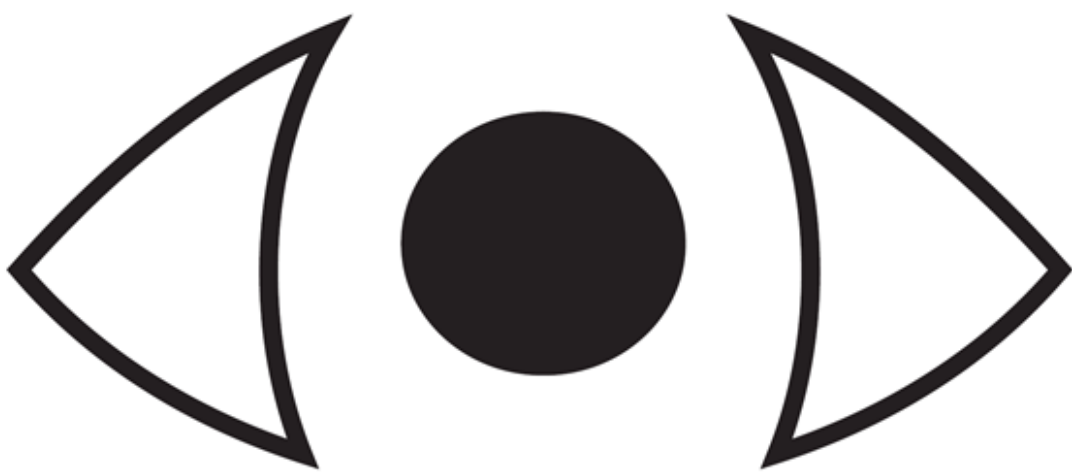


vol.10(1)/2025

TUTORING



CZASOPISMO
TUTEES I TUTORÓW

GEDANENSIS

ISSN 2451-1862

rTutoring Gedanensis Czasopismo Tutees i Tutorów

Zespół redakcyjny

Redaktor naczelny

dr Ewa Szymczak, prof. UG (UG, WOiG)

dr hab. Lucyna Przybylska, prof. UG (UG, WNS)

dr Beata Karpińska-Musiał, prof. UG (UG, WF)

Projekt znaku graficznego

Agata Janas

Recenzenci

dr hab. Katarzyna Kamińska-Korolczuk, prof. UG (UG, WNS)

dr Agnieszka Knopik-Skrocka, prof. UAM (UAM, WB)

dr Beata Kowalczyk (UG, WPIA)

dr Ewa Piotrowska (UG, WB)

dr hab. Katarzyna Węgrzyn (UG, MWB)

dr Wojciech Glac, prof. UG (UG, WB)

dr Maciej Markowski (UG, WOiG)

Kontakt

Centrum Doskonalenia Dydaktycznego i Tutoringu
Uniwersytetu Gdańskiego

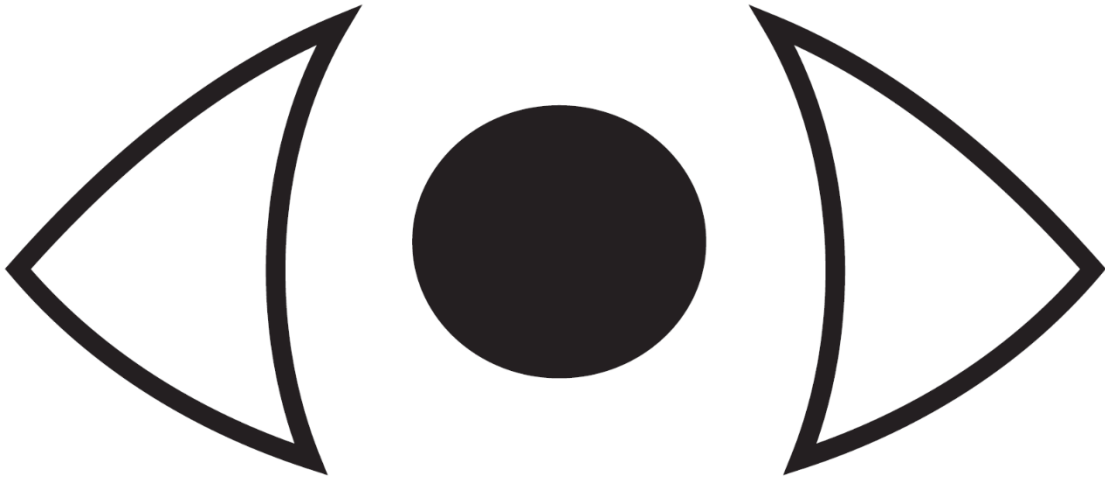
e-mail: tutee@ug.edu.pl

<https://cddit.ug.edu.pl/zeszyt/>



Spis treści

AI w parametryzacji danych oceanograficznych.....	4
<i>Aleksandra Kaleta</i>	
Czy układ immunologiczny zawsze jest sprzymierzeńcem człowieka? O terapiach celujących w biologię i immunologię nowotworów	12
<i>Julia Pietrzak, Agnieszka Knopik-Skrocka</i>	
Mikrobiota człowieka jako czynnik modulujący rozwój nowotworów – mechanizmy interakcji i perspektywy terapeutyczne.....	26
<i>Dominika Nowiczko</i>	
Star Trek: The Next Regeneration – czyli o tym, jak żaby nie są w tych tematach zielone	43
<i>Wiktoria Zawadzka</i>	
Analiza zagadnień związanych z cyberwojną na podstawie cyberataków na Estonię (2007), ukraińską elektrownię (2015) oraz sieć satelitarną KA-SAT (2022).....	56
<i>Mikołaj Nowak</i>	
Marchewką czy kijem, czyli dylematy twórcy edukacyjnej gry komputerowej.....	65
<i>Olga Maruszyńska</i>	
Gun ownership and public safety. What can the US learn from Europe?	68
<i>Gabriela Aftyka</i>	



AI w parametryzacji danych oceanograficznych

Aleksandra Justyna Kaleta

Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii

E-mail: a.kaleta.084@studms.ug.edu.pl

tutor: dr hab. Marcin Paszkuta

Uniwersytet Gdański, Wydział Oceanografii i Geografii

Katedra Geofizyki

Słowa kluczowe: nauczanie maszynowe, analiza danych niestabilnych, oceanografia, lodowce

Streszczenie

Nauczanie maszynowe jest dynamicznie rozwijającą się częścią sztucznej inteligencji. W ostatnich latach coraz częściej zaczynamy korzystać z jego nieograniczonych zastosowań. Celem publikacji jest przedstawienie możliwości wykorzystania sztucznej inteligencji w analizach niestabilnych danych oceanograficznych, gdzie klasyczne metody nie dają satysfakcjonujących wyników. Wykonano nienadzorowaną parametryzację oraz przedstawiono przykłady eksperymentalne serii danych: satelitarnych NASA i arktycznych ekspedycji oceanograficznych. Proponowana metoda, opierająca się na binaryzacji oraz parametryzacji, działa dobrze w przypadku klasyfikacji lodu oraz miejsc potencjalnego cielenia lodowców. Dużą rolę odgrywa właściwe ustalenie progu binaryzacji i jest to potencjalna rola nauczania maszynowego.

Obok przykładów w formie graficznej przedstawiono podstawowe statystyki określające m.in. zmiany wartości entropii.

Wstęp

Nauczanie maszynowe (ang. *Machine Learning*) jest częścią sztucznej inteligencji (AI-ang. *Artificial Intelligence*), która polega na rozwijaniu umiejętności komputerów, poprzez analizy nowych i wcześniejszych doświadczeń. Dzięki temu nie istnieje potrzeba bezpośredniego programowania [1]. Algorytmy używane w nauczaniu maszynowym bardzo dobrze radzą sobie z dużą ilością danych (ang. *big data*) – obowiązuje zasada, że im więcej danych tym sprawniej system jest w stanie się nauczyć. Bez względu na to jak dużą ilością danych dysponujemy muszą one posiadać pewne zależności między sobą, te zależności pozwalają sprawniej zrozumieć informacje (Alpaydin, 2021). Potencjał nauczania maszynowego jest bardzo szeroki i daje możliwości zastosowania w życiu codziennym, w nauce (Woodman i Mangoni, 2023; Ekasari i in., 2024; Ponomarenko i in.,

2024) jak i edukacji (Paszruta, 2023; Paszruta i Szymczak, 2024).

Nauczanie maszynowe znajduje swoje zastosowanie również w naukach o Ziemi m.in. przy parametryzacji danych oceanograficznych tj.: przewidywaniu zmian klimatu oceanicznego, identyfikacji gatunków, modelowaniu falowania i wiatru, wykrywaniu plam olejowych oraz wielu innych (Ahmad, 2019). Dryfujący lód jak i lodowce są ściśle związane z warunkami klimatycznymi i dynamiką wód, a co za tym idzie ich monitoring przy pomocy technik nauczania maszynowego umożliwia przewidywanie zmian środowiska (Ahmad, 2019). Regiony polarne są jednymi z najbardziej narażonych na zmiany cieplarniane. Jedną z konsekwencji ocieplenia klimatu jest topnienie lodowców oraz zmiany pokrywy lodowej (Stocker i in., 2020). Wiele fragmentów lodu odłamanych od lodowców lub pozostałych po roztopieniu pokrywy lodowej dryfuje na powierzchni wody stanowiąc zagrożenie dla poruszających się po niej statków. Znacznym zagrożeniem dla bezpieczeństwa jest również nagłe odrywanie się dużych części lodowca. Często trudne do przewidzenia jest to która część lodowca jest bardziej podatna na destabilizację, co również stanowi niebezpieczeństwo związane z eksplorowaniem tych rejonów (Duvillard i in., 2015; Faillettaz i in., 2015; Haeberli i in., 2017; Marcer i in., 2019; Zakhvatkina i in., 2019).

Celem publikacji jest zastosowanie nauczania maszynowego do parametryzacji danych oceanograficznych związanych bezpośrednio z bezpieczeństwem środowiska, mającym na celu jego ochronę przed zniszczeniem do stopnia zagrażającego ludziom (Molvaer, 1991). Osiągnięte jest to głównie przez monitorowanie zmian klimatu. Przedstawiono eksperyment mający za zadanie identyfikację: lodu na zdjęciach satelitarnych NASA (*National Aeronautics and Space Ad-*

ministration) oraz obszarów cielenia lodowców na podstawie obrazów z wypraw polarnych (z wykorzystaniem wysokiego oświetlenia powierzchni). Wybór powyższych danych został dokonany ze względu na trudności przy parametryzacji tradycyjnymi metodami.

Materiały i metody

Eksperyment został podzielony na dwie części, w każdej z nich analizowane były dane oceanograficzne przy użyciu tego samego kodu. Do zadań nauczania maszynowego należało wyznaczenie właściwego progu binaryzacji, dodatkowo przed jak i po analizie, obliczana była entropia. Entropię obliczano z danych, które były przetwarzane w formacie graficznym PNG. Prace prowadzono w środowisku OCTAVE z bibliotekami AI. Do pierwszej części eksperymentu wykorzystano serię danych NASA Earth Observatory [2] na których widoczny jest lód, często również odłamki lodu oraz woda, w niektórych przypadkach obszary nieba i lądu pokrytego śniegiem. W drugiej części wykorzystano zdjęcia z wypraw polarnych, na których widoczne są lodowce z perspektywy horyzontalnej. Oprócz samego lodowca na zdjęciach często również występują obszary nieba z chmurami, lądu i wody.

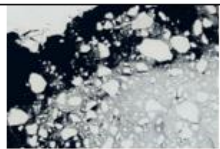
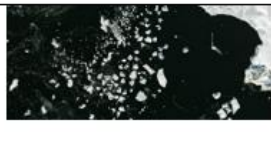


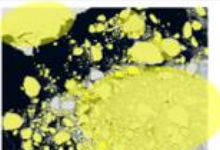
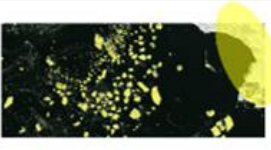
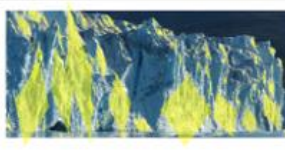
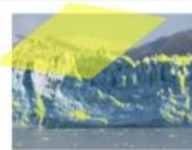
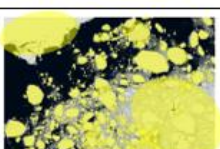
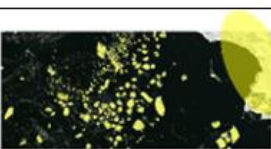
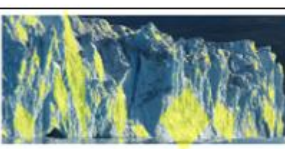

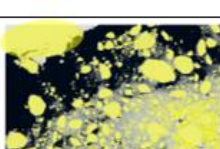

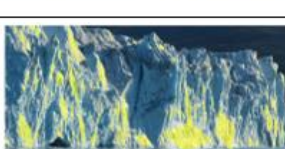

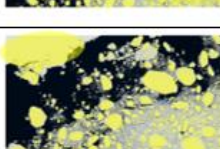



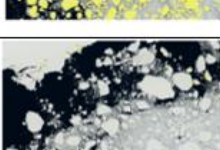
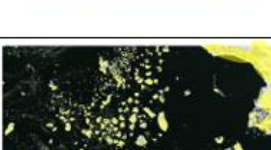


Na potrzeby eksperymentu stworzony został skrypt. W początkowym etapie jego działania dane, w formie zdjęć, zostają wczytane jako macierz, która następnie jest binaryzowana z progiem określanym przez algorytm AI. Próg ten znajduje się w granicach 0-1 i określany jest dla najlepiej reprezentowalnych wyników doświadczeń, czyli takich, w których najtrafniej rozpoznane zostały odłamane lub naświetlone części lodowca, w zależności od części eksperymentu. Wyniki te zostały przedstawione w dalszej części pracy. Uzyskane parametry reprezentujące ilość klasyfikowanych elementów, długości osi głównej i krótkiej każdego z elementów

skalsyfikowanych oraz ich orientacje wyznaczono na podstawie największej sumy długości osi głównej i pomocniczej. Na potrzeby eksperymentu kształt analizowanego obiektu definiowany był jako elipsa lub czworokąt. W kolejnym kroku zdefiniowane kształty zostały wyświetlone na tle klasyfikowanych przykładów, wykorzystując do tego mocno kontrastujące kolory oraz technikę przezroczystości obrazu (Tab. 1).

Wyniki

Pierwsza seria danych składająca się ze zdjęć z NASA Earth Observatory [2] reprezentowała części lodowców oraz oderwane od nich kawałki lodu, które unosiły się na wodzie- przykład 1_1 i 1_2 (Tab. 1). Sklasyfikowane dryfujące kawałki lodu zostały zaznaczone półprzezroczystymi elementami

Tab. 1 Przykłady klasyfikacji w zależności od użytego progu binaryzacji

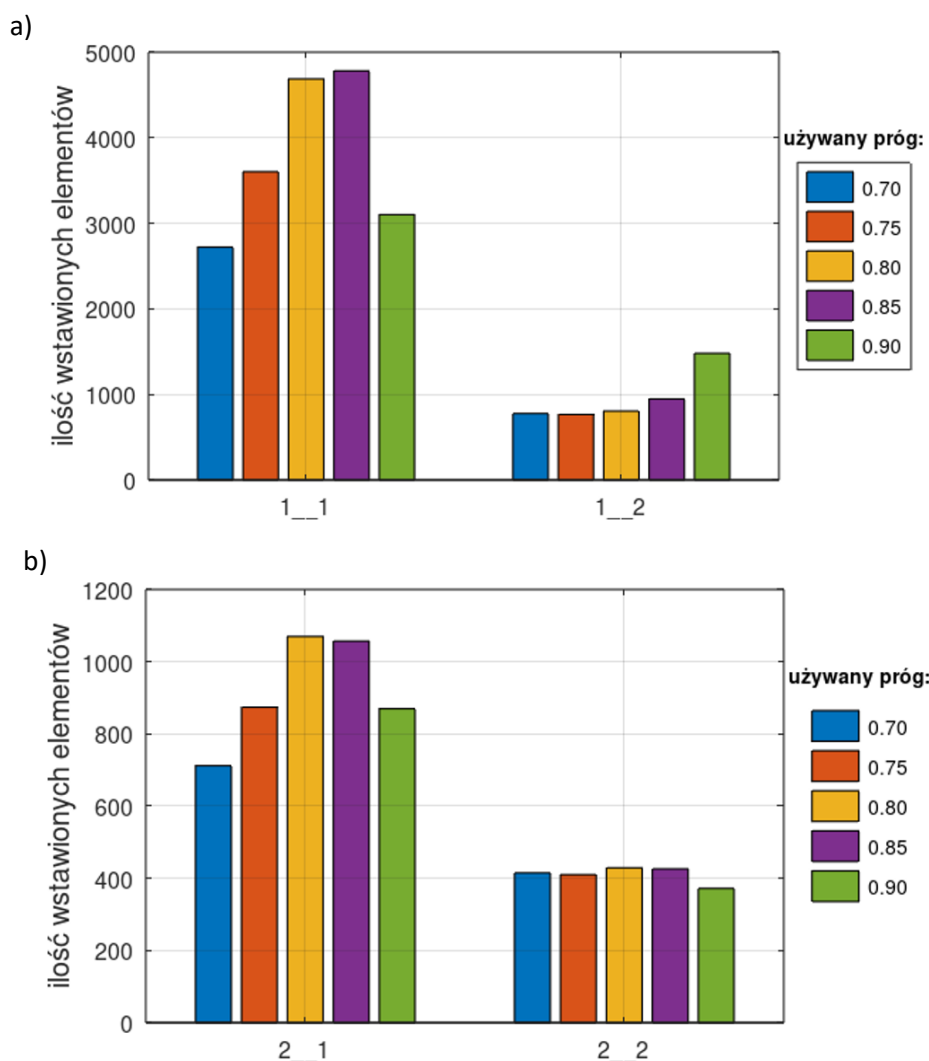
	1_1	1_2	2_1	2_2
oryginalny				
0.70				
0.75				
0.80				
0.85				
0.90				

w kształcie elips (Tab. 1). Dane użyte w drugiej części eksperymentu przedstawiały zdjęcia perspektywiczne czoła lodowców- przykład 2_1 i 2_2 (Tab. 1). W celu zobrazowania prawdopodobnych obszarów ich cielenia zostały nałożone półprzezroczyste, żółte elementy w kształcie czworokątów.

Ponadto tabela 1 przedstawia wyniki analiz przykładów 1_1 i 1_2 dla różnych progów binaryzacji. Można zauważyć, że mimo obecności drobnego lodu dookoła większych części, stabilniejsze fragmenty lodowca zostały odpowiednio sklasyfikowane.

Na przykładzie 2_2 widoczne są dodatkowo chmury w jasnym kolorze, które zostały błędnie odebrane jako naświetlone części lodowca, zakłamuając tym samym dalszą parametryzację (Tab. 1; Ryc. 1). W analizie parametrycznej elementem zaburzającym analizę była woda, której jaśniejsze części również były identyfikowane (przy słabym doświadczeniu). Przez co zaburzały one parametryzację tak samo jak chmury.

Wyniki obrazujące ilość sklasyfikowanych elementów przy różnych progach binaryzacji zebrano na rycinie 1.



Ryc. 1. Liczba sklasyfikowanych elementów dla przykładów eksperymentu w zależności od progu binaryzacji

Zastosowanie analizy parametrycznej na przykładzie 1_1 (Ryc. 1a) wykazało, że mimo dużej ilości elementów, miały one niskie wartości dla długości obu osi opisujących ich kształt. Największy element wystąpił na zdjęciu 1_1 przy progu 0.70. Obejmował on prawie cały obszar, na którym drobny lód występował pomiędzy większymi kawałkami (Tab. 1). Sytuacja ta prawdopodobnie była spowodowana brakiem wystarczającego doświadczenia algorytmu (tj. zbyt mało analizowanych przykładów).

Przykład 2_1 cechował się dużą ilością zidentyfikowanych elementów, z czego największy z nich został zaobserwowany przy progu 0.80 (Ryc. 1b). W tych przykładach

wpływ na parametryzację mogły mieć chmury, które zostały wadliwie określone jako lód (Tab. 1). Jest to efekt niewystarczającego doświadczenia algorytmu (zbyt małego zbioru do analiz).

W dalszym etapie eksperymentu uwaga została poświęcona analizie entropii oraz jej zmianom w zależności od zmieniających się progów binaryzacji. Entropia jest miarą nieuporządkowania, im większe wartości przyjmują dane tym bardziej są one nieuporządkowane. Entropia może być informacją na temat skuteczności metody, wyższe wartości świadczą o większej złożoności obrazu, tj. słabszej parametryzacji [3].

Tab. 2 Wartości entropii kolorowych zdjęć oryginalnych przed analizą oraz zależność entropii od binaryzacji przykładów po analizie z obu części eksperymentu

	1_1	1_2	2_1	2_2
Zdjęcia oryginalne	6.55	5.62	7.61	7.09
0.70	3.81	2.79	3.68	4.61
0.75	4.01	2.79	3.67	5.27
0.80	4.21	2.79	3.67	5.28
0.85	4.32	2.74	3.67	5.27
0.90	4.58	2.83	3.68	5.27

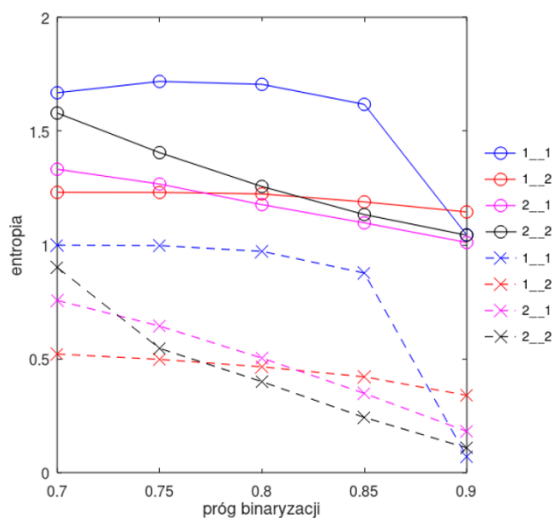
Rozpatrując zakres entropii od 0 do 8 bitów (Zbili, Rama 2021), można zauważyć, że wszystkie przykłady miały stosunkowo wysoką entropię (Tab. 2). Dane używane w drugiej części eksperymentu miały większą entropię.

Rozważając dane sparametryzowane algorytmem - entropia przyjmuje wartości z zakresu 2.74–5.28 bitów (Tab. 2), co jest znacznie niższe od entropii obliczonej dla kolorowych zdjęć oryginalnych przed analizą

(Tab. 2). Jest to spowodowane tym, że naniezione kształty przyczyniły się częściowo do rozmycia obrazu co zmniejsza entropię. Algorytm AI obniżył nieuporządkowanie obrazów - wykonał poprawnie parametryzację i okazał się skuteczny we wszystkich przykładach.

Porównując entropie oryginalnych zbinaryzowanych (Ryc. 2) danych z danymi zbinaryzowanymi po analizie (czarnobiałe zbinaryzowane z zaznaczonymi półprzezroczystymi żółtymi kształtami) (Ryc. 2) widać, że

wartości entropii są większe po niż przed analizą (Ryc. 2). Naniesione kształty, przez swoją różnorodność w porównaniu do 0-1 zbinaryzowanych danych podniosły ich entropię. W większości przypadków entropia ma mniejsze wartości wraz z rosnącym progiem binaryzacji (Ryc. 2).



Ryc. 2 Zależność entropii od binaryzacji dla zbinaryzowanych przykładów o - po analizie, x - przed analizą

Podsumowanie

Do celów eksperymentu wykorzystano AI, dzięki któremu proces binaryzacji został odpowiednio sparametryzowany. Wykazano, że próg binaryzacji ma zasadniczy wpływ na wynik. Na analizowanych przykładach większe elementy lodu zostały odpowiednio oddzielone od skruszonych, drobnych kawałków i od śniegu. Można zauważyć, że wraz ze wzrostem progu wstawiane elementy są mniejsze – wyznacza to kierunek nauczania maszynowego systemu. W części przykładów przeszkodą okazała się obecność chmur. Z tego powodu dokładniejsze reprezentacje są widoczne przy wyższych progach. Na analizowanych przykładach obszary oświetlone zostały bardzo dobrze oznaczone przez AI w określonych progach.

Metoda przedstawiona w pracy charakteryzuje się dużym potencjałem do wykorzystania przy pracy z danymi niestabilnymi (trudnymi w parametryzacji tradycyjnymi metodami). Natomiast w celu weryfikacji możliwych obszarów cielenia się lodowców może być wymagana większa ilość danych z racji chociażby różnych obszarów oświetlenia w zależności od pozycji słońca i innych czynników od tego niezależnych wpływających na destabilizację lodowców. Na analizowanych zdjęciach satelitarnych metoda spełniała swoje założenia. Działała ona szczególnie dobrze w przypadku wykrywania większych części lodu obszarów pokrytych drobnym lodem i śniegiem co może być przydatne w pracy z podobnymi, trudniejszymi w wizualnej interpretacji, danymi.

Praca obejmowała analizę serii danych oceanograficznych przedstawiających lodowce i lód na tle wody. Na podstawie przytoczonego eksperymentu można stwierdzić, że wykorzystane elementy algorytmu nauczania maszynowego działają przy parametryzacji niestabilnych serii danych. Zasadniczą rolę odegrało wyznaczenie progu binaryzacji - to zadanie powierzono AI. Generalnie im więcej danych dostarczymy tym algorytm AI lepiej sobie radzi. Oprócz wizualnej reprezentacji zaznaczonych elementów uzyskano także parametry numeryczne przykładów np: długości osi głównej i pomocniczej elementów, ilości wstawionych elementów oraz ich orientacji. W oparciu o te parametry można dokonywać dalszej analizy np.: mając skalę można prowadzić analizy wielkości wstawionych elementów, które mogą dać informacje o rozmiarach poszczególnych elementów dryfującego lodu lub rozmiarach powierzchni oświetlonych lodowców. Zasadniczy dowód skuteczności metody uzyskano poprzez porównanie entropii serii przykładów eksperymentalnych.

Literatura:

- Ahmad H. (2019). Machine learning applications in oceanography. *Aquatic Research*, nr 2(3), s. 161-169.
- Alpaydin E. (2021). *Machine learning*. Cambridge: Wydawnictwo Mit Press.
- Duvillard P.A., Ravanel L., Deline P. (2015). Risk assessment of infrastructure destabilisation due to global warming in the high French Alps. *Journal of Alpine Research/ Revue de géographie alpine*, nr 103(2), s. brak.
- Ekasari S., Judijanto L., Vandika, A. Y. (2024). The role of artificial intelligence and machine learning in precision targeting: revolutionizing marketing. *Jurnal Ekonomi dan Bisnis (JEBI)*, nr 2(3), s. 347-361.
- Faillottaz J., Funk M., Vincent C. (2015). Avalanching glacier instabilities: Review on processes and early warning perspectives. *Reviews of Geophysics*, nr 53(2), s. 203-224.
- Haeberli W., Schaub Y., Huggel C. (2017). Increasing risks related to landslides from degrading permafrost into new lakes in deglaciating mountain ranges. *Geomorphology*, nr 293, s. 405-417.
- Marcer M., Serrano C., Brenning A., Bodin X., Goetz J., Schoeneich P. (2019). Evaluating the destabilization susceptibility of active rock glaciers in the French Alps. *The Cryosphere*, nr 13(1), s. 141-155.
- Molvaer, R. K. (1991). Environmentally induced conflicts? A discussion based on studies from the Horn of Africa. *Bulletin of Peace Proposals*, nr 22(2), s. 175-188.
- Paszkuła M. (2023). *2AI-Artificial Intelligence as a key component in inspiring education through Authentic Inquiry*. Prezentowane na: International Conference "STEAM & AI in Education". XII International Scientific Seminar "Science - Society - Didactics"
- Paszkuła M., Szymczak E. (2024). *Using AI to develop academic skills in practical university courses*. Prezentowane na: International Conference "STEAM & AI in Education". XIII International Scientific Seminar "Science - Society - Didactics"
- Ponomarenko I.V., Pavlenko V.M., Morhulets O.B., Ponomarenko D.V., Ukhnał N.M. (2024). Application of artificial intelligence in digital marketing. W: *CEUR Workshop Proceedings*, nr 3662, s. 155-166.
- Stocker A.N., Renner A.H.H., Knol-Kauffman M. (2020). Sea ice variability and maritime activity around Svalbard in the period 2012–2019. *Scientific Reports*, nr 10, s. brak.
- Woodman R. J., Mangoni A. A. (2023). A comprehensive review of machine learning algorithms and their application in geriatric medicine: present and future. *Aging Clinical and Experimental Research*, nr 35(11), s. 2363-2397.
- Zakhvatkina N., Smirnov V., Bychkova I. (2019). Satellite SAR data-based sea ice classification: An overview. *Geosciences*, nr 9(4), s. 152.
- Zbili M., Rama S. (2021). A quick and easy way to estimate entropy and mutual information for neuroscience. *Frontiers in Neuroinformatics*, nr 15(596443).

Źródła internetowe:

- 1_1: NASA Earth Observatory <https://earthobservatory.nasa.gov/topic/snow-and-ice> [dostęp 02.11.2023]
- 1_2: NASA Earth Observatory <https://earthobservatory.nasa.gov/topic/snow-and-ice> [dostęp 02.11.2023]
- 2_1: Kukulya A. <https://www.who.edu/know-your-ocean/ocean-topics/how-the-ocean-works/frozen-ocean/glaciers-ice-sheets/>
- 2_2: Mommaerts R. <https://timesofindia.indiatimes.com/travel/things-to-do/hubbard-glacier/articleshow/35384197.cms>
- [1] - <https://www.sap.com/poland/products/artificial-intelligence/what-is-machine-learning.html> [dostęp 31.08.2023]
- [2] - <https://earthobservatory.nasa.gov/topic/snow-and-ice> [dostęp 02.11.2023]

[3] - <https://unimatrixz.com/blog/latent-space-image-quality-with-entropy/> [dostęp 06.02.2024]

Notka o autorce: Aleksandra Kaleta ukończyła studia licencyjne na kierunku oceanografia. Swoje zainteresowania związane z geofizyką zdecydowała się rozwijać podczas zajęć tutoringu akademickiego na WOiG UG. Realizując pracę dyplomową skupiła swoją uwagę na nowoczesnych metodach analizy lodowców, na podstawie danych uzyskiwanych z ekspedycji pod koło polarne. Bardzo szybko jej ciekawość zwróciła się ku szerszemu wykorzystaniu nowoczesnych technik nauczania maszynowego w analizie powierzchni morza na podstawie danych satelitarnych.

Czy układ immunologiczny zawsze jest sprzymierzeńcem człowieka? O terapiach celujących w biologię i immunologię nowotworów

Julia Pietrzak¹, dr Agnieszka Knopik-Skrocka, prof. UAM²

¹Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

E-mail: julpie19@st.amu.edu.pl

²Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Zakład Biologii Komórki

E-mail: askro@amu.edu.pl

Słowa kluczowe: nowotwory, immunogenność, profil immunologiczny, immunosupresja, terapie celowane, tutoring naukowy

Streszczenie

Niniejszy artykuł stanowi efekt współpracy w ramach tutoringu naukowego poświęconego zgłębieniu tematyki dotyczącej biologii i immunologii nowotworów, ze szczególnym uwzględnieniem roli wybranych komórek układu immunologicznego. Układ immunologiczny zwykle chroni organizm, w czym swój duży udział mają limfocyty T cytotoksyczne, w pewnych warunkach może jednak wspierać rozwój nowotworu, np. poprzez limfocyty T regulatorowe, makrofagi M2 w indukowaniu immunosupresyjnego środowiska.

W pracy przedstawiono wybrane cele molekularne dla terapii takich jak terapia za pomocą inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych (blokujące PD-, PD-L1, czy CTLA-4) oraz terapie z użyciem „żywych

leków” w postaci zmodyfikowanych genetycznie limfocytów T (CAR-T). Zwrócono ponadto uwagę na efekty łączenia immunoterapii z innymi metodami, np. radioterapią, w celu zwiększenia tzw. immunogenności nowotworów i maksymalizacji skuteczności leczenia. Wskazano również przeszkody i wyzwania jakie wciąż stoją przed naukowcami i klinicystami. Należą do nich m.in. trudność w dotarciu leków do ich miejsc działania, niska immunogenność nowotworów, niska infiltracja i osłabienie aktywności limfocytów T cytotoksycznych w obrębie mikrośrodowiska nowotworowego. Na zakończenie przedstawiono kilka potencjalnych sposobów rozwiązania tych problemów.

Wprowadzenie do tematu

Układ immunologiczny to bardzo inteligentny element naszego organizmu, chroniący przed zagrożeniami takimi jak bakterie patogenne, wirusy, grzyby. Jego zdolność do zapamiętywania obcych antygenów pozwala na szybkie rozpoznanie wroga i walkę z nim.

Dzieje się to w ramach tzw. odporności swoistej/nabytej, w którą zaangażowane są przede wszystkim limfocyty T i B. Ważną rolę pełnią w tym aspekcie komórki dendrytyczne (*ang. DC, dendritic cells*), prezentujące na swojej powierzchni „obce” antygeny, które z kolei mogą zostać rozpoznane przez immunologiczne komórki efektorowe (Marcinkiewicz, 2023).

Układ immunologiczny może również wychwycić zagrożenie w postaci komórek nowotworowych, które często ekspresują na powierzchni tzw. neoantygeny. Ich liczba w istotny sposób decyduje o immunogenności nowotworów. Wysoka immunogenność pozwala na skuteczniejsze działanie zwłaszcza limfocytów T cytotoksycznych (Tcyt), odpowiedzialnych w kluczowym momencie za eliminację komórek nowotworowych (Knopik-Skrocka i in., 2023). W mikrośrodkowisku nowotworowym dochodzi do zaburzenia równowagi między różnymi typami komórek immunologicznych. Komórki nowotworowe mogą rekrutować komórki immunologiczne, promujące rozwój nowotworu. Do takich komórek należą: limfocyty T regulatorowe (Tregs), czy makrofagi o fenotypie M2. W ich obecności następuje osłabienie aktywności Tcyt i utrudnienia w dojrzewaniu DC, co przekłada się na nieprawidłowe funkcjonowanie tych komórek. Bazując na rozległej dotychczasowej wiedzy, naukowcy podjęli działania w kierunku reaktywacji układu immunologicznego u chorych na nowotwory. Dzięki temu opracowanych zostało kilka strategii terapeutycznych, w których wykorzystuje się zmodyfikowane genetycznie limfocyty T (CAR-T), czy też leki w postaci przeciwciał monoklonalnych (*ang. mAbs, monoclonal antibodies*), nakierowane na wybrane immunologiczne punkty kontrolne, regulujące aktywność Tcyt, a także DC (Knopik-Skrocka i in., 2023).

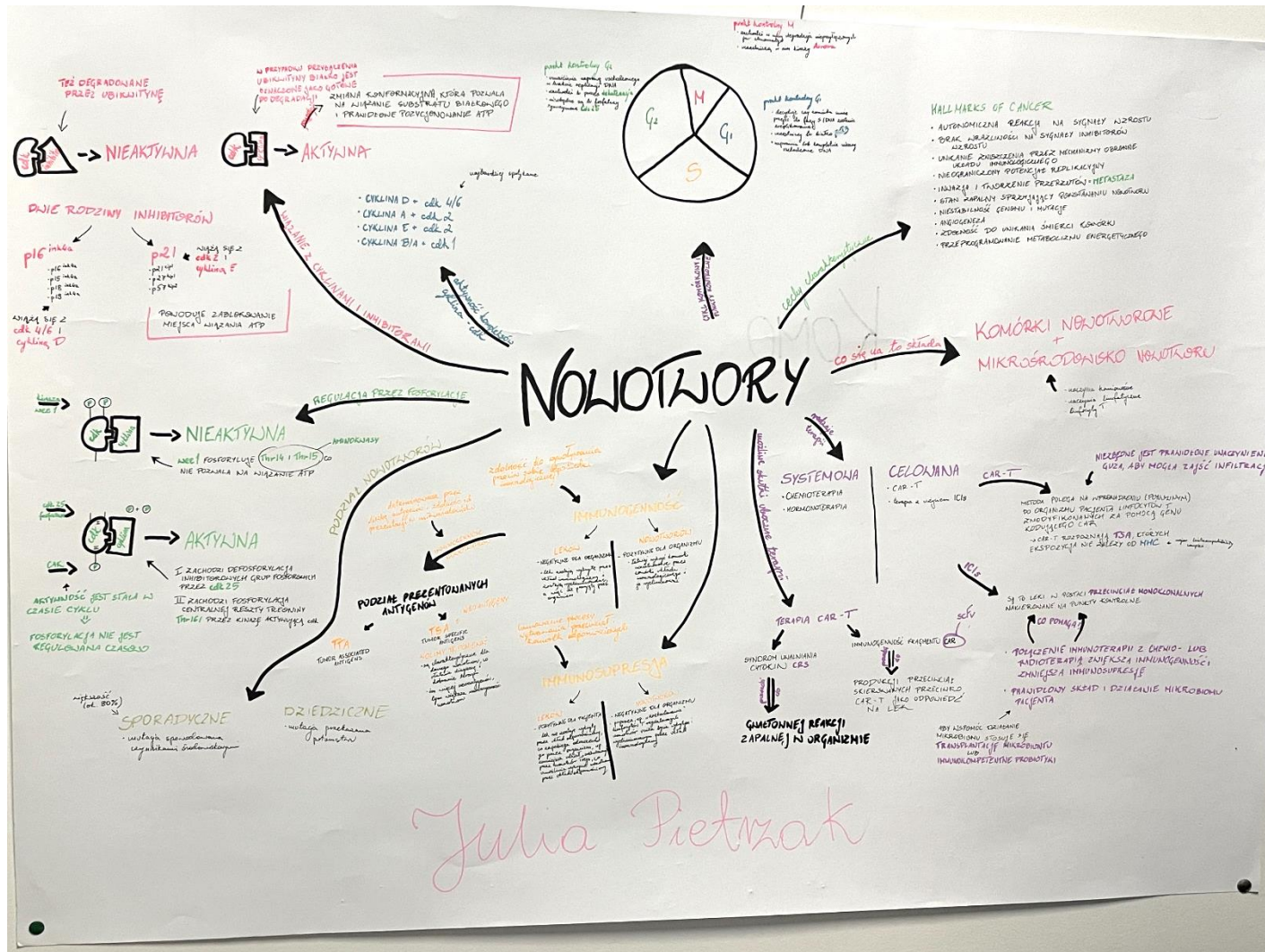
Powyższe zagadnienia stały się motywem przewodnim tematyki procesu tutorskiego

jaki został zrealizowany w roku akademickim 2023–24, w ramach programu KRAB (Kierowanie Rozwojem Aktywności Badawczej studentów) na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Niezwykle pomocnym i porządkującym narzędziem okazała się „mapa myśli”, powstała podczas procesu tutorskiego (Ryc. 1). Zgłębienie jej głównych wątków było możliwe w oparciu o aktualne dane literaturowe. Dyskusje prowadzone w czasie tutoringów pokazały wyraźnie, iż układ immunologiczny nie zawsze możemy traktować jako naszego sprzymierzeńca. W niektórych sytuacjach pokazuje on swoje nieco inne oblicze. Podczas omawiania tych zagadnień, w dalszej części artykułu będziemy odwoływać się do haseł zawartych w mapie myśli.

Czy komórki nowotworowe powinny być jedynym celem terapii?

Ważnymi czynnikami przy rokowaniach dla pacjentów onkologicznych jest czas wykrycia zmiany, jej wnikliwa diagnostyka, rozpoczęcie leczenia, w tym dostępność do możliwie najnowszych terapii. Tym zagadnieniem, między innymi, jest poświęcony cykl podcastów, które powstały w latach 2020–21 z inicjatywy studentów WB UAM jako projekt „Skarby w dłoń” (Morańska i in., 2021). Podcasty na temat zarówno epidemiologii, czynników ryzyka nowotworów, jak i strategii terapeutycznych są nadal dostępne na platformie Spotify [1, 2].

Najbardziej powszechnymi i znanymi terapiami przeciwnowotworowymi są chirurgia, chemioterapia i radioterapia. Mimo potwierdzonej skuteczności, zwłaszcza chemio- i radioterapia mają wady i liczne skutki uboczne. Jedną z nich może być niska selektywność chemioterapii. Oznacza to, że nie działa ona wybiórczo tylko na komórki nowotworowe, ale także na zdrowe, szybko dzielące się komórki (Anand i in., 2022).



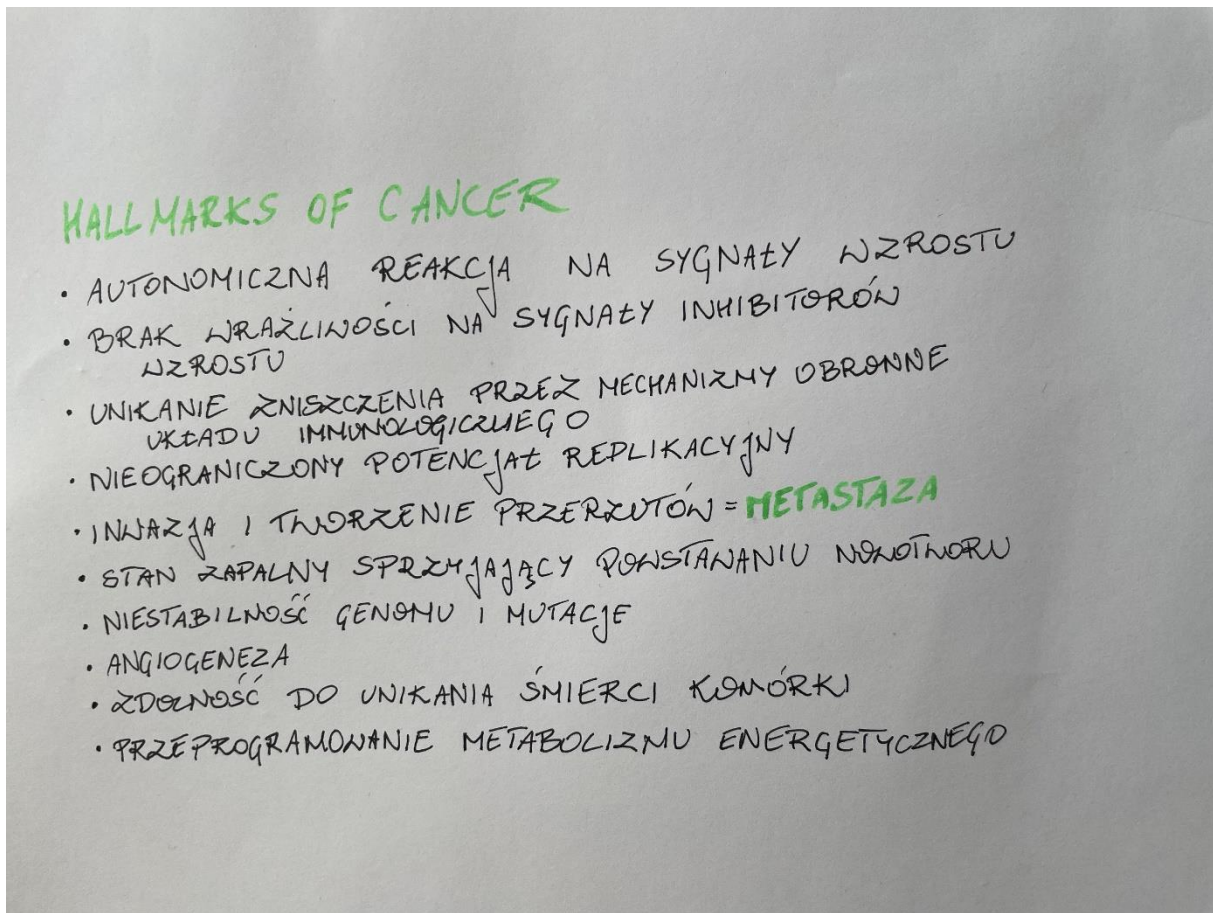
Julia Pietrzak

Ryc. 1. Mapa myśli (J. Pietrzak)

W radioterapii dużym niebezpieczeństwem jest tzw. efekt obserwatora, który polega na oddziaływaniu promieniowania nie tylko na komórki nowotworowe, ale także w sposób pośredni na komórki zdrowe znajdujące się w bliskim otoczeniu (Tang i in., 2023). W tym ostatnim przypadku może to zwiększać prawdopodobieństwo powstania drugiego nowotworu, poprzez aktywowanie tzw. protoonkogenów Są to geny, które pod wpływem mutacji przekształcają się w onkogeny, przyczyniające się do transformacji nowotworowej (Pecorino, 2018). W przypadku chemioterapii jej dawkowanie nie jest dostosowane do indywidualnych potrzeb i cech pacjenta, np. płci czy pochodzenia etnicznego, co może powodować ogromne skutki uboczne u części pacjentów (Wagner, 2020). Coraz częściej stosowane są więc terapie, których celem są na przykład receptory kinaz tyrozynowych (*ang. RTKs, receptor tyrosine kinases*), obecne w błonie komórkowej komórek nowotworowych. Ich zmieniona aktywność na skutek mutacji/rearanzacji genów kodujących je prowadzi do przekazywania w sposób permanentny sygnałów do dzielenia się komórek. Jednym z takich receptorów jest EGFR (*ang. epidermal growth factor receptor*). Rearanzacja genu ALK (*ang. anaplastic lymphoma kinase*) z genem EML4 (*ang. echinoderm microtubule-associated protein-like 4*) powoduje natomiast powstanie „nowej jakości” genu z informacją o RTK charakteryzującym się wzmożoną aktywnością sygnałową (Stencel i in., 2021). Powyższe zmiany obserwuje się m.in. u niektórych pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc (*ang. NSCLC, non-small cell lung cancer*). Mutacje mogą dotyczyć także genów z rodziny Ras. Przykładem jest KRAS (*ang. Kirsten rat sarcoma virus*). Skutkiem mutacji

jest wysoka aktywność białka Ras, zaangażowanego w podziały komórkowe (Grodzka i in., 2023). Obecnie znanych jest wiele leków, w postaci niskocząsteczkowych związków, hamujących działanie RTKs takich jak Afatinib (dla EGFR), czy Crizotinib (dla ALK-EML4). Z kolei Sotorasib to selektywny inhibitor białka stanowiącego produkt zmutowanego KRAS G12C (O'Sullivan i in., 2023). Niestety w czasie terapii może dojść do rozwoju oporności na leki. Stąd konieczność spersonalizowanego podejścia do pacjenta i badań genetycznych zarówno w diagnostyce, jak i podczas terapii. W efekcie możliwe jest modyfikowanie leków i tym samym ich dopasowywanie do pacjenta.

Komórki nowotworowe intensywnie komunikują się z innymi komórkami obecnymi w mikrośrodowisku guza. Przykładem są komórki śródbłonna naczyń krwionośnych, które mogą zostać zrekrutowane do neoangiogenezy, której efektem jest wytworzenie własnego unaczynienia guza, zapewniającego dostęp do tlenu, glukozy, ale również stanowiącego drogę przerzutowania komórek nowotworowych (Hanahan i Weinberg, 2000, 2011). Za odkrywcę neoangiogenezy, jej znaczenia dla rozwoju nowotworu uważa się Judah Folkmana (Folkman, 1971). Zdolność nowotworu do indukowania neoangiogenezy jest jedną z wielu jego cech charakterystycznych (*ang. hallmarks of cancer*) (Ryc. 2). Do tej pory opracowano różne terapie określane jako antyangiogenne, celujące w czynniki proangiogenne jak VEGF (*ang. vascular endothelial growth factor*) oraz w ich receptory, znajdujące się w błonie komórkowej komórek śródbłonkowych (VEGFR2) (Lopez Coelho i in., 2021).



Ryc.2. Cechy nowotworów według Hanahana i Weinberga (fragment mapy myśli J. Pietrzak)

O sukcesie rozwoju i przerzutowania nowotworów decyduje także zdolność komórek nowotworowych do ucieczki spod nadzoru immunologicznego. Swoją rolę ma w tym niska immunogenność nowotworu, zimny profil immunologiczny oraz aktywność Tregs i M2, co w konsekwencji prowadzi do immunosupresji nowotworu (Knopik-Skrocka i in., 2023). Z obecnej wiedzy jasno wynika, iż o skuteczności w leczeniu nowotworów decyduje jej wielokierunkowe działanie, a komórki nowotworowe nie mogą być jedynym celem terapeutycznym.

Dlaczego ważna jest immunogenność nowotworów i ich profil immunologiczny?

Immunogenność nowotworów to zdolność do wywoływania przeciw sobie odpowiedzi immunologicznej, czego wynikiem jest rozpoznanie komórek nowotworowych przez wybrane komórki układu odpornościowego. Oznacza to, że im wyższa immunogenność tym łatwiej zidentyfikować i zniszczyć komórki nowotworowe przez układ odpornościowy. Większość nowotworów „dąży” do niskiej immunogenności (Knopik-Skrocka i in., 2023). Jedynie kilka nowotworów cechuje wysoka immunogenność. Należą do nich m.in. czerniak i nowotwory płuc. Z immunogennością wiąże się rodzaj antygenów

prezentowanych przez nowotwór. Mogą to być TAA (*ang. tumor-associated antigens*) lub TSA (*ang. tumor-specific antigens*) (Xie i in. 2023). Te ostatnie są nazywane neoantygenami i stanowią wynik mutacji w genach białek antygenowych, zaburzenia składania eksonów (splicingu) mRNA, zmian w modyfikacjach posttranslacyjnych. To zjawisko jest określane jako obciążenie mutacyjne nowotworu (*ang. TMB, tumor-mutation burden*). Neoantygeny są kluczowe w kontekście skuteczności rozpoznawania komórek nowotworowych przez Tcyt (Wang i in., 2019, Xie i in., 2023).

Każdy nowotwór oprócz swojej immunogenności ma także swój profil immunologiczny. Charakteryzuje go skład, liczba i aktywność komórek immunologicznych w mikrośrodkowisku guza. Szczególnie pożądane są Tcyt, podczas gdy Tregs i makrofagi M2 wspomniane we wprowadzeniu niniejszego artykułu negatywnie wpływają na Tcyt. Obecnie przyjmuje się, iż pełne rozpoznanie nowotworu na poziomie komórkowym powinno obejmować informację zarówno o jego immunogenności, jak i profilu immunologicznym (Tab. 1).

Tabela 1. Podział wybranych nowotworów zależnie od ich obciążenia mutacyjnego i profilu immunologicznego (na podstawie Maleki Vareki ,2018; Knopik-Skrocka i in., 2023, zmienione)

Typ nowotworu	Genotyp	Profil immunologiczny
czerniak	TMB-High	hot
NSCLC	TMB-High	hot
OC	TMB-Medium	intermediate
PC	TMB-Low	cold
rak trzustki	TMB-Low	Cold

NSCLC- drobnokomórkowy rak płuca, OC- rak jajnika, PC- rak prostaty, TMB-High *tumor mutation-burden high* (TMB wysokie), TMB-Medium *tumor mutation-burden medium* (TMB średnie), TMB-Low *tumor mutation-burden low* (TMB niskie), hot- profil immunologiczny o wysokiej infiltracji guza przez limfocyty T cytotoksyczne, intermediate- profil immunologiczny o średniej infiltracji guza przez limfocyty T cytotoksyczne, cold- profil immunologiczny o niskiej infiltracji guza przez limfocyty T cytotoksyczne

W odniesieniu do immunogenności nowotwory dzieli się na TMB-High, TMB-Medium i TMB-Low. Nowotwory o wysokiej infiltracji mikrośrodkowiska przez komórki immunologiczne (głównie Tcyt) określane są natomiast jako gorące (*ang. hot*), a te, które mają niski stopień infiltracji nazywane są zimnymi (*ang. cold*). Najbardziej korzystnym wariantem z punktu widzenia leczenia są nowotwory TMB-High/hot. W ich przypadku można przewidywać wysoką skuteczność szczególnego rodzaju terapii celowanej jaką

jest immunoterapia, mająca na celu pobudzenie (reaktywację) Tcyt i DC do walki z komórkami nowotworowymi (Maleki Vareki, 2018).

Istnieją doniesienia naukowe na temat pozytywnej roli radioterapii w zwiększaniu immunogenności i stopnia infiltracji mikrośrodkowiska nowotworów przez komórki immunologiczne (Zhu i in., 2022). Pod wpływem promieniowania dochodzi do wzrostu infiltracji Tcyt, DC, spadku liczby Tregs,

zwiększenia ekspresji na powierzchni komórek nowotworowych antygenów MHC I oraz neoantygenów. Dzięki temu komórki nowotworowe stają się bardziej widoczne dla Tcyt i wzrasta szansa na skuteczność immunoterapii zastosowanej w kombinacji z radioterapią.

Reaktywacja komórek immunologicznych do walki z nowotworem cudem immunoterapii?

Jedną z celowanych strategii przeciwnowotworowych jest strategia, w której stosuje się leki biologiczne w postaci mAbs (*ang. monoclonal antibodies*), czyli przeciwciał monoklonalnych. Częsteczki te wiążąc się z receptorem uniemożliwiają jego kontakt z ligandem, a w konsekwencji blokują odpowiedź komórki na dany ligand. W kontekście immunoterapii, zatwierdzonymi klinicznie i aktualnie często stosowanymi mAbs są leki nakierowane na tzw. immunologiczne punkty kontrolne, obecne na powierzchni wybranych komórek immunologicznych. Leki te są nazywane inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych (*ang. ICIs, immune checkpoint inhibitors*) [3]. Przykładem

są leki anty-PD-1 i anty-PDL1 (Ryc. 3). Pierwsze z nich działają blokująco na cząsteczki PD-1 (*ang. programmed death 1 receptor*) obecne na powierzchni między innymi Tcyt. Z kolei anty-PDL1 celują w PD-L1 (*ang. programmed death ligand 1*), który pełni rolę liganda dla receptora PD-1 (Krawczyk i Wojas-Krawczyk, 2015; Knopik-Skrocka i in., 2023). Źródłem PD-L1 w mikrośrodowisku są często same komórki nowotworowe. Interakcja między PD-1 i PD-L1 prowadzi do inaktywacji Tcyt, zwanej często anergią (uśpienie) (Krawczyk i Wojas-Krawczyk, 2015; Knopik-Skrocka i in., 2023). Należy podkreślić, iż w praktyce klinicznej, u pacjentów stosuje się w danej linii leczenia jeden z tych wariantów ICIs (anty-PD1 lub anty-PDL1) [3]. W ramach immunoterapii ICIs stosowane są również przeciwciała anty-CTLA-4. Ich cel, czyli CTLA-4 wchodzi w interakcję z antygenami CD80/86 obecnymi na powierzchni DC, konkurując z CD28. Leki anty-CTLA4 zapobiegają inaktywacji DC i hamowaniu ich udziału w prezentowaniu antygenów wobec Tcyt (Buchbinder i Desai, 2016). Tym samym wymieniona powyżej grupa leków zmniejsza immunosupresję nowotworu. Do ICIs należą m.in. Pembrolizumab, Niwolumab i Ipilimumab (Tab. 2).



Ryc. 3. A) Schemat działania mAbs anty PD-1, B) anty PD-L1 (J. Pietrzak)

Tabela 2. Przykłady mAbs blokujących immunologiczne punkty kontrolne, ich ekspresja komórkowa oraz mechanizm działania (dane na podstawie [3])

Immunologiczny punkt kontrolny	Ekspresja komórkowa	Interakcja z	Mechanizm działania	Lek (mAbs)
CTLA-4	limfocyty T regulatorowe	CD80 i CD86	konkurowanie z CD28, wiązanie z CD80/86 hamuje Tcyt	Ipilimumab
PD-1	limfocyty T, limfocyty B, komórki prezentujące antygeny i NK	PD-L1	po związaniu z ligandem hamuje aktywność Tcyt	Nivolumab, Pembrolizumab

W ostatnich latach uwagę zwracają także makrofagi. Są to komórki immunologiczne zdolne do produkcji różnych czynników oraz do fagocytozy. W mikrośrodkowisku nowotworowym może dochodzić do zmiany fenotypu tych komórek z M1 (o aktywności przeciwnowotworowej) w kierunku fenotypu M2, któremu przypisuje się działanie promujące rozwój nowotworu. W ten sposób makrofagi M2 biorą udział w tworzeniu immunosupresyjnego mikrośrodkowiska (Knopik-Skrocka i in., 2023). Komórki te poprzez IL-10, jak również arginazę – 1 mogą przyczyniać się do spadku aktywności Tcyt (Tormoen i in., 2018).

Czy terapia CAR-T sięgnęła kosmosu?

Terapia CAR-T to strategia leczenia za pomocą zdrowych, ale zmodyfikowanych genetycznie limfocytów T, pochodzących od pacjenta. Modyfikacja tych komórek polega na wprowadzeniu do nich „instrukcji” w postaci genu kodującego informację o tzw. CAR (*ang. chimeric antigen receptor*). Dzięki temu w limfocytach dochodzi do ekspresji CAR na ich powierzchni. Receptor w konstrukcji CAR ma zdolność rozpoznawania w sposób bardzo selektywny antygeny obecnego na powierzchni komórek nowotworowych. Jeśli

dojdzie do rozpoznania i interakcji, następnym krokiem jest eliminacja komórek nowotworowych. Konstrukcja CAR zawiera domenę rozpoznającą antygen (część zewnątrzkomórkowa), domenę transbłonową oraz domenę sygnałową (część wewnątrzkomórkowa), która stymuluje proliferację limfocytów T, czy wydzielanie cytokin w celu wyeliminowania komórki docelowej (Karwicka i in., 2020).

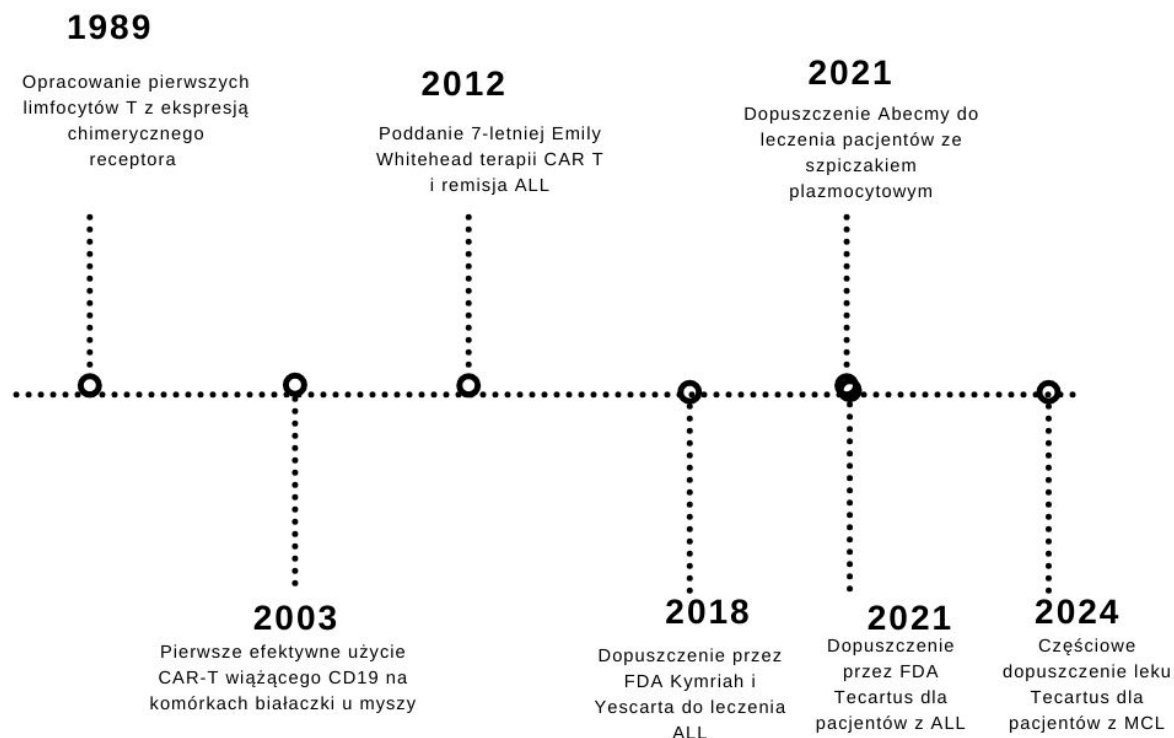
Terapia CAR-T jest obecnie dostępna na rynku farmaceutycznym jedynie dla pacjentów z wybranymi nowotworami układu krwiotwórczego i chłonnego, u których pierwsza i druga linia leczenia chemioterapią zawiodły (Styczyński, 2020). Pierwsze na świecie badania kliniczne nad skutecznością CAR-T odbyły się na pacjentach z ALL (ostre białaczki limfoblastyczne) i CLL (przewlekłe białaczki limfocytowe). Jedną z pacjentek była 7-letnia wówczas Emily Whitehead, chora na ALL. Terapia CAR-T zastosowana w roku 2012 u Emily zawierała lek w postaci CAR-T-anty-CD19. Zmodyfikowane limfocyty były zdolne do rozpoznania komórek nowotworowych ekspresyjujących te właśnie antygeny. Terapia okazała się skuteczna (Styczyński, 2020). Leczenie CAR-T daje remisję u kilkudziesięciu % pacjentów [4]. Nie jest to

terapia całkowicie wolna od skutków ubocznych. Do najczęstszych należy tzw. syndrom uwolnienia cytokin (*ang. CRS, cytokine release syndrom*) o różnym natężeniu u pacjentów (Gil i in., 2020).

W 2018 roku FDA (*ang. Food Drug Administration*) zaaprobowła dwa leki CAR-T o nazwie handlowej Kymriah i Yescarta (Styczyński, 2020). Oba leki posiadają CAR-T-anty-CD19. Od 2018 roku na rynku farmaceutycznym pojawiają się kolejne leki z określonymi wskazaniami medycznymi. Przykładem jest Tecartus jako lek również anty-CD19, a także Abecma będąca lekiem skierowanym przeciwko antygenowi BCMA (*ang. B-cell maturation antigen*) [5]. Warto wspomnieć o działaniach mających na celu zwiększenie skuteczności, a także bezpieczeństwa konstruktów CAR-T np. poprzez opracowywanie tzw. TRUCKs (*ang. T cells re-directed for universal cytokine killing*), reprezentujących

4 generację CAR-T, czy CAR-T 3 generacji z genem samobójczym, co ma łagodzić negatywne skutki leku u pacjenta, o których wcześniej wspomniano (Karwicka i in., 2020). Gotowość naukowców do opracowania i pozyskania tak skomplikowanych konstruktów CAR czyni tę terapię wręcz kosmiczną, czyli wielką i będącą wytworem niezwykłych osiągnięć naukowych.

Najważniejsze momenty w historii opracowania i badań nad CAR-T przedstawia Ryc. 4. Na jej podstawie widać, iż terapia ta jest ciągle udoskonalana i zwiększa się liczba możliwych zastosowań tej terapii poprzez nowe rejestracje leków, po zakończonych badaniach klinicznych. Warto dodać, iż w Polsce pierwszy pacjent otrzymał terapię CAR-T w roku 2019. Miało to miejsce w Poznaniu, a lekarzem nadzorującym była profesor Lidia Gil [4].



Ryc. 4. Oś czasu z najważniejszymi wydarzeniami w kontekście CAR-T (na podstawie Styczyński, 2020, zmienione). CAR-T- chimeric antigen receptor T cells, ALL- ostra białaczka limfoblastyczna, TRUCKs- *T cells redirected for universal cytokine killing*, CD19- antygen różnicowania komórkowego 19, MCL- chłoniak z komórek płaszczka

Nie tylko nowotwory układu krwiotwórczego, czy chłonnego mogą być wskazaniem do leczenia za pomocą terapii CAR-T. Od kilku lat prowadzone są intensywne badania nad możliwością zastosowania tej strategii w nowotworach litych. Jednak ze względu na heterogenność tych nowotworów i złożoność budowy guzów, naukowcy napotykają liczne przeszkody i utrudnienia (Masoumi i in., 2021). Problematiczny jest m.in. gęsty wielopostaciowy ze względu na specyficzną barierę mechaniczną jaką jest bariera krew-mózg, utrudniająca dotarcie leku w postaci komórek CAR-T (Lin i in., 2022). W przypadku nowotworów litych przeszkodami są różne składniki mikrośrodowiska. W jego skład wchodzi komórki tkanki łącznej, tworzące podścielisko łącznotkankowe przekazujące proliferującym komórkom nowotworowym składniki odżywcze. Istotny udział w mikrośrodowisku mają również komórki immunologiczne, których liczba i skład determinuje wspomniany wcześniej profil immunologiczny nowotworów. Wreszcie naczynia krwionośne i limfatyczne obecne w guzie także mogą stanowić przeszkodę, gdyż ich struktura nie jest prawidłowa, a przepływ krwi, czy limfy spowolniony (Johnson i in., 2022).

W kontekście nowotworów litych, próby opracowania leku w postaci CAR-T skupiają się często na celu jakim są antygeny (markery) macierzystych komórek nowotworowych (CSCs). Komórki te mają cechy podobne do zdrowych, „zwykłych” komórek macierzystych (zdolność do samoodnowy), ale mają też cechy, dzięki którym wykazują zdecydowanie większą plastyczność niż zdrowe komórki macierzyste. CSCs są plastyczne zarówno metabolicznie, jak i fenotypowo, a w efekcie odporne na leczenie (Knopik-Skrocka i in., 2024). Plastyczność jest wynikiem zarówno mutacji, jak i licznych zmian epigenetycznych w tych komórkach. Przykładem markerów, które próbuje się wykorzystać jako cel dla CAR-T są CD133, CD44,

CD166, czy CD117 (Masoumi i in., 2021, Karwicka i in., 2020, Knopik-Skrocka i in., 2023). Bardzo istotnym czynnikiem utrudniającym działanie leków CAR-T w nowotworach litych jest immunosupresja, w tym Tregs, które mogą hamować aktywność CAR-T podobnie jak aktywność Tcyt (Knopik-Skrocka i in., 2023).

Terapia CAR-T jest obecnie bodaj najbardziej dyskutowaną i badaną terapią przeciwnowotworową. Także w Polsce aktualnie realizowane są badania kliniczne. Ich celem nadrzędnym jest wypracowanie polskiego „know-how” dla modyfikowania genetycznego limfocytów T, bez konieczności wysyłania niezmiennych limfocytów do zagranicznych ośrodków, by tam dopiero podlegały modyfikacji. Z wielokrotnia to bowiem koszty całej procedury. Przykładem polskich badań klinicznych w tym zakresie mogą być działania w Regionalnym Centrum Krwiotawstwa i Krwiolécznictwa (RCKiK) w Poznaniu. Prof. dr hab. n. med. Anna Bogacz oraz dr n. med. Marta Bukowska z Pracowni Medycyny Spersonalizowanej i Terapii Komórkowej RCKiK we współpracy z Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu prowadzą badania kliniczne z zakresu rozwoju, optymalizacji strategii produkcji i aplikacji zmodyfikowanych genetycznie limfocytów T w hematologii [6]. Dzięki takim działaniom Polska ma szansę uniezależnić się od innych krajów w kontekście modyfikacji genetycznych limfocytów T. Wymienione powyżej badaczki zostały zaproszone na Wydział Biologii UAM (grudzień 2024) do ogłoszenia seminarium naukowego na temat prowadzonych przez nie badań w zakresie CAR-T. Takie spotkania stanowią doskonałą okazję, by nieco bliżej poznać i zadać pytania ekspertkom, które na co dzień realizują projekty naukowe nad innowacyjnymi rozwiązaniami w terapii nowotworowej.

Podsumowanie - co wiemy i dokąd powinniśmy zmierzać?

Dotychczasowy rozwój wiedzy z zakresu immunologii nowotworów i immunoterapii w bardzo istotny sposób przyczynił się do przełomu w leczeniu nowotworów. Zarówno strategie terapeutyczne oparte o ICIs, jak i ostatnie osiągnięcie w postaci terapii CAR-T można z całą pewnością uznać za kamienie milowe. Istnieje jednak jeszcze wiele przeszkód i ograniczeń w zakresie stosowania, skuteczności tych terapii, co wynika w dużej mierze ze złożoności oddziaływań między tymi lekami a organizmem pacjenta, dostępnością i aktywnością leku w guzie. Naprzeciw

wychodzą terapie kombinowane, w których stosuje się terapie celowane z chemo-, czy radioterapią. Jednym z założeń na przykład łączenia immunoterapii z radioterapią jest zwiększenie immunogenności mikrośrodowiska nowotworowego, przy równoczesnym aktywowaniu immunologicznych komórek efektorowych, takich jak Tcyt. To wydaje się dobrym kierunkiem działań. W centrum uwagi powinny być nie tylko komórki nowotworowe, ale również układ immunologiczny, tak by wszystkie jego elementy stały się sprzymierzeńcami w walce przeciw nowotworom. Główne przeszkody dla terapii przeciwnowotworowych, o których wspomniano w niniejszym artykule oraz potencjalne rozwiązania zebrano w tabeli 3.

Tabela 3. Przeszkody w terapiach oraz ich wpływ i potencjalne rozwiązania

Przeszkody dla terapii przeciwnowotworowych	Wpływ na organizm i leczenie pacjenta	Potencjalne rozwiązania problemów
niska selektywność chemioterapii	działanie na komórki chore i zdrowe; brak skuteczności wobec CSCs	terapię celowaną uderzającą w komórki z określonymi antygenami, receptorami
efekt obserwatora w radioterapii	śmierć komórek zdrowych w otoczeniu komórek nowotworowych	optymalizacja dawki promieniowania, naświetlanie punktowe - protonoterapia
angiogeneza nowotworowa	powstawanie nowotworowych naczyń krwionośnych o nieprawidłowej budowie, utrudniającej dotarcie leków do guza; udział naczyń w przerzutowaniu	użycie dostępnych leków w postaci inhibitorów czynników proangiogennych (np. anti-VEGF)
mikrośrodowisko nowotworowe	wpływ immunosupresyjny, niska ekspresja antygenów TSA, profil immunologiczny nowotworu cold, niska infiltracja CAR-T do guza	hamowanie aktywności komórek promujących nowotwór (np. Tregs, M2); łączenie immunoterapii z radioterapią; opracowanie leków nowych generacji np. TRUCKs w CAR-T;
wysoka ekspresja immunologicznych punktów kontrolnych np. PD-1, PD-L1, CTLA-4)	anergia CAR-T, niedojrzałość DC	zastosowanie przeciwciał monoklonalnych jako inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych (np. Nivolumab, Pembrolizumab)

Decydujące są zatem dalsze badania, których celem jest pełne zrozumienie biologii i immunologii nowotworów, poszukiwanie nowych, innowacyjnych podejść terapeutycznych, tak by możliwe było również wykorzystanie potencjału jakim jest prawidłowo działający układ immunologiczny. Zrealizowany proces tutorski pozwolił na uchylenie drzwi do tej niezwykle ciekawej, a zarazem złożonej tematyki, a jego owocem m.in. jest ten artykuł.

Literatura:

- Anand U., Dey A., Chandel A.K.S., Sanyal R., Mishra A., Pandey D.K., De Falco V. (2022). Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes Dis.* 18;10(4):1367-1401. doi: 10.1016/j.gendis.2022.02.007.
- Buchbinder E.I., Desai A. (2016). *CTLA-4 and PD-1 pathways: similarities, differences, and implications of their inhibition*, American J. Clin., 39(1), 2016, s. 98-106.
- Folkman J. Tumor angiogenesis. Therapeutic implications. *N Eng J Med* 1971; 285: 1182-1186.
- Gil. L., Łojko-Dankowska A., Matuszak M., Wache A., Nowicki A., Graduszevska A., Niezgodna A., Dytfeld D. (2020). CAR-T cell therapy – toxicity and its management. *Acta Hematol. Pol.* 51(1) 6–10, DOI: 10.2478/ahp-2020-0003.
- Grodzka A., Knopik-Skrocka A., Kowalska K., Kurzawa P., Krzyżaniak M., Stencel K., Bryl M. (2023). „Molecular Alterations of Driver Genes in Non-Small Cell Lung Cancer – from Diagnostics to Targeted Therapy”. *EXCLI Journal*; 22. DOI: 10.17179/EXCLI2023-6122.
- Hanahan D, Weinberg R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100 (1), 57-70. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
- Hanahan D, Weinberg R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144 (5), 646-74. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- Johnson A., Townsend M., O'Neill K. (2022). Tumor Microenvironment Immunosuppression: A Roadblock to CAR T-Cell Advancement in Solid Tumors. *Cells*. 16;11(22):3626. doi: 10.3390/cells11223626. PMID: 36429054; PMCID: PMC9688327.
- Karwicka K., Wawer J., Czabak O., Kocki J., Hus M. (2020). Innowacyjna terapia CAR-T w leczeniu nowotworów hematologicznych- wybrane aspekty genetyczne i immunologiczne. *Hematologia*; 11 (3), 166-182. DOI: 10.5603/Hem.a2020.0025.
- Kieraszińska A., Ciunowicz D., Węgierska M., Stoczyńska-Fidelus E., Rieske P. (2021). CAR-T therapy in oncology and other fields of medicine. *Alergologia Polska - Polish Journal of Allergology*; 8 (2) 77–91. DOI: 10.5114/pja.2021.106685.
- Knopik-Skrocka A., Jarmołowska-Jurczyszyn D., Kręplewska P. (2017). Tumor Blood Vessels and Vasculogenic Mimicry – Current Knowledge and Searching for New Cellular/Molecular Targets of Anti-Angiogenic Therapy. *Medical Journal of Cell Biology*; 5 (1) 50-71. DOI: 10.1515/acb-2017-0005.
- Knopik-Skrocka A., Kiedrowska M., Rusiecka B. (2023). Immunogenność nowotworów oraz ich supresyjny wpływ na komórki układu immunologicznego a immunoterapia- wyzwania i perspektywy. *Oczekiwania wobec nauk biomedycznych. Trendy, wyzwania i perspektywy*. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, s. 41-53. ISBN 978-83-67104-73-9.
- Knopik-Skrocka A., Sempowicz A., Piwocka O. (2024). Plasticity and resistance of cancer stem cells as a challenge for innovative anticancer therapies - do we know enough to overcome this? *EXCLI J.* Feb 29;23:335-355. doi: 10.17179/excli2024-6972. PMID: 38655094; PMCID: PMC11036066.
- Krawczyk P., Wojas-Krawczyk K. (2015). Monoclonal Antibodies against Immune

- Checkpoints in Immunotherapy of Cancer Patients. *Oncology in Clinical Practice*; 11 (2) 76–86.
- Li Y., Mashouf L. A., Lim M. (2022). CAR-T Cell Therapy in Primary Brain Tumors: Current Investigations and the Future. *Frontiers in Immunology*; 13, 817296. DOI:10.3389/fimmu.2022.817296.
- Lopes-Coelho F., Martins F., Pereira S.A., Serpa J. (2021). Anti-Angiogenic Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 5;22(7):3765. doi: 10.3390/ijms22073765. PMID: 33916438; PMCID: PMC8038573.
- Maleki Vareki S. (2018). High and low mutational burden tumors versus immunologically hot and cold tumors and response to immune checkpoint inhibitors. *J Immunother Cancer.* 27;6(1):157. doi: 10.1186/s40425-018-0479-7. PMID: 30587233; PMCID: PMC6307306.
- Marcinkiewicz J. (2023). Funkcje i organizacja układu immunologicznego. W: *Immunologia*, red. Bryniarski K., Siedlar M. Wydawnictwo Edra Urban & Partner, s. 1-8. ISBN 978-83-67447-35-5.
- Masoumi J., Jafarzadeh A., Abdolizadeh J., Khan H., Philippe J., Mirzaei H., Mirzaei H.R. (2021). Cancer stem cell-targeted chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy: Challenges nad prospects. *Acta Pharmaceutica Sinica B*; 11 (7) 1721-1739. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.12.015.
- Morańska K., Gwit M., Knopik-Skrocka A. (2021). Od edukacji spersonalizowanej do edukacji społecznej, czyli od pasji naukowej do studenckich projektów dotyczących nowotworów złośliwych. *Tutoring Gedanensis*, 6(1), 13-19. DOI:10.26881/tutg.2021.1.02.
- O'Sullivan É., Keogh A., Henderson B., Finn S.P., Gray S.G., Gately K. (2023). Treatment Strategies for KRAS-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* 7;15(6):1635. doi: 10.3390/cancers15061635. PMID: 36980522; PMCID: PMC10046549.
- Pecorino L. (2018). Onkogeny i przekazywanie sygnałów czynników wzrostu. Rozdział 4. [w:] *Biologia molekularna nowotworów w praktyce klinicznej*. Wydanie 4 polskie. Red. Dzięgiel P., Marszałek A., s. 83-113, Wrocław, Urban & Partner.
- Stencel K., Chmielewska I., Milanowski J., Ramlau R. (2021). Non-small-cell lung cancer: new rare targets-new targeted therapies-state of the art and future directions. *Cancers (Basel)* 13(8):1829. doi: 10.3390/cancers13081829.
- Styczyński J. (2020). A brief history of CAR-T cells: from laboratory to the bedside. *Acta Haematologica Polonica*; 51, 2–5. DOI: 10.2478/ahp-2020-0002.
- Tang H., Cai L., He X., Niu Z., Huang H., Hu W., Bian H., Huang H. (2023). Radiation-induced bystander effect and its clinical implications. *Front Oncol.* 5;13:1124412. doi: 10.3389/fonc.2023.1124412. PMID: 37091174; PMCID: PMC10113613.
- Tchorzewska M., Kowalik M., Kuliś A., Olejarz W. (2019). Mechanizmy prowadzące do angiogenezy w nowotworach. *Prospects in Pharmaceutical Sciences*; 17 (10) 60–65. DOI: 10.56782/ppps.20.
- Tormoen G.W., Crittenden M.R., Gough M.J. (2018). Role of the immunosuppressive microenvironment in immunotherapy. *Advanced in Radiation Oncology*, 3 (4), 520-526. DOI: 10.1016/j.adro.2018.08.018.
- Wagner, A.D. (2020). Sex differences in cancer chemotherapy effects, and why we need to reconsider BSA-based dosing of chemotherapy". *ESMO Open*; 5. DOI: 10.1136/esmoopen-2020-000770.
- Wang S., He Z., Wang X., Li H., Liu X.S. (2019). Antigen presentation and tumor immunogenicity in cancer immunotherapy response prediction. *Elife.* 26;8:e49020. doi: 10.7554/eLife.49020. PMID: 31767055; PMCID: PMC6879305.
- Xie N., Shen G., Gao W., Huang Z., Huang C., Fu L. (2023). Neoantigens: promising targets for cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther.* 6;8(1):9. doi:

10.1038/s41392-022-01270-x. PMID:
36604431; PMCID: PMC9816309.

Zhu S., Wang Y., Tang J., Cao M. (2022). Radiotherapy induced immunogenic cell death by remodeling tumor immune microenvironment. *Front. Immunol.* 13:1074477, DOI:10.3389/fimmu.2022.1074477.

Źródła internetowe:

- [1] „Godlewski x Morańska o ludziach”, 2020. Odcinek 1 cyklu wywiadów podcastowych „Skarby w dłoń” [online], https://open.spotify.com/episode/4qbthKLq8lll5qBr9FreyB?si=ghWYELGfSQ2LuFhCcy2d_Q [Dostęp 19.02.2025].
- [2] Knopik-Skrocka x Gwit „ Co w laboratorium piszczy?”, 2020. Odcinek 5 cyklu wywiadów podcastowych „Skarby w dłoń” [online], <https://open.spotify.com/episode/5PzFRIResDA8BVFONyHkCw> [Dostęp 19.02.2025].
- [3] Blokada punktów kontrolnych układu odpornościowego, 2018, <https://immuno-onkologia.pl/blokada-punktow-kontrolnych-ukladu-odpornosciowego/> [Dostęp 19.02.2025].
- [4] Gil L. Wykład podczas XII Międzynarodowej Konferencji Współczesnej Onkologii [online], <https://www.termedia.pl/onkologia/Prof-Lidia-Gil-o-polskich-doswiadczeniach-w-stosowaniu-CAR-T,41821.html> [Dostęp 19.02.2025].
- [5] Abecma (idecabtagene vicleucel) w leczeniu szpiczaka mnogiego, 2021. *Immuno-onkologia* [online], <https://immuno-onkologia.pl/abecma-idecabtagene-vicleucel-szpiczak-mnogi/> [Dostęp 19.02.2025].
- [6] Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu – badania kliniczne <https://www.rckik.poznan.pl/agencja-badan-medycznych> [Dostęp 19.02.2025].

Notka o autorkach: *Julia Pietrzak* – studentka II roku studiów I stopnia kierunku *Biologia na WB UAM w Poznaniu*, uczestnicząca w procesie tutorskim w roku akademickim 2023–24. *Zainteresowania naukowe skupiają się wokół biologii molekularnej, procesów nowotworzenia i najnowszych terapii nowotworowych.*

Agnieszka Knopik-Skrocka, dr, prof. UAM, tutor, akredytowany praktyk tutoring, opiekun naukowy sekcji *Biologii Nowotworów i Onkologii Klinicznej*, pełnomocnik *Dziekana WB ds. tutoring i mentoringu na WB*, członek *Rady ds. tutoring i mentoringu WB*.

Mikrobiota człowieka jako czynnik modulujący rozwój nowotworów – mechanizmy interakcji i perspektywy terapeutyczne

Dominika Nowickow

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

E-mail: d.nowickow.759@studms.ug.edu.pl

tutor: dr hab. Katarzyna Węgrzyn

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Biologii Molekularnej

Słowa kluczowe: mikrobiota, kancerogenność, Helicobacter pylori, immunoterapia, składniki odżywcze

Wstęp

Od wielu milionów lat, bakterie stanowią najliczniejszą grupę organizmów żywych na Ziemi. Są one obecne wszędzie – w glebie, w powietrzu, w wodzie, a także wewnątrz organizmów żywych – w tym w nas. Można by powiedzieć, że w ludzkim organizmie wytworzył się „osobny świat”, do którego należą różnorodne mikroorganizmy – głównie bakterie, ale nie brakuje w nim też grzybów, pierwotniaków, archeonów (El-Sayed i in., 2021). W ludzkim organizmie znajdują się również wirusy, które nie są zaliczane do organizmów żywych. Populacja mikroorganizmów obecnych w danym środowisku to mikrobiota [1]. Istotnym pojęciem, często mylnym z mikrobiotą, jest mikrobiom. Mikro-

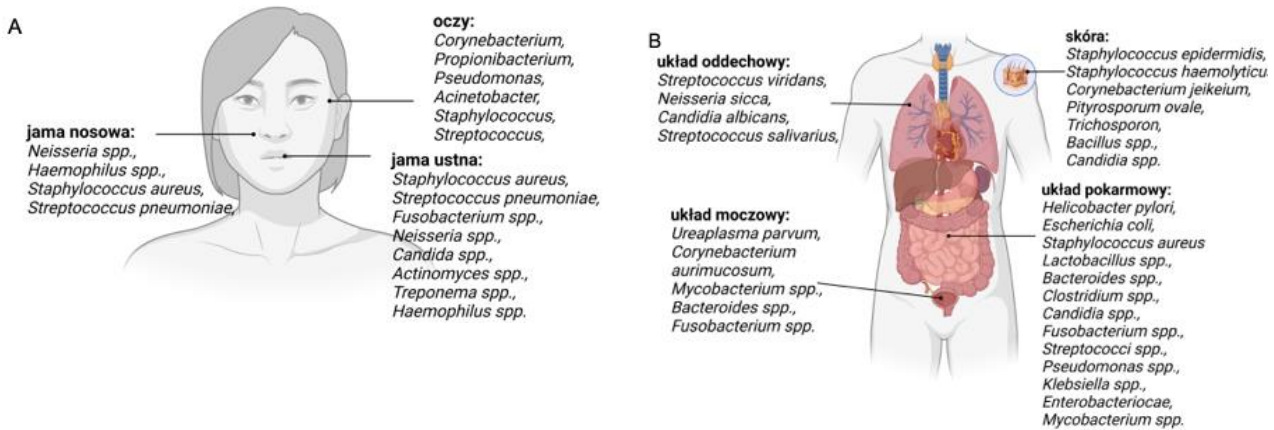
biom odnosi się do całkowitego zestawu genów mikroorganizmów obecnych w danym środowisku.

Nie od dziś wiadomo, że mikrobiota obecna wewnątrz nas, wpływa na nasze zdrowie i samopoczucie [1]. Jednak jak poznano jakie mikroorganizmy zamieszkują wnętrze ludzkiego ciała? W latach 90. XX wieku zaczęto korzystać z technik sekwencjonowania genomu, co pozwoliło na dokładniejsze poznanie świata mikroorganizmów obecnych w organizmie człowieka. Jednak momentem kluczowym w rozwoju nauki nad mikrobiotą ludzką było rozpoczęcie projektu HMP – Human Microbiome Project w 2008 roku (Peterson i in., 2009). Głównymi założeniami tego projektu były:

- identyfikacja i charakterystyka ludzkiego mikrobiomu,
- opracowanie referencyjnego zestawu sekwencji genomu drobnoustrojów,

- zbadanie związku między chorobami a zmianami w ludzkim mikrobiomie.

Dzięki HMP utworzono „mapę” mikrobioty zamieszkującej organizm człowieka (Ryc.1).



Ryc. 1. Schematy przedstawiające rozmieszczenie naturalnie występujących mikroorganizmów w organizmie człowieka (na podstawie: Prescott i in., 1999; Science Photo Library, b.d.; wykonano w programie BioRender)

Schematy przedstawione na Ryc. 1 ukazują główne gatunki bakterii zamieszkujące dane obszary ludzkiego organizmu. Może nasunąć się pytanie, skąd bakterie wzięły się wewnątrz ciała? Odpowiedź nie jest jednoznaczna i definitywna. Wiadome jest jednak, że ważną rolę w kolonizacji naszego organizmu przez bakterie odgrywa poród naturalny. Rodzące się dziecko, przechodząc przez drogi rodne kobiety, otrzymuje od niej zestaw pewnych bakterii. Podczas porodu poprzez cesarskie cięcie, dziecko natomiast nie otrzymuje od matki tych mikroorganizmów, przez co może być ono narażone na wystąpienie różnych chorób np. astmy [2]. Bakterie otrzymujemy też od matki, podczas karmienia piersią. Mikrobiom jelitowy zmienia się szybko w ciągu pierwszych lat życia, a stabilizuje się do czasu gdy osiągamy wiek około 3 lat. Część mikroorganizmów natomiast jest po prostu pobierana z otoczenia. Jednak należy pamiętać o tym, że nasz mikrobiom może zmieniać się przez całe życie w zależności od środowiska w jakim się znajdujemy, spożywanego pokarmu, poziomu

stresu, czy też rodzaju przyjmowanych leków. Mówi się, że na jedną komórkę ludzkiego organizmu przypada 1,3 komórki bakterii. Liczba komórek bakterii w nas jest zatem ogromna i wynosi blisko 40 bilionów (Sender i in., 2016). Zaburzenie składu mikroflory w organizmie może prowadzić do wielu chorób oraz może wpływać na ogólne samopoczucie (Di Vincenzo i in., 2024). Dysbioza mikroflory, czyli stan zaburzenia równowagi mikrobiologicznej w organizmie, ma też znaczenie w przebiegu chorób już istniejących. Przede wszystkim dobra znajomość mikrobiomu człowieka otworzyła drzwi do poprawionej diagnostyki chorób oraz ich leczenia. Manipulacje mikroorganizmami to jest np. przeszczep kału, suplementacja probiotyków, mogą znajdować zastosowanie w leczeniu chorób nowotworowych i monitorowaniu ich przebiegu. Oczywiście badania nad wpływem mikroorganizmów na powstanie i przebieg nowotworu ciągle trwają i nie możemy kategorycznie stwierdzić, czy obecność danego mikrobu wywoła chorobę czy też nie. Niemniej jednak Międzynarodowa

Agencja Badań nad Rakiem (IARC) ustanowiła podział substancji i czynników rakotwórczych na cztery grupy (de Martel i in., 2020). Do grupy 1 należą substancje, które są rakotwórcze dla ludzi. Wśród nich znalazło się aż 8 mikroorganizmów, wirusów lub przywr, bytujących wewnątrz organizmu ludzkiego. Mikroorganizmem należącym do grupy 1 jest *Helicobacter pylori*. Natomiast wirusy grupy 1 to: wirus Epsteina-Barra, HBV, HCV, HIV-1, HPV, HTLV, wirus mięsaka Kaposiego.

Mechanizm powstawania nowotworów i czynniki wirulencji mikroorganizmów

Mechanizm kancerogenezy jest wysoce skomplikowany i wpływa na niego wiele czynników. Czynniki te mogą być zarówno genetyczne jak i środowiskowe. Ogólny proces powstawania nowotworu można podzielić na trzy główne etapy [3]. Pierwszym z nich jest inicjacja, podczas której dochodzi do zmian w materiale genetycznym, na skutek działania czynników zewnętrznych takich jak np. promieniowanie UV, wpływ substancji chemicznych lub czynników wewnętrznych np. błędów podczas replikacji DNA. Kolejnym etapem jest promocja. Aby doszło do rozwoju nowotworu, mutacjom muszą towarzyszyć zmiany inicjujące podziały i wzrost komórek. Takie zmiany to np. przewlekły stan zapalny obecny w organizmie. Ostatnim, trzecim etapem niezbędnym do powstania nowotworu jest progresja. Etap ten obejmuje zachodzenie kolejnych mutacji w stale dzielących się komórkach oraz powstawanie naczyń krwionośnych wokół komórek zmienionych nowotworowo – w celu dostarczenia do nich składników odżywczych [3].

Większość zdrowych komórek budujących organizm znajduje się w fazie G0 cyklu komórkowego – są aktywne metabolicznie, ale nie dzielą się (Randy Y. C. Poon, 2015). Kiedy jednak dojdzie do zmiany inicjującej

nowotwór, cykl komórkowy zostaje aktywowany i komórki dotknięte zmianą zaczynają przechodzić przez jego kolejne fazy. Dochodzi wtedy do replikacji materiału genetycznego i proliferacji. Cykl komórkowy jest regulowany przez wiele białek. Jeżeli dojdzie do mutacji w genie kodującym białka regulatorowe cyklu, może on zostać zaburzony i komórka może ulegać niekontrolowanym podziałom. Istotną cechą komórek nowotworowych jest to, że posiadają one aktywną telomerazę (Buseman i in., 2012). Jest to enzym który pełni funkcję odbudowy końcowych sekwencji chromosomów (telomerów) podczas replikacji DNA. Komórki nienowotworowe mają określoną liczbę podziałów (limit Hayflick'a) i wynosi ona około 50-60 podziałów na komórkę. Dzięki aktywnej telomerazie chromosomy komórek nowotworowych są odbudowywane przez co komórki te mogą stale proliferować. Umożliwia to nieśmiertelność replikacyjną komórek nowotworowych, co stanowi jedną z cech charakterystycznych nowotworu (Hanahan & Weinberg, 2011). Wyróżniamy 14 cech charakterystycznych nowotworu, tzw. hallmarks of cancer. Jedną z nich jest wyżej wspomniana nieśmiertelność replikacyjna. Ponadto wśród cech charakterystycznych nowotworu można wyróżnić na przykład: indukcję stanu zapalnego promującego nowotwory, aktywację inwazji i tworzenia przerzutów, indukcję angiogenezy, niestabilność genomu i mutacje, odporność na proces śmierci komórkowej, deregulację energetyki komórki, unikanie supresorów wzrostu, sygnalizację podtrzymywania proliferacji oraz unikanie odpowiedzi immunologicznej ze strony komórek gospodarza (Hanahan i Weinberg, 2011).

Związek bakterii z nowotworami może dotyczyć ich bezpośredniego udziału w procesach rozwoju choroby. Bakterie mogą być też przyczyną infekcji wtórnej na skutek osłabionego układu odpornościowego osoby dotkniętej chorobą nowotworową (Ray i in., 2023). Bakterie chorobotwórcze posiadają

zdolność wywołania infekcji w organizmie gospodarza, dzięki czynnikom wirulencji. Są to specyficzne właściwości lub produkty wytwarzane przez mikroorganizmy. Przykładowe czynniki wirulencji mikroorganizmów to:

- bezpośrednie wydzielanie toksyn,
- stymulacja zapalna komórek układu odpornościowego,
- wpływ na komórki nabłonkowe (adhezja, zaburzenia integralności tkanki),
- zaburzenie sygnalizacji wewnątrzkomórkowej.

Przykładem bakterii wydzielającej toksynę, powiązaną z rozwojem nowotworu, jest *Helicobacter pylori*. Mikroorganizm ten odgrywa ważną rolę w przypadku nowotworu żołądka. Bakterie chorobotwórcze mają też zdolność do ukrywania się przed układem odpornościowym człowieka – jak np. *Mycobacterium tuberculosis*. Prątek gruźlicy posiada na swojej powierzchni kwasy mykolowe i mykozydy, które uniemożliwiają rozpoznanie tych bakterii przez makrofagi. Należy pamiętać, że nie zawsze w wyniku wydzielania pewnej substancji przez bakterie, dochodzi do powstania stanu zapalnego i rozwoju choroby. Przykładowo *Staphylococcus epidermidis* wydziela związek, który może nawet hamować proliferację komórek nowotworowych – a więc może chronić to organizm człowieka przed rozwojem nowotworu (Woo i in., 2022).

Helicobacter pylori – cichy zabójca w żołądku. Związek bakterii z nowotworem żołądka

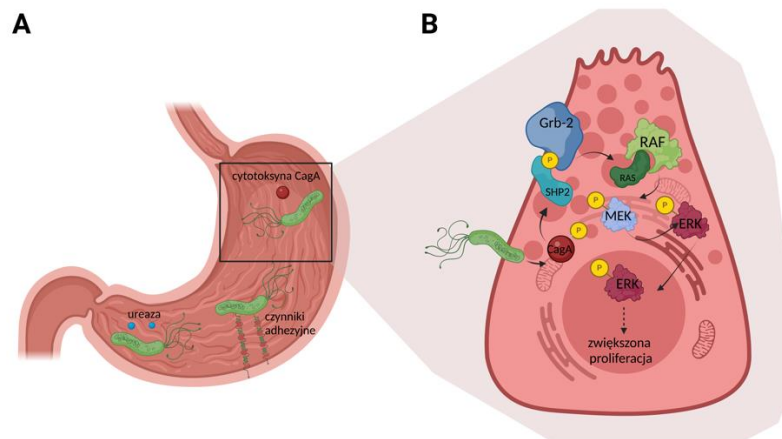
Helicobacter pylori jest gram-ujemną bakterią zaliczaną do pałeczek, która posiada kilka wici (Matsunaga, 2018). Według IARC *H. pylori* jest zaliczany do organizmów kancero-

gennych. *H. pylori* u ludzi zasiedla powierzchnię komórek nabłonkowych błony śluzowej części przedodźwiernikowej żołądka, dwunastnicę i rzadziej błonę wyścielającą przełyk. Obecność *H. pylori* w organizmie zwiększa ryzyko wystąpienia wrzodów trawiennych, czy zapalenia żołądka typu B – które może prowadzić np. do powstania nowotworu. Związek pomiędzy zakażeniem *H. pylori*, a rozwojem raka żołądka został dobrze zbadany. W krajach rozwiniętych częstość występowania infekcji waha się od 25% do 50% (Waleed Aziz i in., 2019). *H. pylori* odpowiada za ponad 60% przypadków nowotworu żołądka.

Jak przebiega infekcja H. pylori?

W żołądku panuje kwaśne pH, które nie jest sprzyjającym środowiskiem do życia dla *H. pylori*. (Dzierżanowska, 2008). Mikroorganizm ten przystosował się jednak do życia w niskim pH, dzięki wytwarzaniu ureazy – enzymu rozkładającego mocznik do amoniaku i dwutlenku węgla. Powstający amoniak neutralizuje kwaśne pH dzięki czemu bakteria jest zdolna do życia w środowisku kwasowym (Ryc. 2) *H. pylori* wiąże się do komórek nabłonkowych żołądka za pomocą czynników adhezyjnych takich jak np. BabA, SabA, OipA, AlpA, AlpB (Ryc. 2), (Fagoonee i Pellicano, 2019). Adhezja jest kluczowym etapem pozwalającym na dalszą kolonizację żołądka przez bakterię. Jedną z toksyn wydzielanych przez *H. pylori* jest cytotoksyna CagA (Ryc. 2) (Espinoza i in., 2018). Po jej wnikięciu do wnętrza komórki gospodarza, CagA może ulec fosforylacji (Maleki Kakelar i in., 2019).

Tak ufosforylowane CagA może oddziaływać z białkami komórki gospodarza, co zakłóca sygnalizację komórkową. Zakłócona sygnalizacja komórkowa może prowadzić do silnej odpowiedzi zapalnej. Komórki nabłonka żołądka zaczynają wówczas produkować cytokiny prozapalne, które przycią-



Ryc. 2A. Czynniki wirulencji *H. pylori* – wydzielanie ureazy, czynniki adhezyjne za pomocą których bakteria przyłącza się do komórek żołądka, wydzielanie cytotoksyny CagA.

2B: Schemat przedstawiający przebieg reakcji w komórce pod wpływem ufosforylowanej cytotoksyny CagA, wydzielonej przez *H. pylori*. Cytotoksyna CagA po fosforylacji oddziałuje z białkiem SHP2 związanym z Grb-2, co następnie aktywuje szlak RAS/MEK/ERK. Aktywne ERK (ufosforylowane) wnika do jądra i oddziałuje tam na czynniki transkrypcyjne, odpowiedzialne za indukcję ekspresji genów, które odpowiadają za proliferację komórki

(na podstawie Mimuro i in., 2002; wykonano w programie BioRender)

gają do miejsca infekcji komórki układu odpornościowego (neutrofile, makrofagi, limfocyty). Ufosforylowana CagA może również oddziaływać z białkiem SHP2 związanym z Grb-2, co powoduje aktywację szlaku Ras/MEK/ERK (Ryc. 2). Aktywny szlak Ras/MEK/ERK prowadzi do nadmiernej proliferacji komórek (Mimuro i in., 2002). Końcowym skutkiem wszystkich zachodzących reakcji jest zwiększona proliferacja komórek o zaburzonej sygnalizacji komórkowej. To z kolei może prowadzić do powstania komórek zmienionych nowotworowo. W komórce gospodarza może znajdować się również CagA, który nie uległ fosforylacji (Zhang i in., 2017). Takie nieufosforylowane białko może oddziaływać ze związkami z grupy kadheryn.

Kadheryny to białka, które uczestniczą w oddziaływaniach między komórkami, umożliwiają przyleganie komórek do siebie. Oddziaływanie CagA z kadherynami może zaburzyć więc integralność komórek w tkance oraz sygnalizację między komórkami.

H. pylori produkuje również cytotoksynę wakualizującą VacA. VacA jest białkiem zbudowanym z dwóch domen: p33 i p55 (Fahimi i in., 2018). Domena p55 jest odpowiedzialna za wiązanie białka z receptorami na powierzchni komórek. Natomiast domena p33 tworzy kanał zbudowany z sześciu podjednostek. Białko VacA może mieć różny wpływ na komórki gospodarza (Chauhan i in., 2019). Może ono powodować zmiany w przepuszczalności błon komórkowych, zakłócenia w sygnalizacji komórkowej oraz wakuolizację

komórek. Wakuolizacja komórek polega na osmotycznym pęcznieniu komórek, co w konsekwencji może nawet doprowadzić do ich pęknięcia.

H. pylori posiada białka na swojej zewnętrznej błonie. Z badań wynika, że trzy z tych białek mają związek z nowotworem żołądka (Cover, 2016). Te białka to HomB, HopQ i HopH (OipA). Białko HopH powoduje zaburzenie sygnalizacji komórkowej, która prowadzi do indukcji ekspresji genów zapalnych. W trakcie stanu zapalnego wytwarzane są reaktywne formy tlenu (w celu zwalczania patogenów). Reaktywne formy tlenu mogą jednak niszczyć strukturę DNA, a to z kolei może stymulować powstawanie nowotworu (Kay i in., 2019). Białko HopQ wiąże się z antygenem obecnym na powierzchni komórki nabłonkowej żołądka i umożliwia transport toksyny CagA do jej wnętrza (Koniger, 2016). Wiązanie białka HomB z antygenami na powierzchni komórek nabłonkowych żołądka według badań związane jest prawdopodobnie z indukcją stanu zapalnego (Oleastro i in., 2008).

Związek mikroorganizmów żyjących w płucach z rozwojem nowotworu płuc

Przez długi czas w świecie naukowym uważano, że środowisko płuc jest środowiskiem sterylnym i nie zawiera w sobie mikroorganizmów (Yu i in., 2016). Pogląd ten był powszechnie głoszony, ponieważ badacze mieli trudności w hodowli mikroorganizmów specyficznych dla środowiska dolnych dróg oddechowych. Jak się później okazało, bakterie znajdujące się w płucach są trudno-kulturowane i do identyfikacji poszczególnych mikroorganizmów potrzebne były bardziej zaawansowane techniki (Zhao i Shen, 2010). Techniki te to np. sekwencjonowanie 16S RNA i PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy) - dopiero po ich rozwoju wykazano, że

w drogach oddechowych występują mikroorganizmy (Charlson i in., 2011). Co więcej dowiedziono, iż górne drogi oddechowe zawierają znacznie więcej mikrobów niż dolne drogi oddechowe. Jest to spowodowane szybszym usuwaniem bakterii z dolnych dróg oddechowych. Zapewniają to liczne mechanizmy fizjologiczne organizmu (Dickson i in., 2014). Dzięki temu dolne drogi oddechowe mogą efektywniej pełnić swoją funkcję, czyli przeprowadzać wymianę gazową. Główne gatunki bakterii zamieszkujące drogi oddechowe człowieka przedstawione są na rycinie 1.

Nowotwór płuc jest najbardziej rozpowszechnionym nowotworem i charakteryzuje się wysoką śmiertelnością wśród pacjentów. Rak płuc może być wywołany różnymi czynnikami np. czynnikami chemicznymi, infekcjami bakteryjnymi lub wirusowymi – mogą one prowadzić do bliznowacenia tkanki płuc i zwiększać ryzyko rozwoju nowotworu, przewlekłym stanem zapalnym (Kovaleva i in., 2019). Istnieją różne podtypy nowotworu płuc. Między sobą różnią się one np. występowaniem różnych mikroorganizmów. Przykładowo w nowotworze płaskonabłonkowym (SCLC w przypadku płuc, *Squamous cell lung cancer*) wykrywane są mikroorganizmy, których nie znajdziemy w przypadku gruczolakoraka, np. takie jak *Acidovorax*, *Klebsiella*, *Rhodofera*, *Comamonas* (Greathouse i in., 2018). Badania nad nowotworem płuc stanowią aktualnie wyzwanie dla medycyny. Dotychczas istnieje niewiele prac ukazujących bezpośredni wpływ obecności niektórych bakterii na rozwój choroby. Naukowcy przeprowadzili jednak serie badań z których wynikało, że pacjenci dotknięci nowotworem płuc wykazują inny mikrobiom niż pacjenci zdrowi (Morgan i Huttenhower, 2012). Główną różnicą była zwiększona liczba bakterii należących do gromad: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Acinobacteria*, *Bacteroides*, u pacjentów z nowotworem płuc. Sama zmiana w środowisku bakteryjnym płuc jest ważnym

indykatorem nowotworów złośliwych. Ostatnie badania wykazały różnice pomiędzy składem mikrobiomu u pacjentów z guzem łagodnym, a z guzem złośliwym. Aby wykazać te różnice badacze posłużyli się sekwencjonowaniem NGS (sekwencjonowanie nowej generacji) 16S RNA (Lee i in., 2016). Różnorodność mikrobioty płuc jest więc ważnym czynnikiem towarzyszącym nowotworom złośliwym. Wyróżniamy dwa rodzaje różnorodności – alfa i beta [4]. Różnorodność alfa mówi o tym ile i jakie gatunki znajdują się w próbce, natomiast różnorodność beta wykazuje jak różne są próbki wobec siebie. W przypadku nowotworu płuc różnorodność alfa znacznie spada, natomiast różnorodność beta nie różni się znacząco od pacjentów zdrowych (Yu i in., 2016). Wykazano też, że mikroorganizmy znajdujące się w płucach u osób dotkniętych nowotworem powodują powstanie przewlekłego stanu zapalnego. Stan zapalny jest związany ze stałym wydzielaniem czynników prozapalnych takich jak np. cytokiny. Czynniki te ułatwiają wzrost i rozprzestrzenianie się (przerzutowanie) guza. Przewlekły stan zapalny może zostać wywołany na przykład przez bakterię – *Mycobacterium tuberculosis* - prątek gruźlicy (Kovaleva i in., 2019). *M. tuberculosis* na swojej powierzchni zawiera kwasy mykolowe i unikatowe glikopeptydolipidy – mykozydy. Mykozydy zapobiegają rozpoznaniu komórek bakterii przez makrofagi. Gdy komórka *M. tuberculosis* zostanie rozpoznana i dojdzie do fagocytozy, bakteria może nadal (wewnątrz endosomu) kontynuować swoje funkcje życiowe. Przewlekły stan zapalny wywołany przez *M. tuberculosis* może prowadzić do rozwoju zwłóknienia tkanki w obrębie płuc. Natomiast zwłóknienie tkanki najczęściej prowadzi do rozwoju nowotworu. Badania histologiczne wykazały znaczny związek pomiędzy rozwojem nowotworu płuc, a zwłóknieniem wywołanym przez *M. tuberculosis* (Cukic, 2017). Z wywołaniem przewlekłego stanu zapalnego w płucach

związanych jest jeszcze wiele innych bakterii np. *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (Sethi i Murphy, 2001).

Związek mikrobiomu skóry z nowotworem skóry

Skóra jest największym narządem obecnym w organizmie człowieka, a jej powierzchnia wynosi od około 1,5 do 2 m². Jest to ważny komponent układu odporności nieswoistej. Można powiedzieć, że skóra jest pierwszą linią obrony organizmu (Grice i Segre, 2011). Stanowi fizyczną barierę przed patogenami, a warstwa rogowa naskórka zapobiega wnikaniu mikroorganizmów do wnętrza ciała. Na skórze znajduje się ogromna liczba mikroorganizmów. Dodatkowo skóra posiada zdolności regeneracyjne, które umożliwiają zasklepienie ran. Jest to ważny aspekt chroniący przed przewlekłym stanem zapalnym, który jest jednym z czynników rozwoju nowotworów.

Rak skóry dzieli się na dwa typy: czerniaka i nieczerniakowego raka skóry (NMSC). Czerniak złośliwy jest najbardziej śmiertelnym nowotworem wywodzącym się z melanocytów. Każdy czerniak jest nowotworem złośliwym. Najczęściej występujące, nieczerniakowe nowotwory to rak podstawnokomórkowy i rak płaskonabłonkowy. Charakterystyczną cechą tych nowotworów jest to, że rozwijają się one w górnych warstwach skóry [5]. Najczęściej znajdującą się na skórze bakterią jest *Staphylococcus epidermidis*. Jest to istotny mikroorganizm pod względem chociażby ochrony przed patogenami lub też rozprzestrzeniania się komórek nowotworowych u osób chorych na raka (Nakatsuji i in., 2018). Obecność *S. epidermidis* może hamować rozwój i namnażanie mikroorganizmów patogennych. Substancje wydzielane przez komórki (sekretom) *S. epidermidis* mogą hamować stan zapalny skóry poprzez aktywację limfocytów T regulatorowych. Ponadto niektóre szczepy

S. epidermidis mogą produkować 6-N-hydroksyaminopurynę. Związek ten jest inhibitorem polimerazy DNA - enzymu odpowiedzialnego za powielanie DNA (Nakatsuji i in., 2018). Inhibicja procesu replikacji DNA uniemożliwia podział komórkom, a co za tym idzie, komórki nowotworowe tracą zdolność do proliferacji i rozprzestrzeniania się. Co więcej naukowcy odkryli, że dożylne wstrzyknięcie 6-N-hydroksyaminopuryny, wytwarzanej przez *S. epidermidis* może hamować rozwój komórek zmienionych nowotworowo. To potwierdza ochronny wpływ *S. epidermidis*. W przypadku nowotworów skóry badacze odkryli związek między chorobą, a występowaniem *Staphylococcus aureus* (Kullander i in., 2009). Obecność *S. aureus* była zwiększona przede wszystkim wtedy, gdy organizm dotknięty był rogowaceniem słonecznym. Rogowacenie słoneczne to łuszczące się nawarstwienia rogowe o suchej i nierównej powierzchni, które są płaskie lub nieco wypukłe (James i in., 2020). Zmiany te powstają pod wpływem promieni UV działających na skórę. Rogowacenie słoneczne najczęściej występuje w częściach ciała najbardziej narażonych na działanie słońca (twarz, przedramiona...). Zmiany te mogą powodować przekształcenie się komórek zdrowych do komórek nowotworowych. W przypadku zmian skórnych wywołanych rogowaceniem słonecznym obserwuje się zwiększoną kolonizację tych obszarów przez *S. aureus* (Kullander i in., 2009). Należy pamiętać, że gdy bariera skórna nie jest naruszona, nie obserwuje się nadmiernej kolonizacji *S. aureus*, która mogłaby mieć znaczenie w procesach nowotworzenia. Zatem można powiedzieć, że obecność *S. aureus* ma związek z procesem kancerogenezy wywodzącego się z rogowacenia słonecznego. Nadmierną kolonizację skóry przez *S. aureus* obserwuje się też w przypadku zaburzonej bariery skórnej np. w wyniku blizn i ran (Kobayashi i in., 2015). Jednak czasem w przypadku choroby (raka

płaskonabłonkowego – SCC lub rogowacenia słonecznego) liczba danej bakterii zamieszkującej skórę może ulec zmniejszeniu. Tak dzieje się w przypadku *Cutibacterium* (Wood i in., 2018). Bakterie te zamieszkują najczęściej obszary skórne bogate w łój. Za przyczynę ich mniejszej liczebności podaje się fakt, że w przypadku rogowacenia słonecznego i SCC dochodzi do intensywnego łuszczenia skóry. Intensywne łuszczenie skóry powoduje zmniejszoną dostępność sebum. Zmniejszona liczebność *Cutibacterium* objawia się podwyższeniem pH skóry i zmniejszeniem jej wilgotności. Zatem bakterie odgrywają istotną rolę w procesach rozwoju nowotworów skórnych – pełnią funkcję ochronną (jak w przypadku *S. epidermidis*), jak i prokancerogenną (np. *S. aureus*). Można więc wysnuć wniosek, że badania nad naturalną mikrobiotą skóry mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia procesów kancerogenezy oraz mogą skutkować wydajniejszą terapią tych chorób.

Dieta a skład mikroflory jelitowej człowieka

Dieta, najprościej mówiąc jest sposobem odżywiania. Wyróżniamy cztery główne typy diet: podstawowa, alternatywna, terapeutyczna, doświadczalna (Gawęcki, 2011). Dieta podstawowa to sposób odżywiania powszechny w danej społeczności. Dieta alternatywna wyklucza spożywanie danej grupy produktów np. wegetarianizm. Dietę terapeutyczną stosuje się gdy z przyczyn zdrowotnych jest potrzeba rezygnacji z danych składników, dieta ta najczęściej ma uzasadnienie medyczne. Natomiast dieta doświadczalna to żywienie skomponowane specjalnie do prowadzenia badań naukowych. Badania nad zmianami żywienia wykazały, że zmiana diety np. wykluczenie produktów zwierzęcych, może zmienić skład mikrobioty w ciągu zaledwie 24h od momentu rozpoczęcia. Do stanu wyjściowego mikrobiota

wraca w ciągu około 48h od momentu zaprzestania stosowania danego żywienia (David i in., 2014). Ponadto zbadano, że dieta wysokotłuszczowa lub wysokocukrowa powoduje zaburzenia w równowadze składu mikroorganizmów przewodu pokarmowego w krótkim czasie. Podobnie działa ogólny

stres organizmu, czy stan zapalny (Earley i in., 2015). Do prawidłowego funkcjonowania nasz organizm wymaga dostarczania wraz z dietą pewnych niezbędnych składników odżywczych. Są to białka, tłuszcze, węglowodany, witaminy, minerały, błonnik.

Tabela 1. Wpływ poszczególnych związków dostarczanych wraz z pożywieniem na modyfikację mikrobioty jelitowej (na podstawie Singh i in., 2017)

Związek	<i>Bifidobacteria</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Clostridia</i>	<i>Lactobacilli</i>	Różnorodność mikrobiomu
Białka zwierzęce	–	–	↑	↑	Wzrost
Białka roślinne	↑	–	–	↑	Wzrost
Tłuszcze nasycone	↑	↑	–	↓	Brak danych
Tłuszcze nienasycone	↑	–	–	↑	Brak danych
Cukry strawne (laktoza)	↑	↓	↓	↑	Brak danych
Błonnik (prebiotyki)	↑	–	↓	↑	Wzrost
Probiotyki	↑	–	–	↑	Wzrost

↑- wzrost liczebności, ↓- spadek liczebności, „–” - brak danych

Białka

Badania nad wpływem białka w diecie na mikrobiotę przewodu pokarmowego sięgają już 1977 roku. Dalsze badania nad wpływem białka dostarczanego z pożywienia na skład mikrobioty wykorzystały przede wszystkim sekwencjonowanie 16S RNA. Różny typ białka ma inny wpływ na skład mikrobioty (David i in., 2014). Białko zwierzęce zwiększa ilość mikroorganizmów takich jak *Alistipes*, *Bilophila*, *Clostridia* (De Filippo i in., 2010).

Zmniejsza natomiast ilość *Roseburia*. Natomiast białko pochodzenia roślinnego (np. białko grochu) głównie zwiększa ilość bakterii *Lactobacilli* i *Bifidobacterium* (Romond i in., 1998). Zwiększona ilość tych bakterii skutkuje zwiększeniem ilości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) w przewodzie pokarmowym (Kim, 2014). Produkty uboczne przemian metabolicznych SCFA takie jak maślan, propionian lub octan, są źródłem energii dla komórek nabłonka jelitowego – dzięki

czemu można powiedzieć, że SCFA wzmacniają barierę śluzową jelit. Ponadto krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe i produkty ich przemian, wykazują silne działanie przeciwzapalne, które niezbędne jest do regeneracji komórek i utrzymania zdrowej bariery jelitowej

Tłuszcze

Powszechnie uważane jest, że dieta bogata w tłuszcze nasycone (takie, które organizm jest w stanie sam syntetyzować) i tłuszcze nienasycone trans (tłuszcze zawierające układ wiązania nienasyconego trans) prowadzi do zwiększenia prawdopodobieństwa wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych (Spady i in., 1993). Udowodniono, że dieta wysokotłuszczowa zwiększa liczbę mikroorganizmów beztlenowych i ogólnie liczbę bakterii. Czynnikiem istotnym w procesie kancerogenezy jest właśnie spożycie tłuszczów. Niektóre tłuszcze są metabolizowane przez bakterie flory jelitowej do rakotwórczych produktów ubocznych. Jednak tłuszcze takie jak np. oleje rybne, wielonasycone kwasy tłuszczowe omega-3, mogą chronić przed powstawaniem raka jelita grubego (Volpato i Hull, 2018). Kwasy tłuszczowe omega-3 mają właściwości przeciwzapalne. Istnieje coraz więcej dowodów na pozytywny wpływ kwasów omega-3 na leczenie nowotworu jelita grubego. Kwasy te np. indukują ścieżki proapoptotyczne komórek zmienionych nowotworowo.

Węglowodany

Cukry są najlepiej zbadaną grupą związków pod względem ich wpływu na modyfikacje mikrobiomu jelitowego. Sztuczne substancje słodzące np. sacharyna mogą być bardziej niezdrowe niż cukry pochodzenia naturalnego i mogą powodować znaczniejsze zmiany w mikrobiocie jelit. U myszy karmionych sacharyną zaobserwowano dysbiozę jelitową ze zwiększoną liczebnością *Bacteroides* i zmniejszoną liczebnością *Lactobacillus*

reuteri (Suez i in., 2014). Ważnym elementem diety jest błonnik (de Vrese M i Schreizeimer, 2008). Błonnik należy do węglowodanów niestrawnych, czyli takich, które nie są rozkładane enzymatycznie w jelicie cienkim. Trafiając do jelita grubego, błonnik ulega fermentacji przez mikroorganizmy bytujące w jelicie grubym. Mikroorganizmy wykorzystują więc błonnik, czego skutkiem jest dostarczenie gospodarzowi energii i źródła węgla (po rozkładzie błonnika). To sprawia, że błonnik zaliczany jest do tzw. prebiotyków, czyli niestrawnych składników żywnościowych, korzystnie wpływających na zdrowie gospodarza przez selektywną stymulację wzrostu mikroorganizmów lub aktywności niektórych z nich. Tabela 1 przedstawia wpływ danej grupy związków na mikrobiotę jelitową.

Probiotyki i prebiotyki

Prebiotyki to niestrawne substancje obecne w pożywieniu w celu stymulacji rozwoju prawidłowej flory bakteryjnej jelit. Do prebiotyków zaliczamy np. inulinę, oligofruktozę czy wielonienasycone kwasy tłuszczowe i wspomniany powyżej błonnik. [6]. Dobrym źródłem prebiotyków jest np. soja [7]. Natomiast probiotyki to wyselekcjonowane kultury bakterii lub drożdży, które podawane doustnie również stymulują rozwój prawidłowej flory bakteryjnej. Metabolity, produkowane przez bakterie probiotyczne, mogą wpływać szkodliwie na bakterie chorobotwórcze. Bakterie probiotyczne wydzielają np. kwasy organiczne, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe i bakteriocyny. Bakteriocyny to substancje o charakterze białkowym, które mogą powodować zahamowanie wzrostu innych bakterii lub doprowadzić do ich śmierci. Bakteriocyny produkowane przez bakterie probiotyczne są bezpieczne dla ludzi i nie wpływają negatywnie na organizm ludzki (Kumar Yadav i in., b.d.). Innym mechanizmem działania prebiotyków jest zwiększanie konkurencji na powierzchni komórek nabłonka jelit poprzez blokowanie miejsc przylegania patogenom.

To powoduje, że zmniejsza się ilość możliwych interakcji patogenów z komórkami gospodarza. Ponadto konkurencja występuje również w przypadku walki o dostępność składników odżywczych. Probiotyki mogą też przeprowadzać detoksykację czynników rakotwórczych, wytwarzanych przez drobnoustroje chorobotwórcze. Najbardziej znanymi bakteriami o właściwościach probiotycznych są bakterie rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Bogatymi w probiotyki produktami spożywczymi są wszelkie produkty fermentowane (ogórki kiszzone, kapusta kiszona) oraz jogurt naturalny, kefir czy maślanka. Produkty te są naturalnym siedliskiem bakterii probiotycznych (Kumar Yadav i in., b.d.). Według WHO probiotyki należą do jednego z wielu systemów obrony immunologicznej organizmu ludzkiego. Są one szczególnie istotne w leczeniu chorób jelit.

Znaczenie naturalnej mikrobioty człowieka w terapii przeciwnowotworowej

Do leczenia nowotworów możliwe jest zastosowanie różnych metod: operacja chirurgiczna (usunięcie guza), chemioterapia, radioterapia, immunoterapia oraz hormonoterapia [8]. Chemioterapia opiera się na używaniu syntetycznych związków chemicznych w celu zwalczania chorób nowotworowych (Janiec i Krupińska, 2002). Radioterapia natomiast w celu leczenia chorób nowotworowych wykorzystuje promieniowanie jonizujące. Promieniowanie jonizujące powoduje powstawanie uszkodzeń DNA komórek nowotworowych, które prowadzą do ich śmierci. Natomiast w przypadku hormonoterapii wykorzystuje się czynniki hormonalne, które poprzez zmianę środowiska hormonalnego, hamują wzrost nowotworów (Kordek, 2007). Terapia ta ma zastosowanie głównie w przypadku nowotworów hormonozależnych (np. raka jajnika, piersi, tarczycy, gru-

czołu krokowego). Natomiast immunoterapia opiera się przede wszystkim na wykorzystaniu modulacji odpowiedzi immunologicznej, przeciw powstającym komórkom nowotworowym. Głównym celem immunoterapii jest stymulacja układu odpornościowego osoby chorej do ataku komórek zmienionych nowotworowo. Powszechnie przyjmuje się, że progresja nowotworu zależy przede wszystkim od cech komórek nowotworowych oraz od mikrośrodowiska guza. W skład mikrośrodowiska guza wchodzi komórki odpornościowe (limfocyty T, limfocyty B, komórki NK, makrofagi, neutrofile, komórki dendrytyczne), komórki śródbłonka, fibroblasty, adipocyty, komórki gwiaździste oraz macierz zewnątrzkomórkowa i egzosomalny (Anderson i Simon, 2020).

Układ odpornościowy człowieka może eliminować wirusy onkogenne i patogeny, które wywołują przewlekły stan zapalny. Ponadto układ odpornościowy ma zdolność do rozpoznawania komórek nowotworowych i usuwania ich (Swann i Smyth, 2007). Podczas walki układu odpornościowego z chorobą, komórki nowotworowe przechodzą przez trzy fazy: fazę eliminacji, równowagi i ucieczki. Podczas fazy ucieczki układ odpornościowy traci kontrolę nad komórkami nowotworowymi, co prowadzi do ich zwiększonej proliferacji w wyniku czego powstają guzy i przerzuty (Ribatti, 2017). Dane wskazują, że mikroorganizmy znajdujące się w jelitach mają silny wpływ na skuteczność immunoterapii nowotworów (Hekmatshoar i in., 2019). Powszechnie stosowaną immunoterapią jest wykorzystywanie przeciwciał monoklonalnych: anty-PD-1 i anty-PD-L1. PD-1 jest białkiem receptorowym, programowanej śmierci komórki (Szczyrek i in., 2021). Występuje ono na komórkach T, B, NK i komórkach supresorowych pochodzenia mieloidalnego. Białko to ulega ekspresji w odpowiedzi na reakcję zapalną. Funkcją tego białka to ograniczenie aktywności limfocytów T (CD4-,

CD8+) oraz komórek NK – przez co dochodzi do tłumienia odpowiedzi immunologicznej. Aktywacja PD-1 jest regulowana przez jego interakcję z PD-L1, czyli ligandem zaprogramowanej śmierci. PD-L1 jest obecny na większości komórek, jednak ulega szczególnie silnej ekspresji na komórkach odpornościowych (Szczyrek i in., 2021). Ponadto, PD-L1 obecny jest na powierzchni komórek nowotworowych jak i w ich mikrośrodowisku, co umożliwia tym komórkom pozostanie w ukryciu przed układem odpornościowym gospodarza. Zablokowanie PD-1 lub PD-L1 zwiększa aktywację i ekspansję limfocytów. Mikrobiota jelitowa wpływa na działanie układu odpornościowego poprzez modulację odpowiedzi immunologicznej. Natomiast układ odpornościowy ma znaczący wpływ na skład mikrobioty jelitowej. Jest to więc zależność dwukierunkowa. Mikrobiom odgrywa istotną rolę w zwiększaniu lub zmniejszaniu skuteczności immunoterapii. Przykładowo, gdy zmniejszeniu ulega różnorodność i liczebność mikrobiomu jelitowego, spada liczba produkowanych cytokin prozapalnych (Bertrand i in., 2015). To skutkuje obniżeniem wydajności inicjacji reakcji zapalnej. Jednak inne badania wykazały znaczny wpływ mikrobioty jelitowej na skuteczność immunoterapii nowotworów, chemioterapii i radioterapii (Hekmatshoar i in., 2019). Mikrobiom jelitowy przyczynia się do rozwoju tkanek limfoidalnych – obwodowych węzłów chłonnych, śledziony oraz reguluje subpopulację limfocytów w narządach odpornościowych (Fessler i in., 2019). Rozwój tkanek limfoidalnych odnosi się do procesu powstawania, dojrzewania i organizacji struktur układu odpornościowego, odpowiedzialnych za produkcję i przechowywanie komórek odpornościowych. Prawidłowa mikrobiota jelitowa zapobiega kolonizacji przewodu pokarmowego przez patogeny, które mogłyby wywołać przewlekły stan zapalny. Mikrobiom może być wykorzystany do wspomaganie terapii przeciwnowotworowych (Buchta Rosean i in.,

2019). Bakterie mogą chociażby zmniejszać skutki uboczne chemioterapii, czy stan zapalny. Za zmniejszenie stanu zapalnego, który sprzyja rozwojowi nowotworów odpowiedzialne są np. SCFA (krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe) wytwarzane przez bakterie. Ponadto bakterie takie jak *Akkermansia muciniphila* mogą wspomagać terapię immunologiczną przeciwko nowotworom. *Akkermansia muciniphila* jest naturalnym składnikiem mikrobioty jelitowej (Collado i in., 2007). Bakteria ta odgrywa ważną rolę w utrzymaniu integralności bariery jelitowej. Jedną z głównych zalet terapii bakteryjnej w leczeniu raka jest jej zdolność do celowania konkretnie w tkanki nowotworowe. Przykładowo wykorzystuje się bakterie bezwzględnie beztlenowe – *Clostridium* i *Bifidobacterium* – które nie mogą przetrwać w środowisku zawierającym tlen. Ze względu na panujące warunki niedotlenienia w tkankach nowotworowych, które nie występują w większości narządów organizmu człowieka, wstrzyknięcie sporów bakterii spowoduje ich wzrost tylko w tkance nowotworowej. *Clostridium* spp. wytwarza toksyny, które mogą zaburzać strukturę błony komórkowej lub zakłócać funkcje wewnątrzkomórkowe komórek nowotworowych (Steadtke V i in., 2016). Ponadto bakterie rodzaju *Clostridium* mogą zabijać komórki nowotworowe poprzez indukowanie apoptozy lub autofagii. Toksyny i indukcja śmierci komórkowej nie są sprzyjającymi warunkami wzrostu dla komórek nowotworowych.

Literatura:

- Anderson, N. M., & Simon, M. C. (2020). The tumor microenvironment. W *Current Biology* (T. 30, Numer 16, s. R921–R925). Cell Press.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.081>
- Bertrand, A., Kostine, M., Barnetche, T., Truchetet, M. E., & Schaeffer, T. (2015).

- Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: Systematic review and meta-analysis. *BMC Medicine*, 13(1).
<https://doi.org/10.1186/s12916-015-0455-8>
- Buchta Rosean, C., Feng, T. Y., Azar, F. N., & Rutkowski, M. R. (2019). Impact of the microbiome on cancer progression and response to anti-cancer therapies. *W Advances in Cancer Research* (T. 143, s. 255–294). Academic Press Inc.
<https://doi.org/10.1016/bs.acr.2019.03.005>
- Buseman, C. M., Wright, W. E., & Shay, J. W. (2012). Is telomerase a viable target in cancer? *W Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* (T. 730, Numery 1–2, s. 90–97).
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.07.006>
- Charlson, E. S., Bittinger, K., Haas, A. R., Fitzgerald, A. S., Frank, I., Yadav, A., Bushman, F. D., & Collman, R. G. (2011). Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 184(8), 957–963.
<https://doi.org/10.1164/rccm.201104-0655OC>
- Chauhan, N., Tay, A. C. Y., Marshall, B. J., & Jain, U. (2019). Helicobacter pylori VacA, a distinct toxin exerts diverse functionalities in numerous cells: An overview. *W Helicobacter* (T. 24, Numer 1). Blackwell Publishing Ltd.
<https://doi.org/10.1111/hel.12544>
- Collado, M. C., Derrien, M., Isolauri, E., De Vos, W. M., & Salminen, S. (2007). Intestinal integrity and Akkermansia muciniphila, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(23), 7767–7770.
<https://doi.org/10.1128/AEM.01477-07>
- Cover, T. L. (2016). Helicobacter pylori diversity and gastric cancer risk. *W mBio* (T. 7, Numer 1). American Society for Microbiology.
<https://doi.org/10.1128/mBio.01869-15>
- Cukic, V. (2017). The Association Between Lung Carcinoma and Tuberculosis. *Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)*, 71(3), 212–214.
<https://doi.org/10.5455/medarh.2017.71.212-214>
- Danuta Dzierżanowska. (2008). *Antybiotykoterapia praktyczna*. Alfa-Medica Press. s. 307–309
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., & Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559–563.
<https://doi.org/10.1038/nature12820>
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(33), 14691–14696.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>
- de Martel, C., Georges, D., Bray, F., Ferlay, J., & Clifford, G. M. (2020). Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *The Lancet Global Health*, 8(2), e180–e190.
[https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30488-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30488-7)
- de Vrese M, & Schrezeimner J. (2008). Probiotics, prebiotics and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol*.
- Di Vincenzo, F., Del Gaudio, A., Petito, V., Lopetuso, L. R., & Scaldaferri, F. (2024). Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *W Internal and Emergency Medicine* (T. 19, Numer 2, s. 275–293). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.

- <https://doi.org/10.1007/s11739-023-03374-w>
- Dickson, R. P., Erb-Downward, J. R., & Huffnagle, G. B. (2014). Towards an ecology of the lung: New conceptual models of pulmonary microbiology and pneumonia pathogenesis. W *The Lancet Respiratory Medicine* (T. 2, Numer 3, s. 238–246). Lancet Publishing Group.
[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(14\)70028-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70028-1)
- Earley, Z. M., Akhtar, S., Green, S. J., Naqib, A., Khan, O., Cannon, A. R., Hammer, A. M., Morris, N. L., Li, X., Eberhardt, J. M., Gamelli, R. L., Kennedy, R. H., & Choudhry, M. A. (2015). Burn injury alters the intestinal microbiome and increases gut permeability and bacterial translocation. *PLoS ONE*, *10*(7).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129996>
- El-Sayed, A., Aleya, L., & Kamel, M. (b.d.). *Microbiota's role in health and diseases*.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-14593-z/>
- Espinoza JL, Matsumoto A, Tanaka H, & Matsmura I. (2018). Gastric microbiota: an emerging player in Helicobacter pylori-induced gastric malignancies. *Cancer Lett*.
- Fagoonee S, & Pellicano R. (2019). Helicobacter pylori: molecular basis for colonization and survival in gastric environment and resistance to antibiotics. *Infect Dis Ther.*, 399–408.
- Fahimi F, Sarhaddi S, Fouladi M, Samadi N, Sadeghi J, & Golchin A. (2018). Phage display-derived antibody fragments against con-served regions of VacA toxin of Helicobacter pylori. *Appl Microbiol Biotechnol*.
- Fessler, J., Matson, V., & Gajewski, T. F. (2019). Exploring the emerging role of the microbiome in cancer immunotherapy. W *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* (T. 7, Numer 1). BioMed Central Ltd.
<https://doi.org/10.1186/s40425-019-0574-4>
- Greathouse, K. L., White, J. R., Vargas, A. J., Bliskovsky, V. V., Beck, J. A., von Muhlinen, N., Polley, E. C., Bowman, E. D., Khan, M. A., Robles, A. I., Cooks, T., Ryan, B. M., Padgett, N., Dzutsev, A. H., Trinchieri, G., Pineda, M. A., Bilke, S., Meltzer, P. S., Hokenstad, A. N., ... Harris, C. C. (2018). Interaction between the microbiome and TP53 in human lung cancer. *Genome Biology*, *19*(1).
<https://doi.org/10.1186/s13059-018-1501-6>
- Grice, E. A., & Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. W *Nature Reviews Microbiology* (T. 9, Numer 4, s. 244–253).
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2537>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. W *Cell* (T. 144, Numer 5, s. 646–674).
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hekmatshoar, Y., Rahbar Saadat, Y., Hosseiniyan Khatibi, S. M., Ozkan, T., Zununi Vahed, F., Nariman-Saleh-Fam, Z., Pourghassem Gargari, B., Sunguroglu, A., & Zununi Vahed, S. (2019). The impact of tumor and gut microbiotas on cancer therapy: Beneficial or detrimental? W *Life Sciences* (T. 233). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116680>
- Jan Gawęcki. (2011). *Żywnieie Człowieka*. Polskie Wydawnictwo Naukowe.
- Kay, J., Thadhani, E., Samson, L., & Engelward, B. (2019). Inflammation-induced DNA damage, mutations and cancer. W *DNA Repair* (T. 83). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102673>
- Kim, C. H. (2014). Regulation of T Cells by SCFAs. W *IMMUNE NETWORK* (T. 14, Numer 6).
- Kobayashi, T., Glatz, M., Horiuchi, K., Kawasaki, H., Akiyama, H., Kaplan, D. H., Kong, H. H., Amagai, M., & Nagao, K. (2015). Dysbiosis and Staphylococcus aureus Colonization Drives Inflammation in Atopic Dermatitis. *Immunity*, *42*(4), 756–766.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.03.014>

- Koniger V. (2016). *Helicobacter pylori* exploits human CEACAMs via HopQ for adherence and translocation of CagA. *Nat Microbiol.*
- Kovaleva, O. V., Romashin, D., Zborovskaya, I. B., Davydov, M. M., Shogenov, M. S., & Gratchev, A. (2019). Human Lung Microbiome on the Way to Cancer. *W Journal of immunology research* (T. 2019, s. 1394191). NLM (Medline).
<https://doi.org/10.1155/2019/1394191>
- Kullander, J., Forslund, O., & Dillner, J. (2009). *Staphylococcus aureus* and squamous cell carcinoma of the skin. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 18(2), 472–478.
<https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0905>
- Kumar Yadav, M., Kumari, I., Singh, B., Kant Sharma, K., & Kumar Tiwari, S. (b.d.). *MINI-REVIEW Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics.*
<https://doi.org/10.1007/s00253-021-11646-8>
- Lee S. H., Sung Y, & Yong D. (2016). Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung Cancer.*
- Maleki Kakelar, H., Barzegari, A., Dehghani, J., Hanifian, S., Saeedi, N., Barar, J., & Omid, Y. (2019). Pathogenicity of *Helicobacter pylori* in cancer development and impacts of vaccination. *W Gastric Cancer* (T. 22, Numer 1, s. 23–36). Springer Tokyo.
<https://doi.org/10.1007/s10120-018-0867-1>
- Matsunaga S. (2018). Alternations in metabolic pathways in gastric epithelial cells infected with *Helicobacter pylori*. *Microb Pathog.*
- Mimuro, H., Suzuki, T., Tanaka, J., Asahi, M., Haas, R., & Sasakawa, C. (2002). Grb2 Is a Key Mediator of *Helicobacter pylori* CagA Protein Activities The intracellular CagA has been shown to undergo tyrosine (Tyr) phos. *W Molecular Cell* (T. 10).
- Morgan, X. C., & Huttenhower, C. (2012). Chapter 12: Human Microbiome Analysis. *PLoS Computational Biology*, 8(12).
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002808>
- Nakatsuji, T., Chen, T. H., Butcher, A. M., Trzoss, L. L., Nam, S.-J., Shirakawa, K. T., Zhou, W., Oh, J., Otto, M., Fenical, W., & Gallo, R. L. (2018). *HEALTH AND MEDICINE A commensal strain of Staphylococcus epidermidis protects against skin neoplasia.*
- Oleastro M, Cordeiro R, Ferrand J, Nunes B, Lehours P, & Carvalho-Oliviera I. (2008). Evaluation of the clinical significance of HomB a novel candidate marker of *Helicobacter pylori* strains associated with peptic ulcer disease. *J Infect Dis.*
- Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., Bonazzi, V., McEwen, J. E., Wetterstrand, K. A., Deal, C., Baker, C. C., Di Francesco, V., Howcroft, T. K., Karp, R. W., Lunsford, R. D., Wellington, C. R., Belachew, T., Wright, M., Giblin, C., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323.
<https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- Prescott i in. (1999). *Microbiology 4E*. McGraw-Hill.
- Radziśław Kordek. (2007). *Onkologia. Podręcznik dla studentów i lekarzy*. VIA MEDICA. s. 96
- Randy Y. C. Poon. (2015). Cell cycle control. *Module in Biomedical Sciences.*
- Ray, A., Moore, T. F., Pandit, R., Burke, A. D., & Borsch, D. M. (2023). An Overview of Selected Bacterial Infections in Cancer, Their Virulence Factors, and Some Aspects of Infection Management. *W Biology* (T. 12, Numer 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/biology12070963>
- Ribatti, D. (2017). Oncotarget 7175 www.impactjournals.com/oncotarget The con-

- cept of immune surveillance against tumors: The first theories. W *Oncotarget* (T. 8, Numer 4). www.impactjournals.com/oncotarget/
- Romond M. B., Ais A, Guillemot F, Bounouader R, Cortor A, & Romond C. (1998). Cell-free whey from milk fermented with *Bifidobacterium breve* C50 used to modify the colonic microflora of healthy subjects. *J Dairy Sci*.
- Science Photo Library. (b.d.). *Human Microbiome Poster*.
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biology*, 14(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Sethi, S., & Murphy, T. F. (2001). Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease in 2000: A state-of-the-art review. W *Clinical Microbiology Reviews* (T. 14, Numer 2, s. 336–363). <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.336-363.2001>
- Singh, R. K., Chang, H. W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., Abrouk, M., Farahnik, B., Nakamura, M., Zhu, T. H., Bhutani, T., & Liao, W. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. W *Journal of Translational Medicine* (T. 15, Numer 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1175-y>
- Spady D. K, Woollett L. A, & Dietschy J. M. (1993). Regulation of plasma LDL-cholesterol levels by dietary cholesterol and fatty acids. *Annu Rev Nutr*.
- Steadtke V, Roberts N. J., Bai R. Y., & Zhou S. (2016). Clostridium novyi-NT in cancer therapy. *Genes dis* 3.
- Suez J, Korem T, Zeevi D, Zilberman-Schapira G, Thaïss C. A, & Maza O. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*.
- Swann, J. B., & Smyth, M. J. (2007). Immune surveillance of tumors. W *Journal of Clinical Investigation* (T. 117, Numer 5, s. 1137–1146). <https://doi.org/10.1172/JCI31405>
- Szczyrek, M., Bitkowska, P., Chunowski, P., Czuchryta, P., Krawczyk, P., & Milanowski, J. (2021). Diet, microbiome and cancer immunotherapy—a comprehensive review. W *Nutrients* (T. 13, Numer 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu13072217>
- Volpato, M., & Hull, M. A. (2018). Omega-3 polyunsaturated fatty acids as adjuvant therapy of colorectal cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 37(2–3), 545–555. <https://doi.org/10.1007/s10555-018-9744-y>
- Waldemar Janiec, & Jolanta Krupińska. (2002). *Farmakodynamika, podręcznik dla studentów farmacji*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. s. 916
- Waleed Aziz, Z., Hashim Saleem, S., & Abdulmajeed Al-Nuaimy, H. (2019). *Helicobacter pylori in Gastric biopsy: A Histochemical and Immunohistochemical Assessment* (T. 41, Numer 2).
- William D. James, Elston D, James R. Treat, Misha A Rosenbach, & Neuhaus I. Andrews. (2020). Diseases of the Skin: Clinical Dermatology. *Elsevier*.
- Woo, Y. R., Cho, S. H., Lee, J. D., & Kim, H. S. (2022). The Human Microbiota and Skin Cancer. W *International Journal of Molecular Sciences* (T. 23, Numer 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23031813>
- Wood, D. L. A., Lachner, N., Tan, J. M., Tang, S., Angel, N., Laino, A., Linedale, R., Cao, K. A. L., Morrison, M., Frazer, I. H., Soyer, H. P., & Hugenholtz, P. (2018). A natural history of actinic keratosis and cutaneous squamous cell carcinoma microbiomes. *mBio*, 9(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.01432-18>
- Yu, G., Gail, M. H., Consonni, D., Carugno, M., Humphrys, M., Pesatori, A. C., Caporaso, N. E., Goedert, J. J., Ravel, J., & Landi, M. T. (2016). Characterizing human lung tissue microbiota and its relationship to epidemiological and clinical features. *Genome Biology*, 17(1).

<https://doi.org/10.1186/s13059-016-1021-1>

Zhang, X. Y., Zhang, P. Y., & Aboul-Soud, M. A. M. (2017). From inflammation to gastric cancer: Role of Helicobacter pylori. W *Oncology Letters* (T. 13, Numer 2, s. 543–548). Spandidos Publications.
<https://doi.org/10.3892/ol.2016.5506>

Zhao, L., & Shen, J. (2010). Whole-body systems approaches for gut microbiota-targeted, preventive healthcare. *Journal of Biotechnology*, 149(3), 183–190.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.02.008>

Źródła internetowe:

[1] - <https://lifescience.pl/blog/mikrobiota-i-jej-wplyw-na-organizm-czlowieka/> [dostęp: grudzień 2024]

[2] - <https://www.theguardian.com/news/2018/mar/26/the-human-microbiome-why-our-microbes-could-be-key-to-our-health> [dostęp: grudzień 2024]

[3] - <http://laboratoria.net/artukul/23623.html> [dostęp: grudzień 2024]

[4] - https://biomcare-com.translate.google.com/translate/info/key-terms-in-microbiome-pro-jects/?x_tr_sl=en&x_tr_tl=pl&x_tr_hl=pl&x_tr_pto=rq [dostęp: grudzień 2024]

[5] - <https://www.sonomedszczecin.pl/raki-skory/> [dostęp: grudzień 2024]

[6] - https://zdrowegeny.pl/poradnik/prebiotyki-probiotyki-na-jelita?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwlvW2BhDyARIsADnle-LnHqT_gGTeM-Fix0Kfi04Jo61Lp2WBUqfPwX0JZIYyScMzoKnQGBsaAskzEALw_wcB [dostęp: grudzień 2024]

[7] - <https://dietetycy.org.pl/synbiotyki/> [dostęp: grudzień 2024]

[8] - <https://www.sarcoma.pl/baza-wiedzy/abc-pacjenta-onkologicznego/wyswietl-haslo.metody-leczenia> [dostęp: grudzień 2024]

Notka o autorce: *Studentka III roku studiów licencjackich biotechnologii na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii UG i GUMed. Głównym zainteresowaniem jest medyczna gałąź biotechnologii – onkologia i embriologia.*

Star Trek: The Next Regeneration – czyli o tym, jak żaby nie są w tych tematach zielone

Wiktoria Zawadzka

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

E-mail: w.zawadzka.733@studms.ug.edu.pl

tutor: dr hab. Katarzyna Węgrzyn

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Biologii Molekularnej

Słowa kluczowe: regeneracja, Xenopus laevis, terapię komórkami macierzystymi

Streszczenie

Praca wskazuje szlaki sygnałacyjne oraz czynniki transkrypcyjne i białka zaangażowane w regenerację u ludzi, aksolotli i żab *Xenopus*. Omówione jest działanie i wpływ na regenerację m.in. szlaków Hippo oraz Jak/Stat, genów *Xetrov* oraz *Sox2/3*, czynników takich jak melanokortyny *Mc4r*, interleukina 11, *klf* oraz udział komórek ROC. Opisane zostały drogi regeneracji kończyn, części układu nerwowego takich jak mózg, rdzeń nerwowy i nerw wzrokowy oraz narządów wewnętrznych jak serce czy wątroba u ww. organizmów. Autor wskazuje na ograniczenia regeneracji u żab *Xenopus* oraz porównuje umiejętności regeneracyjne człowieka. Wspomniane są aspekty ewolucyjne zaangażowane w trwanie niektórych cech

przez ssaki oraz rozpatrywana jest możliwość wykorzystania umiejętności regeneracyjnych płazów i zaangażowanych w nie czynników do terapii przyszłości. Poruszona jest również tematyka obecnych nowatorskich terapii komórkowych oraz ich dalszy tor i niebezpieczeństwa z nimi związane.

Wstęp

Z pewnością każdy choć raz marzył, aby świat z ulubionych filmów czy książek stał się rzeczywistością. W niektórych dziełach fantastyki doszukujemy się ziarenka prawdy licząc, że nasza przyszłość będzie wyglądać w taki sposób. Szybko jednak wracamy z powrotem na ziemię i wmawiamy sobie, że to tylko fikcja. Ale czy na pewno? Aby rozpocząć przytoczę scenę z filmu *Star Trek IV: The Voyage Home*, 1986 (*Star Trek IV: Powrót Na Ziemię*, 1986). Widzimy w niej lekarza, jednego z głównych bohaterów, który cofnął się w czasie do USA końca XX wieku i odbył rozmowę

ze starszą panią, którą spotkał w korytarzu szpitala.

„McCoy: Co jest z tobą nie tak?

Pacjentka: Nerki, dializa...

McCoy: Dializa? Mój Boże, co to jest, Ciemne Wieki? Masz, połknij to. Jeśli masz problem, po prostu zadzwoń do mnie.”

Później możemy zauważyć pacjentkę krzyczącą „Lekarz dał mi pigułkę i wyrosła mi nowa nerka. Lekarz dał mi pigułkę i wyrosła mi nowa nerka!”.

Oczywiście taka wizja dokonań przyszłej medycyny wydaje się nieosiągalna, jednak czy rzeczywiście jest ona poza naszym zasięgiem? Obecnie nie posiadamy takich wyjątkowych tabletek, jednak w ciągu ostatnich lat coraz popularniejsze stają się eksperymenty wykorzystujące druk 3D do tworzenia spersonalizowanych organów *in vitro*, pozwalające na dokładne umieszczenie komórek oraz biomateriałów warstwa po warstwie (Zhang i in., 2021). Jest to jednak wciąż eksperymentalna technika, która potrzebuje wiele lat pracy, aby była wykorzystywana w medycynie na co dzień. Można zatem zadać pytanie po co poświęcamy tematyce regeneracji taką ilość czasu i zasobów. Prawdopodobnie dlatego, że powolne postępy w tej trudnej dziedzinie dotyczą coraz większej liczby osób. Według danych przedstawionych przez Poltransplant liczba przeszczepionych nerek w Polsce od dawców martwych w latach 2020–2022 była znacznie niższa w porównaniu do lat 2010–2019. Negatywnie wpływało to na czas oczekiwania pacjentów na przeszczep w trybie zwykłym [1], a wydłużony czas oczekiwania oczywiście narażał ich na większe ryzyko powikłań i nasilenie choroby spowodowane coraz słabszą pracą niewydolnych narządów. Kiedy nadchodził czas przeszczepu nie można również było zapo-

mnąć o możliwych powikłaniach pooperacyjnych oraz silnych reakcjach immunologicznych powodujących odrzucenie organu przez pacjenta. Dlatego tak ważne jest pytanie, czy możliwe jest rozwiązanie problemu tak, jak było to pokazane w filmie? Czy możliwa jest stymulacja organizmu do samodzielnej naprawy na przykład poprzez wykorzystanie umiejętności regeneracji całych, utraconych organów przez niektóre żaby, traszki oraz aksolotle i przeniesienie ich na organizm ludzki? Niniejsza praca poświęcona będzie zgłębieniu fizjologicznych mechanizmów pozwalających płazom na niesamowitą regenerację oraz znalezieniu łącznika między tą umiejętnością a analogicznymi procesami u ludzi, których potencjał może zostać wykorzystany w przyszłości.

Jak to płazy robią?

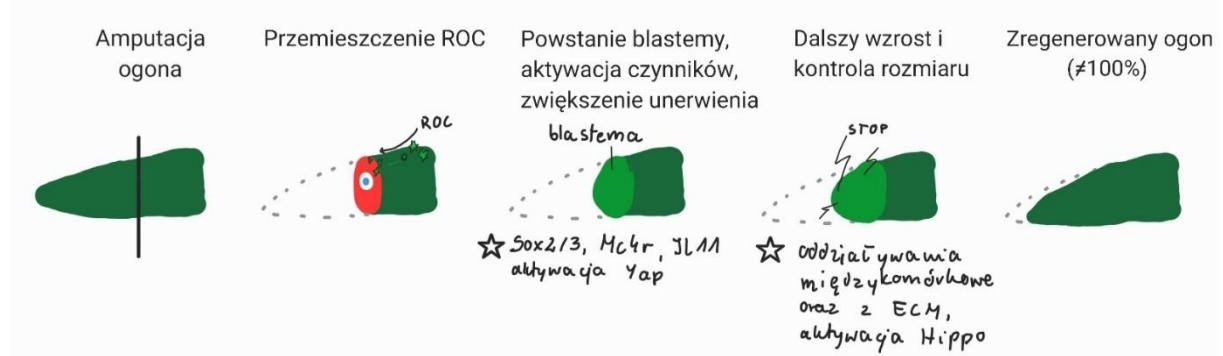
Szlak by to wszystko... kierował

Dla każdej akcji można znaleźć reakcję. Regeneracja nie jest procesem samorzutnym i niekontrolowanym. Do jej rozpoczęcia potrzebne są duże ilości czynników produkowanych przez komórkę oraz precyzyjne „ustawienie” miejsca, czasu oraz kolejności ich działania w szlakach sygnalizacyjnych. Łączą one wszystkie zachodzące w ciele procesy w działającą całość i dostosowują siłę sygnałów w zależności od stanu i potrzeb organizmu. Skupienie całej wiedzy na temat tych zjawisk zachodzących u ludzi i płazów wymagałoby współpracy wielu specjalistów oraz zapisania setek stron, dlatego w niniejszej pracy opowiem tylko o czynnikach najczęściej badanych przez zespoły na całym świecie. Na początek skupię się na żabach z gatunku *Xenopus*, których polska nazwa to Platany (wspominana często w wielu artykułach *Xenopus laevis* to inaczej Platana szponiasta). Wraz z wiekiem tracą one niektóre umiejętności regeneracyjne- tak samo jak ludzie, jednak my wychodzimy na tym procesie znacznie gorzej.

Ważne podstawy (ogona)

Wiele badań nad *Xenopus* (i nie tylko) wykazało, że na to, czy komórka zdecyduje się na podział i regenerację narządu wielki wpływ ma jej otoczenie, tworzone przez inne komórki czy macierz międzykomórkową. Samo tworzenie nowej kończyny czy ogona po amputacji możemy podzielić na 3 etapy: wytworzenie wyspecjalizowanego naskórka na ranie, stworzenie blastemy/pączka regeneracyjnego (skupiska komórek zdolnych do wzrostu i regeneracji) oraz wzrost poprzez proliferację (Tanaka, 2016). W wypadku regeneracji kończyn (w zdecydowanej większości badań nad *Xenopus* usuwany jest jej ogon) - zaraz po amputacji ogona u kijanek z obecną umiejętnością regeneracji, na końcu kikuta pojawiają się komórki zwane komórkami organizującymi regenerację (ROC). Przemiesz-

czają się one z obszaru tylnego tułowia tworząc wyspecjalizowany naskórek (Ryc. 1) (Aztekin i in., 2019). Jest on niedawno zidentyfikowanym typem tkanki, który znajduje się zarówno w nienaruszonych oraz regenerujących się ogonach. Taki naskórek jest jednym z pierwszych etapów naprawy również np. u popularnej rybki akwariowej danio pręgowanego (*Danio rerio*.) oraz aksolotli- płazów z rodzaju *Ambystoma*. ROC odpowiadają za proliferację komórek przez wydzielanie czynników wzrostu i sygnałów instruktarzowych rozdzielających komórki prekursorowe do odpowiednich miejsc w ogonie (Aztekin i in., 2019). Możemy je nazwać matczynymi komórkami, które potrafią przemieniać się w potrzebny typ komórek, których grupy tworzą później określone tkanki i narządy.



Ryc. 1. Schematyczne przedstawienie regeneracji ogona kijanki. Rozwinięcie użytych skrótów: ECM- macierz pozakomórkowa, ROC- komórki organizujące regenerację

W kontekście zwierzęcego ogona wiemy, że posiada mięśnie, nerwy i kręgi oraz pokryty jest skórą. Podczas regeneracji ogona rdzeń kręgowy i struna grzbietowa powstają z tego samego typu komórek, natomiast włókna mięśniowe powstają z komórek satelitarnych, czyli typu komórek obecnego w bliskim otoczeniu mięśni, który zachował umiejętność dzielenia się- nie natomiast z istniejących wcześniej włókien mięśniowych (Suzuki i in., 2022). Powstanie kilku nerwów

wygląda na prosty proces, jednak dowiemy się, jak skomplikowanym on rzeczywiście jest. Wiemy, że zwiększenie unerwienia w regenerującym się kikucie żaby *Xenopus laevis* wspomaga ekspresję genów, które z kolei pozytywnie wpływają na odrastającą kończynę i przyspieszają ten proces (Mitogawa i in., 2018). Dodatkowo neuronalne komórki progenitorowe, czyli matczyne komórki mogące zmieniać się w niektóre komórki układu nerwowego, posiadające gen *Sox2* i/lub

Sox3 generują neurony w odpowiedzi na uraz. Umożliwia to całkowitą regenerację rdzenia kręgowego i powrót umiejętności pływania u kijanek nawet po przerwaniu jego ciągłości (Muñoz i in., 2015). Wszystkie wcześniej wymienione procesy muszą zachodzić płynnie oraz w tym samym czasie. Kluczowa więc jest ich dobra koordynacja oraz umiejętność opanowania. Za koordynację odpowiedzialny jest m.in. mózg płatany. Biorą w niej duży udział białka- melanokortyny podwzgórza, takie jak np. Mc4r. Uszkodzenie tej części mózgu u naszej żaby upośledza regenerację oraz produkcję ROC w okolicach rany. Dowiedziono również, że Mc4r mogą pełnić funkcje zastępujące działanie nerwów

np. stymulując komórki w blastemie. Szlaki sygnałowe Mc4r biorą udział w wielu innych szlakach czy samej kontroli metabolizmu energetycznego nie tylko u żab, ale również u ryb oraz ssaków. Ten wspólny łącznik u ssaków oraz płazów pozytywnie wpływa na regenerację kończyn u obu grup, co udowodniły doświadczenia pokazujące, że szlak Mc4r jest wymagany do odrastania palców myszy- jest to przykład regeneracji nieopartej o ROC (Zhang i in., 2018). Niestety w przypadku ROC wykazano, że struktura naskórka przez nie tworzonego nie występuje u zwierząt nieregenerujących się, takich jak ptaki czy myszy- prawdopodobnie więc też ludzi (Tab. 1).

Tabela 1. Porównanie obecnych szlaków sygnalizacyjnych oraz czynników zaangażowanych w regenerację u żab *Xenopus* oraz ludzi

Czynnik/ szlak sygnalizacyjny	Żaby <i>Xenopus</i>	Człowiek
Naskórek zawierający komórki organizujące regenerację ROC	+ podstawa regeneracji kończyn, udział w wielu procesach, np. organizacji nowych komórek (Aztekin i in., 2019)	- brak
Neuronowe komórki progenitorowe prowadzące ekspresję genów Sox2/3	+ udział w całkowitej regeneracji rdzenia kręgowego (Muñoz i in., 2015)	- brak
Melanokortyny Mc4r	+ kontrola metabolizmu i regeneracji kończyn (Zhang i in., 2018)	+ kontrola metabolizmu i regeneracji (Zhang i in., 2018)
Interleukina 11	+ pośrednio zachęca do różnicowania przez geny Xetrov (Suzuki i in., 2022)	+ indukują różnicowanie miofibroblastów (rozregulowanie prowadzi do choroby) (Suzuki i in., 2022)
Geny Xetrov	+ występują (Suzuki i in., 2022)	- brak
Szlak Hippo	+ regeneracja nóg i ogona (Halder i Johnson 2011; Hayashi i in., 2014)	+ kontrola regeneracji (Fu i in., 2022)
Czynnik klf	+ regeneracja siatkówki, jako 2 regulatory dodatnie wzrostu (Moore i in., 2009)	+ jako 2 regulatory ujemne wzrostu (Moore i in., 2009)
Cząsteczki szlaku Jak/Stat	+ udział w regeneracji (Elsaeidi i in., 2014)	+ hamowany przez Socs3 co zmniejsza regenerację (Elsaeidi i in., 2014)

Kochaj, ale kontroluj...

Jak jednak odrastający ogon naszej żaby nie staje się 2 razy większy w porównaniu do tego przed amputacją? Gatunki regenerujące, do których należy omawiane *Xenopus* kiedy jest w stadium kijanki, regulują wielkość powstającej po odcięciu kończyny przez oddziaływanie z tkankami kikuta. Ta kontrola wzrostu obejmuje wykrywanie gęstości komórek, komunikacji między nimi, kontakt komórek z macierzą pozakomórkową (ECM) oraz wspomaganie ekspresji genów w komórkach w zależności od ich położenia (Hayashi i in., 2015). Trzeba jednak zaznaczyć, że umiejętności omawianych płazów mają swoje ograniczenia. Odrastająca po amputacji kończyna płaty nie jest w 100% taka sama jak przed amputacją- jest ona mniejsza (Ryc. 1). Warto też zaznaczyć, że odrośnięcie uciętego ogona, w porównaniu do jego rozwoju podczas życia embrionalnego, dodatkowo utrudnia dostosowywanie wielkości pojawiających się tkanek (Hayashi i in., 2015). Proces ten nie działa więc jak cofnięcie czasu do momentu sprzed urazu.

Mózg tej operacji

A co stanie się z mózgiem kiedy to on będzie uszkodzony? Wiemy, że żaby *Xenopus* w stadium larwy mogą zregenerować nawet części swojego mózgu dzięki m.in. zaangażowaniu komórek ependymalnych. Jest to typ komórek tworzący cienką warstwę (wyściółkę) w mózgu. W odpowiedzi na uszkodzenia komórki te rosną, namnażają się, różnicują w neurony i głąz oraz co najważniejsze migrują w otoczenie ubytku. Dowiedziono, że u dorosłych żab również istnieją komórki zdolne do regeneracji, jednak głównie ich bezruch jest powodem niepowodzenia (Endo i in., 2007). W pewnym doświadczeniu badającym tą sprawę usunięty został kawałek śródmózgowia larwy *Xenopus*, który jest ośrodkiem przetwarzania informacji węchowych (Scalia, 1976). Kijanki po operacji miały czas na metamorfozę do stadium dorosłej

żaby, po czym zostały poddane badaniom. Zbadanie całkowitego powrotu funkcji mózgu było trudne ze względu na jego złożoność. Dlatego kiedy badacze sprawdzali umiejętności regeneracji śródmózgowia (z niewielkiego fragmentu który pozostał) opracowali prostą i logiczną metodę- mianowicie sprawdzali czy żaby po operacji reagowały na jedzenie w taki sam sposób jak te niepoddane modyfikacjom. Okazało się, że tak- okazy poddane za młodu operacji pozytywnie reagowały na zapach jedzenia, co wskazuje na odbudowę uszkodzonej części mózgu (Yoshino i Tochinai, 2006).

Gama czynników

Jakie inne czynniki wpływają na powrót żab do zdrowia i wcześniejszego stanu? Istnieje niezliczona liczba szczególnych białek i enzymów zaangażowanych w regenerację, dlatego najważniejsze z nich zostały przedstawione w Tabeli 1. Jednym z wielu czynników, do aktywacji których dochodzi po amputacji jest interleukina 11 (Il11), która jest zaliczana do rodziny cytokin, szeroko znanej i opisywanej jako białka wpływające na wzrost i różnicowanie. Il11 zachęca komórki do różnicowania pośrednio, przez wpływ na leukocyty (jeden z wielu typów komórek krwi), w których zachodzi ekspresja 2 niezbędnych genów- *Xetrov90002578m.L* oraz *Xetrov90002579m.S* (Suzuki i in., 2022). Kolejnym ważnym fragmentem układanki jest szlak Hippo. Jest on jednym z podstawowych i najważniejszych szlaków kontrolujących życie i śmierć komórek oraz zapobiegających powstawaniu nowotworów (Chen i in., 2010). Jego znaczenie potwierdza jego wysoka konserwatywność ewolucyjna- czyli fakt, że mimo różnorodności i dalekiego pokrewieństwa wielu organizmów na Ziemi, akurat Hippo jest w nich zachowywane (z niewielkimi modyfikacjami oczywiście). Szlak sygnałowy Hippo hamuje działanie regulatorów transkrypcji Yap/Taz, które z kolei akty-

wowane promują proliferację komórek (Halder i Johnson, 2011). Yap jest wymagany do regeneracji nóg i ogona u kijanek *Xenopus*. Co ciekawe wykazano, że przy niskiej gęstości komórek regulator transkrypcji Yap przemieszcza się do jądra komórek i powoduje zwiększoną ich proliferację. Pozwala to na zachodzenie podziałów komórkowych wyłącznie tam, gdzie są one potrzebne oraz ma to wielki wkład w tworzenie blastemy na kikutcie (Hayashi i in., 2014). Co ważne dla nas ścieżka Hippo jest obecna też u ludzi. Niestety wysoki poziom skomplikowania utrudnia całkowite jej poznanie. Dowiedzione jest jednak, że polaryzacja komórek, a więc ich kształt i kierunek ułożenia w przestrzeni,

wpływają na regulację szlaku Hippo (Fu i in., 2022). Natomiast złą dla nas informacją jest to, że odpowiedników wcześniej wspomnianych genów Xetrov nie znajdziemy w ludzkim DNA (Tab. 1). Dodatkowo interleukina 11 w naszym organizmie indukuje różnicowanie miofibroblastów (komórek mających właściwości kurczliwe), których jednak zbyt duża stymulacja prowadzi do chorób takich jak idiopatyczne zwłóknienie płuc (Suzuki i in., 2022). Niewiele z opisanych wcześniej czynników powtarza się i u człowieka i u żaby *Xenopus*. Niektóre z nich natomiast mają dwa różne działania. Dla łatwiejszego zobrazowania różnic i podobieństw dane zostały podsumowane w tabeli 1 oraz na rycinie 2.



Ryc. 2. Porównanie umiejętności regeneracyjnych żab *Xenopus* oraz człowieka, (+) oznacza posiadanie danej umiejętności, a (-) jej brak

Mamy na nie oko

Nauka bardzo skupia się też na badaniu narządów wzroku żab *Xenopus*. Dlaczego? Bo akurat nerw wzrokowy płatan ma umiejętność całkowitej regeneracji przez cały okres jej życia (Lee-Liu i in., 2017). Żaby (oraz niektóre ryby z podobnymi umiejętnościami) regenerują wzrok po uszkodzeniu nerwu wzrokowego przez chronienie komórek zwojowych siatkówki przed śmiercią, a następnie naprawienie uszkodzonej błony komórkowej oraz odbudowanie przekazujących impulsy

nerwowe wypustek komórek nerwowych (aksonów) (Whitworth i in., 2017). Dzięki tej drodze obranej przez tutaj omawiane *Xenopus* są one idealnymi organizmami do badania dynamiki regeneracji neuronów. Niedawno odkryto, że u zwierząt udział w regeneracji komórek siatkówki biorą czynniki transkrypcyjne z rodziny klf. Rodzina klf zawiera 17 spokrewnionych czynników transkrypcyjnych, których odczytywanie przez organizm zachodzi podczas „opracowywania” różnych typów komórek siatkówki (Moore i in., 2009). Klf6 i klf7 są regulatorami dodatnimi u danio pręgowanego, a klf4 i klf9 są regulatorami

ujemnymi u ssaków. Badania m.in. na myszach dowiodły, że wyeliminowanie ekspresji genu KLF4 zwiększyło wzrost i regenerację aksonów- co może być kiedyś użyte jako jedna z wielu terapii wspomagających leczenie ludzi z uszkodzeniami nerwu wzrokowego. Innymi cząsteczkami odgrywającymi pozytywną rolę w regeneracji nerwu wzrokowego u *Xenopus* są również cząsteczki szlaków sygnałowych Jak/Stat. Ograniczoną regenerację u ssaków częściowo powoduje hamowanie tego szlaku przez białko kodowane genem *Socs3* (nie mylić z *Sox3*!), co wskazuje, że w przyszłości osłabienie ekspresji również tego genu mogłoby wspomóc gojenie oraz przywracanie wzroku u ludzkich pacjentów (Elsaedi i in., 2014). Głównym problemem jest to, że komórki zwojowe siatkówki u ludzi zaraz po uszkodzeniu umierają, co wymazuje jakąkolwiek szansę na odbudowę uszkodzenia (Fischer i Leibinger 2012). Dodatkowo jego niepowodzenie może też być dyktowane przez niektóre czynniki hamujące znajdujące się w tkance bliznowatej pojawiającej się w miejscu urazu. Jednym z wielu problemów są też niewystarczające umiejętności aksonów do wzrostu (Fischer i Leibinger 2012). Jednakże w pewnych okolicznościach dorosłe komórki siatkówki mogą być przekształcone do aktywnego stanu regeneracyjnego. Zauważono, że w siatkówce ssaków występuje ograniczona regeneracja komórek nerwowych siatkówki, jednak pozwala ona tylko na stworzenie częściowo zróżnicowanych neuronów (Woodworth i in., 2023).

Nie wszystko zostaje w (płazowej) rodzinie...

Badania wykonywane na żabach *Xenopus* często skupiają się na samej regeneracji ogona, kończyn czy oka. Jeśli jednak chcemy zgłębić regenerację samych organów wewnętrznych dobrym źródłem informacji będą aksolotle, które potrafią (również w dorosłym życiu) odtworzyć części serca czy nawet mózgu (Bolaños-Castro i in., 2021).

Najważniejszą różnicą między regeneracją u *Xenopus*-platan a u *Ambystoma*-aksołotli jest to, że *Xenopus* opiera swój wzrost bardziej na komórkach prekursorowych określonych tkanek, w porównaniu do *Ambystoma*, u których wykazywana jest obecność komórek multipotencjalnych, czyli takich o szerszym zakresie komórek, w które się mogą przemienić. Dodatkowo *Ambystoma* zachowują swoje umiejętności regeneracji przez całe życie. Po odcięciu kończyny wytwarzają blastemę, wzmagają proliferację i w pełni odbudowują utraconą kończynę razem ze szkieletem. U żab po wejściu w dorosłe życie po amputacji również wytwarzana jest blastema, jednak dalsza regeneracja skutkuje „nieumyślnym” stworzeniem kolca chrząstki co powoduje, że kończyna czy ogon nie są identyczne z tym przed amputacją (bliższe są kikutowi niż funkcjonalnej kończynie) (Bolaños-Castro i in., 2021). Dlaczego więc skupiamy się na ograniczonych umiejętnościach platan, kiedy pod ręką mamy aksolotle które potrafią znacznie więcej? Ponieważ obserwacja tracenia umiejętności odrastania kończyn w czasie rzeczywistym u żaby *Xenopus* podczas jej przejścia z kijanki w dorosłą formę daje nam wiele informacji na temat zmian w komórkach, które zachodzą podczas tego procesu. Powodem może być różnica w poziomie metylacji u kijanek oraz dorosłych żab- metylacją nazwiemy jeden z wielu odwracalnych sposobów modyfikacji DNA w komórkach (Lin i in., 2021). Zmiany te powodują, że geny tracą swoją aktywność transkrypcyjną- jednak nadal są obecne w genomie. Niestety przez niedostateczne informacje na temat metylacji DNA aksolotli przyczyna różnicy między dwoma omawianymi płazami nie jest do końca poznana.

Obserwując w przyszłości wyżej wspomniane zmiany, moglibyśmy natknąć się na wyciszenie pewnych szlaków czy hamowanie pewnych białek, co z kolei może być wskazówką, czy takie same sytuacje mają miejsce

u nas-ludzi (Mochii i in., 2007). Gdyby takie istniały, moglibyśmy spróbować je uruchomić i sprawdzić, czy nabierzemy super mocy.

Poznanie ewolucji (może) pomoże

Kiedy żaby, traszki i aksolotle mogą cieszyć się zdrowiem i kompletem kończyn, my głosimy się kiedy to się stało i czemu nie potrafimy zrobić tak samo. Kiedy natomiast próbujemy określić, czy umiejętności odrastania kończyn i organów są rzeczą nabytą ewolucyjnie przez niektóre gatunki, czy rzeczą straconą przez inne, obranie którejkolwiek hipotezy nadal jest trudne, jako że istnieje niewiele empirycznych dowodów popierających jakkolwiek z nich (Maden 2018). Określenie w których gałęziach ewolucyjnych nastąpiło utracenie wielu umiejętności regeneracji całego ciała jest pierwszym problemem. Dodatkowo powinniśmy patrzeć na wyniki z lekkim dystansem, bo np. brak regeneracji u danego osobnika może być spowodowany jego wiekiem albo ogólnym złym stanem zdrowia, a nie wrodzonym brakiem tej umiejętności. Problemem może być też stronniczość przeciwko publikowaniu niepowodzeń badań na temat regeneracji (Bely, 2010). Należy również wziąć pod uwagę fakt, że w przypadku wielu gatunków zwierząt po prostu nie ma żadnych informacji na temat zdolności regeneracyjnych całego ciała. Nauka skupia się na kilku organizmach modelowych, co czasem może stanowić trudności w dosłownym przełożeniu wyników na organizm ludzki (Bely i Nyberg, 2010). Zdobywanie większej wiedzy na temat spokrewnienia i podobieństw metabolicznych organizmów jest bardzo ważne. Wiedząc, w którym momencie ewolucji natura obrała inny tor możemy wpaść na wiele pomysłów związanych z modyfikacjami metabolizmu czy genomów organizmów w przyszłości (Garza-Garcia i in., 2010).

Jak to wygląda u ludzi?

Nie jest aż tak źle...

Z życia wiemy, że nasze rany się goją, krew w pewnym momencie krzepnie a nieszczęśliwe wypadki przestają po jakimś czasie boleć. Bez tych umiejętności naprawy już dawno by nas tu nie było. Kiedy patrzymy z zazdrością na płazy powinniśmy też pamiętać o naszych własnych ratujących życie mechanizmach.

Dla przykładu nasza wątroba jest jedynym narządem stałym, który wykorzystuje mechanizmy regeneracyjne, aby po urazie/stracie zapewnić, że stosunek wątroby do masy ciała zawsze wynosi 100% tego, co jest wymagane do utrzymania homeostazy organizmu. Pozostałe organy (np. płuca) również potrafią się regenerować, jednak nie potrafią one wrócić do oryginalnego stanu. Wątroba jest w stanie w pełni się zregenerować nawet po silnym chemicznym uszkodzeniu czy wycięciu jej dużej części. Te niesamowite zdolności zawdzięcza budującym ją hepatocytom (komórkom wątroby), które mają nieograniczoną zdolność regeneracyjną i potrafią przejąć rolę komórek macierzystych (Michalopoulos i Bhushan 2021). Całkiem imponujący jest też fakt, że uszkodzone nerwy obwodowe (ale nie nerwy centralne) mają zdolność regeneracji i ponownego unerwienia narządów docelowych. Są w stanie tego dokonać dzięki wspomagającym oraz otaczającym je komórkom Schwanna, które potrafią np. oddawać niezbędne związki organiczne neuronom „w potrzebie” (Gordon, 2020). Jednak odnosi się to do niewielkich uszkodzeń i jak było wspomniane wcześniej, mózg oraz rdzeń kręgowy praktycznie się nie regenerują (Ryc. 2). Takie samo przekonanie istniało na temat mięśni sercowych. Jednak nowe badania wskazują, że ssaki mogą regenerować mięsień sercowy nawet przez pewien czas po urodzeniu. U dorosłej osoby po uszkodzeniu mięśnia sercowego powstają

blizny, które mogą również zmniejszać wydajność jego pracy (Uygur i Lee 2016). Jednak niemożność regeneracji nie oznacza, że jest ona nieobecna. W pewnym badaniu aby dowiedzieć się wieku komórek serca u badanych ochotników, wykorzystano badanie poziomu izotopu węgla C14 w komórkach starszych pacjentów. Dzięki porównaniom poziomu tego izotopu w atmosferze jako pozostałość po wojnie, z poziomem C14 w komórkach można było określić wiek komórek. Działano z zasadą, że ilość C14 pobranego z pokarmu i wbudowanego do ciała badanych pozwoli na określenie, kiedy został włączony. Podjęte badania wskazały, że większość (60%) kardiomiocytów (komórek mięśniowych) w sercu dorosłego człowieka jest pochodzenia okołoporodowego, jednak 40% z nich powstało w życiu dorosłym osobnika. Nie udało się niestety stwierdzić, czy nowe komórki pochodzą z podziału kardiomiocytów, czy z wytworzenia ich przez inne komórki progenitorowe (Bergmann i in., 2009). Jednakże nadal dowiedziona umiejętność regeneracyjna tych komórek wskazuje, że może być ona potencjalnie użyta w przyszłości. Omawiane kardiomiocyty stanowią tylko 20% komórek serca, dlatego większe nadzieje mogłyby być pokładane w ukierunkowaniu komórek progenitorowych do przemiany w komórki mięśnia sercowego (Rubart i Field 2006).

Porównując jednak umiejętności regeneracyjne ludzi z żabami *Xenopus* zauważamy pewne różnice w radzeniu sobie z urazami. U zwierzęcia regenerującego obserwuje się wyspecjalizowany nabłonek na powierzchni rany, jednak u nieregenerującego (np. ludzie) widoczne jest jedynie zwykłe gojenie rany. Dodatkowo rany zasklepiają się z wytworzeniem blizn (Ryc. 2) (Mitogawa i in., 2018). Nawet samo wytworzenie blastemy nie musi być całkowitym wymaganiami podczas regeneracji np. organów wewnętrznych czy zasklepianiu ran skórnych (Maden, 2018)- lecz

nadal wypadamy w tym gorzej od żab. Musimy pamiętać, że możemy korzystać z posiadanych przez nie zasobów, jednak powinniśmy ich użyć bardziej jako inspiracji, a nie odpowiedzi do przekalkowania.

Przyszłość coraz bliżej

W ostatnich dekadach wzrastają nadzieje na wykorzystanie komórek macierzystych w przeróżnych terapiach w celu zastąpienia uszkodzonych komórek oraz regeneracji narządów (np. regeneracja mięśnia sercowego). Terapię komórkową badano w prawie każdym typie schorzenia, a pozytywne wyniki badań przedklinicznych zaobserwowano w przypadku takich chorób jak przewlekła białaczka szpikowa, cukrzyca, marskość wątroby, zwłóknienie płuc niewydolność serca czy zaburzeniach układu nerwowego (Kolios i Moodley 2013). Nadal jednak nasza wiedza na temat wszystkich szlaków i czynników zmieniających komórki macierzyste w (prawie) każdy inny pożądany typ komórek jest ograniczona. Każde nam to zachować ostrożność przy wykorzystywaniu ich w terapii (Burgess i in., 2014). Nie wiemy też w jakim stopniu metabolizm przyczynia się do zmian w translacji genów czy zmian w konformacji chromatyny (ułożonej formy naszego DNA), jednak na pewno możemy stwierdzić, że wiele metabolitów służy w tych procesach jako kofaktory, czyli związki potrzebne enzymom do przeprowadzania reakcji (Gut i Verdin 2013). Największe zmartwienie powoduje jednak fakt, że główne cechy komórek macierzystych takie jak ich plastyczność i samoodnawianie mogą prowadzić do karcenogenezy w organizmie gospodarza (Filip i in., 2008). Co ciekawe regeneracja płazów mimo swojej złożoności i zadziwiających wyników (o których my możemy tylko pomarzyć) cechuje się niską częstotliwością powstawania nowotworów. Jest to intrygujące, bo w tym samym czasie u ludzi z ograniczoną umiejętnością naprawy nowotwory są bardzo częste (Sarig i Tzahor, 2017). Dodatkowo u płazów

miejscowe potraktowanie miejsca naprawy czynnikami rakotwórczymi lub wirusami wywołującymi nowotwory powoduje albo zmianę wzorca regeneracji albo reorganizację komórek nowotworowych w celu odsunięcia ich i wytworzenia normalnej tkanki (Oviedo i Beane, 2009). Dalsze studiowanie kontroli ciał żab nad komórkami rakowymi i wykorzystanie tej wiedzy w terapiach na ludzkich pacjentach może uczynić terapie komórkami macierzystymi bardziej przewidywalnymi oraz bezpieczniejszymi. Do pozyskania komórek macierzystych do doświadczeń używamy metody, która pozwala ze zwykłej komórki generatywnej/dzielącej stworzyć komórkę macierzystą pluripotentną. Udaje się tego dokonać dzięki tzw. Triadzie pluripotencji, do której zaliczają się odpowiednie 3 charakterystyczne związki występujące naturalnie w zarodku i rozpoczynające jego różnicowanie. Nazywane jest to przeprogramowaniem komórki. Zanim jednak nauczymy się kontrolować komórki macierzyste w takim stopniu po wprowadzeniu do ustroju minie jeszcze wiele lat badań metodą prób i błędów. Niemniej jednak cały czas idziemy naprzód, czego dowodem mogą być próby leczenia choroby niedokrwiennej serca przy użyciu przeszczepów komórek macierzystych. Jednak skuteczność i siła tych terapii różnią się w zależności od próby przez co taka terapia nie jest jeszcze dostępna dla pacjentów (Yu i in., 2017). Podobnie są podejmowane próby w leczeniu choroby Alzheimera, która staje się jednym z największych problemów zdrowotnych naszych czasów. Polega ona na postępującej neurodegeneracji, więc nadzieje związane z ponownym zasiedleniem wyniszczonych obwodów neuronalnych komórkami macierzystymi mają rację bytu (Duncan i Valenzuela, 2017). Od maja 2024 roku trwają badania np. nad oceną bezpieczeństwa wstrzykiwania komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej pacjentom z łagodną oraz umiarkowaną chorobą Alzheimera [2].

Badanie jest nadal w fazie 1 i jest jednym z kilku prowadzonych na całym świecie. Innym przykładem są próby leczenia Stwardnienia zanikowego bocznego (ALS) przy pomocy komórek macierzystych. Choroba ta polega na stopniowej śmierci centralnych i obwodowych neuronów ruchowych. Strategia terapeutyczna, stosowana w ALS, ma na celu ochronę neuronów przed degeneracją i stymulowanie regeneracji komórek. Dowiedziono, że wstrzyknięcie do przedniej kory ruchowej wybranych komórek macierzystych zakończyło się bezpiecznie i przyniosło częściową poprawę funkcji neurologicznych u pacjentów z ciężkim ALS (Wijesekera i Leigh 2009). Dodatkowo rozszerzone zastrzyki do rdzenia u niektórych pacjentów z ciężkim upośledzeniem kończyny dolnej przez ALS, wykazały również poprawę ogólnego stanu związanego z liczbą zdrowych komórek. Przejawiało się to spowolnieniem utraty siły mięśni nóg i wolniejszym pogorszeniem czynności oddechowych. Obecnie w sytuacjach awaryjnych, takich jak uszkodzenie rdzenia kręgowego lub zawał mięśnia sercowego, wykonywane są przeszczepy MSC (jednego z typów dorosłych komórek macierzystych) wykazujące wysokie wskaźniki powodzenia (Lodi i in., 2011). Oprócz używania komórek macierzystych badania wykazały, że duży potencjał może kryć się też we wprowadzaniu zmian w istniejące ludzkie szlaki sygnalizacyjne. Ingerencję w „rozkazy komórkowe” możemy rozpatrzeć na przykładzie szlaku Hippo. Jest on jednym z kluczowych szlaków związanych z przeżyciem i kontrolą wzrostu komórek. Jednak niewielkie zmniejszenie wydajności szlaków lub miejscowe modyfikacje mogą prowadzić do bardzo poważnych zmian nowotworowych (Tapon i in., 2002).

Powinniśmy pamiętać, że aby zwiększyć np. regenerację naszych narządów nie wystarczy zwykłe wyłączenie szlaku tą regenerację zatrzymującego. Granica między zdrową proliferacją a nowotworzeniem jest

bardzo cienka i do tej pory jest wiele niewiadomych jeśli chodzi o czynniki powodujące jej przekroczenie. Właśnie dlatego przed nami jeszcze wiele lat pracy oraz nauki, w których nawet najmniejsza pomoc ze strony płazów może okazać się kluczowa.

Literatura:

- Agathocleous M., Iordanova I., Willardsen M. I., Xue X. Y., Vetter M. L., Harris W. A., Moore K. B. (2009). A directional Wnt/beta-catenin-Sox2-proneural pathway regulates the transition from proliferation to differentiation in the *Xenopus* retina. *Development*, 136(19), 3289-3299, doi: 10.1242/dev.040451.
- Aztekin C., Hiscock T. W., Marioni J. C., Gurdon J. B., Simons B. D., Jullien J. (2019). Identification of a regeneration-organizing cell in the *Xenopus* tail. *Science*, 364(6441), 653-658, doi: 10.1126/science.aav9996.
- Bely A. E. (2010). Evolutionary loss of animal regeneration: pattern and process. *Integrative and comparative biology*, 50(4), 515-527, doi: 10.1093/icb/iccq118.
- Bely A. E., Nyberg K. G. (2010). Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends in ecology & evolution*, 25(3), 161-170, doi: 10.1016/j.tree.2009.08.005.
- Bergmann O., Bhardwaj R. D., Bernard S., Zdunek S., Barnabé-Heider F., Walsh S., Zupicich J., Alkass K., Buchholz B. A., Druid H., Jovinge S., Frisén J. (2009). Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*, 324(5923), 98-102, doi: 10.1126/science.1164680.
- Bolaños-Castro L. A., Walters H. E., García Vázquez R. O., Hee Yun M. (2021). Immunity in salamander regeneration: Where are we standing and where are we headed? *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 250(6), 753-767, doi: 10.1002/dvdy.251.
- Burgess R. J., Agathocleous M., Morrison S. J. (2014). Metabolic regulation of stem cell function. *Journal of internal medicine*, 276(1), 12-24, doi: 10.1111/joim.12247.
- Chen L., Chan S. W., Zhang X., Walsh M., Lim C. J., Hong W., Song H. (2010). Structural basis of YAP recognition by TEAD4 in the hippo pathway. *Genes & development*, 24(3), 290-300, doi: 10.1101/gad.1865310.
- Duncan T., Valenzuela M. (2017). Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy. *Stem cell research & therapy*, 8(1), 111, doi: 10.1186/s13287-017-0567-5.
- Endo T., Yoshino J., Kado K., Tochikai S. (2007). Brain regeneration in anuran amphibians. *Development, growth & differentiation*, 49(2), 121-129, doi: 10.1111/j.1440-169X.2007.00914.x.
- Elasaeidi F., Bemben M. A., Zhao X.-F., Goldman D. (2014). Jak/Stat signaling stimulates zebrafish optic nerve regeneration and overcomes the inhibitory actions of Socs3 and Sfpq. *The Journal of Neuroscience*, 34(7), 2632-2644, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3898-13.2014.
- Filip S., Mokry J., Horacek J., English D. (2008). Stem cells and the phenomena of plasticity and diversity: a limiting property of carcinogenesis. *Stem cells and development*, 17(6), 1031-1038, doi: 10.1089/scd.2007.0234.
- Fischer D., Leibinger M. (2012). Promoting optic nerve regeneration. *Progress in retinal and eye research*, 31(6), 688-701, doi: 10.1016/j.preteyeres.2012.06.005.
- Fu M., Hu Y., Lan T., Guan K.-L., Luo T., Luo M. (2022). The Hippo signalling pathway and its implications in human health and diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 376, doi: 10.1038/s41392-022-01191-9.
- Garza-Garcia A. A., Driscoll P. C., Brockes J. P. (2010). Evidence for the local evolution of mechanisms underlying limb regeneration in salamanders. *Integrative and comparative biology*, 50(4), 528-535, doi: 10.1093/icb/iccq022.

- Gordon T. (2020). Peripheral Nerve Regeneration and Muscle Reinnervation. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8652, doi: 10.3390/ijms21228652.
- Gut P., Verdin E. (2013). The nexus of chromatin regulation and intermediary metabolism. *Nature*, 502(7472), 489-498, doi: 10.1038/nature12752.
- Halder G., Johnson R. L. (2011). Hippo signaling: growth control and beyond. *Development*, 138(1), 9-22, doi: 10.1242/dev.045500.
- Hayashi S., Ochi H., Ogino H., Kawasumi A., Kamei Y., Tamura K., Yokoyama H. (2014). Transcriptional regulators in the Hippo signaling pathway control organ growth in *Xenopus* tadpole tail regeneration. *Developmental biology*, 396(1), 31-41, doi: 10.1016/j.ydbio.2014.09.018.
- Hayashi S., Yokoyama H., Tamura K. (2015). Roles of Hippo signaling pathway in size control of organ regeneration. *Development, growth & differentiation*, 57(4), 341-351, doi: 10.1111/dgd.12212.
- Kolios G., Moodley Y. (2013). Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*, 85(1), 3-10, doi: 10.1159/000345615.
- Lee-Liu D., Méndez-Olivos E. E., Muñoz R., Larraín J. (2017). The African clawed frog *Xenopus laevis*: A model organism to study regeneration of the central nervous system. *Neuroscience letters*, 652, 82-93, doi: 10.1016/j.neulet.2016.09.054.
- Lin T.-Y., Gerber T., Taniguchi-Sugiura Y., Murawala P., Hermann S., Grosser L., Shibata E., Treutlein B., Tanaka E. M. (2021). Fibroblast dedifferentiation as a determinant of successful regeneration. *Developmental cell*, 56(10), 1541-1551.e6, doi: 10.1016/j.devcel.2021.04.016.
- Lodi D., Iannitti T., Palmieri B. (2011). Stem cells in clinical practice: applications and warnings. *Journal of experimental & clinical cancer research*, 30(1), 9, doi: 10.1186/1756-9966-30-9.
- Maden M. (2018). The evolution of regeneration - where does that leave mammals? *The international journal of developmental biology*, 62(6-7-8), 369-372, doi: 10.1387/ijdb.180031mm.
- Mitogawa K., Makanae A., Satoh A. (2018). Hyperinnervation improves *Xenopus laevis* limb regeneration. *Developmental biology*, 433(2), 276-286, doi: 10.1016/j.ydbio.2017.10.007.
- Michalopoulos G. K., Bhushan B. (2021). Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 18(1), 40-55, doi: 10.1038/s41575-020-0342-4.
- Mochii M., Taniguchi Y., Shikata I. (2007). Tail regeneration in the *Xenopus* tadpole. *Development, growth & differentiation*, 49(2), 155-161, doi: 10.1111/j.1440-169X.2007.00912.x.
- Muñoz R., Edwards-Faret G., Moreno M., Zuñiga N., Cline H., Larraín J. (2015). Regeneration of *Xenopus laevis* spinal cord requires Sox2/3 expressing cells. *Developmental biology*, 408(2), 229-243, doi: 10.1016/j.ydbio.2015.03.009.
- Oviedo N. J., Beane W. (2009). Regeneration: The origin of cancer or a possible cure? *Seminars in cell & developmental biology*, 20(5), 557-564, doi: 10.1016/j.semcd.2009.04.005.
- Rubart M., Field L. J. (2006). Cardiac regeneration: repopulating the heart. *Annual review of physiology*, 68, 29-49, doi: 10.1146/annurev.physiol.68.040104.124530.
- Sarig R., Tzahor E. (2017). The cancer paradigms of mammalian regeneration: can mammals regenerate as amphibians? *Carcinogenesis*, 38(4), 359-366, doi: 10.1093/carcin/bgw103.
- Scalia F. (1976). The Optic Pathway of the Frog: Nuclear Organization and Connections. W: Kerkut G. A. (red.). *Frog Neurobiology*, Berlin i Heidelberg: Springer.
- Suzuki S., Sasaki K., Fukazawa T., Kubo T. (2022). *Xenopus laevis* il11ra.L is an experimentally proven interleukin-11 receptor component that is required for tadpole tail

- regeneration. *Scientific reports*, 12(1), 1903, doi: 10.1038/s41598-022-05954-w.
- Tanaka M., Kuriyama S., Itoh G., Kohyama A., Iwabuchi Y., Shibata H., Yashiro M., Aiba N. (2016). Identification of anti-cancer chemical compounds using *Xenopus* embryos. *Cancer science*, 107(6), 803-811, doi: 10.1111/cas.12940.
- Tapon N., Harvey K. F., Bell D. W., Wahrer D. C. R., Schiripo T. A., Haber D. A., Hariharan I. K. (2002). Salvador Promotes both cell cycle exit and apoptosis in *Drosophila* and is mutated in human cancer cell lines. *Cell*, 110(4), 467-478, doi: 10.1016/s0092-8674(02)00824-3.
- Uygur A., Lee R. T. (2016). Mechanisms of Cardiac Regeneration. *Developmental cell*, 36(4), 362-374, doi: 10.1016/j.devcel.2016.01.018.
- Whitworth G. B., Misaghi B. C., Rosenthal D. M., Mills E. A., Heinen D. J., Watson A. H., Ives C. W., Ali S. H., Bezold K., Marsh-Armstrong N., Watson F. L. (2017). Translational profiling of retinal ganglion cell optic nerve regeneration in *Xenopus laevis*. *Developmental biology*, 426(2), 360-373, doi: 10.1016/j.ydbio.2016.06.003.
- Wijesekera L. C., Leigh P. N. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet journal of rare diseases*, 4, 3, doi: 10.1186/1750-1172-4-3.
- Woodworth M. B., Greig L. C., Goldberg J. L. (2023). Intrinsic and Induced Neuronal Regeneration in the Mammalian Retina. *Antioxidants & redox signaling*, 39(16-18), 1039-1052, doi: 10.1089/ars.2023.0309.
- Yoshino J., Tochinai S. (2006). Functional regeneration of the olfactory bulb requires reconnection to the olfactory nerve in *Xenopus* larvae. *Development, growth & differentiation*, 48(1), 15-24, doi: 10.1111/j.1440-169X.2006.00840.x.
- Yu H., Lu K., Zhu J., Wang J. (2017). Stem cell therapy for ischemic heart diseases. *British medical bulletin*, 121(1), 135-154, doi: 10.1093/bmb/ldw059.
- Zhang D., Bauer A. S., Blazar P., Earp B. E. (2021). Three-Dimensional Printing in Hand Surgery. *The journal of hand surgery*, 46(11), 1016-1022, doi: 10.1016/j.jhssa.2021.05.028.
- Zhang M., Chen Y., Xu H., Yang L., Yuan F., Li L., Xu Y., Chen Y., Zhang C., Lin G. (2018). Melanocortin Receptor 4 Signaling Regulates Vertebrate Limb Regeneration. *Developmental cell*, 46(4), 397-409.e5, doi: 10.1016/j.devcel.2018.07.021.

Źródła internetowe:

- [1]- https://files.poltransplant.org.pl/Biuletyn_2023_www.pdf [dostęp: październik 2024]
- [2]- <https://clinicaltrials.gov/> [dostęp: październik.2024]

Notka o autorce: *Studentka III roku Biotechnologii na MBW UG i GUMed. Wielka fankagier i filmów Sci-Fi, lubiąca łączyć naukę z fikcją. W obszar jej zainteresowań wchodzić terapię przeciwnowotworowe i nowinki technologiczne, o których lubi czytać na świeżym powietrzu.*

Analiza zagadnień związanych z cyberwojną na podstawie cyberataków na Estonię (2007), ukraińską elektrownię (2015) oraz sieć satelitarną KA-SAT (2022)

Mikołaj Nowak

Uniwersytet Gdański, Wydział Filologiczny, Instytut Badań nad Kulturą

E-mail: mikolaj-nowak@outlook.com

tutor: dr Helena Draganik

Uniwersytet Gdański, Wydział Filologiczny, Instytut Badań nad Kulturą

*Słowa kluczowe: cyberbezpieczeństwo, cyberprze-
stępność, cyberterrorizm, cyberwojna, Ukraina*

Wprowadzenie – cyberwojna i jej wi- zje

Kwestie związane z rozwojem technologii i idące za tym procesem szanse oraz zagrożenia stanowią bogaty rezerwuar idei możliwych do wykorzystania w przestrzeni szeroko rozumianej kultury popularnej. Jedną z koncepcji potencjalnego zagrożenia jest cyberwojna, która w tym obszarze niekiedy występuje jako wizja katastroficznych przemian. Można by w tym momencie odwołać się do skrajnego obrazu przejęcia kontroli nad ludzkością przez zbuntowane maszyny przedstawionego np. w filmie *Matrix* (1999). Warto byłoby jednak przytoczyć przykład bliższy podejmowanemu zagadnieniu, którym może być gra komputerowa *Battlefield 2042* (2021). Rozwój technologiczny, informatyzacja przestrzeni oraz chaos składają się

tutaj na przestrzeń funkcjonowania wojny, stanowią jej nieodłączne elementy. Hakowanie, zdalne unieszkodliwienie, namierzanie, manipulowanie otoczeniem za pomocą informatycznych narzędzi, czy zakłócanie są tego wyraźnym przykładem. Jest to natomiast przestrzeń przesadnie zdynamizowana, wynika to jednak z wymagań graczy względem wirtualnego świata oraz ich potrzeb dotyczących natychmiastowych doznań. Odbiorca, bez względu na to, czy jest widzem, czy graczem, nie może się nudzić. Fakt, iż kultura popularna w dużym stopniu operuje przekazami o właściwościach emocjonalnych, a tym samym niekiedy posuwa się do hiperbolizacji przedstawianych aspektów rzeczywistości, zapożyczonych z realnego świata, jest niepodważalny. Pojawiają się więc pytania: czym faktycznie jest cyberwojna i jakie formy może przybrać w rzeczywistości?

Niniejszy artykuł poddaje analizie problematykę związaną z definiowaniem cyber-

wojny i rozróżnieniem jej od innych negatywnych działań w cyberprzestrzeni. Podjęte rozważania mają na celu nakreślić potencjalną charakterystykę realnej wojny cybernetycznej. W oparciu o przegląd literatury, opinie ekspertów i instytucji zajmujących się cyberbezpieczeństwem wykazano, iż cyberwojna jest zjawiskiem wielowymiarowym. W artykule dokonano także analizy przypadków konkretnych incydentów, takich jak zmasowany atak cybernetyczny na Estonię z 2007 roku, atak na ukraińską elektrownię z 2015 roku czy zakłócenie sieci KA-SAT z 2022 roku.

Cyberwojna – problemy z definiowaniem

Cyberwojna to zjawisko, które rozgrywa się w specyficznej przestrzeni zwanej cyberprzestrzenią określanej niekiedy jako świat wirtualny. W polskim prawie cyberprzestrzeń definiowana jest w ramach ustawy z dnia 29 sierpnia 2002 r. o stanie wojennym oraz kompetencjach Naczelnego Dowódcy Sił Zbrojnych i zasadach jego podległości konstytucyjnym organom Rzeczypospolitej Polskiej jako:

[...] przestrzeń przetwarzania i wymiany informacji tworzona przez systemy teleinformatyczne określone w art. 3 pkt 3 ustawy z dnia 17 lutego 2005 r. o informatyzacji działalności podmiotów realizujących zadania publiczne (Dz. U. z 2021 r. poz. 2070 oraz z 2022 r. poz. 1087) wraz z powiązaniem między nimi oraz relacjami z użytkownikami (Dz. U. z 2002 r. Nr 156, poz. 1301).

W Tallinn Manual 2.0 – zbiorze wniosków z badań rozpoczętych już w 2013 roku (zob. Schmitt, 2013), w którym badacze analizowali możliwości aplikowania prawa międzynarodowego do kwestii związanych z cyberbezpieczeństwem – cyberprzestrzeń definiowana jest jako „środowisko tworzone przez fizyczne i niefizyczne komponenty do przechowywania, modyfikowania oraz wymiany

danych za pomocą sieci komputerowych” (Schmitt, 2017: 564). Rozumienie tego zagadnienia jest jednak niejednoznaczne, gdyż jak zauważa Wojciech Cendrowski „większość państw ma swoje własne doktryny i strategię [...] co implikuje wiele rozbieżności pod kątem nazewnictwa i kryteriów znamion, które miałyby charakteryzować konkretne zjawiska” (Cendrowski, 2017: 129) – dotyczy to zarówno definiowania cyberprzestrzeni, jak i cyberwojny (zob. Cendrowski, 2020).

Steve Winterfeld i Jason Andress (2013) proponują podejście stricte militarne oraz wskazują, że zarówno cyberprzestrzeń, jak i wojna, pomimo tego, iż zostały wielokrotnie zdefiniowane, nadal nie posiadają definicji używanych powszechnie. Korzystając z różnych źródeł, takich jak publikacje Departamentu Obrony Stanów Zjednoczonych oraz dzieła dotyczące teorii wojennej – O wojnie Carla von Clausewitza (2022) czy Sztuka wojny Sun Tzu (2014), autorzy zauważają fakt, że nie da się jednoznacznie wskazać definicji zarówno cyberprzestrzeni, wojny, jak i cyberwojny, pojęcia te są płynne i zależą w dużym stopniu od perspektywy definiującego (Winterfeld i Andress, 2013: 16–17).

François-Bernard Huyghe stwierdza, że „cyberwojna pozbawiona jest miejsca w przestrzeni i nie jesteśmy w stanie określić jej precyzyjnej lokalizacji” (Huyghe, 2011: 9). Trudności te prowokują pytanie o to, czy akty określane mianem cyberwojny nie mogłyby po prostu być interpretowane jako cyberprzestępstwa. Temat ten podejmuje politolog Thomas Rid (2013), który przytaczając traktat Clausewitza (2022), wskazuje na trzy kluczowe cechy (kryteria) wojny przedstawione przez pruskiego teoretyka – stosowanie przemocy (*violent*), instrumentalność (*instrumental*) oraz polityczność (*political*). Według badacza żadna cyberwojna nie powinna być określana mianem wojny, ponieważ nie spełnia wszystkich trzech kryteriów (Rid, 2013: 1–4).

Wojna cybernetyczna nie musi być jednak postrzegana jako odrębna kategoria, lecz można ująć ją jako na przykład element wojny sensu stricto. Zbliżoną koncepcję przedstawiają Paulo Shakarian, Jana Shakarian oraz Andrew Ruef (2013), którzy wychodząc od Clausewitzowskiej wojny jako „dalejszego ciągu stosunków politycznych” (Clausewitz, 2022: 49), definiują cyberwojnę jako:

[...] rozszerzenie polityki poprzez działania podejmowane w cyberprzestrzeni przez podmioty państwowe lub niepaństwowe, które stanowią poważne zagrożenie dla bezpieczeństwa narodu, lub są prowadzone w odpowiedzi na działania postrzegane jako zagrożenie dla bezpieczeństwa narodu (Shakarian i in., 2013: 2).

Pomimo różnych prób odpowiedzi, pytanie o definiowanie cyberwojny (a także samej wojny) pozostaje otwarte. Choć wydaje się właściwym stwierdzenie, iż w obecnej rzeczywistości cyberwojnę można nazwać pojedyncze działania wykorzystujące sferę cyberprzestrzeni do przeprowadzenia ataku, który prowadzi do destabilizacji życia konkretnej społeczności, uszczerbku na zdrowiu, a nawet śmierci. Biorąc pod uwagę ten ostatni aspekt (śmierć) – w praktyce nie istnieje żaden przykład, który odpowiadałby tak zarysowanej definicji wojny cybernetycznej. Istnieje jednak coraz większe ryzyko, że zaawansowane cyberataki na infrastrukturę krytyczną – szpitale, sieci energetyczne czy transport – mogą prowadzić do zagrożeń, w których wystąpią ofiary. Oczywiście taka definicja rodzi kolejne pytania, a mianowicie jak oddzielić cyberwojnę od innych negatywnych działań w cyberprzestrzeni (zob. Cendrowski, 2020).

Cyberprzestępstwo, cyberwojna, cyberterrorizm – rozważania i próba podziału

W kontekście prowadzonych rozważań warto zwrócić uwagę na pojęcia związane

z działaniami w cyberprzestrzeni, które zagrażają bezpieczeństwu społecznemu. Jednym z takich terminów jest cyberprzestępstwo stanowiące kolejne, niezwykle szerokie zagadnienie. W polskim prawie definicja tego zjawiska nie została jednoznacznie sformułowana. Można natomiast wysnuć uniwersalne twierdzenie, iż cyberprzestępstwo to wszelkie „czyny zabronione, skierowane przeciwko systemom informatycznym, w których komputer jest celem samym w sobie, oraz czyny dokonane z użyciem komputera, w których stanowi on jedynie narzędzie” (Stefanowicz, 2017: 20). Stąd wynika podział na dwa rodzaje przestępstw: te, w których komputer jest jedynie środkiem lub narzędziem ich popełnienia, choć mogłyby one zaistnieć także bez jego użycia, oraz te, w których komputer stanowi niezbędną podstawę, a ich popełnienie jest możliwe wyłącznie z jego wykorzystaniem (Siwicki, 2012: 243).

Do innych działań – oprócz wyżej przedstawianej cyberwojny i cyberprzestępstwa – które destabilizują społeczeństwo, należy cyberterrorizm, którego definiowanie również sprawia problemy. Amerykańska wykładowczyni Dorothy E. Denning zaproponowała następującą definicję: „bezprawny atak lub groźba ataku na komputery, sieci i przechowywane w nich informacje w celu zastraszenia lub wymuszenia na rządzie, lub obywatelach określonego państwa realizacji celów politycznych, lub społecznych” (Denning, 2000). Jak można zauważyć, cyberterrorizm nieznacznie różni się od cyberwojny. Jego głównym celem, podobnie jak terroryzmu konwencjonalnego, jest wywołanie strachu, a tym samym próba wywarcia presji w celu zainicjowania określonego działania. W tym przypadku określone działanie (reakcja) jest pewnego rodzaju zyskiem dla terroryzmu cybernetycznego, który osiągany jest za pomocą strachu. Strach, natomiast, jest jednym z czynników prowadzących do destabilizacji

(zob. Skubisz, 2017:65) – istotnie widać tutaj znaczące podobieństwo do wojny cybernetycznej.

Każda zaplanowana destabilizacja, która polega na stworzeniu określonej sytuacji i umożliwia dalsze działania lub wywołuje konkretną reakcję, jest dążeniem do osiągnięcia celu. Choć wydaje się, w świetle przedstawionych argumentów i definicji, że rozumienie cyberwojny powinno być ograniczone do narzędzia wykorzystywanego podczas konwencjonalnej wojny, to istnieją również przypadki, które odbiegają od tej reguły. Jeśli cyberwojna jest „rozszerzeniem polityki poprzez działania podejmowane w cyberprzestrzeni” (Shakarian i in., 2013: 2), to można ogólnie stwierdzić, że w obecnej rzeczywistości jej głównym celem jest dążenie do destabilizacji określonej grupy społecznej. Cyberprzestępstwa również mogą zmierzać do takiego celu, jednak różnica tkwi w skali ataku – zakłócenie pracy elektrowni i pozbawienie tysięcy ludzi dostępu do energii elektrycznej powinno być rozpatrywane inaczej niż atak ransomware¹ na określoną spółkę – i fakcie, iż cyberprzestępstwa są najczęściej ukierunkowane na pewien zysk (pozyskanie czegoś np. danych, pieniędzy, dostępu itd.) Nie oznacza to jednak, że oba pojęcia nie są ze sobą związane.

Zmasowany atak cybernetyczny na Estonię (2007)

27 kwietnia 2007 roku rozpoczęła się seria ataków cybernetycznych wymierzonych w estońskie społeczeństwo, których źródło

¹ Ransomware (ang. *ransom* – okup, *software* – oprogramowanie) – „oprogramowanie, które blokuje dostęp do zaatakowanego systemu komputerowego i uniemożliwia odczyt zapisanych w nim danych, często przez ich zaszyfrowanie, a następnie żąda od ofiary okupu za przywrócenie stanu pierwotnego” (Nowakowski, 2021:80).

przypisuje się Federacji Rosyjskiej (Warchoł, 2023: 312). Incydent ten był bezpośrednio związany z dążeniami rządu Estonii do usunięcia tzw. posągu Brązowego Żołnierza z centrum Tallina. Pomnik ten był dla Estończyków symbolem radzieckiej okupacji, dla strony rosyjskiej stanowił on jednak wyraz uznania dla poległych żołnierzy radzieckich, a także symbol zwycięstwa nad nazizmem (Lakomy, 2015: 188).

Początkowa fala ataków miała charakter raczej chaotyczny i dotyczyła w większości oficjalnych witryn rządowych, które zakłócano za pomocą prostych ataków DDoS². Jednak już pod koniec kwietnia incydenty stały się bardziej zaawansowane – zaczęto wykorzystywać rozbudowane sieci botnet³. 3 i 4 maja oraz w kulminacyjnym okresie w nocy 9 maja (rocznica zwycięstwa Związku Radzieckiego nad nazistami), atakujący skupili się nie tylko na instytucjach państwowych, ale również na sektorze finansowym. Największy estoński bank Hansabank został pozbawiony dostępu do kluczowych usług, co wpłynęło na funkcjonowanie całego systemu płatności i bankowości w kraju. 15 maja do ataku na estońskie instytucje wykorzystano sieć botnet składającą się z około 85 tys. komputerów (Lakomy, 2015: 191–192).

Wydarzenia te określane są w dyskursie jako „pierwsza cyberwojna” (Lakomy, 2015: 184; Landler i Markoff, 2007), jednak jak wskazuje Miron Lakomy, sytuacja ta pozostaje niejednoznaczna, a zdania ekspertów

² DDoS (ang. *Distributed Denial of Service*) – atak ukierunkowany na zajęcie wszystkich wolnych zasobów docelowego systemu poprzez skoordynowane i jednoczesne generowanie ruchu z wielu, przejętych przez atakujących, komputerów, czyli tzw. botnetu. (Gu i Liu, 2012).

³ Botnet (ang. *bot od robot* – automat, *net* – sieć) – „potoczna nazwa sieci komputerów-zombie, czyli komputerów pozostających pod kontrolą hakerów z wykorzystaniem wirusów, koni trojańskich itp.” (Pączkowski, 2017).

są podzielone. Incydent ten jest postrzegany między innymi jako hybrydowa forma zagrożenia cybernetycznego, łącząca zarówno elementy spontanicznej mobilizacji, jak i zorganizowanej, państwowej operacji mającej na celu wymuszenie zmian w polityce innego państwa (Lakomy, 2015: 197–200). Pomimo tego, iż uznanie ataków na Estonię za cyberwojnę stanowiłoby pewnego rodzaju „nadużycie” (Lakomy, 2015: 200), sytuacja ta potencjalnie pokazała, że istnieje możliwość prowadzenia autonomicznej cyberwojny.

Cyberatak na ukraińską elektrownię (2015)

23 grudnia 2015 roku doszło do poważnego ataku cybernetycznego na infrastrukturę energetyczną w obwodzie iwano-frankiwskim w zachodniej części Ukrainy. Różne źródła podają odmienne dane, lecz liczba mieszkańców, którzy zostali pozbawieni dostępu do energii elektrycznej, oscyluje wokół 200 tysięcy (Zetter, 2016; Park i Walstrom, 2017), a skutki ataku trwały od czterech do sześciu godzin (Gapiński, 2016).

Ataku dokonano za pomocą złośliwego oprogramowania (malware) – BlackEnergy – które powstało już w 2007 roku i na przestrzeni lat ewoluowało z narzędzia do przeprowadzania ataków DDoS oraz tworzenia botnetów do skomplikowanego oprogramowania umożliwiającego różnorakie działania, takie jak szpiegostwo, zdalne sterowanie zainfekowaną maszyną, czy pozyskiwanie

specyficznych danych (zob. Shrivastava, 2016). Źródła podają, iż wirus BlackEnergy miał dostać się do systemów na kilka miesięcy przed atakiem (Bock i in., 2019; Park i Walstrom, 2017). Dzięki metodzie spear-phishing⁴ hakerzy skłonili ofiary do pobrania załącznika w postaci pliku Microsoft Office (a konkretniej pliku z rozszerzeniem PPSX odpowiadającego prezentacji multimedialnej w programie PowerPoint (Lipovsky, 2014)) zawierającego trojana⁵, który po aktywacji rozpoczynał instalowanie kolejnych niebezpiecznych programów (Gapiński, 2016).

Zgodnie z opisem sytuacji cały atak trwał kilka minut, a pracownik, który stracił kontrolę nad systemem, mógł tylko patrzeć, jak kursor porusza się po interfejsie i wyłącza kolejne komponenty. Podczas próby odzyskania kontroli okazało się, iż operator został wylogowany, a hasło uległo zmianie. Wykorzystano także oprogramowanie KillDisk⁶, które posłużyło do wyczyszczenia nośników danych, a tym samym uniemożliwiło ponowne uruchomienie systemu. Dodatkowo poprzez atak TDoS⁷ wyłączone zostało biuro obsługi telefonicznej, aby osoby pozbawione elektryczności nie mogły zgłaszać problemów z infrastrukturą energetyczną ani uzyskać bezpośredniej informacji (De Tomas Colatin, 2018; Bock i in., 2019).

Władze Ukrainy stwierdziły, iż źródłem cyberataku jest Federacja Rosyjska (Zetter, 2016; De Tomas Colatin, 2018). Taki scenariusz przyjęły również Stany Zjednoczone,

⁴ Spear phishing (ang. *spear* – harpun) – ukierunkowany, przeprowadzany najczęściej za pośrednictwem poczty elektronicznej atak, który ma na celu skłonienie ofiary do wykonania określonej czynności poprzez zawarcie spersonalizowanych i osobistych informacji, które bezpośrednio dotyczą ofiary (Europol EC3, 2019).

⁵ Trojan – złośliwe oprogramowanie ukryte w pozornie legalnym programie, które „[...] zawiera ukryty kod umożliwiający hakerowi przejęcie kontroli nad zainfekowanym komputerem [...]” (Pączkowski, 2017).

⁶ KillDisk – złośliwe oprogramowanie z funkcjami wymazywania dysku, takimi jak uszkodzenie sektorów rozruchowych i nadpisywanie oraz usuwanie plików systemowych, po szkodliwych działaniach na dysku ponownie uruchamia komputer w celu uczynienia go bezużytecznym (MITRE ATT&CK, 2021).

⁷ TDoS (ang. Telephony Denial of Service) – atak polegający na zablokowaniu linii telefonicznej przez przeciążenie jej setkami jednoczesnych połączeń, uniemożliwiający odbieranie połączeń przychodzących i/lub wykonywanie połączeń wychodzących (FBI, 2021).

które wszczęły własne śledztwo w tej sprawie (Cybersecurity and Infrastructure Security Agency, 2021; Gapiński, 2016). Atak przypisywany jest grupie Sandworm (G.U. 74455), która podlega Głównemu Zarządowi Wywiadowczemu Federacji Rosyjskiej (GRU). Informacje te nie są jednak w pełni potwierdzone, bowiem podobnie jak w każdym „profesjonalnie” przeprowadzonym (Zetter, 2016) cyberataku, ustalenie konkretnego sprawcy jest bardzo trudne, jeśli nie niemożliwe.

Przyjmując, że za cyberatakiem faktycznie stoi Federacja Rosyjska, biorąc pod uwagę czas ataku, możemy jasno stwierdzić, że miał on na celu destabilizację społeczeństwa. Należy również zauważyć fakt, iż cyberatak ten stwarzał potencjalne zagrożenie dla zdrowia (i życia) mieszkańców dotkniętych przerwą w dostawie prądu – atak został przeprowadzony w grudniu, kiedy temperatury są stosunkowo niskie (Zetter, 2016). Niektórzy „uważają, że atak miał na celu obserwację zachowania ukraińskich władz oraz wypróbowania własnego potencjału” (Kost, 2017). Atak ten można nazwać aktem cyberwojny, który stanowił element prowadzonej na terytorium Ukrainy wojny hybrydowej rozpoczętej wraz z aneksją Krymu w 2014 roku (Ochmann i Wojas, 2015: 87–88).

Cyberatak na sieć satelitarną KA-SAT (2022)

Wraz z otwartym atakiem Rosji na Ukrainę 24 lutego 2022 doszło do zakłócenia sieci Internetu satelitarnego KA-SAT, której operato-

rem jest amerykańska firma telekomunikacyjna Visat. Atak nie dotyczył bezpośrednio satelity, lecz infrastruktury naziemnej w postaci modemów i routerów (Kerttunen i in., 2023: 6). Hakerzy wykorzystali błędną konfigurację aplikacji VPN⁸, zyskując dostęp do zaufanego segmentu zarządzania i korzystając ze złośliwego oprogramowania (malware) AcidRain (zob. Guerrero-Saade, 2022), nadpisali pamięć flash⁹ modemów, przez co te nie były w stanie połączyć się z siecią (Visat, 2022; Kerttunen i in., 2023: 6–7; Guerrero-Saade, 2022). Cyberatak początkowo dotyczył jedynie Ukrainy, jednak z czasem obszar zakłóceń zwiększył się i wpłynął także na infrastrukturę innych państw objętych zasięgiem sieci KA-SAT. Poza Ukrainą atak spowodował zakłócenie komunikacji niemieckich turbin wiatrowych z systemami zdalnej konserwacji (Palczewski, 2023; Kerttunen i in., 2023: 2).

Analiza kodu (Guerrero-Saade, 2022) AcidRain wykazała znaczne podobieństwo do oprogramowania VPNFilter¹⁰, które zostało wcześniej powiązane z grupą Fancy Bear (APT28) przez FBI oraz Departament Sprawiedliwości USA. Inna analiza przeprowadzona przez NSA¹¹ oraz CISA¹² wykazała powiązanie oprogramowania z grupą Sandworm (G.U. 74455). Według analityków obie grupy podlegają Federacji Rosyjskiej (Steinbrecher, 2022; Kerttunen i in., 2023: 5). Odpowiedzialność za ten atak cybernetyczny przypisano więc Rosji – nie tylko na podstawie równoległego rozpoczęcia konwencjonalnej wojny, lecz także w oparciu o analizę struktury oprogramowania wykorzystanego

⁸ VPN (ang. *Virtual Private Network*) – „wirtualna sieć oparta na istniejących sieciach fizycznych, która umożliwia bezpieczną transmisję danych i informacji IP pomiędzy różnymi sieciami lub w obrębie tej samej sieci” (Baker i in., 2020: 8).

⁹ Pamięć flash – rodzaj pamięci „nieulotnej”, która zachowuje dane po odłączeniu zasilania. Powszechnie stosowana w smartfonach, modemach i innych urządzeniach elektronicznych.

¹⁰ VPNFilter – złośliwe oprogramowanie (*malware*), które służy do atakowania urządzeń sieciowych takich, jak routery oraz serwery NAS. Jest w stanie potencjalnie uszkodzić zainfekowane urządzenie (Cybersecurity and Infrastructure Security Agency, 2018).

¹¹ National Security Agency (Agencja Bezpieczeństwa Narodowego).

¹² Cybersecurity and Infrastructure Security Agency (Agencja Cyberbezpieczeństwa i Infrastruktury).

do jego przeprowadzenia. Incydent był szeroko komentowany oraz potępiany przez wiele państw i organizacje międzynarodowych (Kerttunen i in., 2023: 5, 8–9).

Początkowo postrzegano ten atak cybernetyczny jako strategię w zakłóceniu komunikacji wojskowej. Jednak miał on „ograniczony wpływ na komunikację wojska i policji, ponieważ mogły one polegać na analogowych telefonach stacjonarnych [...]” (Kerttunen i in., 2023: 3). Nawet jeśli atak nie wpłynął w znaczącym stopniu na struktury militarne, to i tak część ludności cywilnej pozbawiona została dostępu do sieci, co w szczególnych przypadkach mogło znacząco utrudniać komunikację, która stanowiła istotny element w tak kluczowym czasie, jak rozpoczęcie wojny.

Można w zarysie stwierdzić, iż atak ten – podobnie jak omawiany wyżej atak na elektrownię – stanowił akt cyberwojny, którego ogólnym celem była destabilizacja sytuacji w atakowanym kraju i wprowadzenie chaosu. Tutaj jednak był on elementem konwencjonalnej i otwarcie wypowiedzianej wojny.

Podsumowanie

Cyberwojna jest zjawiskiem wielowymiarowym, którego granice są płynne i niekiedy pokrywają się z charakterystyką innych negatywnych działań w cyberprzestrzeni – takich, jak cyberterrorizm czy cyberprzestępczość. Cyberwojna przede wszystkim stanowi element wojny hybrydowej, która łączy różnego rodzaju strategię, jednak istnieje potencjał dla prowadzenia jej w sposób autonomiczny i niepowiązany z innymi strategiami. Może ona wyznaczać także punkt wyjściowy dla konwencjonalnych i otwartych działań wojennych. Związane z nią zagrożenia obejmują nie tylko destabilizację systemów państwowych, lecz stanowią również realne ryzyko dla zdrowia i życia obywateli poprzez zakłócenie pracy kluczowej infrastruktury.

Wobec ciągłego rozwoju i wzrostu liczby ataków na infrastrukturę krytyczną istotne jest zacieśnienie międzynarodowej współpracy oraz zwiększenie świadomości w zakresie cyberbezpieczeństwa na poziomie społeczeństw i instytucji. W przyszłości cyberwojna może stać się elementem konfliktów zbrojnych o znacznie większej skali niż dotychczas, dlatego konieczne jest, by już teraz przygotować społeczeństwo na potencjalne konsekwencje takich działań.

Literatura:

- Baker E., Dang Q., Frankel S., Scarfone K., Wouters P., 2020, *Guide to IPsec VPNs*, Gaithersburg, National Institute of Standards and Technology.
- Cendrowski W., 2017, *Cyberwojna i jej znaczenie dla bezpieczeństwa NATO w kontekście przypadków i dokumentów strategicznych*, [w:] H. Batorowska (red.), *Walka informacyjna. Uwarunkowania. Incydenty. Wyzwania*, Kraków, Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie, s. 128–141.
- Clausewitz C. von, 2022, *O wojnie*, A. Cichowicz, L.W. Koc (przeł.), Warszawa, Bellona.
- Europol EC3, 2019, *Spear Phishing. A Law Enforcement and Cross-Industry Perspective*, Haga, European Union Agency for Law Enforcement Cooperation.
- Gu Q., Liu P., 2012, *Denial of Service Attacks*, [w:] H. Bidgoli (red.), *Handbook of computer networks*, t. 3, Hoboken, John Wiley & Sons, s. 454–468.
- Huyghe F.-B., 2011, *Cyberwar and its borders*, [w:] D. Ventre (red.), *Cyberwar and information warfare*, Londyn, ISTE, s. 1–30.
- Lakomy M., 2015, *Cyberprzestrzeń jako nowy wymiar rywalizacji i współpracy państw*, Katowice, Wydawnictwo UŚ.
- Nowakowski W., 2021, *Ransomware, Człowiek i dokumenty*, 63, s. 80–84.
- Ochmann P., Wojas J., 2015, *Współczesne znaczenie aktu wypowiedzenia wojny –*

uwagi w kontekście konfliktu na wschodzie Ukrainy, *Bezpieczeństwo. Teoria i Praktyka*, 3, s. 81–92.

- Pączkowski T., 2017, *Słownik cyberbezpieczeństwa*, Katowice, Szkoła Policji w Katowicach.
- Rid T., 2013, *Cyber war will not take place*, Oxford, Oxford University Press.
- Schmitt M.N. (red.), 2013, *Tallin manual on the international law applicable to cyber warfare*, Cambridge, Cambridge University Press.
- Schmitt M.N. (red.), 2017, *Tallinn manual 2.0 on the international law applicable to cyber operations*, Cambridge, Cambridge University Press.
- Shakarian P., Shakarian J., Ruef A., 2013, *Introduction to cyber-warfare. A multidisciplinary approach*, Waltham, Syngress.
- Siwicki M., 2012, Podział i definicja cyberprzestępstw, *Prokuratura i Prawo*, 7–8, s. 241–252.
- Skubisz J., 2017, Istota bezpieczeństwa, *Zarządzanie Innowacyjne w Gospodarce i Biznesie*, 2, s. 61–77.
- Stefanowicz M., 2017, Cyberprzestępczość. Próba diagnozy zjawiska, *Kwartalnik Policyjny*, 4, s. 19–23.
- Tzu S., Pin S., 2014, *Sztuka wojny*, wyd. 3, B. Oczko (red.), D. Bakalarz (przeł.), Gliwice, Helion.
- Warchoń A., 2023, Od ofiary do światowego lidera. Estonia po cyberatakach z 2007 roku, *Politeja*, 20 (5), s. 307–327.
- Winterfeld S., Andress J., 2013, *The Basics of Cyber Warfare. Understanding the Fundamentals of Cyber Warfare in Theory and Practice*, Waltham, Elsevier.

Źródła internetowe:

- Bock P., Hauet J.-P., Françoise R., Foley R., 2019, *Lessons learned from a forensic analysis of the Ukrainian power grid cyberattack* [online], <https://blog.isa.org/lessons-learned-forensic-analysis-ukrainian-power-grid-cyberattack-malware> [dostęp: 03.11.2024 r.].
- Cendrowski W., 2020, *Cyberwojna*, [w:] *Vademecum Bezpieczeństwa Informacyjnego* [online], <https://vademecumbezpieczenstwainformacyjnego.uken.krakow.pl/2020/03/09/cyberwojna/> [dostęp: 27.10.2024].
- Cybersecurity and Infrastructure Security Agency, 2018, *VPNFilter destructive malware* [online], <https://www.cisa.gov/news-events/alerts/2018/05/23/vpnfilter-destructive-malware> [dostęp: 04.11.2024 r.].
- Cybersecurity and Infrastructure Security Agency, 2021, *Cyber-attack against Ukrainian critical infrastructure* [online], <https://www.cisa.gov/news-events/ics-alerts/ir-alert-h-16-056-01> [dostęp: 03.11.2024 r.].
- De Tomas Colatin S., 2018, *Power grid cyberattack in Ukraine (2015)* [online], [https://cyberlaw.ccd-coe.org/wiki/Power_grid_cyberattack_in_Ukraine_\(2015\)](https://cyberlaw.ccd-coe.org/wiki/Power_grid_cyberattack_in_Ukraine_(2015)) [dostęp: 03.11.2024 r.].
- Denning D.E., 2000, *Cyberterrorism. Testimony before the Special Oversight Panel on Terrorism Committee on Armed Services U.S. House of Representatives* [online], <https://faculty.nps.edu/dedennin/publications/Testimony-Cyberterrorism2000.htm> [dostęp: 02.11.2024 r.].
- DICE, 2021, *Battlefield 2042*, EA Games.
- FBI, 2021, *Telephony Denial of Service Attacks Can Disrupt Emergency Call Center Operations* [online], <https://www.ic3.gov/PSA/2021/PSA210217> [dostęp: 29.11.2024].
- Gapiński K., 2016, *Blackout w zachodniej Ukrainie. Cyber atak o wymiarze międzynarodowym* [online], <https://pulaski.pl/komentarz-blackout-w-zachodniej-ukrainie-cyber-atak-o-wymiarze-miedzynarodowym/> [dostęp: 03.11.2024 r.].
- Guerrero-Saade J.A., 2022, *AcidRain. A modem wiper rains down on Europe* [online],

- <https://www.sentinelone.com/labs/acid-rain-a-modem-wiper-rains-down-on-europe/> [dostęp: 04.11.2024 r.].
- Kerttunen M., Schuck K., Hemmelskamp J., 2023, *Major Cyber Incident: KA-SAT 9A* [online], <https://eurepoc.eu/wp-content/uploads/2023/12/Viasat-PL-Final.pdf> [dostęp: 04.11.2024 r.].
- Kost P., 2017, *Nowy etap wojny na Ukrainie. Rosja celuje w infrastrukturę krytyczną* [online], <https://energetyka24.com/nowy-etap-wojny-na-ukrainie-rosja-celuje-w-infrastrukture-krytyczna> [dostęp: 03.11.2024 r.].
- Landler M., Markoff J., 2007, *In Estonia, what may be the first war in cyberspace* [online], <https://www.nytimes.com/2007/05/28/business/worldbusiness/28iht-cyberwar.4.5901141.html> [dostęp: 17.02.2025].
- Lipovsky R., 2014, *CVE-2014-4114. Details on August BlackEnergy PowerPoint campaigns* [online], welivesecurity.com/2014/10/14/cve-2014-4114-details-august-blackenergy-powerpoint-campaigns/ [dostęp: 03.11.2024 r.].
- MITRE ATT&CK, 2021, *KillDisk* [online], <https://attack.mitre.org/software/S0607/> [dostęp: 29.11.2024].
- Palczewski S., 2023, *Rosyjska inwazja na Ukrainę. Jak wygląda walka w sieci?* [online], <https://demagog.org.pl/analizy-i-raporty/rosyjska-inwazja-na-ukraine-jak-wyglada-walka-w-sieci/?cn-reloaded=1> [dostęp: 04.11.2024 r.].
- Park D., Walstrom M., 2017, *Cyberattack on critical infrastructure. Russia and the Ukrainian power grid attacks* [online], <https://jsis.washington.edu/news/cyberattack-critical-infrastructure-russia-ukrainian-power-grid-attacks/> [dostęp: 03.11.2024 r.].
- Shrivastava S., 2016, *Analysis Report. BlackEnergy. Malware for Cyber-Physical Attacks* [online], <https://itrust.sutd.edu.sg/research/reports/> [dostęp: 03.11.2024 r.].
- Steinbrecher D., 2022, *Viasat KA-SAT attack (2022)* [online], [https://cyberlaw.ccd-coe.org/wiki/Viasat_KA-SAT_attack_\(2022\)](https://cyberlaw.ccd-coe.org/wiki/Viasat_KA-SAT_attack_(2022)) [dostęp: 04.11.2024 r.].
- Visat, 2022, *KA-SAT Network cyber attack overview* [online], <https://news.viasat.com/blog/corporate/ka-sat-network-cyber-attack-overview> [dostęp: 04.11.2024 r.].
- Wachowski L., Wachowski L. (reż.), 1999, *Matrix*, USA.
- Zetter K., 2016, *Inside the cunning, unprecedented hack of Ukraine's power grid* [online], <https://www.wired.com/2016/03/inside-cunning-unprecedented-hack-ukraines-power-grid/> [dostęp: 03.11.2024 r.].

Akty prawne

Ustawa z dnia 29 sierpnia 2002 r. o stanie wojennym oraz o kompetencjach Naczelnego Dowódcy Sił Zbrojnych i zasadach jego podległości konstytucyjnym organom Rzeczypospolitej Polskiej (Dz. U. z 2002 r. Nr 156, poz. 1301).

Notka o autorze: Student III roku studiów pierwszego stopnia na kierunku Kulturoznawstwo na Wydziale Filologicznym Uniwersytetu Gdańskiego. Członek studenckiego koła naukowego Mozaika. Interesuje się antropologią przemocy, zjawiskami związanymi z wojną i terroryzmem, komunikacją polityczną, kulturą Bliskiego Wschodu, Skandynawii oraz krajów postjugosłowiańskich, a także literaturą i muzealnictwem.

Marchewką czy kijem, czyli dylematy twórcy edukacyjnej gry komputerowej

Olga Maruszyńska

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Fizyki i Astronomii

E-mail: olga.maruszynska@gmail.com

tutor: prof. UAM dr hab. Sławomir Mamica

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Fizyki i Astronomii

Słowa kluczowe: kara, nagroda, gra, motywacja

W dzisiejszych czasach, gdy dostęp do technologii ma niemal każdy, gry komputerowe stały się niezwykle popularne, szczególnie wśród dzieci. Choć ich głównym zadaniem jest dostarczanie rozrywki, mogą być również wykorzystywane w edukacji. Gry edukacyjne cieszą się dużą popularnością, ponieważ łączą przyjemne z pożytecznym. Dzieci mogą się uczyć poprzez zabawę, co stanowi dla nich zdecydowanie atrakcyjniejszą formę nauki.

Powstanie każdej gry jest wynikiem pracy zespołu, który zrealizował szereg zadań niezbędnych do stworzenia tytułu. Jednym z najważniejszych etapów tego procesu jest zaprojektowanie gry. To od tego kroku zależy, czy produkt będzie interesujący dla odbiorców. Projektanci gier muszą dokładnie przemyśleć jej elementy, tak aby skutecznie zachęcały graczy do grania. Stają oni przed wieloma dylematami, spośród których jeden z najistotniejszych brzmi: czy należy wyłącznie nagradzać gracza za dobrze wykonane

zadanie, czy można również karać za popełnione błędy?

Moim zdaniem, mechanizm nagradzania odgrywa istotną rolę w motywowaniu do działania. Możliwość otrzymania nagrody skutecznie zachęca do podejmowania wyzwań oraz daje radość z wykonywanej czynności (np. nagrody za dobre oceny motywują uczniów do nauki) (Krajewska, 2012). Dzięki temu osoba, która podejmuje się danego działania widzi sens tego co robi. Mechanizm nagradzania wykorzystuje się np. w grywalizacji, czyli procesie, w którym wykorzystywane są elementy znane z gier w innych obszarach, np. w nauce. W zależności od tego, jakie elementy są wykorzystywane, można uzyskać różne rezultaty w kontekście zaangażowania, np. wyzwania i poziomy powodują jego wzrost, a odznaki skutecznie je podtrzymują (Wawer, 2016). Przykładem zastosowania grywalizacji jest aplikacja Kahoot!, która często wykorzystywana jest w szkołach przy powtórkach materiału. Zawiera ona wiele quizów na różne tematy. Po zakończeniu rozgrywki nauczyciele często decydują się nagrodzić ucznia (np. plusem

bądź oceną z aktywności), który zajął pierwsze miejsce w quizie. Dzięki temu uczniowie nie tylko zdobywają wiedzę, ale także angażują się w naukę w bardziej atrakcyjny sposób.

Uważam, że nadmiar nagród może negatywnie wpłynąć na jakość realizacji danego zadania. Moim zdaniem jest to spowodowane tym, że gdy jest ich za dużo, osoby podejmujące się danego wyzwania (np. nauki) przestają skupiać się na tym co jest istotne (np. na zdobywaniu wiedzy), tylko dążą do zdobycia nagrody (często bezmyślnie, w ogóle nie skupiając się na tym co obecnie robią). Ponadto uważam, że gdy głównym celem jest zdobycie nagrody, istnieje ryzyko, że niektórzy zaczną szukać najłatwiejszych sposobów na jej zdobycie, często nawet poprzez oszukiwanie (np. ściąganie na sprawdzianach w celu zdobycia jak najlepszej oceny). W rezultacie, takie osoby nie przyswajają żadnej wiedzy, tylko koncentrują się na zdobyciu nagrody, co nie jest pożądanym efektem.

Biorąc pod uwagę powyższe aspekty uważam, że mechanizm nagradzania w grach edukacyjnych odgrywa kluczową rolę, ale należy go dokładnie przemyśleć. Jeżeli jest on dobrze wykonany, to przynosi wiele korzyści – gracze chętnie sięgają po naszą grę i czerpią z niej korzyści edukacyjne. Kiedy ilość nagród jest zbyt duża, to głównym celem gracza staje się zdobycie ich, często także poprzez oszukiwanie. Należy również zadbać o to, żeby nagrody były adekwatne do włożonego przez gracza wysiłku – zbyt słabe mogą spowodować, że gracz uzna, że nie widzi sensu w realizacji określonych zadań, znudzi się grą i porzuci ją bez zamiaru powrotu.

Myślę, że karanie jest równie istotne co nagradzanie. Głównym celem karania jest wyeliminowanie niepoprawnego zachowania, poprzez doświadczanie przykrych doznań. Dzięki temu karany uczy się, że to co

zrobił nie jest dobre i nie powinien tego więcej robić, jeżeli nie chce zostać ponownie ukarany (Krajewska, 2012). Karać można zarówno za błędy (np. ujemne punkty na sprawdzianach za błędne odpowiedzi) jak i niewykonanie określonego zadania (np. w domu, gdy rodzic o coś prosi, a dziecko tego nie zrealizuje). Uważam, że karanie za popełnione błędy skutecznie wpływa na dokładność realizacji przydzielonego zadania. Jednym z miejsc, gdzie można doświadczyć kary za popełniony błąd są gry komputerowe. Jak zauważył Jesper Juul (za Kozyra, 2019, s. 38, 39), w grach komputerowych gracze oczekują porażki, która jest konsekwencją popełnionych błędów, czyli karą. Jest to spowodowane tym, że dzięki karaniu gra staje się bardziej angażująca, a odbiorcy pozostają zmotywowani do dalszej rozgrywki, w której poprawią popełnione przez siebie błędy. Wygrana, w grze, w której może pójść coś nie tak, jest zdecydowanie bardziej satysfakcjonująca niż w grze bez możliwości popełnienia błędu. Przykładem wykorzystania kar w grywalizacji jest system żyć w Duolingo, aplikacji służącej do nauki języków obcych. Za każdy popełniony błąd użytkownik traci jedno życie, a po utracie wszystkich nie może kontynuować lekcji i musi poczekać aż życia się zregenerują. Wydaje się to być bardzo skutecznym mechanizmem motywującym użytkowników do poprawnego wykonywania ćwiczeń językowych.

Oczywiście, mechanizm karania, mimo swoich zalet, posiada również wady. Na niektórych kary mogą działać demotywująco – po ich otrzymaniu, ukarani nie są chętni do naprawienia swoich błędów i po prostu akceptują konsekwencje swoich błędów. Ponadto, moim zdaniem, może to również wpływać na ich podejście w przyszłości – jeżeli dana osoba była karana zbyt często lub zbyt surowo może zniechęcić się do wykonywania danej czynności i przestać próbować z obawy przed popełnianiem błędów i byciem ponownie ukarany. Częstym błędem

w stosowaniu kar za błędy jest brak informacji zwrotnej na temat tego co dana osoba zrobiła źle i co powinna poprawić. Przez to nie będzie ona wiedziała co było nie tak i w jaki sposób może to poprawić, przez co nawet nie będzie próbować.

Moim zdaniem mechanizm kar w grach edukacyjnych jest równie istotny jak mechanizm nagradzania. Odpowiednio zaprojektowane kary, motywują gracza do większej koncentracji nad zadaniem, co zmniejsza ilość popełnianych błędów oraz znacząco wpływa na efektywność przyswajania materiału. Jednakże należy pamiętać aby kar nie było zbyt dużo oraz żeby były one adekwatne do popełnianych błędów. W przeciwnym wypadku gra może być frustrująca i gracz ją porzuci. Po każdej karze odbiorca powinien otrzymać informację zwrotną, która wyjaśni, co zrobił źle. Warto również dodać wskazówki naprowadzające na poprawne rozwiązanie, a po kilku nieudanych próbach można przedstawić poprawną odpowiedź, aby gracz nie czuł że utknął. Poza tym odbiorca powinien mieć możliwość poprawienia swoich błędów, co pozwoli mu uczyć się na własnych doświadczeniach. Według mnie, sprzyja to szybkiej nauce, ponieważ użytkownik od razu wie co jest nie tak i niemal natychmiastowo jest w stanie poznać poprawne rozwiązanie.

Podsumowując, osobiście stoję na stanowisku, że zarówno nagradzanie jak i karanie graczy są istotnymi mechanizmami w grach edukacyjnych. Nagrody motywują gracza do dalszej rozgrywki, natomiast świadomość możliwości otrzymania kary za błędy sprawia, że podejmuje on bardziej przemyślane działania, zamiast działać niedbale. Warto jednak pamiętać, aby unikać skrajności – nadmierne nagradzanie oraz karanie może źle wpływać na odbiór gry. Dzięki równowadze tych dwóch elementów gry edukacyjne mogą być bardziej efektywne w nauczaniu.

Literatura:

- Kozyra, M. (2019). Ogrywając porażkę. Koncepcjonalizacja doświadczenia porażki w grach. *Replay. The Polish Journal of Game Studies*, 6(1), 37–49. Dostępny na: http://cejsh.icm.edu.pl/cejsh/element/bwmeta1.element.ojs-doi-10.18778.2391-8551.06_03 [dostęp 02.03.2025].
- Krajewska, A. (2012). Karać czy nagradzać – dylematy współczesnej edukacji. W: Dziurzyński, K. (red.). *Dylematy współczesnej edukacji*. Józefów: WSGE, s. 163–174. Dostępny na: <https://www.wydawnictwo.wsgge.edu.pl/pdf-135168-63451?filename=63451.pdf> [dostęp 02.03.2025].
- Wawer, M. (2016). Grywalizacja w edukacji akademickiej – możliwości i ograniczenia jej wykorzystania w kształceniu studentów. *Edukacja, Technika, Informatyka*, 2(16), s. 197–205. Dostępny na: <https://doi.org/10.15584/eti.2016.2.26> [dostęp 02.03.2025].
- Notka o autorce: *Studentka technologii komputerowych na Uniwersytecie im Adama Mickiewicza w Poznaniu. Jej głównym zainteresowaniem jest programowanie gier komputerowych i właśnie z tym chciałaby wiązać swoją przyszłość.*

Gun ownership and public safety. What can the US learn from Europe?

Gabriela Aftyka

Uniwersytet Gdański, Wydział Prawa i Administracji

E-mail: g.aftyka.368@studms.ug.edu.pl

tutor: mgr Irena Moszczyńska-Janicka

Uniwersytet Gdański, Centrum Języków Obcych

Słowa kluczowe: strzelanina w szkole, broń, prawo, regulacje, masowy atak, przestępstwo

Key words: school shooting, guns, law, regulation, mass attack, crime

Streszczenie

Celem niniejszego opracowania jest porównanie trzech państw: Stanów Zjednoczonych, Polski oraz Szwajcarii pod względem regulacji dotyczących prawa do posiadania broni oraz ukazanie, w jaki sposób przepisy te są skorelowane z występowaniem przestępstw z użyciem broni. Artykuł obejmuje również problematykę szkolnych strzelanin jako powszechnego zjawiska w Stanach Zjednoczonych, jego przyczyny i skutki dla społeczeństwa wraz z konkretnymi przykładami. Opracowanie przybliży historię trzech różnych strzelanin szkolnych w Stanach Zjednoczonych, przywoła dane statystyczne i rozważa, czy zakres prawa do posiadania broni istotnie wpływa na występowanie zjawiska szkolnych strzelanin.

Abstract

The purpose of this paper is to compare three countries: the United States, Poland and Switzerland in terms of regulations on the right to own guns and to show how these regulations are correlated with the incidence of gun crime. The article also covers the issue of school shootings as a common phenomenon in the United States, its causes and effects on society, along with specific examples. The study takes a closer look at the history of three different school shootings in the United States, cites statistical data and considers whether the scope of the right to own guns significantly affects the incidence of school shootings.

On 14 February 2018, 19-year-old Nikolas Cruz enters Parkland High School and causes the bloodiest school shooting in US history. The incident left 17 people dead and 17 others seriously injured.¹ This is just one of many mass school shootings in the United States. This was yet another case where a young person decided to take the lives of multiple people in a place where everyone should feel safe. The main topic of this article is the system and culture of weapons in the United States and their impact on citizens and the way they perceive firearms. The gun culture in the United States is heavily biased towards the normalisation of gun ownership by every citizen, as it is the right guaranteed by the 2nd Amendment to the Constitution. The phenomenon of a culture of violence, which is increasingly common, also occurs in this context. The extent of the problem is reflected by numbers, in 2023 there were as many as 650 mass shootings, and 52 of them took place in schools.

This article aims to show the scale of the problem of school shootings, which are only a small percentage of bigger problem - mass shootings. To illustrate the issue I am interested in, I will present in detail the Columbine High School massacre, the Sandy Hook Elementary School, and the Robb Elementary School shootings. Although the main focus of my analysis is the present, it is also important to consider key historical aspects. To get a better perspective on the scale of this phenomenon in the United States, I decided to compare the right to own guns in three different countries: the United States, Poland, and Switzerland. These countries have completely different legal systems

¹ https://en.wikipedia.org/wiki/Parkland_high_school_shooting [page visited on 21.01.2025]

and regulations, which is also essential when assessing crime structures. I will first focus on the legal aspects in respect to the history of how the access to firearms have been regulated in each of these countries - from the very beginning to the present times. Then I will describe and analyze the above mentioned school shootings that took place in the United States and present the known cases of such incidents in Poland and Switzerland along with the circumstances surrounding them. Finally, I will present the conclusions to be drawn from the analysis.

Legal aspects of gun ownership and the background of changes in legal systems

1. *The United States of America*

The origins and early restrictions

Gun ownership in the United States is deeply rooted in the Second Amendment of the United States Constitution: "A well-regulated Militia, being necessary to the security of a free State, the right of the people to keep and bear Arms, shall not be infringed."² It is part of the U.S. Bill of Rights ratified in 1791. Since then, the gun ownership has been protected at the national level.³

Let's move to 1934, when then-U.S. President Franklin D. Roosevelt signed the National Firearms Act (NFA). This act was signed because of Prohibition-era gang crime, such as the St. Valentine's Day massacre in 1929 and the attempted assassination of President-elect Franklin D. Roosevelt in 1933. Between 1920 and 1933, the murder rate in the United States rose year after year, as one of

² <https://constitution.congress.gov/constitution/amendment-2/> [page visited on 21.01.2025]

³ <https://www.cfr.org/backgrounder/us-gun-policy-global-comparisons> [page visited on 21.01.2025]

unintended consequences of Prohibition, a period when the sale, production and transport of alcohol was banned throughout the whole country. The consequences of the Government's decision were surprising. Alcohol restrictions were followed by increased violence and abnormally high crime rate. People experienced a sense of betrayal and anger, as their right was taken away. The gangs took advantage of the situation and began distributing alcohol. The gangs, as their illegal activities grew, reaped significant profits. Therefore, the Government in an effort to combat criminal activity, enacted the NFA bill which is considered the first federal act to regulate the enforcement of gun control in the United States. This law required a registration and taxation of firearms in the amount of \$200.⁴ What is more, it was mandatory to register machine guns, short-barreled rifles and shotguns. When Prohibition was repealed in 1933, the murder rate dropped significantly. However, it was five years later, that President Franklin D. Roosevelt signed the Federal Firearms Act of 1938 (FFA), requiring that all gun-related businesses must have a federal firearms license (FFL).⁵

Further changes

Over the course of the next thirty years, there were several tragic events that forced the US Congress to implement further changes to the law on the regulation of access to weapons. The term 'tragic events' refers to a series of political assassinations that occurred between 1963 and 1968, the first of which was

the assassination of the 35th President of the United States, John Fitzgerald Kennedy on 22 November 1963 in Dallas. The second happened five years later on 4 April when the Nobel Peace Prize winner, the leader of the civil rights movement and campaigner for equal rights, Martin Luther King was shot in Memphis. Shortly after this tragic event the presidential candidate Robert Francis Kennedy was assassinated on 5 June 1968 in Los Angeles. It was the assassination of President Kennedy that prompted the US Congress to start working on a new law regulating the right to bear arms. In 1968, a new Gun Control Act (GCA) replaced the FFA⁶. The new act introduced restrictions that greatly limited the right to acquire weapons. The first and most important restriction stated that the sale of firearms is prohibited to any person who: "(1) is under indictment for, or has been convicted in a court of, a crime punishable by imprisonment for a term exceeding one year; (2) is a fugitive from justice; (3) is an unlawful user of or addicted to marijuana or any depressant or stimulant drug (as defined in section 201 (v) of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act) or narcotic drug (as defined in section 4731 (a) of the Internal Revenue Code of 1954)".⁷ The last provision of the Act worth mentioning was the one requiring gun dealers to keep records of gun purchasers to verify that the customer meets all legal requirements to purchase a gun and to ensure that the identity of the purchaser can be disclosed if necessary. This law introduced a few new regulations in the context

⁴ https://en.wikipedia.org/wiki/National_Firearms_Act [page visited on 21.01.2025]

⁵ https://en.wikipedia.org/wiki/Gun_law_in_the_United_States [page visited on 21.01.2025]

⁶ <https://www.cpsc.gov/Regulations-Laws--Standards/Statutes/Flammable-Fabrics->

[Act#:~:text=FFA%20regulates%20the%20manufacture%20of,can%20issue%20mandatory%20flammability%20standards](https://en.wikipedia.org/wiki/Gun_Control_Act_of_1968#Prohibited_persons) [page visited on 21.01.2025]

⁷ https://en.wikipedia.org/wiki/Gun_Control_Act_of_1968#Prohibited_persons [page visited on 25.01.2025]

of the right to bear arms. Almost two decades later, in 1986, President Ronald Reagan signed the Firearm Owner Protection Act, which banned the creation of a national registry of gun dealers and allowed licensed dealers to sell firearms at “gun shows” in their state and relaxed regulations on ammunition sales and transfers.⁸ On the one hand, the act liberalized certain regulations, but on the other it banned civilian possession or transfer of submachine guns manufactured after May 19, 1986. Further regulations continued to evolve, with the Brady Handgun Violence Prevention Act of 1993⁹ establishing mandatory background checks for gun buyers, and the Violent Crime Control and Law Enforcement Act of 1994¹⁰ banning assault weapons and high-capacity magazines. However, this ban expired in 2004 and has not been renewed. Another change took place in 2003, when the Tiahrt Amendment¹¹ restricted the release of information from the firearms tracking database only to law enforcement agencies in connection with criminal investigations. Two years later, President George Bush signed the Protection of Lawful Commerce in Arms Act into law.¹² It provided legal protection to gun manufacturers by shielding them from lawsuits filed by victims of crimes involving firearms produced by their companies. 2008 was a year in which the Supreme Court overturned a ban on

guns in Washington, D.C., stressing, however, that. “The right to bear arms is not unlimited, and guns and their possession will continue to be regulated.”¹³ The latest change was introduced in 2022, the Supreme Court ruled in the case *New York State Rifle & Pistol Association, Inc. v. Bruen* “that the Second and Fourteenth Amendments protect an individual’s right to carry a handgun for self-defense outside the home”¹⁴ and that “the State’s may-issue licensing regime violates the Constitution.”¹⁵

Current Regulatory Framework

The right to bear arms is not absolute, as it is controlled by both the U.S. Congress and state legislatures which possess the authority to enact regulations governing its exercise. In the United States, firearms ownerships are regulated at the federal and state levels; however, this article specifically focuses on federal regulations.¹⁶ Federal firearms laws are enforced by the Bureau of Alcohol, Tobacco, Firearms and Explosives (ATF). As it was mentioned earlier, the right to keep and bear arms has been protected by the Second Amendment to the Constitution since 1791, and the U.S. Supreme Court has ruled that it protects the right of every citizen to self-defense in their own homes and in public places and it further confirmed that it applies

⁸ <https://www.congress.gov/bill/99th-congress/senate-bill/49> [page visited on 25.01.2025]

⁹ https://en.wikipedia.org/wiki/Brady_Handgun_Violence_Prevention_Act [page visited on 25.01.2025]

¹⁰ <https://www.congress.gov/103/bills/hr3355/BILLS-103hr3355enr.pdf> [page visited on 25.01.2025]

¹¹ <https://giffords.org/lawcenter/gun-laws/policy-areas/other-laws-policies/tiahrt-amendments/> [page visited on 25.01.2025]

¹² <https://www.congress.gov/bill/109th-congress/senate-bill/397/text> [page visited on 21.01.2025]

¹³ https://en.wikipedia.org/wiki/District_of_Columbia_v._Heller [page visited on 21.01.2025]

¹⁴ https://en.wikipedia.org/wiki/New_York_State_Rifle_%26_Pistol_Association,_Inc._v._Bruen#:~:text=In%20a%206-3%20decision,guaranteed%20by%20the%20Second%20Amendment. [page visited on 21.01.2025]

¹⁵ https://en.wikipedia.org/wiki/New_York_State_Rifle_%26_Pistol_Association,_Inc._v._Bruen#:~:text=In%20a%206-3%20decision,guaranteed%20by%20the%20Second%20Amendment. [page visited on 21.01.2025]

¹⁶ <https://www.uwujasama.pl/posiadanie-broni-w-usajak-to-jest-naprawde/> [page visited on 21.01.2025]

to state, local, as well as federal regulations.¹⁷ Laws regulating the possession of firearms are liberal, as ownership is a right, not a privilege for the few, and does not require a license or proof of need. Federally, there is a minimum age of 18 to possess a handgun, one must be 18 for long guns and 21 for handguns. Federally, new firearms must be transferred by a federally licensed dealer (FFL) with form 4473 and background check. Under the federal law in the United States, there are no restrictions on the number of firearms or the quantity of ammunition and reloading supplies that a private citizen may own. Individuals who are not legally prohibited from owning guns (subject to National Firearms Act (NFA) and are over 21 of age are generally allowed to own firearms in most states, although certain states impose restrictions on some or all this class of firearms. The United States Code, specifically 18 U.S.C. §922 ("Unlawful Acts"), outlines a list of individuals prohibited from possessing firearms or ammunition.¹⁸ These restrictions apply to individuals who meet any of the following criteria:

- Have been convicted of a felony, or any other crime for which they could face a sentence of more than one year in prison or are currently charged with such a crime.
- Are fugitives from justice.
- Have been convicted of a misdemeanor involving domestic violence.
- Are unlawfully using or are addicted to controlled substances.

¹⁷<https://crsreports.congress.gov/product/pdf/LSB/LSB11108#:~:text=Heller%2C%20the%20Supreme%20Court%20held,is%20a%20%22fundamental%20right> [page visited on 21.01. 2025]

¹⁸ <https://uscode.house.gov/browse/prelim@title18/part1/chapter44&edition=prelim> [page visited on 21.01. 2025]

- Have been declared mentally incompetent.
- Have been dishonorably discharged from the armed forces.
- Have renounced their U.S. citizenship.¹⁹

These categories are reflected in the ATF Form 4473, which is used for background checks during firearm transactions. According to the U.S. Sentencing Commission, an estimated 5,000 to 6,000 individuals who are prohibited from possessing firearms are convicted annually for unlawfully receiving or possessing a firearm. In 2017, more than 25.2 million background checks were conducted for firearm purchases. While federal law prohibits the establishment of a national firearms registry, the National Firearms Act (NFA) registry, which predates this prohibition, is an exception. Some states, however, do maintain their own firearms registration systems. As of mid-2022, there were no federal laws banning semiautomatic assault weapons, military-style 50 caliber rifles, handguns, or large-capacity magazines. There was also no federal requirement for those purchasing a gun to have any firearm safety training.²⁰

2. Poland

Early regulations and the interwar period

To trace the history of the right to own firearms in Poland, it is necessary to begin with the enactment of the Decree on the Acquisition and Possession of Arms and Ammunition in 1919.²¹ This regulation stipulated that

¹⁹ <https://www.law.cornell.edu/uscode/text/18/922> [page visited on 21.01. 2025]

²⁰ https://en.wikipedia.org/wiki/Overview_of_gun_laws_by_nation [page visited on 21.01. 2025]

²¹ Dz. U. 1919, nr 9, poz. 123 <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU19190090123> [page visited on 21.01. 2025]

the ownership of weapons was restricted to organizations and civilians who obtained the requisite permission from the relevant state authorities. The power to issue such permits was vested exclusively in the Minister of Justice or bodies authorized by the Minister. Unauthorized possession of firearms was subject to penalties, including imprisonment or a significant fine. The Executive Order of the Minister of the Interior, dated May 21, 1920, further clarified that permits for hunting rifles and short firearms could be issued by administrative authorities.²² This decree also introduced the requirement that civilians demonstrate a "necessary need" for owning weapons to qualify for a permit. A crucial milestone in the development of firearm regulation was the Decree of the President of the Republic of Poland of October 27, 1932, which promulgated the "Law on Arms, Ammunition, and Explosives."²³ This law consolidated and unified the legal framework governing firearms in Poland. It upheld the principle that private individuals could only possess weapons following the acquisition of an official permit from the relevant authorities. On March 23, 1933, the Executive Order of the Minister of the Interior on Permits for Weapons for Personal Use and the Acquisition and Disposal of Weapons was issued.²⁴ It regulated the conditions to be met by a person applying for a gun permit. These included ensuring that the person would not use the weapon for purposes contrary to the interests of the State or security, good repute, appropriate age (over 17), full mental

faculties, lack of addictions and no criminal record.²⁵

World War II period

Following the outbreak of the Second World War in 1939 German law, which included a total ban on the possession of weapons by the Polish population, was imposed in the areas of Poland under the occupation of the Third Reich. Under this regime, the possession of weapons by civilians were punishable by death. Even the failure to report the possession of weapons by others was considered a capital offense. The only individuals legally permitted to possess firearms were state police officers and forest guards. Similarly, under the Soviet occupation, the legal framework regarding weapons was almost identical. All firearms were classified as illegal, and those found in possession of them could face arrest, deportation to labor camps, or execution.²⁶

Post-war period

The absolute ban on gun ownership in Poland ended with the end of World War II in 1945. Then, on June 14, 1945, the Minister of Internal Security issued an order that all gun owners should obtain new permits (the application for a permit had to be accompanied by a certificate of the necessity of the weapon issued by the relevant authority). Another milestone was the Arms, Ammunition and Explosives Act of 1961, which was modeled on a 1932 presidential decree. Ac-

²² Dz. U. 1920, nr 43, poz. 266

<https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU19200430266> [page visited on 21.01. 2025]

²³ Dz. U. 1932, nr 94, poz. 807

<https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU19320940807> [page visited on 21.01. 2025]

²⁴ Dz. U. 1933, nr 22, poz. 179

<https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU19330220179> [page visited on 21.01. 2025]

²⁵ <https://milmag.pl/posiadanie-broni-w-polsce-w-okresie-miedzywojennym/> [page visited on 21.01. 2025]

²⁶ <https://demagog.org.pl/wypowiedzi/przed-ii-wojna-swiatowa-w-polsce-posiadanie-broni-bylo-legalne-sprawdzamy/> [page visited on 21.01. 2025]

According to this law, weapons could be possessed subject to a permit issued by the Citizens' Militia. As with other laws, a permit was issued when the authority decided that the applicant had sufficiently substantiated his application. It is interesting to note that the authority issuing the permit could check whether the person is familiar with the regulations for handling weapons. In contrast, those using weapons for sporting purposes did not need a gun permit. Penalties have been established for the illegal possession or carrying of weapons, with offenses punishable by imprisonment for up to three months or by a fine. Article 7 of that law prohibited the issuance of firearms permits to minors (under 18) or to mentally ill persons, drug addicts, persons without a permanent residence or an established source of income, and persons who may use firearms for purposes incompatible with the interests of state security or public order.²⁷

Modern regulations

The 1961 law remained in effect until March 20, 2000, when the current May 21, 1999, Law on Arms and Ammunition went into effect.²⁸ The Arms and Ammunition Act of 1999 is the law that is still in effect today. The right to own guns in Poland is one of the most restrictive laws in Europe. A permit is required to own or possess firearms.²⁹ To obtain a permit, one must have a specific and very important reason or purpose for doing so. Such reasons or purposes include self-defense, sports, licensed hunting, or collecting. It is worth mentioning that it is much easier to

obtain a gun permit for sport or hunting than for the need for self-defense, since in this case one must make a special effort to sufficiently prove such a reason. To obtain a permit, you must meet the following conditions: be a permanent resident of Poland, be at least 21 years old, have no addictions, have no criminal record, be in good physical and mental health, and pass an exam before a sport or hunting association or before the police. Even if all conditions are met, the relevant authority still has the right to refuse to issue a gun permit. Carrying loaded guns is allowed on all types of permits except permits for collecting and memorial purposes.³⁰ Guns shall be carried concealed in a holster close to the body, and on public transport firearms can be carried only by the self-defense permit holders. On the other hand, carrying a weapon while intoxicated or during mass events or public gatherings is strictly prohibited. Since 2020 the Police can issue permits for firearms with suppressors for hunting, but only to be used for sanitary shootings.³¹ However, no permit is required to own air weapons, although the purchaser must be at least 18 years old and pass medical and psychological tests, and these weapons must be registered and can only be used at shooting ranges.³²

3. *Switzerland*

Historical Context and Early Regulation

The origins of gun regulation in Switzerland can be traced back to 1291, when the foundational covenant was established at the

²⁷ <https://milmag.pl/posiadanie-broni-w-prl-1945-1989/> [page visited on 21.01. 2025]

²⁸ Dz. U. 1999, nr 53, poz. 549 <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=wdu19990530549>, [page visited on 21.01. 2025]

²⁹ (Kąkol, 2021).

³⁰ Ruczkowski P. (2012). Decyzja w sprawie pozwolenia na broń. *Przełqd Prawa Publicznego*, nr 1, p. 6-24.

³¹ <https://ksp.policja.gov.pl/wpa/bron/porozwolenia-na-bron-paln/21954,Pozwolenia-na-bron-palna-dla-osob-fizycznych.html> [page visited on 21.01. 2025]

³² https://en.wikipedia.org/wiki/Gun_laws_in_Poland [page visited on 21.01. 2025]

meadow of Rütli, marking the beginning of the Swiss Confederation.³³ For much of Switzerland's history, up until 1999, it was easier to acquire firearms in Switzerland than in the United States, primarily due to the country's historically liberal stance on gun ownership.³⁴ Most Swiss cantons maintained minimal interference with citizens' rights to possess weapons, with a few legal restrictions in place. For centuries, Swiss law had not imposed limitations on the keeping and bearing of arms, though all able-bodied men were required to supply themselves with weapons for militia service. Throughout this period, Swiss citizens did not need a permit to own firearms, with the notable exception of machine guns not owned by the military. It was not until the second half of the 1960s that some cantons began to require permits for handguns.³⁵ However, firearms like shotguns could still be purchased without a permit. This liberal approach to gun ownership persisted for centuries, reflecting the country's deep-rooted traditions of self-defense and militia service.

Modern regulations

Some changes were introduced only in 1999, when The Federal Weapons Law came into force, according to which all gadgets for improving weapons and machine guns were banned (not allowed for commercial sale to civilians).³⁶ To use such weapons, a government permit must be obtained. However, despite these changes, Swiss law on this issue is still one of the most liberal in Europe.

³³ <https://guncite.com/swissgun-kopel.html> [page visited on 21.01.2025]

³⁴ <https://www.hoplofobia.info/bron-palna-w-szwajcarii/#:~:text=Przez> [page visited on 21.01.2025]

³⁵ https://en.wikipedia.org/wiki/Firearms_regulation_in_Switzerland [page visited on 21.01.2025]

³⁶ https://en.wikipedia.org/wiki/Firearms_regulation_in_Switzerland [page visited on 21.01.2025]

It is worth mentioning that the mere possession of weapons does not require a permit, but the acquisition does. To obtain such a permit, only three conditions need to be met: the individual must be at least 18 years of age, of sound mind, not pose a danger to others, and have no criminal record. These conditions apply only to the purchase of a weapon from a commercial store, as the purchase of a weapon from a private individual does not require a permit, however, the person selling must make sure that the person buying meets the conditions listed above. In addition, Article 3 of the Swiss Law states that "The right to acquire, possess and carry arms is guaranteed in the framework of this law".³⁷ Swiss citizens who meet the above conditions may legally purchase, possess and carry weapons. In fact, every Swiss soldier keeps his army weapons with the ammunition at home and will own his personal weapon upon his retirement from the army at the age of 50. However, there are also some restrictions - the possession of machine guns or explosives is strictly prohibited.³⁸ The main difference to be noted between the Polish and Swiss legal systems is that in Switzerland, it is not necessary to provide a specific reason for applying for a firearm, as it is sufficient to meet the conditions mentioned above.

³⁷ https://en.wikipedia.org/wiki/Right_to_keep_and_bear_arms#:~:text=use%20of%20weapons.-,Switzerland,within%20boundaries%20of%20this%20law.&text=The%20Swiss%20have%20a%20statutory,19%20and%2024%20is%20conscripted. [page visited on 21.01.2025]

³⁸ https://pl.wikipedia.org/wiki/Polytyka_broni_w_Szwajcarii#:~:text=Po [page visited on 21.01.2025]

Conclusions – Law regulations and crime rates

In summary, the Polish legal system has the most restrictive law (of the three I am considering and comparing) on the possession and acquisition of weapons, as it requires meeting several conditions, as well as a systematic, specific and factual justification to obtain a weapon permit, and despite all this, the permit may not be issued. The Swiss gun policy is unique in Europe due to its gun policy, which allows gun ownership under several conditions, without providing a valid reason to own a gun. It is a common practice that most Swiss soldiers keep their weapons in their own homes as a part of their military service obligation.³⁹ Even though the total number of guns in Switzerland is estimated at 1.2 to 3 million, gun crime is not as high as in the United States. This is borne out by statistics - Switzerland, despite its easy access to guns, records only 1.23 homicides per 100,000 inhabitants per year.⁴⁰ While in the US, the case is decidedly different, with more than 24,000-gun crime fatalities in 2021.⁴¹ The United States, with its most permissive gun laws, ranks as the lowest in national security of the three countries presented in this study. This is all due to the regulations in some states that allow a person who has not been vetted in any way to purchase a gun. This factor probably impacts the country's

³⁹https://en.wikipedia.org/wiki/Swiss_Armed_Forces#:~:text=The%20regulations%20of%20the%20Swiss,citizens%2C%20with%20women%20serving%20voluntarily [page visited on 21.01.2025]

⁴⁰ <https://instytutbirm.pl/dostep-do-broni-a-liczba-przestepstw/#:~:text=Szwajcaria> [page visited on 21.01.2025]

⁴¹ <https://www.pewresearch.org/short-reads/2025/03/05/what-the-data-says-about-gun-deaths-in-the-us/> [page visited on 21.01.2025]

security level. States with the most liberal gun laws include Arkansas, Wyoming, Idaho, Missouri, Kansas, Mississippi, South Dakota, Kentucky, Arizona and Alaska.⁴² In theory, guns can be owned in all US states, but in some a permit to purchase them or a criminal background check for the applicant is required, for example in California, New York or Hawaii.⁴³ The FBI maintains a database of people who apply for such a permit. Their records are checked to see if, when and on what grounds these people have been convicted. Sometimes, one still must undergo the appropriate training. Generally, training is required in the following situations: to be able to obtain a Concealed Carry Weapon (CCW) permit, or an Open Carry (OC) permit, when applying for weapons considered more dangerous or specialized, or even for previous offenders. Regulations requiring training are in effect in California, New York and Illinois, to mention just a few.⁴⁴ There are also states where you can buy a gun without a permit and often without registering it. Such States include Texas, Kansas, Nevada or Ohio.

The school shootings in numbers

School shootings have been a common issue in the United States over the years and the immensity of the problem is constantly on the rise. Comprehensive statistics on all

⁴² <https://worldpopulationreview.com/state-rankings/strictest-gun-laws-by-state> [page visited on 06.03.2025]

⁴³ <https://www.uwujasama.pl/posiadanie-broni-w-usa-jak-to-jest-naprawde/#:~:text=Stany%2C%20w%20których%20wymagane%20jest%20pozwolenie%20na%20broní&text=Tak%20jest%20np.,Nowy%20Jork%20czy%20na%20Hawajach>. [page visited on 06.03.2025]

⁴⁴ https://www.money.pl/archiwum/wiadomosci_agencyjne/pap/artikul/usa;kto;moze;miec;bron;;27,0,1128731.html [page visited on 06.03.2025]

school shootings in a specific time frame have been systematically collected since 1966.⁴⁵ According to this data, the annual number of school shootings from 1970 to 2017 remained similar. The annual number of school shootings ranges from 20 to 60. In comparison, a rapid escalation in the number of these incidents occurred in 2018, and since then, the number of school shootings has been steadily increasing, at a concerning rate. In 2018, there were 119 school shootings. Going by the years, one can see a dangerous upward trend: 2019 – 124 shootings, 2020 – 116, 2021 – 257. However, the years 2022-2024 are the most tragic, as in each of the listed years there were more than 300 school shootings: 2022 – 308, 2023 – 349 and 2024 – 331, respectively.⁴⁶ The situation in 2023 with 349 school shootings, is particularly alarming, as it signifies that nearly each day was marked by an incident of gun violence. The studies prove that mass shootings are a significant problem in the United States.⁴⁷ For the purpose of illustration, the scale of the issue, I would like to discuss three cases of school shootings that particularly stuck with me while exploring this topic.

Columbine High School Massacre

The attack on Columbine High School took place on April 20, 1999, in Columbine, Colorado. The perpetrators turned out to be this school's students, Eric Harris and Dylan Klebold – teenagers aged 18 and 17. They killed 13 individuals, including 12 students and one teacher before taking their own lives. Additionally, 24 people sustained injuries during the attack. Harris and Klebold pre-arranged the attack over the course of

one year. They hoped for as many victims as possible. Their initial plan was to carry out a bomb attack. They created bombs on their own and planted them in several places in the building. However, this plan proved to be unsuccessful, due to the failure of the bombs to detonate. Had there been a detonation, the explosives would have killed or injured as many as 488 people and severely damaged the school's structure, with one floor likely to collapse.⁴⁸ As the primary plan failed, the perpetrators moved to a back-up plan. Harris and Klebold began shooting at 11:19 a.m. Firstly, they attacked two students who sitting on the grass near the school entrance, eating lunch. The female student was killed, and the male student, despite receiving eight gunshots, survived, but was paralyzed from the chest down. The attackers then proceeded toward the library, shooting anyone in their vicinity and killing two individuals in the process. Their main target was the library because of the largest number of people gathered there at one time. At 11:29 a.m., the library massacre began, it lasted just seven minutes and took ten lives. At 11:36 a.m., Harris and Klebold left the library and walked around the school shooting but injuring no one. At 12:08 p.m., both perpetrators took their own lives.⁴⁹

Sandy Hook Elementary School Shooting

The attack on Sandy Hook Elementary School took place on December 14, 2012, in Newtown, Connecticut. The perpetrator was the 20-year-old Adam Lanza, who had attended this school in his childhood. Lanza killed 20 first-graders and six adult staff members. The shooting lasted only five

⁴⁵ <https://k12ssdb.org/all-shootings> [page visited on 01.03.2025]

⁴⁶ <https://k12ssdb.org/all-shootings> [page visited on 01.03.2025]

⁴⁷ <https://everytownresearch.org/mass-shootings-in-america/> [page visited on 01.03.2025]

⁴⁸ (Danielewicz, 2021, p. 13)

⁴⁹ (Cullen, 2009, p. 67)

minutes from 9:35 to 9:40 a.m., in the final moments Lanza took his own life with a gunshot to the head. Earlier that day, the perpetrator shot his mother in their family home. Lanza drove to the elementary school in his mother's car and started the massacre. He shot his way through a glass panel next to the school's locked front entrance doors. Initially, he killed members of the school staff: the behavior therapist, the principal, the special education teacher, two teachers and the school psychologist. He then brutally murdered 20 children aged 6 and 7. At 9:40 a.m. he shot himself in the lower rear part of his head.⁵⁰

Uvalde School Shooting

The attack on Robb Elementary School took place on May 24, 2022, in Uvalde, Texas. The offender turned out to be a former student of the school, the 18-year-old Salvador Ramos, who fatally shot 21 people, including 19 students aged 10 and 11 and two female teachers, while wounding 17 people. Before arriving at the school, the shooter shot his grandmother in their family home. He then reached the area outside the school grounds. Driving at excessive speed led to his own accident and his vehicle ended up in a ditch, however, this did not stop him from carrying out the massacre. He began his attack at 11:28 a.m., entering one of the classrooms where lessons were being held. He fired indiscriminately at everyone who was there. Police arrived at the scene exactly 3 minutes after the attack began, however,

they did not stop the perpetrator expeditiously. The perpetrator barricaded himself with hostages in the classroom and refused to turn himself in. Negotiations with the murderer continued until 12:50 p.m., when police entered by force and opened fire on the perpetrator. The exchange of fire lasted a while and ended in Ramos' death.⁵¹

School Shootings in Poland

In the entire history of Poland, there have been only four cases of school shootings. The first occurred in 1925 in Vilnius, which was then part of Poland.⁵² On May 6, 1925, during final exams at Joachim Lelewel State Gymnazjum, one of the high school graduates pulled out a pistol and fired twice at the school principal, though the attack did not prove fatal. A scuffle ensued, in which the perpetrator pulled a hand grenade from his pocket and threw it in front of himself. The grenade explosion killed the perpetrator and two other high school graduates. After the detonation, another high school graduate picked the gun and started shooting at the examining board, killing one teacher before taking his own life. The incident resulted in the loss of five lives: two perpetrators, two high school graduates and one teacher, nine people were injured.⁵³ Another case of a school shooting in Poland was the one that happened on April 1, 1936, at a school in Inowrocław.⁵⁴ The perpetrator turned out to be a former teacher of the same school, who had been fired from his job for excessive use of alcohol. In the act of revenge, this teacher entered the school on that fateful day and

⁵⁰ https://en.wikipedia.org/wiki/Sandy_Hook_Elementary_School_shooting [page visited on 01.03.2025]

⁵¹ https://en.wikipedia.org/wiki/Uvalde_school_shooting [page visited on 01.03.2025]

⁵² <https://hit.policja.gov.pl/hit/aktual-nosci/187506,Strzelanina-w-gimnazjum-w-Wilnie-1925.html#:~:text=6%20maja%201925%20roku%20-%20w,Europe%20na%20tak%20duz%20skale>. [page visited on 01.03.2025]

⁵³ https://pl.wikipedia.org/wiki/Strzelanina_w_gimnazjum_w_Wilnie [page visited on 01.03.2025]

⁵⁴ <https://sbc.org.pl/Content/235316/iv4422-1936-93.pdf> [page visited on 01.03.2025]

fatally shot three members of the school's staff and seriously wounded a police officer. He then attempted to take his own life, which proved unsuccessful, and the perpetrator suffered the consequences of his actions. The penultimate incident occurred in Kluczbork in 2001,⁵⁵ when an armed man staying at the Economic School Complex shot his wife, then fatally shot a student who had just entered the school and finally committed suicide in the courtyard of the building. The latest incident occurred in May 2019 at the Elementary School in Brześć Kujawski when the 18-year-old former student trespassed on the school's grounds and shot at two people – a school janitor and an 11-year-old female student – using a black-pistol revolver.⁵⁶ Luckily, these people survived the attack.

School Shootings in Switzerland

Finding information on school shootings in Switzerland required significant effort and extensive research. Even after a thorough search, I was not able to identify any information about school shootings. However, there are examples of mass shootings in public spaces. The first took place in 2001 in Canton of Zug, when a 57-year-old perpetrator stormed into the local parliament and shot fourteen people before committing suicide.⁵⁷ The second one happened in 2013 in Menznau. A woodworker shot two other employees, including himself and seriously wounded seven other people.⁵⁸

⁵⁵ <https://wiadomosci.wp.pl/strzelanina-w-kluczborskiej-szkole6109060608868993a#:~:text=Do%20tragedii%20dosz%20w%20niedziele,pope%20samob%20o%20na%20dziedzi%20szko%20y.> [page visited on 01.03.2025]

⁵⁶ https://pl.wikipedia.org/wiki/Strzelanina_w_szkole [page visited on 01.03.2025]

⁵⁷ https://pl.wikipedia.org/wiki/Masakra_w_Zug [page visited on 01.03.2025]

Such a low number of reported incidents of shootings in a country with relatively liberal laws concerning gun ownership is surprising. It could indicate that citizens comply with the regulations, and in particular the one that states that you can own a weapon if "there is no reason to believe you may use the weapon to harm yourself or others."⁵⁹

Possible causes and effects of school shootings in the US

The inquiry that comes to mind, regarding school shootings, is "Why?" and "For what reason?" There is no simple answer and there are many factors that come into play. I will discuss a few feasible reasons. According to statistics, as many as 42.9% of the shootings' perpetrators were students at the school where the attack took place. When students are the perpetrators, there are several reasons that may have led them to commit this crime. The most common motive for a student to carry out such an attack is their strong need to retaliate, whether against peers or teachers. In many cases, it turned out that the student had been either bullied, ridiculed, or oppressed by other students or teaching staff and decided to take such a radical revenge.

Furthermore, another equally plausible reason is the desire to emulate people who have previously committed similar acts. It is also the fact that the perpetrators want to be remembered. The Columbine massacre has

⁵⁸ <https://www.money.pl/archiwum/wiadomosci/artykul/strzelanina-w-szwajcarii;trzy-osoby;nie-zyja,93,0,1259357.html> [page visited on 06.03.2025]

⁵⁹ <https://www.ch.ch/en/safety-and-justice/owning-a-weapon-in-switzerland/#who-is-permitted-to-acquire-or-own-a-weapon> [page visited on 06.03.2025]

influenced and inspired a number of young individuals to attempt similar acts. This phenomenon has its own name, a crime, an attack or any other criminal act that closely resembles a famous crime previously committed by another person is referred to as a *copycat crime*⁶⁰. The Columbine High School shooting, which happened in 1999, is still a vivid inspiration for perpetrators who hope to have their name remembered and gain media publicity. For example, the perpetrator of the Sandy Hook shooting – Adam Lanza – was fascinated by the Columbine shooting and shared his views about it on the Internet. In one of his online posts, he excused perpetrators Eric Harris and Dylan Klebold, claiming that they were merely “innocent victims of civilization”.⁶¹ Another example of being inspired by a crime might be Salvador Ramos, the perpetrator of the school shooting in Uvalde. He was not influenced by any previous shooting but rather a specific individual – Luka Magnotta, a Canadian murderer, rapist and necrophile. Magnotta committed a brutal murder in 2012, which he recorded and published online. Salvador Ramos was fascinated by this figure and wanted to become such a cold-hearted killer himself. Therefore, the date of the shooting was no coincidence, Ramos committed the attack on the 10th anniversary of Luka Magnotta’s crime – May 24, 2022.⁶²

Another motive behind school shootings, but also other acts of terror is extremism or adherence to an extreme ideology. Such perpetrators adopt ideologies and justify the use of drastic measures – such as violence,

intimidation, or terror – to achieve their goal. Eric Harris – one of the perpetrators of the Columbine shooting – was precisely that type of person. He was an admirer of Adolf Hitler, affirming him and identifying with the ideology of racial and biological superiority. Eric Harris and Dylan Klebold were thrilled about the consequences of the planned crime and assumed they would become well known.⁶³

Various mental disorders exhibited by perpetrators are also a factor that lead to school shootings. An example of such a case is again Adam Lanza, who was diagnosed at the age of thirteen with sensory disorders, Asperger’s syndrome and obsessive-compulsive disorder. A number of American psychologists also suspected him of schizophrenia, or psychotic disorders.⁶⁴

School shootings have a profound and long-lasting impact on those directly involved, as well as on the entire school community. The most immediate and devastating consequence is the loss of many lives. Parents experience the unbearable tragedy of losing their children. No compensation will ever be enough for a person who has lost a loved one. The Columbine shooting claimed 15 lives, including those of criminals. The Sandy Hook crime resulted in the deaths of 20 young children who had their whole lives ahead of them.

Another impact is the psychological trauma experienced by survived victims and their families. Surviving a mass attack, being

⁶⁰ <https://www.ldoceonline.com/dictionary/copycat-crime-attack-etc> [page visited on 04.03.2025]

⁶¹ https://pl.wikipedia.org/wiki/Adam_Lanza#Charakterystyka,_swiatopogląd_i_aktywność_w_internecie [page visited on 02.03.2025]

⁶² https://pl.wikipedia.org/wiki/Salvador_Ramos [page visited on 02.03.2025]

⁶³ https://en.wikipedia.org/wiki/Eric_Harris_and_Dylan_Klebold [page visited on 02.03.2025]

⁶⁴ https://pl.wikipedia.org/wiki/Adam_Lanza#Problemy_ze_zdrowiem_psychicznym [page visited on 02.03.2025]

an eyewitness to the deaths of close friends, and knowing that you could have died must be something unimaginable. Moreover, it may lead to emotional problems and mental disorders such as Post-traumatic Stress Disorder (PTSD), anxiety disorders or depression, to name just a few. Unfortunately, some individuals are unable to cope with such profound trauma and ultimately take their own lives.

Another effect of the shootings is that fear and uncertainty are beginning to paralyze the society. People no longer feel safe, as incidents occur at schools – that should be the safest places for children – it is the fact that raises concerns about security in public spaces and even within the walls of their own homes. Unfortunately, instead of tightening regulations on gun ownership, the U.S. government urges its citizens to purchase even more guns⁶⁵, which has the opposite effect – the increased feeling of insecurity.

Another result of the shootings is also overwhelming destruction. Schools after such attacks often have to be closed for a period of time before the buildings can serve their purpose. These disruptions in learning have a negative impact on students' education. Not only have school buildings been destroyed, but also victims' and witnesses' psyche and lives have been shattered. The attack survivors apart from mental disorders, often experience trust issues, severe social anxiety and learning problems that can persist for the rest of their lives.

⁶⁵ <https://www.thetrace.org/2025/01/gun-sales-america-market-decline-data/> [page visited on 06.03.2025]

⁶⁶ https://pl.wikipedia.org/wiki/Strzelanina_w_szkole [page visited on 06.03.2025]

Final Thoughts

School shootings in the United States represent a significant and pressing issue for the nation. Shootings also occur in other countries; however, the States lead by numbers every year and other countries are a long way from catching up.⁶⁶ The scale of this issue is incomparable. The only reasonable explanation for why this problem is so prevalent in this country is the system under which this North American country operates. It is about the right to bear arms. In my opinion, it is too liberal because it allows almost anyone to buy a gun without any verification, without any tests to see if that person is capable of possessing or handling a gun in a safe way that does not endanger anyone.

The second issue is the lack of proper security measures for weapons stored at home, preventing the firearms from falling into the hands of children. So, a child not fully aware of the consequences may want to take a gun just to brag to friends and the situation leads to a tragedy. A situation of this type occurred, and although it did not happen at school, the circumstances fit the problem raised. In the state of Georgia, a 13-year-old boy shot his friend directly in the face. The distraught mother of the slain child describes the situation this way: "My only son, my husband's only biological child, my beloved Robert Harvell Taylor III, forever thirteen, was shot in the face and killed by a friend, at the friend's house, with a pump shotgun. They told us the boys were playing with the gun, that was an accident."⁶⁷ There are also cases when a child deliberately takes a weapon to school because shooting is their plan, but if

⁶⁷ <https://momsdemandaction.org/13-year-old-shot-in-face-by-friend-mother-grieves-his-loss-and-the-lack-of-charges-in-case/> [page visited on 06.03.2025]

the weapon had been properly secured, many tragedies could not have been averted.

Whereas even that the gun laws in Switzerland are also quite liberal, the country's policies work in such a way that the problem of school shootings is virtually non-existent. The Swiss have the right to own firearms, but there are certain conditions to be met. A gun ownership is permitted provided the individual meets the legal requirements and successfully undergoes a background check. In the case of civilian weapons (e.g. pistols, hunting rifles), the applicant must pass a criminal and psychiatric test. In addition, applicants must demonstrate appropriate training, which usually includes courses on the safe use of weapons. Therefore, anyone who passes this process can own a gun. What is more, there is a fairly strong culture of respect for the right to own a gun in Switzerland. For many Swiss, guns are part of a tradition associated with military service, as well as hunting and target shooting. As a result, the level of gun violence in Switzerland is relatively low compared to other countries with similar access to weapons. This is where Switzerland differs from the US, and it is safe to say that the country manages its weapons policy much better than the United States of America. There is no single cause of school shootings, yet the numbers alone say that an easy access to firearms can be labelled as the major factor.

In contrast, Poland, with the most restrictive regulations of the three on gun ownership and a very low number of incidents in schools, also provides support for the hypothesis that restrictive gun ownership laws

and pre-permit background checks of subjects help reduce the commission of crimes with firearms in schools. This makes Poland one of the safer countries in the world in this regard. Therefore, the time for the USA to change the regulations and introduce stricter gun laws is now. The main conclusion of this study is as follows. The 2nd Amendment, which was intended to provide greater protection for property and civil liberties, has consequently led to an uncontrolled increase in school shootings that threatens the safety of American society as a whole.

Post Scriptum

The problem of school shootings is not slowing down. Since I started work on this paper a number of incidents has happened. The last high-profile incident took place just before Christmas 2024. A student opened fire at a private Christian school in the State of Wisconsin, injuring six people and killing a teacher and a teenage student. The perpetrator turned out to be a 15-year-old pupil of the school. Two victims were in a life-threatening condition. The perpetrator, on the other hand, was found dead. The motive for this crime is unknown, but the fact that it was committed by such a young person is alarming and once again makes us reflect on the system that prevails in the United States.⁶⁸ As of March 6, 2025, there have already been 33 school shootings in the United States this year.⁶⁹

⁶⁸ <https://www.bbc.com/news/articles/ckg13lz9zn4o> [page visited on 01.03.2025]

⁶⁹ <https://k12ssdb.org/all-shootings> [page visited on 06.03.2025]

Bibliography:

- Cullen, D. (2009). *Columbine*. Twelve.
- Danielewicz, K. (2021). *Przeżyć szkołę: Bezpieczeństwo w szkole. Teoria i praktyka*. Security in Practice.
- Congressional Research Service. (n.d.). *Constitution of the United States: Second Amendment*. Retrieved January 21, 2025, from <https://constitution.congress.gov/constitution/amendment-2>.
- Council on Foreign Relations. (n.d.). *US gun policy: Global comparisons*. Retrieved January 21, 2025, from <https://www.cfr.org/backgrounder/us-gun-policy-global-comparisons>.
- K12 School Shooting Database. (n.d.). Retrieved March 1, 2025, from <https://k12ssdb.org/all-shootings>.
- Gramlich, J. (2025, March 5). *What the data says about gun deaths in the US*. Pew Research Center. Retrieved from <https://www.pewresearch.org/short-reads/2025/03/05/what-the-data-says-about-gun-deaths-in-the-us/>.
- Kąkol C. (2021). *Ustawa o broni i amunicji. Komentarz*. Wolters Kluwer Polska.
- Ruczkowski P. (2012). *Decyzja w sprawie pozwolenia na broń*. Przegląd Prawa Publicznego.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Brady Handgun Violence Prevention Act*. In Wikipedia. Retrieved January 25, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Brady_Handgun_Violence_Prevention_Act.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *District of Columbia v. Heller*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/District_of_Columbia_v._Heller.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Firearms regulation in Switzerland*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Firearms_regulation_in_Switzerland.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Gun Control Act of 1968*. In Wikipedia. Retrieved January 25, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Gun_Control_Act_of_1968#Prohibited_persons.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Gun law in the United States*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Gun_law_in_the_United_States.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Gun laws in Poland*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Gun_laws_in_Poland.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *National Firearms Act*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/National_Firearms_Act.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *New York State Rifle & Pistol Association, Inc. v. Bruen*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/New_York_State_Rifle_%26_Pistol_Association,_Inc._v._Bruen.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Parkland high school shooting*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Parkland_high_school_shooting.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Swiss Armed Forces*. In Wikipedia. Retrieved January 21, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Swiss_Armed_Forces.
- Wikipedia contributors. (n.d.). *Uvalde school shooting*. In Wikipedia. Retrieved March 1, 2025, from https://en.wikipedia.org/wiki/Uvalde_school_shooting.

Notka o autorce: Jestem studentką III roku kryminologii na Wydziale Prawa i Administracji Uniwersytetu Gdańskiego. Oprócz dodatkowych prac naukowych, jednocześnie piszę pracę licencjacką na podobny temat: „Jak kultura broni w USA wpływa na zjawisko strzelanin szkolnych”. Moje szczególne zainteresowania są ściśle powiązane z moim kierunkiem studiów, czyli przestępstwa, prawo karne oraz wszelkie przejawy patologii społecznej.

