

Żywienie immunomodulujące: nowe wskazania w dobie nowoczesnej opieki okołoperacyjnej

Immunomodulating nutrition: new recommendations in the era of modern perioperative care

Stanisław Kłęk

Klinika Chirurgii Onkologicznej, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Krakowie

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. n. med. Stanisław Kłęk
Klinika Chirurgii Onkologicznej,
Narodowy Instytut Onkologii
im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy,
Oddział w Krakowie
ul. Garncarska 11, 31-115 Kraków
e-mail: kklek@poczta.onet.pl

Postępy Żywienia Klinicznego
2023, tom 18, 9-15

DOI: 10.5603/PZK.2023.0002

ISSN 1896-3706

Copyright © 2023 Via Medica

STRESZCZENIE

Odpowiedź metaboliczna organizmu na uraz chirurgiczny jest naturalnym mechanizmem obronnym, którego celem jest jak najszybsze przywrócenie homeostazy. Intensywnie poszukuje się nowych rozwiązań, mających na celu opracowanie mieszanki odżywczej, której składniki nie tylko dostarczałyby białka i energii, ale także korzystnie modulowały odpowiedź ustroju na uraz. Klasycznym przykładem takiego postępowania jest koncepcja żywienia immunomodulującego, czyli zastosowania preparatów, które oprócz swoich podstawowych celów (zaspokojenie zapotrzebowania kalorycznego, dostarczenie substancji budulcowych) miałyby w stopniu większym niż dotychczas wpływać na układ odpornościowy. Do substancji wykazujących takie działanie należą między innymi aminokwasy: glutamina, arginina, cysteina, tauryna, a także omega-3 nienasycone kwasy tłuszczowe, nukleotydy, niektóre witaminy i pierwiastki śladowe.

Na podstawie dostępnych danych można stwierdzić, że żywienie immunomodulujące bywa przydatne w leczeniu chorych w oddziałach chirurgii. Powinno być stosowane u chorych obciążonych dużym ryzykiem żywieniowym zarówno w okresie przed- jak i okołoperacyjnym, najlepiej drogą dojelitową. Drugą grupą pacjentów oddziałów i ambulatoriów chirurgicznych, którzy mogą zyskać na zastosowaniu żywienia immunomodulującego, są chorzy z trudno gojącymi się ranami.

Słowa kluczowe: żywienie immunomodulujące, arginina, omega-3 kwasy tłuszczowe

ABSTRACT

The body's metabolic response to surgical trauma is a natural defense mechanism aimed at restoring homeostasis as quickly as possible. New solutions are being intensively sought to develop a nutritional mixture whose ingredients would not only provide protein and energy, but also beneficially modulate the body's response to injury. A classic example of such a treatment is the concept of immunomodulatory nutrition, i.e., the use of preparations that, in addition to their basic goals (fulfilling energy demand, providing building substances), would have a greater impact on the immune system than before. Examples of such substances are amino acids: glutamine, arginine, cysteine, taurine, omega-3-unsaturated fatty acids, nucleotides, some vitamins and trace elements.

Based on the available data, it can be concluded that immunomodulatory nutrition is useful in the treatment of patients in surgical departments. It should be used in patients at high nutritional risk both in the pre- and perioperative period, preferably by the enteral route. The second group of patients in surgical wards and outpatient clinics who may benefit from the use of immunomodulatory nutrition are patients with difficult-to-heal wounds.

Key words: immunomodulating nutrition, arginine, omega-3-fatty acids

WSTĘP

Odpowiedź metaboliczna organizmu na uraz chirurgiczny, podobnie zresztą jak na każdy inny, jest naturalnym mechanizmem obronnym, którego celem jest jak najszybsze przywrócenie homeostazy. W większości przypadków reakcje ustroju pozwalają na powrót do zdrowia nawet bez interwencji medycznej, niemniej w grupie ciężko chorych, w tym poddanych rozległym zabiegom operacyjnym, pourazowa odpowiedź może być nadmierna i — zamiast prowadzić do poprawy stanu chorego — staje się czynnikiem uszkadzającym. Tym samym może ona skutkować pogorszeniem wyników leczenia. Reakcje kataboliczne mogą być nasilone przez całkowite lub częściowe głodzenie, unieruchomienie, miejscowe niedokrwienie, kwasicę czy niedotlenienie.

Już w 1936 roku Hiram Studley wykazał związek pomiędzy ubytkiem masy ciała u chorych operowanych z powodu choroby wrzodowej a zwiększoną śmiertelnością [1]. Od tego czasu związek pomiędzy niedożywieniem a wynikiem leczenia operacyjnego potwierdzano wielokrotnie, a konieczność interwencji żywieniowej w okresie okołoperacyjnym włączono do standardów postępowania medycznego [2].

Unieruchomienie chorego powoduje nasilenie katabolizmu i prowadzi do osłabienia mięśni i ich zaniku oraz ujemnego bilansu azotowego, przy czym utrata białek jest wynikiem nie tylko rozpadu masy mięśniowej, ale także zmniejszenia syntezy białka [3–5].

Zjawisko niedokrwienia i reperfuzji występujące w okresie pooperacyjnym, a przede wszystkim towarzyszące mu hipowolemia, kwasica i hiperkapnia wyzwalają mechanizmy hormonalne i neuronalne, które poprzez skurcz naczyń trzewnych zmniejszają regionalny przepływ jelitowy [6]. Należy pamiętać, że zwiększona przepuszczalność ściany jelit ma podstawowe znaczenie dla odpowiedzi na uraz operacyjny [7, 8].

INTERWENCJE MAJĄCE NA CELU MODULACJĘ ODPOWIEDZI NA URAZ

Współczesna medycyna stara się wpływać na procesy metaboliczne, a tym samym poprawiać wynik leczenia, poprzez zmniejszenie odczuwania bólu czy osłabienie reakcji zapalnej, pobudzanie procesów anabolicznych w mięśniach szkieletowych, dostarczanie brakujących substratów (intensywne żywienie dojelitowe lub dożylnie) i przywracanie równowagi kwasowo-zasadowej. Mimo wszystko wpływ tego postępowania nie jest jednoznaczny — niektórzy autorzy uważają, że niesie ono ze sobą nowe zagrożenia, a szczególne kontrowersje towarzyszą stosowaniu leczenia żywieniowego [9, 10]. Co prawda rola leczenia żywieniowego jest niepodważalna, gdyż niedożywienie jest stanem patologicznym. Śmierć organizmu dorosłego człowieka następuje po utracie około 40–50% masy ciała, a w stanach patologii jeszcze szybciej — już po zmniejszeniu masy ciała o 20–30%. Niemniej jednak, po początkowej euforii towarzyszącej

wprowadzeniu żywienia pozajelitowego w drugiej połowie lat 60. i w latach 70. ubiegłego wieku, lata 80. i 90. XX wieku to okres sceptycyzmu, ograniczenia wskazań do jego stosowania i zwiększenia roli żywienia dojelitowego, zwanego też enteralnym (*enteral nutrition*), które uznano za postępowanie z wyboru w większości wypadków.

W ostatnich latach okazało się, że interwencja żywieniowa może zostać użyta nie tylko do leczenia niedożywienia. Henrik Kehlet zaobserwował bowiem, że największy wpływ na przedłużenie czasu hospitalizacji mają: niewłaściwe leczenie przeciwbólowe i związane z tym przedłużone unieruchomienie chorych, nadmierna podaż dożylna płynów opóźniająca powrót perystaltyki oraz późne włączenie diety doustnej, co również wydłuża powrót prawidłowych funkcji przewodu pokarmowego. Zaproponował wówczas koncepcję wieloczynnikowej, przyspieszonej rehabilitacji po zabiegu operacyjnym u chorych operowanych z powodu chorób jelita grubego, która w konsekwencji pozwoliła na skrócenie czasu hospitalizacji po zabiegu operacyjnym z 7 do 3 dni, przy niezmienionej liczbie powikłań. Koncepcje tego typu otrzymały najpierw nazwę *fast-track*, a następnie ERPs (*Enhanced Recovery Protocols*), z których najbardziej znany jest protokół dla poprawy zdrowienia po zabiegu operacyjnym (ERAS, *Enhanced Recovery After Surgery Protocol*).

ŻYWIENIE IMMUNOMODULUJĄCE

W XXI wieku intensywnie poszukuje się nowych rozwiązań mających na celu opracowanie mieszaniny odżywczej, której składniki nie tylko dostarczałyby białka i energii, ale także korzystnie modulowały odpowiedź ustroju na uraz. Klasycznym przykładem takiego postępowania jest koncepcja żywienia immunomodulującego, czyli zastosowania preparatów, które oprócz swoich podstawowych celów (zaspokojenie zapotrzebowania kalorycznego, dostarczenie substancji budulcowych) miałyby w stopniu większym niż dotychczas wpływać na układ odpornościowy. Przykładami substancji o takim działaniu są aminokwasy: glutamina, arginina, cysteina i tauryna, a także omega-3 nienasycone kwasy tłuszczowe, nukleotydy, niektóre spośród witamin (C i E) oraz mikroelementów i pierwiastków śladowych (selen, cynk).

Glutamina

Glutamina jest aminokwasem warunkowo niezbędnym. Jest prekursorem syntezy nukleotydów i substratem glukoneogenezy wątrobowej, tym samym stanowi ważne źródło energii dla komórek szybko się odnawiających, takich jak nabłonek przewodu pokarmowego, limfocyty, fibroblasty i retikulocyty, które odgrywają szczególną rolę u ciężko chorych. Glutamina staje się warunkowo niezbędnym składnikiem odżywczym w warunkach stresu katabolicznego, ponieważ z powodu zmniejszonej podaży i zwiększonego metabolizmu dochodzi do jej niedoboru w organizmie, i to pomimo zwiększonego uwalniania z magazynów w mięśniach szkieletowych [11]. Szczególnie

narażone na jej niedobór narządy to wątroba, przewód pokarmowy i nerki [12, 13]. W przypadku krytycznie chorych, wczesne żywienie dojelitowe zawierające glutaminę poprawia wyniki leczenia, co potwierdzają wyniki pięciu badań klinicznych obejmujących w sumie 271 chorych po urazach lub z chorobą oparzeniową (podaż glutaminy 0,35–0,5 g/kg/d) [12, 14, 15]. Metaanaliza 14 badań klinicznych (mieszana populacja pacjentów, podaż glutaminy >0,2 g/kg/d) wykazała korzystny wpływ podawania glutaminy w grupie krytycznie chorych i chorych chirurgicznych na śmiertelność, liczbę powikłań infekcyjnych i długość pobytu w szpitalu [16]. Zbliżone wyniki uzyskano w Polsce, jednak bez cech znamienności statystycznej [17]. Wnioski z metaanaliz stały się podstawą sformułowania tak zwanych zaleceń kanadyjskich, rekomendujących stosowanie glutaminy w postaci dojelitowej u krytycznie chorych [18].

Dyskusje wywołuje właściwa ilość glutaminy w diecie: zwykła dieta dostarcza organizmowi 5–9 gramów glutaminy w ciągu doby, niemniej uważa się, że bezpieczna podaż to 0,57 g/kg masy ciała (co daje ok. 40 g w przypadku człowieka o masie 70 kg). Badania McQuiggan i wsp. wykazały pozytywny wpływ takiej ilości glutaminy na czynność przewodu pokarmowego oraz bezpieczeństwo jej stosowania, co potwierdzają doniesienia innych autorów, którzy opisali korzystny efekt kliniczny w przypadku dobowej podaży 10–14 gramów, czyli większej od zwykle dostarczanej w diecie [7, 12, 13, 19].

Arginina

Arginina jest również warunkowo niezbędnym aminokwasem, który odgrywa istotną rolę w przemianach azotu, a tym samym w syntezie białek, w przemianach energetycznych w komórce, syntezie tlenu azotu i poliamin. Arginina stymuluje także wydzielanie hormonu wzrostu i glukagonu oraz uwalnianie insuliny, prolaktyny i somatostatyny [20]. Jej brak w diecie wywołuje natychmiastową hiperamoniemię, upośledza syntezę białek, przedłuża proces gojenia ran [21, 22]. Tradycyjna dieta dostarcza około 5,5 g argininy na dobę, podobne ilości aminokwasu stwierdza się w dietach dojelitowych [23]. Badania wykazują, że w celu uzyskania poprawy czynności układu odpornościowego w krótkim okresie czasu, na przykład 4 dni, wymagana jest podaż 3–4-krotnie większych ilości argininy, gdyż podawanie ilości standardowych nie daje efektu klinicznego u krytycznie chorych [24]. Jednocześnie wykazano, że bezpieczne jest podawanie do 30 gramów argininy na dobę. Heyland i wsp. [24] zauważył, że korzyści z podania argininy wystąpiły tylko u chorych, którym podawano ją w stężeniu około 12 g/l, w objętości nie mniejszej aniżeli 1000 ml w ciągu doby, w postaci preparatów Impact (Nestle). W przypadku podawania mniejszych ilości pozytywnych efektów nie stwierdzano.

Cysteina i tauryna

Badania nad immunostymulującą rolą cysteiny rozpoczęły się od N-acetylocysteiny, będącej źródłem tego ami-

nokwasu — prekursora glutationu, który jest głównym antyoksydantem odpowiedzialnym za neutralizację wolnych rodników. Na podstawie doświadczeń na szczurach zakażanych *E. coli* wykazano, że dieta wzbogacona cysteiną zwiększa stężenie glutationu w wątrobie i płucach, co korelowało z dłuższym przeżyciem tych zwierząt, jednakże udział mechanizmów odpornościowych w przebiegu tych zjawisk jest dyskusyjny, a poprawa przeżycia zwierząt ma prawdopodobnie związek ze wzrostem tolerancji tkanek na czynniki cytotoksyczne. Ponadto podaż dodatkowych ilości aminokwasów zawierających grupy siarkowe nie daje spodziewanych efektów klinicznych [25].

Tauryna stanowi 60% wszystkich aminokwasów warunkowo niezbędnych w leukocytach. Szczególnie duże jej ilości znajdują się w komórkach biorących udział w reakcji zapalnej, zwłaszcza w komórkach fagocytujących posiadających polimorficzne jądro. Chroni limfocyty przed działaniem czynników utleniających, mechanizm tego działania pozostaje jednak niejasny. Dzięki interakcjom z mieloperoxydazą (MPO) stymuluje aktywność fagocytarną neutrofilii, a także zwiększa wydzielanie TNF- α przez makrofagi [26]. Wydaje się, że może stabilizować błony komórkowe i ma właściwości osmoregulujące [27]. W badaniach klinicznych nie potwierdzono jednak jak dotychczas immunomodulującego wpływu tauryny.

Kwasy tłuszczowe

Wszystkie emulsje tłuszczowe są głównym źródłem energii dla ciężko chorych, gdyż wykazują lepszą przyswajalność niż węglowodany w postaci glukozy i pozwalają dostarczyć dużą ilość energii w stosunkowo niewielkiej objętości pożywienia. Efekt immunomodulujący przypisuje się głównie dwóm omega-3 nienasyconym kwasom tłuszczowym: eikozapentaenowemu (EPA) i dokozaheksaenowemu (DHA). Podanie w żywieniu pozajelitowym emulsji zawierających omega-3 kwasy tłuszczowe powoduje zmiany w budowie leukocytów, stężenie EPA wzrasta 2,5-krotnie, zmniejsza się ilość eikozanoidów i cytokin powstających w procesie przemian kwasu arachidonowego, a z klinicznego punktu widzenia obserwuje się skrócenie czasu hospitalizacji chorych chirurgicznych i chorych na oddziałach intensywnej terapii oraz zmniejszenie liczby powikłań. Co ważne, nie obserwowano negatywnego wpływu kwasów omega-3 na działanie układu odpornościowego [28–37].

Nukleotydy

Związki te uczestniczą w prawie wszystkich procesach biochemicznych: są prekursorami DNA i RNA, stanowią źródło energii w komórce (ATP), regulują przemianę materii (np. cAMP) oraz pośredniczą w wielu szlakach metabolicznych (np. UDP-glukoza jest prekursorem glikogenu, a CDP-dwuacyloglicerol — fosfoglicerydów). W stanach zwiększonego zapotrzebowania na nukleotydy (ciężki zabieg operacyjny, uraz, zespół septyczny) tkanki szybko proliferujące, takie jak nabłonek jelit, komórki układu odpornościowego i krwiotwórczego, są narażone na ich

niedobory, gdyż — mimo uaktywnienia się obu szlaków tworzenia nukleotydów (tj. *de novo* i resyntezy) — ilość nukleotydów jest niewystarczająca z powodu znacznego zapotrzebowania energetycznego [38–40]. Zastosowanie w warunkach doświadczalnych diety wzbogaconej nukleotydami przynosiło pozytywne efekty — powodowało przyspieszenie dojrzewania limfocytów T, zwiększał się odsetek zwierząt laboratoryjnych, które przeżywały sztucznie wywołaną infekcję *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans* [40]. Podczas obserwacji klinicznych porównujących skuteczność enteralnie stosowanego preparatu Impact (zawierającego oprócz RNA argininę i omega-3 kwasy tłuszczowe) z Osmolite HN (preparat kazeinowy) stwierdzono, że pobyt w szpitalu chorych żywionych tak wzbogaconą dietą był krótszy o 30%, mniejsza była też liczba powikłań (infekcji o 42%, zaburzeń w gojeniu się ran o 10%), a testy laboratoryjne wykazały zwiększenie odpowiedzi limfocytów B i T na mitogeny [40].

Nukleotydy wchodzi w skład niektórych diet dojelitowych, takich jak Impact® (Novartis, Minneapolis, USA).

ZNACZENIE ŻYWIENIA DOJELITOWEGO IMMUNOMODULUJĄCEGO W OKRESIE OKOŁOOPERACYJNYM

Korzyści z zastosowania diet immunomodulujących podawanych przez przewód pokarmowy w okresie przedoperacyjnym są bezdyskusyjne. Europejskie Towarzystwo Żywienia Klinicznego i Metabolizmu (ESPEN) zaleca ich stosowanie w okresie okołoperacyjnym u ofiar ciężkich urazów, poddawanych operacjom z powodu nowotworu złośliwego szyi i rozległym operacjom przewodu pokarmowego [2, 42]. Z kolei amerykański panel ekspertów zaleca stosowanie immunodiet u chorych po urazach tępych i przeszzywających tułowia, poddawanych rozległym operacjom w zakresie przewodu pokarmowego, zabiegom z powodu nowotworu złośliwego głowy i szyi, oparzonych i sztucznie wentylowanych bez cech sepsy [41].

Diety immunomodulujące ogrywiają ważną rolę również w okresie pooperacyjnym, szczególnie u chorych określonych przedoperacyjnie jako niedożywionych lub z dużym ryzykiem żywieniowym.

ŻYWIENIE A GOJENIE SIĘ RAN

Regeneracja i gojenie się uszkodzonej tkanki jest niezbędnym warunkiem przeżycia po chorobie i urazach związanych z uszkodzeniami fizycznymi, chemicznymi, infekcyjnymi lub immunologicznymi. Jest to precyzyjnie regulowany proces, kontrolowany przez wiele czynników humoralnych i komórkowych. Gojenie się rany nie jest całkowite (*ad integrum*), a zmienne fragmenty uszkodzonej tkanki zastępowane są tkanką bliznowatą. Wynika to ze stanu zapalnego, który odgrywa kluczową rolę w gojeniu się ran; blizny są prawdopodobnie konsekwencją tego zapalenia. Składniki niezbędne do procesu gojenia pochodzą zwykle z zapasów organizmu, zwłaszcza tkanki

mięśni szkieletowych, a stan zapalny odgrywa w tym procesie ważną rolę. Jednak rozległe rany lub długotrwałe procesy gojenia ran prowadzą do wyczerpania białka organizmu. Dlatego ocena i wsparcie żywieniowe powinny być nieodzownym elementem kompleksowej opieki nad pacjentami z dużymi i nieuleczalnymi ranami.

Proces gojenia się ran to szereg złożonych zdarzeń, które rozpoczynają się od urazu i mogą trwać od miesięcy do lat [43]. Płód ma zdolność gojenia ran poprzez regenerację nie tylko normalnego naskórka, ale także głębszych struktur, takich jak skóra właściwa, z całkowitym przywróceniem struktury macierzy zewnątrzkomórkowej, siły i funkcji — bez zapalenia [44]. Jednak w okresie poporodowym gojenie się ran zawsze wiąże się ze stanem zapalnym i można je podzielić na trzy podstawowe fazy. Co więcej, proces ten nie zawsze jest liniowy, a fazy gojenia się rany mogą być modyfikowane przez wiele czynników lokalnych i zewnętrznych, co może oddziaływać na przebieg procesu zarówno pozytywnie, jak i negatywnie.

Czynniki negatywnie wpływające na proces gojenia się ran (zarówno ogólnoustrojowe, jak i miejscowe) mogą opóźnić proces gojenia i ostatecznie doprowadzić do rozwoju rany przewlekłej lub niegojącej się. Stale nasilona proteoliza jest typowa dla ran przewlekłych. Większość z tych proteaz (głównie elastaza) jest uwalniana przez neutrofile efektorowe, a to zmniejsza rozpoznawalność i późniejsze usuwanie komórek przez makrofagi. Sprzyja to rozpadowi martwiczemu. Rozpuszczalne fragmenty elastazy gospodarza degradują receptory chemokinowe (CXCR1), które mogą stymulować receptory toll-podobne 2 (receptory TLR2), produkując dodatkowe cytokiny prozapalne (PCs), które podsycają cykl zapalny i rekrutują dodatkowe neutrofile. Ten nieustanny cykl, wraz z tworzeniem inflammasomu [45–49], wywołuje i podtrzymuje podwyższony poziom stanu zapalnego, który utrudnia gojenie się ran. Wspomniane mechanizmy rozwoju ran przewlekłych są szczególnie widoczne w przypadku owrzodzeń żylnych, tętniczych, owrzodzeń stopy cukrzycowej, owrzodzeń ciśnieniowych oraz ran spowodowanych chorobami autoimmunologicznymi. Również niedożywienie może opóźnić gojenie się ran i prowadzić do przewlekłego przebiegu, mimo nowoczesnych metod leczenia miejscowego [49]. Ponadto obecność zapalenia związanego z raną zwiększa dodatkową utratę masy komórek ciała i powoduje oporność anaboliczną.

Rana przewlekła, która utrzymuje się dłużej niż 6 tygodni, stanowi wyzwanie medyczne, ponieważ może ona prowadzić do innych powikłań, w tym zakażenia, sepsy czy destrukcji sąsiednich tkanek. Obecność rany przewlekłej powoduje stały stan zapalny z konsekwencjami metabolicznymi i żywieniowymi. Ze względu na ból, rana przewlekła może prowadzić do zmniejszenia aktywności fizycznej, co w połączeniu z przewlekłym stanem zapalnym może prowadzić do utraty masy mięśniowej i rozwoju sarkopenii, otyłości sarkopenicznej lub wyniszczenia.

METODY LECZENIA RAN

Metody leczenia ran zmieniły się diametralnie w ciągu ostatnich dziesięcioleci. Silny wzrost proliferacji komórek, syntezy białek i aktywności enzymów podczas procesu gojenia się ran wymaga miejscowego gromadzenia energii i substratów budulcowych. Ogólnie rzecz biorąc, aminokwasy są uwalniane z zapasów białek w organizmie (zwłaszcza z mięśni szkieletowych), podczas gdy glukoza jest produkowana w wątrobie. Utlenianie glukozy jest niskie we wczesnym okresie gojenia się ran [50], prawdopodobnie z powodu powstawania nowych komórek i przepływu glukozy do szlaków syntetycznych (i nieutleniających), takich jak cykl pentozowy [51]. W ten sposób w glikolizie wytwarzany jest ATP, a mleczan przekształcany jest w wątrobie w glukozę poprzez cykl Coriego.

Osoby niedożywione, bez rezerw tłuszczowych, są narażone na opóźnione gojenie się ran i rozwój ran przewlekłych [52, 53]. Gdy niedożywienie jest związane z ogólnoustrojowym stanem zapalnym, gojenie się ran może być prawie niemożliwe [54]. Niedożywienie utrudnia gojenie się ran oraz dodatkowo:

- opóźnia powstawanie neowaskularyzacji i zmniejsza syntezę kolagenu,
- przedłuża fazę zapalenia,
- zmniejsza fagocytozę przez leukocyty,
- wywołuje dysfunkcję komórek B i T.

Istnieje również coś w rodzaju błędnego koła, szczególnie w przypadku niedożywionych osób starszych, u których gojenie się ran jest opóźnione, a to z kolei pogarsza stopień niedożywienia.

Z powyższych powodów, ocena stanu odżywienia i monitorowanie przyjmowania pokarmów powinny być istotną częścią opieki nad pacjentami z ranami [55–57]. Spożycie pokarmu musi zawsze pokrywać dzienne zapotrzebowanie na energię (30 do 35 kcal/kg) i białko (1 do 1,5 g/kg). Jednak u pacjentów już niedożywionych lub z niegojącymi się ranami należy zwiększyć dzienne spożycie energii i białka odpowiednio do 35–40 kcal/kg i 1,5–2,0 g/kg.

Odpowiednia podaż białka jest niezbędna do podziału komórek i prawidłowego gojenia się ran. Ze względu na fakt, że kolagen jest dominującym białkiem produkowanym w gojącej się ranie, brak białka zmniejsza syntezę kolagenu i produkcję fibroblastów. Chociaż wszystkie aminokwasy proteogenne są ważne podczas gojenia się ran, istnieją dowody na to, że niektóre aminokwasy są szczególnie istotne dla tego procesu. Należą do nich metionina i cysteina, które biorą udział w syntezie tkanki łącznej oraz kolagenu. Uważa się także, że arginina ma duży wpływ na proliferację kolagenu oraz na poprawę reakcji immunologicznej [58–61].

Wykazano, że arginina nie tylko poprawia funkcje immunologiczne [62], ale również stymuluje gojenie się ran [63]. W ostatnim podwójnie ślepy, prospektywnym, randomizowanym badaniu, specjalny suplement wzbogacony w energię i białko, zawierający zwiększoną ilość argininy, cynku, nukleotydów, witaminy C i antyoksydan-

tów, przyspieszył gojenie się odleżyn u niedożywionych pacjentów [56].

Często, szczególnie u pacjentów hospitalizowanych i niedożywionych, odpowiednia podaż tych składników nie może być zapewniona w standardowej diecie i konieczne jest podawanie suplementów diety. Suplementy te powinny być jak najlepiej dostosowane do odczuwanego przez pacjenta niedoboru składników odżywczych. Należy uwzględnić białko, mikroelementy i witaminy oraz substraty, które ulegają szybkiej przemianie (np. argininę).

KWASY TŁUSZCZOWE

Kwasy tłuszczowe są ważnymi składnikami błon komórkowych i stanowią substrat do syntezy eikozanoidów, które sprzyjają procesowi zapalnemu. Stwierdzono, że miejscowe i ogólnoustrojowe stosowanie omega-3 kwasów tłuszczowych poprawia gojenie się ran [61, 62]. Niespodziewanie okazało się również, że suplementacja tymi kwasami tłuszczowymi zwiększa miejscowy stan zapalny w ranach doświadczalnych [63]. Ostatnio wykazano, że sprzężony kwas linolowy (CLA) poprawia zamykanie ran u zwierząt doświadczalnych [64]. Jednak znaczenie kliniczne kwasów tłuszczowych w procesie gojenia się ran nie zostało jeszcze określone.

WITAMINA C

Kwas askorbinowy jest niezbędny do hydroksylacji proliny i lizyny w syntezie kolagenu, gdzie tworzy wiązania krzyżowe i stabilizuje strukturę potrójnej helisy kolagenu. Jest on również niezbędny dla optymalnej odpowiedzi immunologicznej, mitozy komórek i migracji monocytów do tkanki rany, które przekształcają się w makrofagi podczas fazy zapalnej gojenia się rany [65].

CYNK

Cynk jest kofaktorem dla wielu reakcji enzymatycznych, które biorą udział w biosyntezie RNA, DNA i białek. Dlatego też cynk jest niezbędny dla wszystkich proliferujących komórek, a niski status cynku zmniejsza zamknięcie i ciśnienie robocze rany oraz hamuje proces zapalny. Skuteczność oraz ryzyko stosowania suplementacji cynkiem w leczeniu ran jest przedmiotem wielu dyskusji w literaturze, a ogólne przekonanie jest takie, że suplementacja cynkiem jest korzystna w przypadku niedoboru tego pierwiastka u pacjenta, ale nie w przypadku jego braku [66].

Inne mikroelementy, takie jak witaminy (A, B i E) oraz pierwiastki śladowe (selen, miedź i mangan) odgrywają szczególną rolę w gojeniu się ran. Niedobór tych składników odżywczych jest szczególnie związany z występowaniem zmian skórnych. Dlatego uzupełnianie i zapobieganie niedoborom jest ważne w leczeniu wszystkich dużych lub niegojących się ran [66].

PODSUMOWANIE

Na podstawie dostępnych danych można stwierdzić, że żywnienie immunomodulujące bywa przydatne w leczeniu

chorych w oddziałach chirurgii. Powinno być stosowane u pacjentów obciążonych dużym ryzykiem żywieniowym zarówno w okresie przed- jak i okołoperacyjnym, najlepiej drogą dojelitową, chociaż pozytywny wpływ żywienia immunomodulującego jest widoczny i przy podaży dojelitowej, i dożylniej. Drugą grupą pacjentów oddziałów i ambulatoriów chirurgicznych, którzy mogą zyskać na zastosowaniu doustnego lub dojelitowego żywienia immunomodulującego opartego na argininie, nukleotydach i antyoksydantach są chorzy z trudno gojącymi się ranami.

Konflikt interesów: Nie zgłoszono.

Finansowanie: Brak.

Piśmiennictwo

1. Studley HO. Percentage of weight loss: a basic indicator of surgical risk in patients with chronic peptic ulcer. 1936. *Nutr Hosp.* 2001; 16(4): 141–3; discussion 140, indexed in Pubmed: 11680474.
2. Weimann A, Braga M, Harsanyi L, et al. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Surgery including organ transplantation. *Clin Nutr.* 2006; 25(2): 224–244, doi: 10.1016/j.clnu.2006.01.015, indexed in Pubmed: 16698152.
3. Deitrick JE, Whedon GD, Shorr E. Effects of immobilization upon various metabolic and physiologic functions of normal men. *Am J Med.* 1948; 4(1): 3–36, doi: 10.1016/0002-9343(48)90370-2, indexed in Pubmed: 18920941.
4. Stuart CA, Shangraw RE, Peters EJ, et al. Effect of dietary protein on bed-rest-related changes in whole-body-protein synthesis. *Am J Clin Nutr.* 1990; 52(3): 509–514, doi: 10.1093/ajcn/52.3.509, indexed in Pubmed: 2203254.
5. Shangraw RE, Stuart CA, Prince MJ, et al. Insulin responsiveness of protein metabolism in vivo following bedrest in humans. *Am J Physiol.* 1988; 255(4 Pt 1): E548–E558, doi: 10.1152/ajpendo.1988.255.4.E548, indexed in Pubmed: 3052106.
6. Wilmore DWW, Smith RJ, O'Dwyer ST, et al. The gut: a central organ after surgical stress. *Surgery.* 1988; 104(5): 917–923, indexed in Pubmed: 3055397.
7. Ziegler TR, Benfell K, Smith RJ, et al. Safety and metabolic effects of L-glutamine administration in humans. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1990; 14(4 Suppl): 1375–146S, doi: 10.1177/0148607190014004201, indexed in Pubmed: 2119459.
8. Pape HC, Dwanger A, ragel G, et al. Increased gut permeability after multiple trauma. *Br J Surg.* 1994; 81(6): 850–852, doi: 10.1002/bjs.1800810619, indexed in Pubmed: 8044600.
9. Hill AG, Hill GL. Metabolic response to severe injury. *Br J Surg.* 1998; 85(7): 884–890, doi: 10.1046/j.1365-2168.1998.00779.x, indexed in Pubmed: 9692557.
10. Hill AG, Siegel J, Rounds J, et al. Metabolic responses to interleukin-1: centrally and peripherally mediated. *Ann Surg.* 1997; 225(3): 246–251, doi: 10.1097/0000658-199703000-00002, indexed in Pubmed: 9060579.
11. Parry-Billings M, Calder PC, Newsholme EA, et al. Does glutamine contribute to immunosuppression after major burns? *Lancet.* 1990; 336(8714): 523–525, doi: 10.1016/0140-6736(90)92083-t.
12. Houdijk AP, Rijnsburger ER, Jansen J, et al. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. *Lancet.* 1998; 352(9130): 772–776, doi: 10.1016/S0140-6736(98)02007-8, indexed in Pubmed: 9737282.
13. Jones C, Palmer TE, Griffiths RD. Randomized clinical outcome study of critically ill patients given glutamine-supplemented enteral nutrition. *Nutrition.* 1999; 15(2): 108–115, doi: 10.1016/s0899-9007(98)00172-5, indexed in Pubmed: 9990574.
14. Zhou YP, Jiang ZM, Sun YH, et al. The effect of supplemental enteral glutamine on plasma levels, gut function, and outcome in severe burns: a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2003; 27(4): 241–245, doi: 10.1177/0148607103027004241, indexed in Pubmed: 12903886.
15. Garrel D, Patenaude J, Nedelec B, et al. Decreased mortality and infectious morbidity in adult burn patients given enteral glutamine supplements: a prospective, controlled, randomized clinical trial. *Crit Care Med.* 2003; 31(10): 2444–2449, doi: 10.1097/01.CCM.0000084848.63691.1E, indexed in Pubmed: 14530749.
16. Novak F, Heyland DK, Avenell A, et al. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. *Crit Care Med.* 2002; 30(9): 2022–2029, doi: 10.1097/00003246-200209000-00011, indexed in Pubmed: 12352035.
17. Klek S, Kulig J, Szczepanik AM, et al. The clinical value of parenteral immunonutrition in surgical patients. *Acta Chir Belg.* 2005; 105(2): 175–179, indexed in Pubmed: 15906909.
18. Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, et al. Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2003; 27(5): 355–373, doi: 10.1177/0148607103027005355, indexed in Pubmed: 12971736.
19. McQuiggan M, Kozar R, Sailors RM, et al. Enteral glutamine during active shock resuscitation is safe and enhances tolerance of enteral feeding. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2008; 32(1): 28–35, doi: 10.1177/014860710803200128, indexed in Pubmed: 18165444.
20. Evoy D, Lieberman MD, Fahey TJ, et al. Immunonutrition: the role of arginine. *Nutrition.* 1998; 14(7-8): 611–617, doi: 10.1016/s0899-9007(98)00005-7, indexed in Pubmed: 9684265.
21. Suchner U, Heyland DK, Peter K. Immune-modulatory actions of arginine in the critically ill. *Br J Nutr.* 2002; 17(Suppl 1): S121–S132, doi: 10.1079/bjn2001465, indexed in Pubmed: 11895148.
22. Villalpando S, Gopal J, Balasubramanyam A, et al. In vivo arginine production and intravascular nitric oxide synthesis in hypotensive sepsis. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84(1): 197–203, doi: 10.1093/ajcn/84.1.197, indexed in Pubmed: 16825696.
23. Sarubin A. The health professional's guide to popular dietary supplements. Chicago, IL: American Dietetic Association 2000.
24. Heyland DK, Novak F, Drover JW, et al. Should immunonutrition become routine in critically ill patients? A systematic review of the evidence. *JAMA.* 2001; 286(8): 944–953, doi: 10.1001/jama.286.8.944, indexed in Pubmed: 11509059.
25. Grimble RF. The effects of sulfur amino acid intake on immune function in humans. *J Nutr.* 2006; 136(6 Suppl): 1660S–1665S, doi: 10.1093/jn/136.6.1660S, indexed in Pubmed: 16702336.
26. Roth E. Immune and cell modulation by amino acids. *Clin Nutr.* 2007; 26(5): 535–544, doi: 10.1016/j.clnu.2007.05.007, indexed in Pubmed: 17599724.
27. Bouckennooghe T, Remacle C, Reusens B. Is taurine a functional nutrient? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006; 9(6): 728–733, doi: 10.1097/01.mco.0000247469.26414.55, indexed in Pubmed: 17053427.
28. Calder PC. Hot topics in parenteral nutrition. Rationale for using new lipid emulsions in parenteral nutrition and a review of the trials performed in adults. *Proc Nutr Soc.* 2009; 68(3): 252–260, doi: 10.1017/S0029665109001268, indexed in Pubmed: 19426581.
29. Wanten GJA, Calder PC. Immune modulation by parenteral lipid emulsions. *Am J Clin Nutr.* 2007; 85(5): 1171–1184, doi: 10.1093/ajcn/85.5.1171, indexed in Pubmed: 17490951.
30. Grimm H. A balanced lipid emulsion—A new concept in parenteral nutrition. *Clinical Nutrition Supplements.* 2005; 1(3): 25–30, doi: 10.1016/j.clnu.2005.05.011.
31. Morlion BJ, Torwesten E, Lessire H, et al. The effect of parenteral fish oil on leukocyte membrane fatty acid composition and leukotriene-synthesizing capacity in patients with postoperative trauma. *Metabolism.* 1996; 45(10): 1208–1213, doi: 10.1016/s0026-0495(96)90237-1, indexed in Pubmed: 8843174.
32. Wachtler P, König W, Senkal M, et al. Influence of a total parenteral nutrition enriched with omega-3 fatty acids on leukotriene synthesis of peripheral leukocytes and systemic cytokine levels in patients with major surgery. *J Trauma.* 1997; 42(2): 191–198, doi: 10.1097/00005373-199702000-00004, indexed in Pubmed: 9042869.
33. Köller M, Senkal M, Kemen M, et al. Impact of omega-3 fatty acid enriched TPN on leukotriene synthesis by leukocytes after major surgery. *Clin Nutr.* 2003; 22(1): 59–64, doi: 10.1054/clnu.2002.0592, indexed in Pubmed: 12553951.
34. Grimm H, Mertes N, Goeters C, et al. Improved fatty acid and leukotriene pattern with a novel lipid emulsion in surgical patients. *Eur J Nutr.* 2006; 45(1): 55–60, doi: 10.1007/s00394-005-0573-8, indexed in Pubmed: 16041475.

35. Weiss G, Meyer F, Matthies B, et al. Immunomodulation by perioperative administration of n-3 fatty acids. *Br J Nutr.* 2002; 87 Suppl 1: S89–S94, doi: [10.1079/bjn2001461](https://doi.org/10.1079/bjn2001461), indexed in Pubmed: 11895158.
36. Schauder P, Röhn U, Schäfer G, et al. Impact of fish oil enriched total parenteral nutrition on DNA synthesis, cytokine release and receptor expression by lymphocytes in the postoperative period. *Br J Nutr.* 2002; 87 Suppl 1: S103–S110, doi: [10.1079/bjn2001463](https://doi.org/10.1079/bjn2001463), indexed in Pubmed: 11895146.
37. Wichmann MW, Thul P, Czarnetzki HD, et al. Evaluation of clinical safety and beneficial effects of a fish oil containing lipid emulsion (Lipoplus, MLF541): data from a prospective, randomized, multicenter trial. *Crit Care Med.* 2007; 35(3): 700–706, doi: [10.1097/01.CCM.0000257465.60287.AC](https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000257465.60287.AC), indexed in Pubmed: 17261965.
38. Tsujinaka T, Kishibuchi M, Iijima S, et al. Role of supplementation of a nucleic acid solution on the intestinal mucosa under total parenteral nutrition. *Nutrition.* 1997; 13(4): 369–371, doi: [10.1016/s0899-9007\(96\)00375-9](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(96)00375-9).
39. Turczynowski W, Szczepanik A.M, Kłęk S.: Leczenie żywieniowe a układ odpornościowy. *Przegl Lek.* 2000; 57: 36–40.
40. Buren CV, Rudolph F. Dietary nucleotides: A conditional requirement. *Nutrition.* 1997; 13(5): 470–472, doi: [10.1016/s0899-9007\(97\)00103-2](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(97)00103-2).
41. Consensus Recommendations From the U.S. Summit on Immune-Enhancing Enteral Therapy. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.* 2016; 25(2_suppl): S61–S63, doi: [10.1177/014860710102500213](https://doi.org/10.1177/014860710102500213).
42. Weimann A, Braga M, Carli F, et al. ESPEN practical guideline: Clinical nutrition in surgery. *Clin Nutr.* 2021; 40(7): 4745–4761, doi: [10.1016/j.clnu.2021.03.031](https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.03.031), indexed in Pubmed: 34242915.
43. Wild T, Rahbarnia A, Kellner M, et al. Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition.* 2010; 26(9): 862–866, doi: [10.1016/j.nut.2010.05.008](https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.05.008), indexed in Pubmed: 20692599.
44. Larson BJ, Longaker MT, Lorenz HP. Scarless fetal wound healing: a basic science review. *Plast Reconstr Surg.* 2010; 126(4): 1172–1180, doi: [10.1097/PRS.0b013e3181eae781](https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181eae781), indexed in Pubmed: 20885241.
45. Takeo M, Lee W, Ito M. Wound healing and skin regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015; 5(1): a023267, doi: [10.1101/cshperspect.a023267](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a023267), indexed in Pubmed: 25561722.
46. Robson MC. The role of growth factors in the healing of chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 1997; 5(1): 12–17, doi: [10.1046/j.1524-475X.1997.50106.x](https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1997.50106.x), indexed in Pubmed: 16984452.
47. Robson MC, Hill DP, Woodske ME, et al. Wound healing trajectories as predictors of effectiveness of therapeutic agents. *Arch Surg.* 2000; 135(7): 773–777, doi: [10.1001/archsurg.135.7.773](https://doi.org/10.1001/archsurg.135.7.773), indexed in Pubmed: 10896369.
48. Campbell L, Raheem I, Malemud CJ, et al. The Relationship between NALP3 and Autoinflammatory Syndromes. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(5), doi: [10.3390/ijms17050725](https://doi.org/10.3390/ijms17050725), indexed in Pubmed: 27187378.
49. Ho CH, Powell HL, Collins JF, et al. Poor nutrition is a relative contraindication to negative pressure wound therapy for pressure ulcers: preliminary observations in patients with spinal cord injury. *Adv Skin Wound Care.* 2010; 23(11): 508–516, doi: [10.1097/01.ASW.0000390493.43835.ec](https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000390493.43835.ec), indexed in Pubmed: 20975334.
50. Kivisaari J, Vihersaari T, Renvall S, et al. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments. *Ann Surg.* 1975; 181(6): 823–828, doi: [10.1097/0000658-197506000-00011](https://doi.org/10.1097/0000658-197506000-00011), indexed in Pubmed: 1138632.
51. Love NR, Ziegler M, Chen Y, et al. Carbohydrate metabolism during vertebrate appendage regeneration: what is its role? How is it regulated?: A postulation that regenerating vertebrate appendages facilitate glycolytic and pentose phosphate pathways to fuel macromolecule biosynthesis. *Bioessays.* 2014; 36(1): 27–33, doi: [10.1002/bies.201300110](https://doi.org/10.1002/bies.201300110), indexed in Pubmed: 24264888.
52. Stechmiller JK. Understanding the role of nutrition and wound healing. *Nutr Clin Pract.* 2010; 25(1): 61–68, doi: [10.1177/0884533609358997](https://doi.org/10.1177/0884533609358997), indexed in Pubmed: 20130158.
53. Molnar JA, Vlad LG, Gumus T. Nutrition and Chronic Wounds: Improving Clinical Outcomes. *Plast Reconstr Surg.* 2016; 138(3 Suppl): 715–815, doi: [10.1097/PRS.0000000000002676](https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000002676), indexed in Pubmed: 27556777.
54. Ng MFY. Cachexia - an intrinsic factor in wound healing. *Int Wound J.* 2010; 7(2): 107–113, doi: [10.1111/j.1742-481X.2010.00663.x](https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2010.00663.x), indexed in Pubmed: 20529151.
55. van Anholt RD, Sobotka L, Meijer EP, et al. Specific nutritional support accelerates pressure ulcer healing and reduces wound care intensity in non-malnourished patients. *Nutrition.* 2010; 26(9): 867–872, doi: [10.1016/j.nut.2010.05.009](https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.05.009), indexed in Pubmed: 20598855.
56. Cereda E, Klersy C, Seriola M, et al. A nutritional formula enriched with arginine, zinc, and antioxidants for the healing of pressure ulcers: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2015; 162(3): 167–174, doi: [10.7326/M14-0696](https://doi.org/10.7326/M14-0696), indexed in Pubmed: 25643304.
57. Quain AM, Khardori NM. Nutrition in Wound Care Management: A Comprehensive Overview. *Wounds.* 2015; 27(12): 327–335, indexed in Pubmed: 27447105.
58. Angele MK, Smail N, Knöferl MW, et al. L-Arginine restores splenocyte functions after trauma and hemorrhage potentially by improving splenic blood flow. *Am J Physiol.* 1999; 276(1): C145–C151, doi: [10.1152/ajp-cell.1999.276.1.C145](https://doi.org/10.1152/ajp-cell.1999.276.1.C145), indexed in Pubmed: 9886930.
59. Witte MB, Barbul A. Arginine physiology and its implication for wound healing. *Wound Repair Regen.* 2003; 11(6): 419–423, doi: [10.1046/j.1524-475X.2003.11605.x](https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.2003.11605.x), indexed in Pubmed: 14617280.
60. Posthauer ME. The role of nutrition in wound care. *Adv Skin Wound Care.* 2006; 19(1): 43–52; quiz 53, doi: [10.1097/00129334-200601000-00015](https://doi.org/10.1097/00129334-200601000-00015), indexed in Pubmed: 16477165.
61. Thomas DR, Thomas DR. The role of nutrition in prevention and healing of pressure ulcers. *Clin Geriatr Med.* 1997; 13(3): 497–511, doi: [10.1201/9781420005493.ch32](https://doi.org/10.1201/9781420005493.ch32), indexed in Pubmed: 9227941.
62. Shingel KI, Faure MP, Azoulay L, et al. Solid emulsion gel as a vehicle for delivery of polyunsaturated fatty acids: implications for tissue repair, dermal angiogenesis and wound healing. *J Tissue Eng Regen Med.* 2008; 2(7): 383–393, doi: [10.1002/term.101](https://doi.org/10.1002/term.101), indexed in Pubmed: 18642392.
63. Babaei S, Nakhaei M, Ansarihadipour H, et al. Omegaven Improves Skin Morphometric Indices in Diabetic Rat Model Wound Healing. *J Am Coll Clin Wound Spec.* 2017; 9(1-3): 39–45, doi: [10.1016/j.jccw.2018.04.001](https://doi.org/10.1016/j.jccw.2018.04.001), indexed in Pubmed: 30591901.
64. McDaniel JC, Belury M, Ahijevych K, et al. Omega-3 fatty acids effect on wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008; 16(3): 337–345, doi: [10.1111/j.1524-475X.2008.00388.x](https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2008.00388.x), indexed in Pubmed: 18471252.
65. Park NY, Valacchi G, Lim Y. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation on early inflammatory responses during cutaneous wound healing. *Mediators Inflamm.* 2010; 2010, doi: [10.1155/2010/342328](https://doi.org/10.1155/2010/342328), indexed in Pubmed: 20871865.
66. Lansdown ABG, Mirastschijski U, Stubbs N, et al. Zinc in wound healing: theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Repair Regen.* 2007; 15(1): 2–16, doi: [10.1111/j.1524-475X.2006.00179.x](https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2006.00179.x), indexed in Pubmed: 17244314.