 2007 roku stwierdzili, że niedobór glutaminianu prowadzi do śmierci komórki nowotworowej na drodze apoptozy, zwłaszcza w przypadku komórek z aktywowanym genem *MYC* [195]. Mechanizm tego zjawiska nie został jak dotąd wyjaśniony. W 2011 roku wykazano istnienie alternatywnych dróg glutaminolizy w komórkach nowotworowych, aktywnych w hipoksji powodującej hamowanie klasycznej glutaminolizy. Istotą tych szlaków jest redukcyjna karboksylacja α -ketoglutaranu do izocytrynianu, przekształcanego następnie do cytrynianu [116, 188]. Wówczas pojawiła się nowa hipoteza, że komórki nowotworowe są „uzależnione od glutaminy” [187].

Zaburzenia w metabolizmie glutaminianu wiążą się z upośledzeniem funkcji poznawczych. Wykazano bowiem dysregulację pomiędzy poziomem kwasu γ -aminomasłowego a poziomem glutaminianu w badaniach na modelach zwierzęcych [34] oraz w ludzkich mózgach [155]. Istnieje szereg badań, które podkreślają neuroprotektoryjne działanie suplementacji glutaminianu w celu łagodzenia objawów powikłań po chemioterapii, np. paklitakselem [163] czy oksaliplatyną [177]. Niektóre z badań podważają skuteczność i bezpieczeństwo suplementacji glutaminianem [89, 12].

Leki obniżające poziom glutaminy, m.in. takie jak L-asparaginaza stosowana w terapii ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci, powodowały znaczącą remisję. Jednym z efektów działania L-asparaginazy jest obniżenie poziomu glutaminy poprzez hydrolizę glutaminy do kwasu glutaminowego i amoniaku. Niestety lek ten jest bardzo toksyczny [8]. W 86% wykazano skuteczność inhibitorów glutaminazy zarówno w warunkach *in vivo*, jak *in vitro* [54, 60, 147, 153, 197].

W neuronach glutamina występuje w niewielkim stężeniu, a poziom jej jest regulowany przez dwa enzymy: dehydrogenazę i dekarboksylazę. W przebiegu urazów, jak i innych schorzeń ośrodkowego układu nerwowego z towarzyszącym niedotlenieniem, dochodzi do wzrostu glutaminy, która w dużych stężeniach pobudza kanały jonowe glutaminergiczne. Efektem tego procesu jest napływ jonów sodu oraz chlorku do wnętrza komórek nerwowych, a za nimi wody, jak również wzrost poziomu

jonów wapnia we wnętrzu komórki. Te poprzez aktywację szeregu enzymów, takich jak: lipazy, endonukleazy, proteazy, fosfatazy, prowadzą do śmierci komórki [52].

W analizie metabolizmu glutaminianu wykazano, że pogorszenie funkcji poznawczych korelowało ze zmianami w stężeniu poziomu glutaminianu i enzymów metabolizujących, tzn. dehydrogenazy i dekarboksylazy glutaminianu. Po sześciu miesiącach chemioterapii nastąpił wzrost stężenia glutaminianu w surowicy oraz w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej, obniżenie aktywności glutaminazy w PMBC oraz wzrost aktywności dehydrogenazy glutaminianu w PMBC. U chorych z objawami neurologicznymi zaobserwowano podwyższony poziom glutaminianu w surowicy krwi przed leczeniem chemioterapią w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych. Natomiast aktywność dehydrogenazy glutaminianu była niższa u chorych z objawami w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych. Podobne wyniki uzyskano w pracy dotyczącej atrofii oliwkowo-mostowo-mózdkowej, w której wykazano niedobór dehydrogenazy glutaminowej i wysoki poziom glutaminianu w surowicy krwi, którym towarzyszyły objawy neurologiczne [134].

W pracy T. Yamaguchi w 1982 roku i A. Plaitakis w 1984 roku wykazano obniżoną aktywność dehydrogenazy glutaminianu w leukocytach w ataksji rdzeniowo-mózdkowej [191] oraz zespole pozapiramidowym [135]. Na podstawie tych badań oraz wyników niniejszej pracy można wysnuć hipotezę o ochronnej roli dehydrogenazy glutaminowej w układzie nerwowym.

W niniejszej pracy wykazano także różnicę w aktywności GAD u chorych z objawami ze strony ośrodkowego układu nerwowego, którzy mieli wyższą aktywność dekarboksylazy glutaminianu w surowicy krwi niż chorzy z objawami ze strony obwodowego układu nerwowego. Natomiast pojawieniu się nowych objawów neurologicznych po sześciu miesiącach chemioterapii towarzyszyła podwyższona aktywność dekarboksylazy glutaminianu w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej w porównaniu do pacjentów bez objawów neurologicznych. W pracy Sukina i wsp., którzy badali aktywność dekarboksylazy glutaminowej u szczurów po podaniu neurotoksyny – 3-acetylopirymidyny wykazano wzrost aktywności dekarbosylazy glutaminowej, który towarzyszył uszkodzeniu ośrodkowego układu nerwowego oraz pojawieniu się objawów neurologicznych [165]. Podobne zjawiska wykazano w pracy Litwaka i wsp., w której szczurom również podawano neurtoksynę

– 3-acetylopirymidynę i badano aktywność GAD w komórkach Purkiniego [100]. Na podstawie tych opracowań można wysunąć hipotezę, że aktywność dekarboksylazy glutaminianu wzrasta w uszkodzeniu układu nerwowego.

Drugim obszarem badań niniejszej pracy był metabolizm tryptofanu. Obniżanie się poziomu tryptofanu związane jest ze zmęczeniem i pogorszeniem jakości życia u chorych na raka płuca [26, 96]. W badaniu Ya-Ping Ren na grupie 80 chorych i 120 zdrowych ochotników wykazano, że u chorych na raka płuca poziom tryptofanu jest znacząco obniżony w porównaniu do zdrowej populacji. Ponadto poziom ten jest niższy w raku gruczołowym [145].

Niektóre produkty metabolizmu tryptofanu wykazują neurotoksyczność. Jednym z nich jest kwas chinolinowy, który hamuje produkcję ATP w mitochondriach, indukuje apoptozę komórek glejowych, bezpośrednio uszkadza neurony i jest agonistą receptora asparaginianowego (NMDA). Może on również wpływać na poziom glutaminianu. Obserwowano, że może on zwiększać uwalnianie glutaminianu przez neurony, hamować jego wychwyt przez astrocyty oraz hamować w astrocytach aktywność syntetazy glutaminowej [172]. Ponadto nasila on peroksydację lipidów [15, 146].

Kwas chinolinowy ma udowodnione działanie neurotoksyczne w otępieniu związanym z HIV [43, 65], chorobie Alzheimera [64, 68], chorobie Huntingtona [152, 162], w stwardnieniu zanikowym bocznym [29] i stwardnieniu rozsianym [63, 136].

Najprawdopodobniej cytokiny (np. $\text{TNF}\alpha$ i $\text{INF}\ \gamma$) mogą wpłynąć na zwiększenie produkcji kwasu chinolinowego poprzez wzrost aktywności enzymu 2, 3-dioksygenazy indolowej, a także poprzez stymulację makrofagów do produkcji kwasu chinolinowego [29, 67]. Coraz częściej podkreśla się ważną rolę 2, 3-dioksygenazy indolowej w rozwoju oporności nowotworów na leczenie. Mechanizm jej działania jest związany najprawdopodobniej z tłumieniem odpowiedzi komórkowej na patogeny i hamowaniem aktywności limfocytów T. EkspresjaIDO jest podwyższona w przewlekłym stanie zapalnym, zakażeniu pasożytniczym, wirusowym i bakteryjnym oraz progresji nowotworowej [173]. Uważa się, że w komórkach nowotworowych aktywnośćIDO powoduje obniżenie poziomu tryptofanu i zmniejszenie aktywności limfocytów T w otoczeniu guza [9, 174].

Z kolei kwas kinureninowy jest antagonistą NMDA i receptora nikotynowego, przez co wpływa na poziom glutaminianu i dopaminy [78]. Heyes i wsp. wykazali

podwyższony poziom kwasu chinolinowego oraz kinureninowego w chorobach zapalnych ośrodkowego układu nerwowego. Kwas chinolinowy i kwas kinureninowy są mediatorami dysfunkcji neuronów i śmierci komórek nerwowych w chorobach zapalnych [96]. Receptor GPR35, mimo że jest znany od 15 lat, pozostaje molekułą, której rola w fizjologii i patologii jest nadal niejasna [86]. Jego aktywność wykazano w układzie pokarmowym, rdzeniu kręgowym, mózgu i mózgdzku [23, 171]. Kwas kinureninowy prawdopodobnie poprzez aktywację GPR35 może zmniejszyć uwalnianie glutaminianu w mózgu i uwalnianie cytokin prozapalnych. Przypuszcza się, że ma on przez to działanie przeciwbólowe [115, 176]. Aminotransferaza kinureniny, enzym wstępujący w astrocytach, odgrywa kluczową rolę w produkcji kwasu kinureninowego (70%) w ludzkim mózgu. Przypuszcza się, że hamowanie aminotransferazy kinureninowej byłoby najbardziej skuteczne w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych [117].

W badaniu Hartai i wsp. [66] oraz Szabo [93] we krwi chorych na chorobę Parkinsona wykazano obniżoną aktywność aminotransferazy kinureninowej, której towarzyszył niski poziom kwasu kinureninowego. W 2009 roku Baran i wsp. wykazali, że w chorobie Alzheimera poziom 3-hydroksykinureniny i kinureniny był obniżony w mózgu, podczas gdy poziom kwasu kinureninowego był znacząco podwyższony i korelował z aktywnością aminotransferazy kinureniny [11]. W chorobie Alzheimera w badaniach we krwi obwodowej lub w komórkach z płynu mózgowo-rdzeniowego poziom kwasu kinureninowego był obniżony bez zmian w stężeniu aminotransferazy kinureniny [73].

Wykazano również zaburzenia metabolizmu tryptofanu w chorobie Huntingtona, w której stwierdzono podwyższone poziomy kwasu chinolinowego i 3-hydroksykinureniny [62] oraz obniżony poziom kwasu kinureninowego w prądkowiu [13] i obniżoną aktywność aminotransferazy kinureniny [85]. Podobne wyniki uzyskano na modelach zwierzęcych [38]. Csillik AE w 2002 roku w swojej pracy na modelach zwierzęcych wysnuł hipotezę o możliwym wpływie ekspresji aminotransferazy kinureninowej w neuronach na zaplanowaną śmierć komórki [39].

W niniejszej pracy wykazano wyższą aktywność aminotransferazy kinureniny w surowicy krwi po sześciu miesiącach leczenia. Ekspresja aminotransferazy kinureniny w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej była niska i porównywalna przed leczeniem, jak i po leczeniu. Ekspresja receptora GPR35 uległa zmniejszeniu

w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej podczas chemioterapii w porównaniu do wartości wyjściowych. Stężenie kinureny i kwasu chinolinowego mające działanie neurotoksyczne było stabilne przed, jak i po leczeniu. Aktywność aminotransferazy kinureny w surowicy krwi była podobna u chorych z objawami neurologicznymi i bez objawów przed leczeniem chemioterapią. Ekspresja aminotransferazy kinureny w PMBC była całkowicie zahamowana u chorych z objawami neurologicznymi w porównaniu do chorych bez objawów.

Natomiast pojawienie się nowych objawów neurologicznych podczas leczenia chemioterapeutykami wiązało się ze znacznym zwiększeniem ekspresji aminotransferazy kinureny w PBMC w porównaniu z całkowitym zahamowaniem jej ekspresji u chorych bez nowych objawów w przebiegu chemioterapii. W niniejszej pracy wykazano, że ekspresję aminotransferazy kinureny można uznać za czynnik prognostyczny w pojawieniu się nowych objawów neurologicznych po chemioterapii.

W przeprowadzonej analizie wykazano, że zaburzenia w metabolizmie neuroprzekaźników są bardziej zauważalne w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej niż w surowicy krwi.

W niniejszej pracy podjęto analizę zależności pomiędzy obecnością zespołów paranowotworowych oraz zaburzeniami w metabolizmie neuroprzekaźników. Jak dotąd nie przeprowadzono badań w tym zakresie. Zespoły paranowotworowe częściej pojawiają się u chorych na drobnokomórkowego raka płuca. Do klasycznych zespołów paranowotworowych diagnozowanych u chorych na raka płuca należą: zapalenie układu limbicznego [69], paranowotworowe zwyrodnienie mózdzku, podostra neuropatia czuciowa i zespół miasteniczny Lamberta-Eatona [122]. Wśród nieklasycznych zespołów w przebiegu raka płuca wymienia się najczęściej zapalenie pnia mózgu [58].

W niniejszej analizie poziomu i ekspresji markerów metabolizmu glutaminianu i tryptofanu z obecnością przeciwciał onko- i antyneuralnych tylko aktywność dehydrogenazy glutaminianu była istotnie statystycznie obniżona w grupie chorych z odpowiedzią humoralną w porównaniu do chorych bez auto-przeciwciał (Tabela 12).

W analizie poziomów markerów metabolizmu glutaminianu i tryptofanu w zależności od aktywności humoralnej po sześciu miesiącach chemioterapii aktywność aminotransferazy kinureny w surowicy była wyższa w przypadkach z wykrytą odpowiedzią humoralną.

U chorych na raka płuca już w chwili rozpoznania występują objawy deficytów neurologicznych pod postacią neuropatii, zespołu mózdkowego, zaburzenia funkcji poznawczych: głównie pamięci operacyjnej i funkcji wykonawczych. Po sześciu miesiącach leczenia nowe objawy związane były głównie z neuropatiami i zespołem mózdkowym. Pogorszeniu uległy również funkcje wykonawcze. Zaburzenia metabolizmu glutaminianu i tryptofanu są nadal przedmiotem wielu badań. Mechanizmy rozwoju powikłań neurologicznych po chemioterapii poznane zostały jak dotąd wycinkowo i w odniesieniu do wybranych chemioterapeutyków. Zauważalny jest niedostatek danych pochodzących z usystematyzowanych badań populacyjnych z uwzględnieniem oceny funkcji poznawczych u chorych przed leczeniem i po leczeniu onkologicznym w porównaniu ze zdrową populacją.

Zdefiniowania wymagają: indywidualne predyspozycje, czynniki genetyczne, typy nowotworów oraz leki onkologiczne, które cechują się największym ryzykiem wystąpienia zaburzeń funkcji poznawczych. Badania z zastosowaniem technik obrazowania strukturalnego i funkcjonalnego oraz testów neuropsychologicznych umożliwiają rozpoznanie zaburzeń funkcji poznawczych, jednakże wymagają one standaryzacji.

Dalszych opracowań wymagają biomarkery pozwalające rozpoznawać oraz określić ryzyko rozwoju powikłań neurologicznych związanych z chemioterapią i chorobą nowotworową, ażeby uchronić chorego przed negatywnymi skutkami leczenia onkologicznego. Do chwili obecnej bezskutecznie poszukuje się leków lub suplementów diety, które łagodziłyby zgłaszane często przez chorych objawy dotyczące układu nerwowego.

6. WNIOSKI

1. U chorych z objawami neurologicznymi w przebiegu chemioterapii wystąpiły zaburzenia w metabolizmie glutaminianu i tryptofanu. Pojawienie się nowych objawów neurologicznych w trakcie chemioterapii korelowało ze zmianą aktywności enzymów oraz stężeń produktów metabolizmu glutaminianu i tryptofanu w porównaniu do chorych bez deficytów ze strony obwodowego, jak również ośrodkowego układu nerwowego.
2. Niska ekspresja aminotransferazy kinureniny mierzona w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej jest czynnikiem prognostycznym w kontekście wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego.
3. Immunologiczna odpowiedź humoralna skierowana przeciw antygenom neuralnym związana jest z zahamowaniem aktywności dehydrogenazy glutaminianu u chorych na raka płuc przed rozpoczęciem chemioterapii.

7. STRESZCZENIE

W ciągu ostatnich dziesięcioleci zachorowalność na nowotwory złośliwe wzrosła ok. dwukrotnie. W Polsce z powodu choroby nowotworowej w 2010 roku umarło 93 tys. chorych. W przebiegu rozwoju nauki, onkologii oraz dzięki pojawieniu się nowych leków wzrosła liczba przeżyć. Choroba nowotworowa nabiera cech choroby przewlekłej, stąd skutki uboczne terapii onkologicznej, jak również przebieg samej choroby wysuwają się na plan pierwszy pod kątem zgłaszanych przez chorych licznych działań niepożądanych.

Jednymi z częściej zgłaszanych dolegliwości są objawy neuropatii obwodowej i zaburzenia funkcji poznawczych. Do dziś, pomimo licznych badań, nie ma terapii znoszącej objawy neuropatii czy objawów tzw. chemobrain, a leczenie objawowe jest nieskuteczne. Nie określono jak dotąd czynników ryzyka mogących zwiększać szansę na pojawienie się ww. powikłań. Brakuje również leczenia przyczynowego.

Celem niniejszej pracy było zbadanie produktów metabolizmu neuroprzekaźników: glutaminianu i tryptofanu w komórce nerwowej pod kątem pojawienia się powikłań neurologicznych po chemioterapii.

Do badania włączono 221 chorych na raka płuca powyżej 18. roku życia leczonych chemioterapią w Oddziale Onkologii Klinicznej Wielkopolskiego Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii w okresie od lutego 2013 roku do listopada 2014 roku. Chorzy poddawani byli ocenie neurologicznej, jak również przeprowadzono testy oceniające: uwagę, szybkość psychomotoryczną, pamięć, zdolność uczenia się, percepcję wzrokową oraz funkcje motoryczne i wykonawcze przed leczeniem i po sześciu miesiącach. Od chorych pobierano również krew przed rozpoczęciem leczenia, jak i po sześciu miesiącach celem oznaczenia produktów metabolizmu glutaminianu i tryptofanu.

W niniejszej pracy wykazano, że już w chwili rozpoznania choroby część chorych prezentowała objawy ze strony układu nerwowego. W badaniu neurologicznym u 72% chorych stwierdzono deficyty neurologiczne, w tym u 63% dotyczyły one obwodowego układu nerwowego, głównie pod postacią neuropatii czuciowej i czuciowo-ruchowej, a u 9% ośrodkowego układu nerwowego – głównie o charakterze zespołu mózdkowego. Po sześciu miesiącach leczenia pojawiły się nowe objawy u 68% chorych pod postacią neuropatii czuciowo-ruchowej i zespołu mózdkowego. U chorych ze stwierdzoną wyjściowo neuropatią nastąpiło nasilenie

objawów ocenianych według skali Katzenwadel. W wykonanym teście łączenia punktów wykazano pogorszenie funkcji poznawczych po sześciu miesiącach terapii, w porównaniu do wartości wyjściowych. W skali MMSE oraz depresji Hamiltona nie wykazano żadnych różnic. W platformie PEBL w teście Digit Span, testach SRT oraz CRT wykazano pogorszenie funkcji poznawczych po sześciu miesiącach terapii w porównaniu do wartości wyjściowych.

W ocenie produktów metabolizmu glutaminianu i tryptofanu wykazano istotne zaburzenia w metabolizmie, w przebiegu choroby nowotworowej, jak i w leczeniu. Po sześciu miesiącach leczenia nastąpił wzrost stężenia glutaminianu w surowicy oraz wzrost ekspresji w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej, spadek stężenia glutaminazy w PMBC oraz wzrost aktywności dehydrogenazy glutaminianu w PMBC. U chorych z objawami neurologicznymi przed leczeniem wykazano podwyższone stężenie glutaminianu w surowicy krwi w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych. Aktywność dehydrogenazy glutaminianu była niższa u chorych z objawami w porównaniu do chorych bez objawów neurologicznych. Ekspresję aminotransferazy kinureniny w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej można uznać za czynnik prognostyczny wystąpienia nowych objawów ze strony układu nerwowego. Poziom dehydrogenazy glutaminianu był obniżony w grupie chorych z odpowiedzią humoralną przed leczeniem chemioterapią.

W niniejszej pracy wykazano, iż metabolizm neuroprzekaźników jest interesującym obszarem badań w kontekście powikłań po chemioterapii i przebiegu samej choroby nowotworowej. Niestety wymaga to dalszych badań w celu dogłębnego zrozumienia metabolizmu komórki nowotworowej i jej wpływu na metabolizm komórek gospodarza. Z uwagi na narastającą skalę problemu istnieje potrzeba dalszych badań zaburzeń poznawczych związanych z chorobą nowotworową, jak również potrzeba rozpowszechniania na ten temat wiedzy wśród chorych i personelu medycznego.

8. SUMMARY

In recent decades, the incidence of malignancies has doubled. In 2010, in Poland, 93,000 patients died due to cancer. In the course of the development of science, oncology and the emergence of new drugs the survival rate has improved. Cancer is more and more frequently characterized as chronic disease, hence the side effects of oncological therapy, as well as the course of the disease itself, are getting on the first plan for many adverse reactions reported by patients.

One of the most common complaints concerns peripheral neuropathy and cognitive dysfunction. In spite of numerous studies, there is no treatment for the symptoms of neuropathy or symptoms of the so-called chemobrain and symptomatic treatment is ineffective. Moreover, no risk factors that may increase the chance of occurrence of the aforementioned complications have been defined and there is no causative treatment. The aim of this work was to investigate the metabolism of neurotransmitters: glutamate and tryptophan in the neuronal cell for neurological complications after chemotherapy.

221 patients with lung cancer aged 18 years and older were treated with chemotherapy in the Department of Clinical Oncology of the Wielkopolska Center of Pulmonology and Thoracic Surgery from February 2013 to November 2014. Patients were both subjected to neurological evaluation, and the test were carried out to evaluate: attention, psychomotor speed, memory, learning ability, visual perception, motor and operational functions before treatment and after 6 months. Blood samples were also collected from patients before treatment and after 6 months to identify glutamate and tryptophan metabolism.

The work revealed that some patients showed neurological symptoms already at the time of diagnosis. In neurological examination, 72% of patients had neurological deficits, 63% of which concerned peripheral nervous system, mainly in the form of sensory and motor- sensory neuropathy and 9% cases related to the central nervous system - mainly cerebellar syndrome. After 6 months of treatment new symptoms appeared in 68% of patients in the form of sensory-motor neuropathy and cerebellar syndrome. The patients with baseline neuropathy developed the severity of symptoms assessed according to the Katzenwadel scale. The Trail Making Test showed cognitive impairment after 6 months of therapy, compared to baseline values. There were no differences in MMSE and Hamilton depression

scales. In the PEBL platform in the Digit Span, SRT and CRT tests showed cognitive decline after 6 months of therapy compared to baseline values.

Glutamate and tryptophan metabolism products evaluation showed significant metabolic abnormalities in the course of cancer disease and its treatment. After 6 months of treatment, there was an increase in serum glutamate and an increase in peripheral blood mononuclear cells expression, a decrease in PMBC glutaminase levels and an increase in the activity of glutamate dehydrogenase in PMBC. Patients with pre-treatment neurological symptoms showed elevated serum glutamate levels compared to patients with no neurological symptoms. Glutamate dehydrogenase activity was lower in symptomatic patients compared to patients without neurological symptoms. The expression of kynurenine aminotransferase in peripheral blood mononuclear cells can be considered as a prognostic factor for the development of new neurological symptoms. The level of glutamate dehydrogenase was lowered in the group of patients with a humoral response before treatment with chemotherapy. This paper shows that the metabolism of neurotransmitters is an interesting area of research in the context of complications following chemotherapy and the course of cancer disease itself. Unfortunately, this requires further research to thoroughly understand the metabolism of the tumor cell and its effect on host cells metabolism. Due to the growing scale of the problem, there is a need for further exploration of cognitive disorders related to cancer, as well as the need to disseminate the knowledge on this subject among patients and medical staff.

9. BIBLIOGRAFIA

- [1] Adelsbereger H., Quastrhoff 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.
- [2] Ahles T.A., Root J.C., Ryan E.L.: Cancer - and cancer treatment-associated cognitive change: an update on the state of the science *J Clin Oncol.* 2012 Oct 20; 30(30): 3675-86.
- [3] Ahles T.A., Saykin A.J., Noll W.W. et al.: The relationship of APOE genotype to neuropsychological performance in long-term cancer survivors treated with standard dose chemotherapy. *Psychooncology* 2003; 12: 612–619.
- [4] Ahles T.A., Saykin A.J.: Candidate mechanisms for chemotherapy-induced cognitive changes. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 192–201.
- [5] Alegre E, López AS, González A. Tryptophan metabolites interfere with the Ehrlich reaction used for the measurement of kynurenine. *Analytical Biochemistry* 339 (2005) 188–189.
- [6] Aluise C.D., Sultana R., Tangpong J. et al.: Chemobrain (chemofog) as a potential side effect of doxorubicin administration: role of cytokine-induced, oxidative/nitrosative stress in cognitive dysfunction. In: Raffa RB, Tallarida RJ (eds.): *Chemo Fog: Cancer Chemotherapy-Related Cognitive Impairment*. Springer/Landes, New York 2010: 147–156.
- [7] Avella D., Pisu M.B., Roda E., Gravati M., et al.: Reorganization of the rat cerebellar cortex during postnatal development following cisplatin treatment. *Exp Neurol.* 2006; 201(1): 131-43.
- [8] Avramis V.I., Panosyan E.H.: Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of asparaginase formulations: the past, the present and recommendations for the future. *Clin Pharmacokinet.* 2005; 44: 367–393.
- [9] B.J.Van den Eynde, C. Uyttenhove, Colau D., Pilotte L., Stroobant V.: Tumoral immune resistance based on tryptophan degradation by indoleamine 2, 3-

dioxygenase Science Direct International Congress Series Volume 1304, 1 November 2007, 274-277.

[10] Baran H, Jellinger K, Deecke L. Kynurenine metabolism in Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 1999; 106 (2): 165-81.

[11] Baran H., Jellinger K., Deecke L.: Kynurenine Metabolism in Alzheimer's Disease. *J Neural Transm* 1999 106: 165-181.

[12] Bartlett D. L., Charland S., Torosian M. H.: Effect of glutamine on tumor and host growth, *Annals of Surgical Oncology*, vol. 2, no. 1, 1995, pp. 71–76.

[13] Beal M.F., Matson W.R., Swartz K.J., Gamache P.H., et al.: Kynurenine Pathway Measurements in Huntington's Disease Striatum: Evidence for Reduced Formation of Kynurenic Acid. *J Neurochem* 1990; 55: 1327-1339.

[14] Beal MF, Matson WR, Storey E, et al. Kynurenic acid concentrations are reduced in Huntington's disease cerebral cortex. *J Neurol Sci.* 1992; 108 (1): 80-7.

[15] Behan W.M., McDonald M., Darlington L.G., Stone T.W.: Oxidative stress as a mechanism for quinolinic acid-induced hippocampal damage: protection by melatonin and deprenyl. *Br J Pharmacol* 128, 1999, 1754–1760.

[16] Bender C.M., Sereika S.M., Brufsky A.M. et al.: Memory impairments with adjuvant anastrozole versus tamoxifen in women with early-stage breast cancer. *Menopause* 2007; 14: 995–998.

[17] Bergquist J., Ohlsson B., Tarkowski A.: Nuclear factor-kB is involved in the catecholaminergic suppression of immunocompetent cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000. 917, 281–289.

[18] Bergquist J., Silberring J.: Identification of catecholamines in the immune system by electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2000. 12, 683–688.

[19] Bergquist, J., Tarkowski A., Ewing A., Ekman R.: Catecholaminergic suppression of immunocompetent cells. *Immunol.* 1998. Today 19, 562– 567.

- [20] Bode B.P., Fuchs B.C., Hurley B.P., Conroy J.L. et al.: Molecular and functional analysis of glutamine uptake in human hepatoma and liver-derived cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2002. 283: G1062–G1073.
- [21] Bower J.E., Ganz P.A., Irwin M.R., Castellon S., et al.: Cytokine genetic variations and fatigue among patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31(13): 1656–61.
- [22] Burns B.V., Shotton J.C.: Vocal fold palsy following vinca alkaloid treatment. *J Laryngol Otol* 1998; 112: 485-487.
- [23] Bury M., Borkowska A.R., Daniluk B.: Impact of chemotherapy on memory, attention and executive functions depending on the stages of treatment and the level of depression in female patients with cancer. *Acta Neuropsychologica* 2014; 12: 417–427.
- [24] Butterfield D.A. Selected Discoveries from the Butterfield Laboratory of Oxidative Stress and Its Sequelae in Brain in Cognitive Disorders Exemplified by Alzheimer Disease and Chemotherapy Induced Cognitive Impairment. *Free Radic Biol Med.* 2014 Volume 74, September 2014, 157-174.
- [25] Capuron L., Ravaud A., Dantzer R.: Timing and specificity of the cognitive changes induced by interleukin-2 and interferon-alpha treatments in cancer patients. *Psychosom Med* 2001; 63: 376–386.
- [26] Capuron L., Schroecksnadel S., Féart C., Aubert A. et al.: Chronic low-grade inflammation in elderly persons is associated with altered tryptophan and tyrosine metabolism: role in neuropsychiatric symptoms. *Biol Psychiatry* 2011. 70: 175–82.
- [27] Cata J.P., Weng H.R., Chen J.H., Dougherty P.M.: Altered discharges of spinal wide dynamic range neurons and down-regulation of glutamate transporter expression in rats with paclitaxel-induced hyperalgesia. *Neuroscience* 2006, Volume 138, Issue 1, Pages 329-338.
- [28] Cercy S.P., Bronson B.: Putative mechanisms of cognitive dysfunction in chemotherapy-naïve diffuse large B-cell lymphoma: a case report and review of the literature. *Appl Neuropsychol* 2010; 17(3): 223-33.

- [29] Chen Y., Stankovic R., Cullen K.M., Meiningner V. et al.: The kynurenine pathway and inflammation in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotox Res* 2010, 18, 132–142.
- [30] Cheung Y.T., Lim S.R., Ho H.K. et al.: Cytokines as mediators of chemotherapy-associated cognitive changes: current evidence, limitations and directions for future research. 2013. *PLOS ONE* 8(12): e81234. doi:10.1371/journal.pone.0081234.
- [31] Chiarugi A., Meli E., Moroni F.: Similarities and differences in the neuronal death processes activated by 3OH-kynurenine and quinolinic acid. *J Neurochem* 2001 77: 1310–8.
- [32] Cibelli M., Fidalgo A.R., Terrando N., Ma D., et al.: Role of interleukin-1beta in postoperative cognitive dysfunction. *Ann Neurol* 2010 68: 360–368.
- [33] Cleeland C.S., Bennett G.J., Dantzer R., Dougherty P.M. et al.: Are the symptoms of cancer and cancer treatment due to a shared biologic mechanism? A cytokineimmunologic model of cancer symptoms. *Cancer* 2003 97: 2919–2925.
- [34] Cole J. T., Mitala C.M., Kundu S. et al.: Dietary branched chain amino acids ameliorate injury-induced cognitive impairment, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 107, no. 1, 2010, pp. 366–371.
- [35] Collins B., Mackenzie J., Stewart A. et al.: Cognitive effects of hormonal therapy in early stage breast cancer patients: a prospective study. *Psychooncology* 2009; 18: 811–821.
- [36] Colomer R., Llombart-Cussac A., Lluch A. et al.: Biweekly paclitaxel plus gemcitabine in advanced breast cancer: phase II trial and predictive value of HER2 extracellular domain. *Ann Oncol* 2004; 15: 201-206.
- [37] Cosentino M., Marino F., Bombelli R., et al.: Endogenous catecholamine synthesis, metabolism, storage and uptake in human neutrophils. *Life Sci.* 1999 64, 975–981.

- [38] Csillik A., Knyihar E., Okuno E., Krisztin-Peva B., et al.: Effect of 3 Nitropropionic Acid on Kynurenine Aminotransferase in the Rat Brain. *Exp Neurol* 2002; 177: 233-241.
- [39] Csillik A.E., Okuno E., Csillik B., Knyihár E., Vécsei L. *Cereb C.*: Expression of kynurenine aminotransferase in the subplate of the rat and its possible role in the regulation of programmed cell death. 2002 Nov; 12(11): 1193-201.
- [40] Danbolt N.C.: Glutamate uptake. *Prog. Neurobiol.*, 2001; 65: 1–105.
- [41] Dantzer R., O'Connor J.C., Lawson M.A., Kelley K.W.: Inflammation associated depression: From serotonin to kynurenine. *Psychoneuroendocrinology* 2011 36: 426–436.
- [42] Dantzer R.: Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann NY Acad Sci* 2001 933: 222–234.
- [43] Davies N.W.S., Guillemin G.J., Brew B.J.: Tryptophan, neurodegeneration and HIV-associated neurocognitive disorder. *Int J Tryptophan Res* 2010, 3, 1–20.
- [44] De Moor J.S., Mariotto A.B., Parry C., Alfano C.M. et al.: Cancer survivors in the United States: prevalence across the survivorship trajectory and implications for care. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013 Apr; 22(4): 561-70.
- [45] Didkowska J., Wojciechowska U.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2013 roku, *Biuletyn* 2015.
- [46] Didkowska J.: *Epidemiologia i profilaktyka Onkologia kliniczna tom I Gdańsk* 2014.
- [47] Du J., Li X.H., Li Y.J : Glutamate in peripheral organs: Biology and pharmacology. *European Journal of Pharmacology* Volume 784, 5 August 2016, 42-48.
- [48] Ekhart C., Rodenhuis S., Smits P.H.M., Beijnen J.H. et al.: 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.

- [49] Esteller M.: Epigenetics in cancer. *N Engl J Med.* 2008 Mar 13; 358(11): 1148-1159.
- [50] Fazeny B., Zifko U., Meryn S. et al.: Vinorelbine-induced neurotoxicity in patients with advanced breast cancer pretreated with paclitaxel—a phase II study. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 39: 150-156.
- [51] Fendt S.M., Verstreken P.J.: Neurons eat glutamate to stay alive. *Cell Biol.* 2017 Apr 3;216(4): 863-865.
- [52] Freire M. A. M.: Pathophysiology of neurodegeneration following traumatic brain injury- case reports., *West Indian Medical Journal* 2012, vol.61, no. 7.
- [53] Fu K.K., Kai E.F., Leung C.K.: Cisplatin neuropathy: a prospective clinical and electrophysiological study in Chinese patients with ovarian carcinoma. *J Clin Pharm Ther* 1995; 20: 167-172.
- [54] Galluzzi L., Kepp O., Vander Heiden M.G., Kroemer G.: Metabolic targets for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2013 Nov; 12(11): 829-846.
- [55] Ganz P.A., Bower J.E., Kwan L., Castellon S.A., et al.:(2013) Does tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) play a role in post-chemotherapy cerebral dysfunction? *Brain Behav Immun* 30 SupplS 99–108.
- [56] Gonzales V.M., Fuertes A.M., Alonso C., Perez J.M. Is Cisplatin-Induced Cell Death Always Produced by Apoptosis *Molecular Pharmacology* 2001,59 (4) 657–663.
- [57] Gorman D.J., Kefford R., Stuart-Harris R. Focal encephalopathy after cisplatin therapy. *Med J* 1989; 150(7): 399-401.
- [58] Gozzard P., Maddison P.: Which antibody and which cancer in which paraneoplastic syndromes? *Pract Neurol* 2010; 10: 260-270.
- [59] Graus F., Delattre J.Y., Antoine J.C., Dalmau J. et al.: Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 2004, 75, 1135-1140.

- [60] Gross M.I., Demo S.D., Dennison J.B., Chen L. et al.: Antitumor activity of the glutaminase inhibitor CB-839 in triple-negative breast cancer. *Mol Cancer Ther.* 2014 Apr; 13(4): 890-901.
- [61] Grosshans D.R., Meyers C.A., Allen P.K., Davenport S.D. et al.: Neurocognitive function in patients with small cell lung cancer: effect of prophylactic cranial irradiation. *Cancer.* 2008 Feb 1; 112(3): 589-95.
- [62] Guidetti P., Luthi-Carter R.E., Augood S.J., Schwarcz R.: Neostriatal and Cortical Quinolate Levels Are Increased in Early Grade Huntington's Disease. *Neurobiol Dis* 2004 17: 455-461.
- [63] Guillemin G.J. Quinolinic acid, the inescapable neurotoxin. *FEBS Journal* 2012; 279: 1356–1365.
- [64] Guillemin G.J., Brew B.J.: Implications of the kynurenine pathway and quinolinic acid in Alzheimer's disease. *Redox Rep* 2002, 7, 199–206.
- [65] Guillemin G.J., Kerr S.J., Brew B.J.: Involvement of quinolinic acid in AIDS dementia complex. *Neurotox Res* 2005, 7, 103–123.
- [66] Guillemin G.J., Kerr S.J., Smythe G.A., Smith D.G., et al.: Kynurenine pathway metabolism in human astrocytes: a paradox for neuronal protection. *J Neurochem* 2001; 78: 842–53.
- [67] Guillemin G.J., Kerr S.J., Smythe G.A., Smith D.G.: Kynurenine pathway metabolism in human astrocytes: a paradox for neuronal protection. *J Neurochem* 2001, 78, 1–13.
- [68] Guillemin G.J., Williams K.R., Smith D.G., Smythe G.A. et al.: Quinolinic acid in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Adv Exp Med Biol* 2003, 527, 167–176.
- [69] Gultekin S.H., Rosenfield M.R., Voltz R., Eichen J., Posner J.B., Dalmau J.: Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological findings and tumour association in 50 patients. *Brain* 2000; 7: 1481-1494.
- [70] Gunnarsdottir S., Elfarra A.A., Pharmacol J.: *Exp. 1999 Ther*, 290, 950–957.

- [71] Gutierrez E.G., Banks W.A., Kastin A. J.: Murine tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse. *J Neuroimmunol.* 1993, 47(2): 169-76.
- [72] H. A. Scott, F. M. Gebhardt, A. D. Mitrovic, R. J. Vandenberg, and P. R. Dodd, "Glutamate transporter variants reduce glutamate uptake in Alzheimer's disease," *Neurobiology of Aging*, 2011 vol. 32, no. 3, pp. 553.e1–553.e11.
- [73] Hartai Z., Juhasz A., Rimanoczy A., Janaky T., et al.: Decreased Serum and Red Blood Cell Kynurenic Acid Levels in Alzheimer's Disease. *Neurochem (2007) Int* 50: 308-313.
- [74] Hartai Z., Klivenyi P., Janaky T., Penke B., et al.: Kynurenine metabolism in plasma and in red blood cells in Parkinson's disease. *Journal Neurol. Sci.* 2005 b, 239, 31– 35.
- [75] Henson R.A., Urich H.: Remote effects of malignant disease: certain intracranial disorders, *Handbook of Clinical Neurology*. North-Holland Publishers. Amsterdam, 1979 s. 625-668.
- [76] Hermelink K., Küchenhoff H., Untch M. et al.: Two different sides of 'chemobrain': determinants and nondeterminants of self-perceived cognitive dysfunction in a prospective, randomized, multicenter study. *Psychooncology.* 2010; 19(12): 1321–1328.
- [77] Hermelink K., Untch M., Lux M.P. et al.: Cognitive function during neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: results of prospective, multicenter, longitudinal study. *Cancer* 2007; 109: 1905–1913.
- [78] Heyes M.P., Saito K., Crowley J.S., Davis L.E. et al.: Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease. *Brain* 115: 1249–73.
- [79] Himes R.H., Kersey R.N., Heller-Bettinger I., Samson F.E.: Action of the vinca alkaloids vincristine, vinblastine and desacetyl vinblastine amide on microtubules in vitro. *Cancer Res.*1976; 36(10): 3798-802.

- [80] Huber C., Batchelor J.R., Fuchs D., Hausen A., et al.: Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 1984 160: 310–316.
- [81] Hukovic N., Brown E.S.: Effects of prescriptions corticosteroids on mood and cognition. *Adv Psychosom Med.* 2003; 24: 161-167.
- [82] Hutchinson A.D., Hosking J.R., Kichenadasse G., Mattiske J.K. et al.: Objective and subjective cognitive impairment following chemotherapy for cancer: a systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2012 Nov; 38(7): 926-934.
- [83] Inagaki M., Yoshikawa E., Matsuoka Y. et al.: Smaller regional volumes of brain gray and white matter demonstrated in breast cancer survivors exposed to adjuvant chemotherapy. *Cancer* 2007; 109: 146–156.
- [84] Janelsins M.C., Mustian K.M., Palesh O.G., Mohile S.G., et al.: Differential expression of cytokines in breast cancer patients receiving different chemotherapies: implications for cognitive impairment research. *Support Care Cancer* 2012; 20(4): 831–9.
- [85] Jauch D., Urbanska E.M., Guidetti P., Bird E.D., et al.: Dysfunction of Brain Kynurenic Acid Metabolism in Huntington's Disease: Focus on Kynurenine Aminotransferases. *J Neurol Sci* 1995; 130: 39-47.
- [86] Jenkins L., Brea J., Smith N.J., Hudson B.D., Reilly G. et al.: Identification of novel species-selective agonists of the G-protein-coupled receptor GPR35 that promote recruitment of β -arrestin-2 and activate $G\alpha_{13}$. *Biochem. Journal* 2010 432(3): 451-459.
- [87] Joshi G., Sultana R., Tangpong J., Cole M.P., et al.: 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.
- [88] Kanard A., Frytak S., Jatoi A.: Cognitive dysfunction in patients with small-cell lung cancer: incidence, causes, and suggestions on management. *J Support Oncol.* 2004 Mar-Apr; 2(2): 127-32; discussion 133-5, 138-40.

- [89] Kang Y. J., Feng Y., Hatcher E. L., Glutathione stimulates a549 cell proliferation in glutamine-deficient culture: the effect of glutamate supplementation, *Journal of Cellular Physiology*, vol. 161, no. 3, 1994, pp. 589–596.
- [90] Kauvar K.M.: *Glutathione-S-Transferases Structure, Function and Clinical Implications*. Van Bladeren PJ (ed). Taylor & Francis 1996: London, pp. 187–198.
- [91] Kesler S., Janelins M., Koovakkattu D., Palesh O. et al.: (2013) Reduced hippocampal volume and verbal memory performance associated with interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in chemotherapy-treated breast cancer survivors. *Brain Behav Immun* 30 Suppl 109–16.
- [92] Knox W.E., Horowitz M.L., Friedell G.H.: The proportionality of glutaminase content to growth rate and morphology of rat neoplasms. *Cancer Res.* 1969. 29: 669–680.
- [93] Knyihar-Csillik E., Csillik B., Pakaski M., Krisztin-Peva B., Dobo E, Okuno E. et al.: Decreased expression of kynurenine aminotransferase-I (KAT-I) in the substantia nigra of mice after 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment. *Neuroscience* 2004; 126(4): 899–914.
- [94] Krajowy Rejestr Nowotworów: <http://onkologia.org.pl/nawotwory-zlosliwe-ogolem> (dane na 2017).
- [95] Kuklińska B.: Powikłania neurologiczne u chorych leczonych cytostatykami w raku płuca *Neurologia po Dyplomie* 2015 04
<https://podyplomie.pl/neurologia/18779,powiklania-neurologiczne-u-chorych-leczonych-cytostatykami-w-raku-pluca#>.
- [96] Kurz K., Fiegl M., Holzner B., Giesinger J. et al.: Fatigue in Patients with Lung Cancer Is Related with Accelerated Tryptophan Breakdown 2012.. *PLOS ONE* 7(5): e36956. doi:10.1371/journal.pone.0036956.
- [97] Levenson J.M. et al.: Evidence that DNA (cytosine-5) methyltransferase regulates synaptic plasticity in the hippocampus. *J Biol Chem.* 2006; 281(23): 15763–15773.

- [98] Liberski P.P., Kozubski W.; Biernat W. i wsp. *Neuroonkologia Kliniczna* 2011; 89-96.
- [99] Linder-Horowitz M., Knox W.E., Morris H.P.: Glutaminase activities and growth rates of rat hepatomas. *Cancer Res.* 1969 29: 1195–1199.
- [100] Litwak J., Mercugliano M., Chesselet M. F., Oltmans G. A.: Increased glutamic acid decarboxylase (GAD) mRNA and GAD activity in cerebellar Purkinje cells following lesion-induced increases in cell firing. *Neuroscience Letters.* 1990; 116 (1-2): 179–183.
- [101] Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.: “Protein measurement with the Folin phenol reagent,” *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 193, no. 1, 1951, pp. 265–275.
- [102] Lyon D. et al.: Potential epigenetic mechanism(s) associated with the persistence of psychoneurological symptoms in women receiving chemotherapy for breast cancer: A Hypothesis. *Biol Res Nurs.* 2014.Vol 16, Issue 2 :160-174.
- [103] M. P. Parsons, M. P. Vanni, C. L. Woodard, R. Kang, T. H. Murphy, and L. A. Raymond, “Real-time imaging of glutamate clearance reveals normal striatal uptake in Huntington disease mouse models,” *Nature Communications*, 2016 vol. 7, article 11251.
- [104] Maciejak P, Szyndler J, Turzyńska D, i wsp.: Time course of changes in the concentration of kynurenic acid in the brain of pentyle-netetrazol-kindled rats. *Brain Res Bull.* 2009; 78 (6): 299-305.
- [105] Marino F., Cosentino M., Bombelli R., Ferrari M., et al.: 1999. Endogenous catecholamine synthesis, metabolism, storage and uptake in human peripheral mononuclear cells. *Exp. Hematol.* 1999, 27, 489– 495.
- [106] McDonald B.C., Conroy S.K., Smith D.J., et al.: Frontal gray matter reduction after breast cancer chemotherapy and association with executive symptoms: a replication and extension study. *Brain Behav Immun.* 2013; 30: 117–125.

- [107] Melli G., Taiana M., Camozzi F., Triolo D., et al.: Alpha-lipoic acid prevents mitochondrial damage and neurotoxicity in experimental chemotherapy neuropathy. *Exp Neurol* 2008; 214: 276-284.
- [108] Mellor A. L., Munn D. H.: IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nature Reviews Immunology* 4, 762-774.
- [109] Meyers C.A., Abbruzzese J.L.: Cognitive functioning in cancer patients: effect of previous treatment *Neurol.* 1992; 42 (2): 434–436.
- [110] Meyers C.A., Albitar M., Estey E.: Cognitive impairment, fatigue and cytokine levels in patients with acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome. *Cancer* 2005; 104: 788–793.
- [111] Meyers C.A., Byrne K.S., Komaki R.: Cognitive deficits in patients with small cell lung cancer before and after chemotherapy. *Lung Cancer.* 1995 Jun; 12(3): 231-5.
- [112] Michalak S., Rybacka-Mossakowska J., Ambrosius W., Gazdulska J., Gołda-Gocka I., Kozubski W., Ramlau R.: The Markers of Glutamate Metabolism in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Neurological Complications in Lung Cancer Patients. *Disease Markers* Volume 2016, Article ID 2895972, 8.
- [113] Miller C.A., Campbell S.L., Sweatt J.D.: DNA methylation and histone acetylation work in concert to regulate memory formation and synaptic plasticity. *Neurobiol Learn Mem.* 2008; 89(4): 599–603.
- [114] Molfese D.L.: Advancing neuroscience through epigenetics: molecular mechanisms of learning and memory. *Dev Neuropsychol.* 2011;36(7): 810–827.
- [115] Moroni F., Cozzi A., Sili M., Mannaioni G.: Kynurenic acid: a metabolite with multiple actions and multiple targets in brain and periphery *Journal of Neural Transmission* February 2012, Volume 119, Issue 2, pp 133–139.
- [116] Mullen A.R., Wheaton W.W., Jin E.S., Chen P.H. et al.: Reductive carboxylation supports growth in tumour cells with defective mitochondria. *Nature*, 2011; 481: 385-388.

- [117] Nematollahi A., Sun G., Jayawickrama G.S., and Church W.B.: Kynurenine Aminotransferase Isozyme Inhibitors: A Review *Int J Mol Sci.* 2016 Jun; 17(6): 946.
- [118] Nieto F.R., Entrena J.M., Cendan C.M., Pozo E.D. et al.: Tetrodotoxin inhibits the development and expression of neuropathic pain induced by paclitaxel in mice. *Brain* 2008; 137: 520-531.
- [119] Odo J, Inoguchi M, Hirai A. Fluorometric determination of quinolinic acid using the catalytic activity of horseradish peroxidase. *J Health Sci* 2009, 55(2): 242 – 248.
- [120] Ogawa T, Matson WR, Beal MF, Myers RH, Bird ED, Milbury P, Saso S. Kynurenine pathway abnormalities in Parkinson's disease. *Neurology.* 1992; 42 (9): 1702-6.
- [121] Okumura S., Baba H., Kumada T., Nanmoku K., et al Cloning of a G-protein-coupled receptor that shows an activity to transform NIH3T3 cells and is expressed in gastric cancer cells *Cancer Sci.* 2004 95,2: 131-135.
- [122] O'Neill J.H., Murray N.M.F., Newsom-Davis J.: The Lambert Eaton myasthenic syndrome. A review of 50 cases. *Brain* 1998; 111: 577-596.
- [123] Ono M., Ogilvie J., Wilson J. et al.: A meta-analysis of cognitive impairment and decline associated with adjuvant chemotherapy in women with breast cancer. *Front Oncol.* 2015; 5: 59.
- [124] Ostermann K., Pels H., Kowoll A., Kuhnhen J. et al.: Neurologic complications after intrathecal liposomal cytarabine in combination with systemic polychemotherapy in primary CNS lymphoma. *J Neurooncol* 2011; 103(3): 635-640.
- [125] Ozols R.F., Ostchega Y., Myers C.E. et al.: High-dose cisplatin in hypertonic saline in refractory ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1985; 3 :246-250.
- [126] Pampliega O., Domercq M., Soria N.F, Villoslada P., et al.: Increased expression of cystine/glutamate antiporter in multiple sclerosis *Journal of Neuroinflammation* 2011, 8: 63.

- [127] Pan Y.A., Misgeld T., Lichtman J.W. et al.: Effects of neurotoxic and neuroprotective agents on peripheral nerve regeneration assayed by time-lapse imaging in vivo. *J Neurosci* 2003; 23: 11479-88.
- [128] Pascal J.P.: Management of cancer-related cognitive dysfunction-conceptualization challenges and implications for clinical research and practice. *US Oncol* 2010; 6: 9–12.
- [129] Pemberton L.A., Kerr S.J., Smythe G., Brew B.J.: Quinolinic acid production by macrophages stimulated with IFN-gamma, TNF-alpha, and IFN-alpha. *J Interferon Cytokine Res* 2005, 17, 589–595.
- [130] Perez-Gomez C., Campos-Sandoval J.A., Alonso F.J., Segura J.A. et al.: Co-expression of glutaminase K and L isoenzymes in human tumour cells. *Biochem. J.* 2005. 386: 535–542.
- [131] Pisu M.B., Guioli S., Conforti E., Bernocchi G.: Signal molecules and receptors in the differential development of cerebellum lobules: acute effects of cisplatin on nitric oxide and glutamate system in Purkinje cell population. *Dev. Brain Res.* 2003. 145, 229–240.
- [132] Pisu M.B., Roda E., Avella D., Bernocchi G.: Developmental plasticity of rat cerebellar cortex after cisplatin injury: inhibitory synapses and differentiating Purkinje neurons. *Neuroscience* 2004. 129, 655–664.
- [133] Pisu M.B., Roda E., Guioli S., Avella D., et al.: Proliferation and migration of granule cells in the developing rat cerebellum: cisplatin effects. *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.* 2005; 287, 1226–1235.
- [134] Plaitakis A. Berl S.: Oral glutamate loading in disorders with spinocerebellar and extrapyramidal involvement: effect on plasma glutamate, aspartate and taurine, *Journal of Neural Transmission* 1983. Supplementa, vol. 19, pp. 65–74.
- [135] Plaitakis A., Berl S., Yahr M. D.: Neurological disorders associated with deficiency of glutamate dehydrogenase, *Annals of Neurology* 1984, vol. 15, no. 2, pp. 144–153.

- [136] Platten M., Ho P. P., Steinman L.: Anti-inflammatory strategies for the treatment of multiple sclerosis—tryptophan catabolites may hold the key. *Drug Discovery Today Therapeutic Strategies* 2006 3(3):401-408.
- [137] Podratz J.L., Schlattau A.W., Chen B.K., et al.: Platinum adduct formation in mitochondrial DNA may underlie the phenomenon of coasting. *J Peripher Nerv Syst* 2007; 12: 69.
- [138] Pomykała K.L., Ganz P.A., Bower J.E., Kwan L., et al.: 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.
- [139] Posner J.B.: Paraneoplastic syndromes Neurologic complications of cancer Contemporary Neurology Series. Oxford University Press, New York 1995, 353-385.
- [140] Potocnik U., Ravnik-Glavac M., Golouh R., Glavac D.: Naturally occurring mutations and functional polymorphisms in multidrug resistance 1 gene: correlation with microsatellite instability and lymphoid infiltration in colorectal cancers. *J Med Genet* 2002 39: 340-346.
- [141] Poutiainen E., Hokkanen L., Niemi M.L., Farkkila M.: Reversible cognitive decline during high-dose alpha-interferon treatment. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1994; 47(4): 901.
- [142] Raffa R.B., Duong P.V., Finney J. et al.: Is 'chemo-fog'/'chemo-brain' caused by cancer chemotherapy *J Clin Pharm Ther* 2006; 31: 129–138.
- [143] Raffa R.B.: A proposed mechanism for chemotherapy-related cognitive impairment ('chemo-fog'). *J Clin Pharm Ther* 2011; 36: 257–259.
- [144] Rajda C., Bencsik K., La'szlo' Ve'csei L, Bergquist J.: Catecholamine levels in peripheral blood lymphocytes from multiple sclerosis patients Department *Journal of Neuroimmunology* 2002 124; 93–100.

- [145] Ren Y., Tang A., Zhou Q., Xiang Z. : Clinical Significance of Simultaneous Determination of Serum Tryptophan and Tyrosine in Patients With Lung Cancer *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2011 25: 246–250.
- [146] Rios C., Santamaria A.: Quinolinic acid is a potent lipid peroxidant in rat brain homogenates. *Neurochem Res* 16, 1991, 1139–1143.
- [147] Robinson M.M., McBryant S.J., Tsukamoto T., Rojas C. et al.: Novel mechanism of inhibition of rat kidney-type glutaminase by bis-2-(5-phenylacetamido-1,2,4-thiadiazol-2-yl) ethyl sulfide (BPTES). *Biochem J.* 2007 Sep 15; 406(3): 407-414.
- [148] S. S. Leal and C. M. Gomes, “Calcium dysregulation links ALS defective proteins and motor neuron selective vulnerability,” *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2015 vol. 9, article 225.
- [149] Saito B., Nakamaki T., Nakashima H., Usui T. et al.: 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.
- [150] Schaumburg H.: Vinca Alkaloids. In: *Experimental and Clinical Neurotoxicology*. 2nd ed. Schaumburg H, Spencer P (eds.). Oxford University Press, New York 2000: 1232-5.
- [151] Schell M.J., McHaney V.A., Green A.A., Kun L.E. et al.: Hearing loss in children and young adults receiving cisplatin with or without prior cranial irradiation. *J Clin Oncol* 1989; 7(6): 754-760.
- [152] Schwarcz R., Guidetti P., Sathyaikumar K.V., Muchowski P.J.: Of mice, rats and men: revisiting the quinolinic acid hypothesis of Huntington’s disease. *Prog Neurobiol* 2010 90, 230–245.
- [153] Seltzer M.J., Bennett B.D., Joshi A.D., Gao P. et al.: Inhibition of glutaminase preferentially slows growth of glioma cells with mutant IDH1. *Cancer Res.* 2010 Nov 15; 70(22): 8981-8987.

- [154] Sherwin B.B.: Estrogen and cognitive functioning in women. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217: 17–22.
- [155] Shimmura C., Suzuki K., Iwata Y. et al.: Enzymes in the glutamate-glutamine cycle in the anterior cingulate cortex in postmortem brain of subjects with autism, *Molecular Autism* 2013, vol. 4, article no. 6; 1-7.
- [156] Siau C., Bennet G.J.: Dysregulation of cellular calcium homeostasis in chemotherapy-evoked painful peripheral neuropathy. *Anesth Analg* 2006; 102: 1485-1490.
- [157] Silverman D.H., Dy C.J., Castellon S.A. et al.: Altered frontocortical, cerebellar, and basal ganglia activity in adjuvant-treated breast cancer survivors 5–10 years after chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 103: 303–311.
- [158] Simó M., Root J.C., Vaquero L.: Ripollés Pet al Cognitive and brain structural changes in a lung cancer population. *J Thorac Oncol.* 2015 Jan; 10(1): 38-45.
- [159] Singer S., Grommes C., Reiner A.S., Rosenblum M.K. et al.: Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome with Cancer. *Oncologist* 2015 Jun 1. pii: the oncologist 2014-0149.
- [160] 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.
- [161] Stone T. W., Darlington L. G.: Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development *Nature Reviews Drug Discovery* 2002 1, 609-620.
- [162] Stoy N., Mackay G.M., Forrest C.M., Christofides J., et al.: Tryptophan metabolism and oxidative stress in patients with Huntington’s disease. *J Neurochem* 2005, 93, 611–623.
- [163] Stubblefield M.D., Vahdat L. T., Balmaceda C. M., Troxel A. B., Hesdorffer C. S., Gooch C. L.: Glutamine as a neuroprotective agent in high-dose paclitaxel-induced peripheral neuropathy: a clinical and electrophysiologic study, *Clinical Oncology*, vol. 17, no. 4, 2005, pp. 271–276.

- [164] Stuckey D. J., Anthony D. C., Lowe J. P., Miller J., et al.: Detection of the inhibitory neurotransmitter GABA in macrophages by magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Leukocyte Biology* 2005 vol. 78 no. 2, 393-400.
- [165] Sukin D., Skedros D. G., Beales M., Stratton S. E. et al.: Temporal sequence of motor disturbances and increased cerebellar glutamic acid decarboxylase activity following 3-acetylpyridine lesions in adult rats. *Brain Research*. 1987; 426(1): 82–92.
- [166] Sultan F.A., Day J.J.: Epigenetic mechanisms in memory and synaptic function. *Epigenomics*. 2011; 3(2): 157–181.
- [167] Ta L.E., Espeset L., Podratz J. et al.: Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding. *Neurotoxicology* 2006; 27: 992-1002.
- [168] Taillibert S.: Is systemic anti-cancer therapy neurotoxic? Does ‘chemobrain’ exist? And should we rename it? In: Raffa RB, Tallarida RJ (eds.): *Chemo Fog: Cancer Chemotherapy-Related Cognitive Impairment*. Springer/Landes, New York 2010: 86–95.
- [169] Tanaka K. Pathogenesis of paraneoplastic neurological syndromes. *Brain Nerve*. 2010 Apr;62(4): 309-318 – abstract.
- [170] Tangpong J., Cole M.P., Sultana R., Joshi G. et al.: Adriamycin-induced, TNF- α -mediated central nervous system toxicity. *Neurobiol Dis*. 2006; 23: 127–139.
- [171] Tannock I.F., Ahles T.A., Ganz P.A. et al.: Cognitive impairment associated with chemotherapy for cancer: report of a workshop. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2233–2239.
- [172] Tavares R.G., Tasca C.I., Santos C.E., Wajner M., Souza D.O., Dutra-Filho C.S.: Quinolinic acid inhibits glutamate uptake into synaptic vesicles from rat brain. *Neuroreport* 11, 2000, 249–253.
- [173] Taylor M. W., Feng G. S.: Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism. *FASEB Journal* (1991) 5, 2516-2522.

- [174] Uyttenhove C., Pilotte L., Theate I., Stroobant V., et al.: Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2, 3-dioxygenase. *Nat Med* 2003; 9: 1269–1274.
- [175] Vamos E, Pardutz A, Klivenyi P, et al The role of kynurenines in disorders of the central nervous system: Possibilities for neuroprotection. *J Neurol Sci.* 2009; 283 (1-2): 21-7.
- [176] Wang J., Simonavicius N., Wu X., Swaminath G., et al.: Kynurenic acid as a ligand for orphan G protein-coupled receptor GPR35. *J Biol Chem.* 2006 Aug 4; 281(31): 22021-22028.
- [177] Wang W. S., Lin J. K., Lin T. C. et al.: Oral glutamine is effective for preventing oxaliplatin-induced neuropathy in colorectal cancer patients, *Oncologist*, vol. 12, no. 3, 2007, pp. 312–319.
- [178] Wang X.M., Walitt B., Saligan L., FY Tiwari A. et al.: Chemobrain: A critical review and causal hypothesis of link between cytokines and epigenetic reprogramming associated with chemotherapy. *Cytokine* 2015 Vol 72, Issue 1, 86-96.
- [179] Warburg O.: “On the origin of cancer cells,” *Science* 1956., vol. 123, no. 3191, pp. 309–314.
- [180] Wefel J.S. et al.: International cognition and cancer task force recommendations to harmonise studies of cognitive function in patients with cancer. *Lancet Oncol.* 2011; 12(7): 703–708.
- [181] Weng H.R., Aravindan N., Cata J.P., Chen J.H. et al.: Spinal glial glutamate transporters downregulate in rats with taxol-induced hyperalgesia. *Neurosci Lett.* 2005 Sep 23;386(1): 18-22.
- [182] Werner E.R., Werner-Felmayer G., Fuchs D., Hausen A. et al.: Parallel induction of tetrahydrobiopterin biosynthesis and indoleamine 2, 3-dioxygenase activity in human cells and cell lines by interferon-gamma. *Biochem J* 1989 262: 861–866.

- [183] Widner B., Laich A., Sperner-Unterweger B., Ledochowski M. et al.: Neopterin production, tryptophan degradation, and mental depression-what is the link? *Brain Behav Immun* 2002 16: 590–595.
- [184] Wilson C.J., Finch C.E., Cohen H.J. Cytokines and cognition—the case for a head-to-toe inflammatory paradigm. *J Am Geriatr Soc* 2002 50: 2041–2056.
- [185] Windebank A.J., Grisold W.: Chemotherapy-induced neuropathy. *J Periph Nerv Sys* 2008; 13: 27–46.
- [186] Winkelman M.D., Hines J.D.: Cerebellar degeneration caused by high -dose cytosine arabinoside: a clinicopathological study. *Ann Neurol* 1983; 14(5): 520-527.
- [187] Wise D. R., Thompson C. B.: "Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer" *Trends in Biochemical Sciences* 2010, vol 35 pp, 2010, 427-433.
- [188] Wise D.R., Ward P.S., Shay J.E., Cross J.R., et al.: Hypo-xia promotes isocitrate dehydrogenase-dependent carboxylation of α -ketoglutarate to citrate to support cell growth and viability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 19611-19616.
- [189] Wong J, Ray WJ, Kornilova AY. Development of a microplate fluorescence assay for kynurenine aminotransferase. *Analytical Biochemistry* 409 (2011) 183–188.
- [190] Xiao W., Boroujerdi A., Bennett G.J., Luo Z.D.: 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.
- [191] Yamaguchi T., Hayashi K., Murakami H., Ota K. et al.: Glutamate dehydrogenase deficiency in spinocerebellar degenerations, *Neurochemical Research*, 1982. vol. 7, no. 5, pp. 627–636.
- [192] Yang H., Ma Y., Liu Z., Wang Z. et al.: Benefit from ifofosfamide treatment in small-cell lung cancer A meta-nanalysis. *Mol Clin Oncol* 2015; 3 (2): 420-424.
- [193] Yeshurun M., Marsot Dupuch K.: Acute cerebellar syndrome following intermediate-dose cytarabin. *Br J Haematol* 2001; 113(4): 846.

- [194] Yu K., Hu S., Huang J., Mei L. H.: "A high-throughput colorimetric assay to measure the activity of glutamate decarboxylase," *Enzyme and Microbial Technology* 2011, vol. 49, no. 3, pp. 272–276.
- [195] Yuneva M., Zamboni N., Oefner P., Sachidanandam R. et al.: Deficiency in glutamine but not glucose induces MYC-dependent apoptosis in human cells. *J Cell Biol.* 2007 Jul 2; 178(1): 93–105.
- [196] Zabłocka A., Janusz M.: Struktura i funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego *Postepy Hig Med Dosw.* 2007; 61: 454-460.
- [197] Zhao Y., Butler E.B., Tan M.: Targeting cellular metabolism to improve cancer therapeutics. *Cell Death Dis.* 2013 Mar 7; 4(): e532. doi: 10.1038/cddis.2013.60.
- [198] Zheng F.Y, Xiao W.-H., Bennett G. J. The response of spinal microglia to chemotherapy-evoked painful peripheral neuropathies is distinct from that evoked by traumatic nerve injuries *Neuroscience.* 2011 March 10; 176: 447–454.

10. ZAŁĄCZNIKI

ZAŁĄCZNIK 1.

Protokół badania neurologicznego:

GCS:

Kontakt logiczny:

Objawy oponowe:

Sztywność 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

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY

Polska wersja: z 30.03.2012 roku

Temat badania:

„Ocena klinicznie jawnych i subklinicznych objawów ze strony układu nerwowego u chorych poddawanych chemioterapii w kontekście aktywacji układu immunologicznego”.

Imię i nazwisko pacjenta:.....

Data urodzenia:.....

1. Potwierdzam, że zapoznałam/łem się z treścią informacji dla pacjenta (wersja z dnia 06.12.2011), dotyczącego powyższego badania i miałam możliwość zadania pytań.

.....

2. Przyjmuję do wiadomości, że moje uczestnictwo jest dobrowolne i że mogę się wycofać z badania w dowolnym momencie, bez podania powodu, co nie wpłynie na opiekę medyczną nade mną ani moje prawa.

.....

3. Przyjmuję do wiadomości, że do moich danych dotyczących badania będą mieli wgląd jedynie lekarze uczestniczący w nim. Udzielam tym osobom pozwolenia na wgląd do mojej dokumentacji medycznej.

.....

4. Wyrażam zgodę na udział w powyższym badaniu.

.....

5. Wyrażam zgodę na pobranie 5 ml krwi pełnej i 5 ml krwi na heparynę przed rozpoczęciem chemioterapii i po 6 miesiącach

.....
Imię i nazwisko pacjenta Data Podpis

Załącznik 3

INFORMACJA DLA PACJENTA

Polska wersja: z 30.03.2012 roku

Temat badania:

„Ocena klinicznie jawnych i subklinicznych objawów ze strony układu nerwowego u chorych poddawanych chemioterapii w kontekście aktywacji układu immunologicznego”.

Wprowadzenie:

Zapraszamy Panią/Pana do uczestnictwa w badaniu naukowym. Zanim zdecyduje się Pan/Pani na udział w tym badaniu, chcielibyśmy wyjaśnić, jakie są powody jego przeprowadzenia i na czym będzie ono polegać. Wszelkie wątpliwości wyjaśni Panu/Pani lekarz prowadzący.

Chorobom nowotworowym towarzyszą niekiedy objawy neurologiczne. Dotyczyć one mogą zarówno obwodowego, jak i ośrodkowego układu nerwowego, ale także i mięśni szkieletowych, a ich nasilenie może być początkowo nieznaczne. Niekiedy leki stosowane w chemioterapii mogą wywoływać objawy ze strony układu nerwowego. Dlatego przeprowadzenie szczegółowego badania neurologicznego pozwala na wczesne wykrycie tego rodzaju zaburzeń. Ich przyczyną może być powstawanie przeciwciał, które pierwotnie skierowane są przeciw komórkom nowotworowym, ale mogą jednocześnie prowadzić do rozwoju powikłań neurologicznych. Określenie tego ryzyka jest ważne ze względu na dalsze postępowanie i leczenie. Badanie neurologiczne oraz badanie krwi pozwala stwierdzić obecność tzw. przeciwciał onkoneuronalnych, nieprawidłowości funkcjonowania komórek układu odpornościowego (limfocytów) oraz na rozpoznanie wspomnianych zespołów neurologicznych.

Cel badania:

Głównym celem niniejszego badania jest wczesne rozpoznawanie objawów neurologicznych towarzyszących nowotworom lub chemioterapii oraz określenie ich znaczenia dla rokowania dalszego przebiegu choroby.

Dlaczego wybrano Panią/Pana do badania?

Rozpoznano u Pana/Pani chorobę nowotworową oraz zakwalifikowano do leczenia chemioterapeutycznego, a zatem może być Pani/Pan włączona/y do badania.

Zasady badania:

Badanie będzie oparte na rutynowych badaniach przeprowadzanych w szpitalu, badaniu neurologicznym, ocenie sprawności ruchowej i pamięci przy pomocy specjalistycznego oprogramowania komputerowego oraz badaniach krwi. Zostanie od Pana/i pobrana krew w objętości 5 ml na skrzep i 5 ml na heparynę.

Ochrona danych osobowych:

Dane osobowe w czasie badania będą traktowane zgodnie z obowiązującą na terenie Rzeczypospolitej Polskiej Ustawą o Ochronie Danych Osobowych (t.j. Dz.U. z 2016 r. poz. 922) oraz Rozporządzeniem 8 Ustawy o Ochronie Danych Osobowych w Unii Europejskiej z 1998 roku.

Kontakt z lekarzem prowadzącym:

W przypadku jakichkolwiek dolegliwości lub wątpliwości proszę skontaktować się z następującym lekarzem:

Imię i nazwisko:.....

Numer telefonu:.....

Załącznik 4

Skala Katzenwadela

PUNKTACJA	FUNKCJE RUCHOWE	WYWIAD – DOLEGLIWOŚCI BÓLOWE	CZUCIE	KOORDYNACJA 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	Oslabione czucie dyskryminacyjne w obrębie dłoni lub stopy	Zaburzona próba palec–nos i pięta–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

Załącznik 5

Zmodyfikowana skala Rankin

Wilson, L. J. T., Harendran, A., Grant, M., Baird, T., Schultz, U. G. R., Muir, K. W., Bone I. Improving the assessment of outcomes in stroke: Use of a structured interview to assign grades on the Modified Rankin Scale. Stroke 2002, 33.

0. Brak objawów

1. Brak znaczącej niepełnosprawności pomimo objawów. Pacjent wykonuje wszystkie, typowe dla siebie, aktywności i obowiązki.

2. Niepełnosprawność w niewielkim stopniu. Pacjent nie jest w stanie wykonywać wszystkich typowych dla siebie aktywności, jednak może zająć się swoimi sprawami bez pomocy drugiej osoby.

3. Niepełnosprawność umiarkowana. Pacjent wymaga pomocy, jednak jest w stanie chodzić samodzielnie.

4. Niepełnosprawność umiarkowanie ciężka. Pacjent nie jest w stanie chodzić samodzielnie i nie jest w stanie zajmować się sobą.

5. Niepełnosprawność ciężka. Pacjent leżący, nie trzyma moczu i kału, wymaga ciągłej opieki i nadzoru pielęgniarskiego.

6. Zgon

Załącznik 6

Skala Barthel

(Mahoney F.I., Barthel D. Functional evaluation: the Barthel Index. Maryland State Medical Journal 1965, 14, 56-61.)

1. Samodzielne spożywanie posiłków:

0 = nie jest w stanie samodzielnie zjeść posiłku

5 = potrzebuje pomocy w przygotowaniu posiłku

10 = pacjent jest samodzielny

2. Przemieszczanie się (np. z łóżka na krzesło i z powrotem)

0 = nie daje rady, nie zachowuje równowagi przy próbie siadania

5 = wymaga większej pomocy (w jedną, dwie osoby), ale może siedzieć

10 = mniejsza pomoc (fizyczna lub słowna)

15 = jest samodzielny

3. Utrzymanie higieny osobistej

0 = przy wykonywaniu czynności osobistych potrzebuje pomocy

5 = niezależny np. przy myciu twarzy, zębów, czesaniu się goleniu (z zapewnionymi pomocami)

4. Korzystanie z toalety

0 = zależny

5 = częściowo potrzebuje pomocy

10 = niezależny w dotarciu do łazienki oraz w zdejmowaniu, zakładaniu ubrania

5. Mycie, kąpiel całego ciała

0 = zależny

5 = niezależny

6. Poruszanie się (po powierzchniach płaskich)

0 = nie porusza się samodzielnie lub zależny na wózku

5 = niezależny na wózku, lub spacerujący do 50 m za pomocą sprzętu wspomagającego

10 = chodzi z pomocą jednej osoby do 50 m

15 = niezależny, również z użyciem sprzętu wspomagającego, na odległość > powyżej 50 m

7. Schodzenie i wchodzenie po schodach

0 = nie jest w stanie

5 = potrzebuje asekuracji i pomocy fizycznej

10 = jest samodzielny

8. Rozbieranie się i ubieranie

0 = jest całkowicie niesamodzielny

5 = wymaga częściowej pomocy

10 = niezależny także w zapinaniu guzików, zapinaniu zamka, wiązaniu sznurowadeł itp.

9. Kontrolowanie oddawania stolca / zwieracza odbytu

0 = występuje konieczność sprowokowania wydalania lub nie panuje nad oddawaniem stolca

5 = sporadyczne oddawanie stolca

10 = kontrola oddawania stolca

10. Kontrolowanie zwieraczy pęcherza moczowego

0 = jest cewnikowany lub nie panuje nad oddawaniem moczu

5 = oddaje mocz sporadyczne bezwiedne

10 = oddawanie moczu zależne od woli pacjenta

W zależności od sumy zdobytych punktów stan pacjenta określamy następująco:

- I. 86–100 – stan chorego „lekki”**
- II. 21–85 – stan chorego „średnio ciężki”**
- III. 0–20 – stan chorego „bardzo ciężki”**

Załącznik 7

Skala depresji Hamiltona

1. Nastroj depresyjny

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Ujawniany przez pacjenta dopiero po zapytaniu
- 2 = Ujawnia depresję spontanicznie
- 3 = Stwierdza się niewerbalne przejawy depresji (wyraz twarzy; głos, płacz)
- 4 = Depresja stanowi jedyny typ nastroju ujawniany drogą werbalną i niewerbalną

2. Poczucie winy

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Poczucie sprawienia zawodu innym, wymówki wobec siebie
- 2 = Rozważania o winie, błędach popełnionych w przeszłości
- 3 = Przekonanie, że obecna choroba jest karą, urojenie winy
- 4 = Omamy słuchowe o treści oskarżającej pacjenta, denuncjującej

3. Zniechęcenie do życia, myśli, tendencje samobójcze

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Poczucie, że nie warto żyć
- 2 = Pragnienie (życzenie) śmierci, np. drogą naturalną
- 3 = Myśli o samobójstwie, zamiary
- 4 = Próby samobójcze (brać pod uwagę jedynie poważne)

4. Zaburzenia zasypiania

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Sporadyczne trudności z zasypianiem (oczekiwanie na sen ponad 0,5 godziny)
- 2 = Częste, znaczne trudności z zasypianiem

5. Sen płytki, przerywany

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Płytki, niespokojny sen
- 2 = Budzenie się w nocy; opuszczanie łóżka (nie oceniać budzenia się w związku z potrzebami fizjologicznymi)

6. Wczesne budzenie się

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Budzenie się nad ranem i ponowne zasypianie

2 = Budzenie się zbyt wczesne z niemożnością ponownego uśnięcia

7. Aktywność złożona, praca

0 = Nie stwierdza się zaburzeń aktywności

1 = Poczucie obniżonej wydolności, niechęć do podejmowania aktywności złożonej

2 = Utrata zainteresowań i chęci do działania, wykonywania pracy; hobby

3 = Zmniejszenie liczby godzin przeznaczonych na aktywność złożoną (praca, rozrywki, hobby); w szpitalu: gdy pacjent zajmuje się aktywnością złożoną poniżej 3 godzin dziennie

4 = Niezdolność do pracy, przerwa w pracy, w oddziale brak przejawów spontanicznej aktywności

8. Spowolnienie, zahamowanie

(myślenia, mowy, upośledzenie koncentracji uwagi, obniżenie aktywności ruchowej w czasie badania)

0 = Nie stwierdza się

1 = Nieznaczące

2 = Wyraźne spowolnienie

3 = Na skutek zahamowania – trudności w przeprowadzeniu badania

4 = Osłupienie

9. Niepokój, podniecenie ruchowe

0 = Nie stwierdza się

1 = Zaznaczony niepokój manipulacyjny

2 = Wyraźny niepokój manipulacyjny; przebieranie palcami, bawienie się włosami

3 = Niepokój ruchowy; niemożność przebywania w jednym miejscu

4 = Podniecenie ruchowe, wykręcanie rąk, obgryzanie paznokci, wrywanie włosów, przygryzanie warg

10. Lęk – objawy depresyjne

0 = Nie stwierdza się

1 = Subiektywne: napięcie, rozdrażnienie

2 = Martwienie się drobiazgami

3 = Cechy lęku w wyrazie twarzy i w wypowiedziach

4 = Lęk i obawy ujawniane spontanicznie przez pacjenta

11. Lęk – objawy somatyczne

(oceniać: suchość w jamie ustnej, biegunki, wzdęcia, palpacje, objawy hiperwentylacji, pocenie się, częste oddawanie moczu, zawroty głowy, nieostre widzenie)

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Łagodnie (nieznacznie) nasilone
- 2 = Umiarkowanie nasilone
- 3 = Znaczne (ciężkie) nasilenie
- 4 = Nasilenie bardzo duże, dominuje

12. Przewód pokarmowy, brak apetytu, zaparcia

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Brak apetytu, ale pokarmy spożywa bez pomocy personelu
- 2 = Jada mało, pod namową lub przy pomocy personelu, stałe zaparcia

13. Objawy somatyczne ogólne

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Uczucie ciężaru w głowie, karku, barkach, wzmożona męczliwość, utrata energii
- 2 = Znaczne nasilenie dolegliwości wymienionych w punkcie 1

14. Utrata libido, popędu seksualnego, zaburzenia miesiączkowania

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Nasilenie łagodne
- 2 = Nasilenie znaczne
- x = Nie dotyczy

15. Hipochondria

- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Zaabsorbowanie problemem własnego ciała
- 2 = Nadmierna dbałość o zdrowie, obawy przed chorobą
- 3 = Narzekanie i skargi na złe zdrowie, żądanie pomocy, leczenia
- 4 = Urojenia hipochondryczne

16. Ubytek masy ciała

- A = Ocena danych z wywiadu (przeszłość)
- 0 = Nie stwierdza się
- 1 = Prawdopodobnie wystąpiła utrata masy w związku z obecną chorobą

2 = Potwierdzona utrata masy ciała

B = Ocena stanu aktualnego (oceniać okres 1 tygodnia)

0 = Poniżej 0,5 kg

1 = Od 0,5 do 1 kg (na tydzień)

2 = Powyżej 1 kg (na tydzień)

17. Krytycyzm (wgląd)

0 = Poczucie obecności depresji jako choroby (krytycyzm zachowany)

1 = Krytycyzm częściowo zachowany - poczucie obecności choroby; ale jest ona następstwem np. wadliwej diety; infekcji, przemęczenia itp.

2 = Brak krytycyzmu

18. Wahania dobowe samopoczucia

A = Obecność wahań dobowych

0 = Nie stwierdza się

1 = Gorzej rano

2 = Gorzej wieczorem

B = Nasilenie wahań dobowych

0 = Nie stwierdza się

1 = Łagodne

2 = Wyraźne

19. Depersonalizacja, derealizacja

0 = Nie stwierdza się

1 = Łagodnie wyrażone

2 = Umiarkowane nasilenie

3 = Nasilone znacznie

4 = Skrajnie, ciężkie

20. Urojenia

0 = Nie stwierdza się

1 = Podejrzliwość, ksobność

2 = Podejrzliwość, ksobność

3 = Urojenia ksobne, prześladowcze

4 = Omamy słuchowe o treści prześladowczej

21. Natręctwa, fobie

0 = Nie stwierdza się

1 = Umiarkowanie wyrażone

2 = Znacznie nasilone

TEST ŁĄCZENIA PUNKTÓW
część A

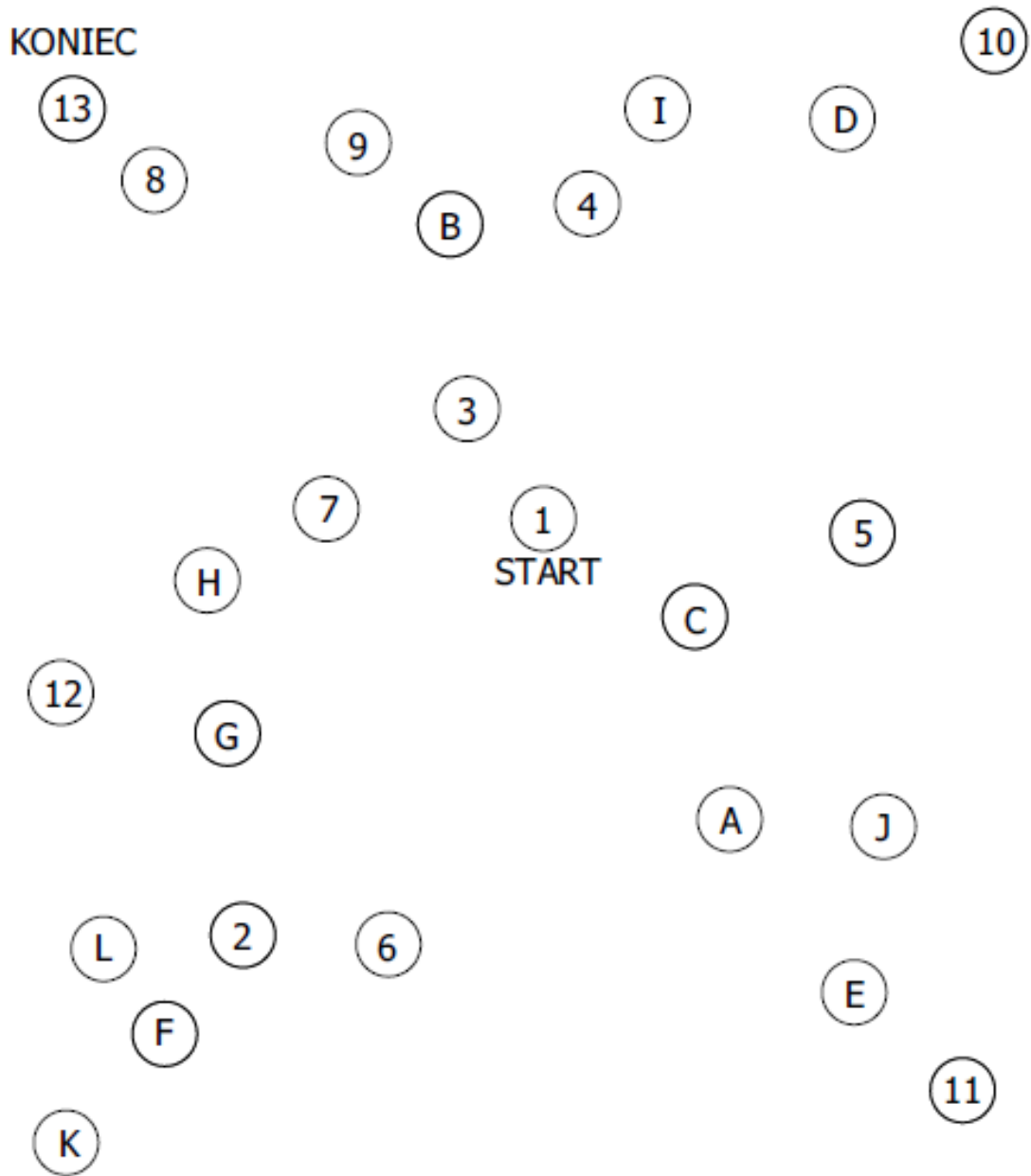
Nazwisko.....

Data.....



Wynik.....

TEST ŁĄCZENIA PUNKTÓW
część B



Wynik.....

Skala Mini Mental

1. Orientacja w czasie i miejscu
Orientacja w czasie
 Jaki jest teraz rok?
 Jaka jest teraz pora roku?
 Jaki jest teraz miesiąc?
 Jaka jest dzisiejsza data (którego dzisiaj mamy)?
 Jaki jest dzisiaj dzień tygodnia?
Orientacja w miejscu
 W jakim kraju się znajdujemy?
 W jakim województwie się znajdujemy?
 W jakim mieście się teraz znajdujemy?
 Jak nazywa się miejsce, w którym się teraz znajdujemy?
 Na którym piętrze się obecnie znajdujemy?

2. Zapamiętywanie
 Wymienię teraz trzy słowa. Kiedy skończę, proszę, aby je Pan/Pani powtórzył(a). *Poniższe słowa wypowiadamy wolno i wyraźnie (jedno słowo na sekundę).*
 byk mur las
 Proszę je zapamiętać, bo zapytam o nie powtórnie za kilka minut.

3. Uwaga i liczenie
 Proszę odejmować kolejno od 100 po 7, aż powiem stop.

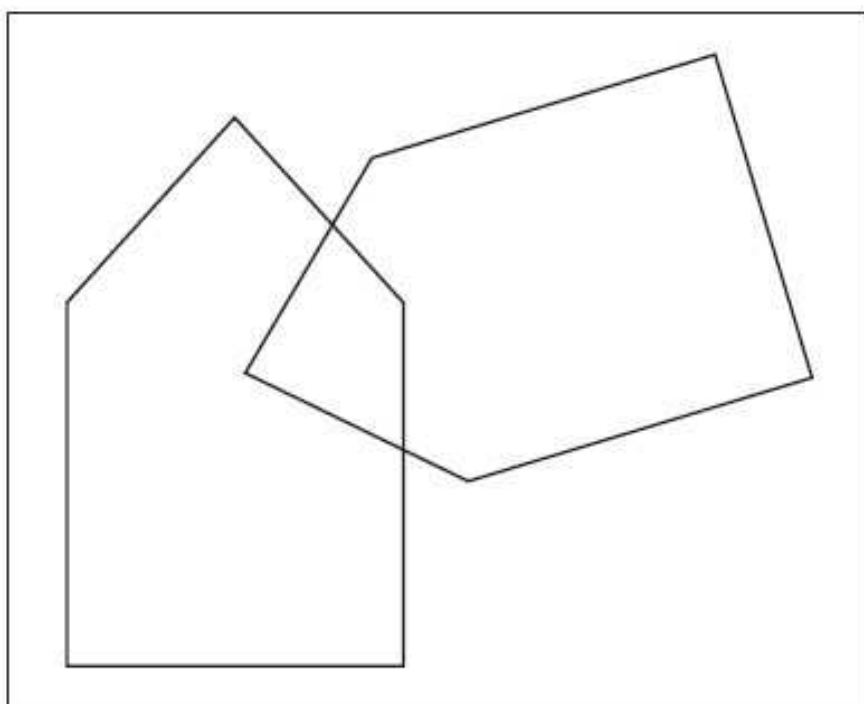
4. Przypomnienie
 Proszę wymienić trzy słowa, które Pan/Pani miał(a) wcześniej zapamiętać.
 byk mur las

5. Funkcje językowe
Nazywanie
Prosimy o nazwanie dwóch przedmiotów, które kolejno pokazujemy badanemu (ołówek, zegarek).
 Jak nazywa się ten przedmiot?
 Jak nazywa się ten przedmiot?
Powtarzanie
 Proszę dosłownie powtórzyć następujące zdanie:
 Ani tak, ani nie, ani ale.
Wykonywanie poleceń
 a) Proszę uważnie posłuchać treści całego polecenia, a następnie wykonać to polecenie:
 – proszę wziąć kartkę do lewej/prawej ręki
 – złożyć ją oburącz na połowę
 – i położyć ją na kolana.
 b) Pokazujemy badanemu tekst polecenia zamieszczony na okładce. Proszę przeczytać następujące polecenie i je wykonać. Proszę zamknąć oczy.

Pisanie
Dajemy osobie badanej czystą kartkę papieru i prosimy o napisanie dowolnego zdania.
 Proszę napisać na tej kartce jakies dowolne zdanie

6. Praktyka konstrukcyjna
 Proszę przerysować ten rysunek tak dokładnie, jak tylko jest to możliwe
 P. ryc. 2

Ogólna liczba punktów



PROSZĘ ZAMKNAĆ OCZY



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701 Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 47/13

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 3 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 2011, Nr 277, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz.488); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 10 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 181, poz. 843); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem pacjentów (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1188); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niepożądanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 15 listopada 2010 r. w sprawie wzorów wniosków przedkładańcych w związku z badaniem klinicznym, wykończeni opłat za złożenie wniosków oraz sprawozdania końcowego z wykonania badania klinicznego (Dz. U. 2010r. nr 222 poz. 1453, z późn. zm.); Ustawy z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (Dz. U. 2010r. nr 187 poz. 679, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. 2010, Nr 194 poz. 1290); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (Dz.U. 2011 nr 82 poz. 451); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2012, Nr 8 poz. 489); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładańcych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczenia opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. 2012, Nr 8 poz. 491); w sprawie o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznym z Człowiekiem.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: 03 stycznia 2013 r.

rozpatrzyła wniosek, którego Kierownikiem jest:

dr hab. Rodryg Ramlau prof. UM

w sprawie prowadzenia badań w

**Katedrze Kardio- Torakochirurgii oraz Katedrze Neurologii UM w
Poznaniu**

Główny badacz: dr hab. Sławomir Michalak

Członkowie zespołu

badawczego:

**dr hab. Rodryg Ramlau prof. UM; lek. med. Iwona Gockja- Gołda;
lek. med. Joanna Gazduńska; dr Wojciech Ambrosius; lek. med.
Marcin Rogoziewicz; lek. med. Joanna Rybacka- Mossakowska;**

**Temat badań: "Metabolizm neuroprzekazników w jednojądrzastych
komórkach krwi obwodowej jako model neurologicznych powikłań
chemioterapii".**

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński

11. SPIS RYCIN

Rycina 1. Rola cytokin oraz innych determinantów w powstawaniu zaburzeń poznawczych

Rycina 2. Metabolizm glutaminianu w neuronach i astrocytach

Rycina 3. Schemat szlaku kinureninowego

Rycina 4. Metoda izolacji jednojądrzastych komórek z krwi obwodowej

Rycina 5. Typy histologiczne raka płuca w badanej grupie chorych

Rycina 6. Rodzaje chemioterapii w badanej grupie chorych

Rycina 7. Profil zaburzeń neurologicznych w badanej grupie chorych przed leczeniem

Rycina 8. Profil zaburzeń neurologicznych w badanej grupie chorych sześć miesięcy po leczeniu

Rycina 9. Stężenie glutaminianu w surowicy krwi u pacjentów przed leczeniem chemioterapią oraz u pacjentów bez objawów neurologicznych

Rycina 10. Aktywność dehydrogenazy glutaminianu u chorych z objawami i bez objawów neurologicznych

Rycina 11. Aktywność dekarboksylazy glutaminianu w surowicy krwi u chorych z objawami ze strony ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego

Rycina 12. Aktywność dekarboksylazy glutaminianu w PMBC po sześciu miesiącach leczenia u chorych z nowymi objawami neurologicznymi i u chorych bez objawów neurologicznych

Rycina 13. Test łączenia punktów TMT A u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem leczenia i po sześciomiesięcznej chemioterapii

Rycina 14. Test łączenia punktów TMT B u chorych na raka płuc przed rozpoczęciem leczenia i po sześciomiesięcznej chemioterapii

Rycina 15. Stężenie dehydrogenazy glutaminianu w raku płaskonabłonkowym, w raku drobnokomórkowym i w raku wielkokomórkowym

Rycina 16. Stężenie glutaminianu w surowicy a występowanie deficytu neurologicznego

Rycina 17. Ekspresja aminotransferazy kinureniny w PBMC [pg/mg białka] a występowanie deficytu neurologicznego

Rycina 18. Ekspresja aminotransferazy kinureniny w PBMC [pg/mg białka] a występowanie nowych objawów neurologicznych

12. SPIS TABEL

Tabela 1. Klasyczne zespoły paranowotworowe według Grausa i wsp.

Tabela 2. Ocena nasilenia objawów ze strony obwodowego układu nerwowego na podstawie skali Katzenwadela przed leczeniem oraz po sześciu miesiącach chemioterapii. Wyniki przedstawiono jako medianę oraz zakres międzykwartylowy

Tabela 3. Ekspresja glutaminianu, aktywność GLS, GDH i GAD w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej w przebiegu chemioterapii

Tabela 4. Stężenie glutaminianu, aktywność GLS, GDH i GAD w surowicy krwi w przebiegu chemioterapii

Tabela 5. Markery szlaku „neuroprotekcynowego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem i po sześciu miesiącach chemioterapii

Tabela 6. Markery szlaku „neurotoksycznego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem i po sześciu miesiącach chemioterapii

Tabela 7. Metabolizmu glutaminianu w PBMC u chorych z nowymi objawami i bez nowych objawów ze strony układu nerwowego

Tabela 8. Markery metabolizmu glutaminianu z nowymi objawami i bez nowych objawów ze strony układu nerwowego

Tabela 9. Markery szlaku „neuroprotekcynowego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem chemioterapii w zależności od występowania deficytu neurologicznego

Tabela 10. Markery szlaku „neurotoksycznego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuca przed rozpoczęciem chemioterapii w zależności od występowania deficytu neurologicznego

Tabela 11. Markery metabolizmu glutaminianu w PBMC u chorych z autoprzeciwciałami i bez autoprzeciwciał przed leczeniem

Tabela 12. Markery metabolizmu glutaminianu w surowicy u chorych z autoprzeciwciałami i bez autoprzeciwciał przed leczeniem

Tabela 13. Markery szlaku „neuroprotekcynowego” przemiany tryptofanu u chorych na raka płuc z autoprzeciwciałami i bez autoprzeciwciał przed leczeniem