



II.WSML

Wrocławskie Spotkanie
Medycyny Laboratoryjnej



PROGRAM KONFERENCJI I KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW

26 marca 2021, Wrocław

Katedra Analityki Medycznej
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej
Oddział Wrocław



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Rektor Uniwersytetu Medycznego
we Wrocławiu
prof. dr hab. Piotr Ponikowski



Dziekan Wydziału Farmaceutycznego
dr hab. Marcin Mączyński, prof. uczelni



Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych



Dolnośląska
Izba
Lekarska

Dolnośląska Izba Lekarska



Polskie Towarzystwo
Diagnostyki Laboratoryjnej

Polskie Towarzystwo Diagnostyki
Laboratoryjnej



Fundacja Uniwersytetu Medycznego
we Wrocławiu



Fundacja „Farmacja Dolnośląska”

ORGANIZATORZY	1
PATRONAT HONOROWY	2
KOMITET NAUKOWY	4
KOMITET ORGANIZACYJNY	5
RADA NAUKOWA	6
POWITANIE	8
PROGRAM KONFERENCJI	9
STRESZCZENIA DONIESIEŃ ZJAZDOWYCH	10
SPONSORZY	45

Przewodnicząca:

dr hab. Iwona Bil-Lula

Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wiceprzewodniczący:

prof. dr hab. Mieczysław Woźniak †

Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Członkowie:

dr hab. Marita Nittner-Marszalska, prof. uczelni

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

prof. dr hab. Grażyna Czaja-Bulsa

Klinika Pediatrii, Gastrologii i Reumatologii Dziecięcej,
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

prof. dr hab. Jacek Nowak

Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

prof. dr hab. Piotr Radziwon

Klinika Hematologii,
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

prof. dr hab. Anna Chełmońska-Soyta

Laboratorium Immunologii Rozrodu w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław

prof. dr hab. Agnieszka Piwowar

Katedra i Zakładu Toksykologii,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Beata Szostakowska

Zakład Parazytologii Tropikalnej, Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii – Krajowy Ośrodek Medycyny Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

prof. dr hab. Leszek Szenborn

Katedra i Klinika Pediatrii i Chorób Infekcyjnych,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Maciej Kupczyk, prof. uczelni

Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

dr Maciej Szymczak

Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Ewa Kratz, prof. uczelni

Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr Agnieszka Pawełczyk

Zakład Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

dr Jacek Majda

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, IV Wojskowy Szpital Kliniczny we Wrocławiu
Konsultant Wojewódzki w dziedzinie Diagnostyka Laboratoryjna

Organizatorzy:

Katedra Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu we współpracy
z Polskim Towarzystwem Diagnostyki Laboratoryjnej o. Wrocław

Przewodnicząca:

dr n. farm. Anna Krzywonos-Zawadzka

Wiceprzewodnicząca:

mgr Alina Rak-Pasikowska

Członkowie:

dr hab. n. med. Mariola Śliwińska-Mossoń
dr n. farm. Agnieszka Sapa-Wojciechowska
dr n. farm. Wiesława Nahaczewska
dr n. med. Iwona Urbanowicz
dr n. farm. Sylwia Płaczkowska
dr n. farm. Aneta Wrzyszc
mgr Marta Banaszkiewicz
mgr Agnieszka Olejnik
mgr Kornela Hałucha
mgr Magdalena Gil-Woźniak
mgr Olga Loska
mgr Jakub Szyller
mgr Katarzyna Wadowska
mgr Anna Radajewska
Renata Kozłowska
mgr Bartłomiej Patrjach
mgr Dawid Radziszewski
mgr Izabela Kokot

SKN przy Pracowni Perfuzji Serca



dr hab. Maciej Kupczyk, prof. uczelni

Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

prof. dr hab. Grażyna Czaja-Bulsa

Klinika Pediatrii, Gastrologii i Reumatologii Dziecięcej,
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

prof. dr hab. Piotr Radziwon

Klinika Hematologii,
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

prof. dr hab. Leszek Szenborn

Katedra i Klinika Pediatrii i Chorób Infekcyjnych,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

prof. dr hab. Mieczysław Woźniak †

Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

prof. dr hab. Jolanta Saczko

Katedra i Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

prof. dr hab. Jacek Nowak

Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

dr hab. Marita Nittner-Marszalska, prof. uczelni

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Beata Szostakowska

Zakład Parazytologii Tropikalnej, Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii,
Krajowy Ośrodek Medycyny Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

dr hab. Grzegorz Sawicki, prof. uczelni

Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Iwona Bil-Lula

Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Julita Kulbacka

Katedra i Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Anna Bizoń

Katedra i Zakład Biomedycznych Analiz Środowiskowych,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr hab. Ewa Kratz, prof. uczelni

Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr Maciej Szymczak

Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr Jacek Majda

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, IV Wojskowy Szpital Kliniczny we Wrocławiu
Konsultant Wojewódzki w dziedzinie Diagnostyka Laboratoryjna

dr hab. n. med. Mariola Śliwińska-Mossoń

Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

prof. dr hab. Anna Chelmońska-Soyta

Laboratorium Immunologii Rozrodu w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław

prof. dr hab. Agnieszka Piwowar

Katedra i Zakład Toksykologii,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

dr Agnieszka Popow-Woźniak

Klinika InviMed we Wrocławiu

dr Agnieszka Pawełczyk

Zakład Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

mgr Ewa Zagocka

Dział Diagnostyki Laboratoryjnej w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym we Wrocławiu;
Pracownia andrologiczna we Wrocławiu

Szanowni Państwo,

w imieniu Komitetu Naukowego i Komitetu Organizacyjnego mamy ogromną przyjemność powitać Państwa na II. Wrocławskim Spotkaniu Medycyny Laboratoryjnej. W ubiegłym roku obchodziliśmy 70-lecie Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu i 40. rocznicę utworzenia Oddziału Analityki Medycznej. To bogate dziedzictwo, zgodnie z misją naszej Uczelni, zobowiązuje nas do profesjonalnego kształcenia specjalistycznych kadr medycznych i farmaceutycznych oraz prowadzenia innowacyjnych badań naukowych w trosce o zdrowie i życie człowieka.

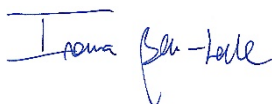
Wychodząc naprzeciw powyższym wyzwaniom, podjęliśmy się organizacji niniejszej Konferencji, w której zaplanowaliśmy wykłady ekspertów i szeroką dyskusję na temat postępów diagnostycznych w dziedzinie immunologii i alergologii, praktycznych aspektów medycyny transplantacyjnej, a także medycyny podróży. Czekamy na Państwa również sesja warsztatowa, poświęcona diagnostyce laboratoryjnej w monitorowaniu zdrowia reprodukcyjnego człowieka.

Wśród zaproszonych Gości pragniemy gorąco powitać grono znakomych ekspertów, specjalistów oraz wykładowców z różnych dziedzin medycyny. Mamy nadzieję, że przedstawiony program naukowy, doniesienia zjazdowe oraz sesja warsztatowa sprostają Państwa oczekiwaniom. Z tego miejsca pragniemy wyrazić serdeczne podziękowania wykładowcom, autorom referatów i doniesień zjazdowych oraz zaproszonym gościom za wsparcie merytoryczne dzisiejszego spotkania, członkom Komitetu Organizacyjnego za trud i nieocenione zaangażowanie w organizację Konferencji oraz uczestnikom za tak liczne uczestnictwo.

Głęboko wierzymy, że udział w dzisiejszym wydarzeniu naukowo-dydaktycznym będzie skutkował pogłębieniem Państwa wiedzy o nowe osiągnięcia diagnostyki laboratoryjnej, wymianą myśli oraz nawiązaniem nowych współprac i kontaktów. Mamy nadzieję, iż Wrocławskie Spotkania Medycyny Laboratoryjnej, jako wydarzenie cykliczne, będą się cieszyć co najmniej taką popularnością, jak dzisiaj. Korzystając z okazji, pragniemy Państwa serdecznie zaprosić do udziału w kolejnych spotkaniach.

Przewodnicząca Komitetu Naukowego

dr hab. Iwona Bil-Lula



Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego

dr Anna Krzywonos-Zawadzka



9.00–9.10	Otwarcie konferencji
9.10–9.40	Wykład inauguracyjny: Diagnosta Laboratoryjny we współczesnym systemie opieki zdrowotnej okiem Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych mgr Alina Niewiadomska , Prezes Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych
SESJA I Postępy diagnostyczne w dziedzinie immunologii i alergologii Przewodnicząca sesji: dr hab. Marita Nittner-Marszalska, prof. uczelni	
09.45–10.20	Diagnostyka komponentowa w alergologii dr hab. Maciej Kupczyk, prof. uczelni <i>Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi</i>
10.20–11.00	Nowoczesna diagnostyka w chorobach gastrologicznych, celiakii i hypolaktazji prof. dr hab. n. med. Grażyna Czaja-Bulsa <i>Klinika Pediatrii, Gastrologii i Reumatologii Dziecięcej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie</i>
11.00–11.40	Diagnostyka molekularna – przydatność w diagnostyce i leczeniu chorób alergicznych dr hab. Marita Nittner-Marszalska, prof. uczelni <i>Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu</i>
11.40–12.00	Wykłady firm i sponsorów
SESJA II Medycyna podróży Przewodniczący sesji: prof. dr hab. Leszek Szenborn	
12.00–12.35	Dziecko w podróży „do ciepłych krajów” prof. dr hab. Leszek Szenborn <i>Katedra i Klinika Pediatrii i Chorób Infekcyjnych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu</i>
12.35–13.10	Możliwości i ograniczenia badań diagnostycznych w kierunku zakażeń/zarażeń – nowe wyzwania dr Agnieszka Pawełczyk <i>Zakład Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych, Warszawski Uniwersytet Medyczny</i>
13.10–13.50	Diagnostyka mikroskopowa, serologiczna i molekularna wybranych chorób pasożytniczych dr hab. Beata Szostakowska <i>Zakład Parazytologii Tropikalnej, Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii, Krajowy Ośrodek Medycyny Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny</i>
13.45–14.45	Wykłady firm i sponsorów
SESJA III Praktyczne aspekty medycyny transplantacyjnej Przewodniczący sesji: prof. dr hab. Piotr Radziwon	
14.45–15.20	Diagnostyka układu HLA w doborze allogenicznego dawcy krwiotwórczych komórek macierzystych Prof. dr hab. n. med. Jacek Nowak <i>Zakład Immunogenetyki, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa</i>
15.20–15.55	Jak żyć, żeby dożyć 100 lat dr n. med. Maciej Szymczak <i>Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu</i>
15.55–16.35	Badania laboratoryjne u chorych leczonych przeciwciałami monoklonalnymi – wyzwanie dla diagnosty prof. dr hab. Piotr Radziwon <i>Klinika Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku</i>
16.35–16.45	Rozstrzygnięcie konkursu sesji plakatowej Zakończenie konferencji

SESJA WARSZTATOWA – ONLINE

Diagnostyka laboratoryjna w monitorowaniu zdrowia reprodukcyjnego człowieka

Organizator sesji: dr hab. Ewa Kratz, prof. uczelni

12.10–12.40	Mechanizmy tolerancji immunologicznej w ciąży. Starzy i nowi gracze prof. dr hab. Anna Chełmońska-Soyta <i>Laboratorium Immunologii Rozrodu w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu</i>
12.40–13.10	Diagnostyka nasienia w leczeniu niepłodności dr Agnieszka Popow-Woźniak <i>Klinika InviMed we Wrocławiu</i>
13.10–13.50	Nowe spojrzenie na diagnostykę męskiej niepłodności mgr Ewa Zagocka <i>Dział Diagnostyki Laboratoryjnej w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym we Wrocławiu; Pracownia andrologiczna we Wrocławiu</i>
13.50–14.20	Metalloestrogeny jako zagrożenie dla męskiej płodności – interesujący problem diagnostyczny i terapeutyczny prof. dr hab. Agnieszka Piwowar <i>Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu</i>

P1 Ekspresja białek szoku cieplnego w warunkach stresu oksydacyjnego i hiperbariiJakub Szyller¹, Mariusz Kozakiewicz², Piotr Siermontowski³¹ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu² Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu³ Akademia Marynarki Wojennej im. Bohaterów Westerplatte w Gdyni

Wstęp: Nurkowanie stanowi szczególny model badań dotyczących oddziaływania hiperbarii, stresu oksydacyjnego i nitrozacyjnego na organizm, a nurkowania symulowane do nadciśnień panujących na określonych głębokościach pozwalają obserwować wpływ zwiększonego ciśnienia na organizm i badać procesy fizjologiczne w warunkach specyficznych. Stres oksydacyjny i nitrozacyjny przyczynia się do uszkodzenia wszystkich składników komórki i wpływa m.in. na funkcjonowanie śródbłonna naczyń krwionośnych. Nieliczne doniesienia naukowe, wskazujące na istnienie związku pomiędzy stresem oksydacyjnym i/lub nitrozacyjnym a ekspresją białek szoku cieplnego i ich możliwym wpływem na przebieg choroby dekompresyjnej, stały się punktem wyjścia do badań będących podstawą niniejszej pracy.

Cel pracy: Celem pracy było określenie nasilenia stresu oksydacyjnego podczas nurkowań symulowanych i zbadanie korelacji pomiędzy nasileniem stresu oksydacyjnego a ekspresją białek szoku cieplnego (HSP).

Materiał i metody: Badaniami została objęta grupa 40 funkcjonariuszy Państwowej Straży Pożarnej, odbywających nurkowania symulowane w komorze hiperbarycznej. Osoby te na co najmniej 72 h przed badaniem nie były ekspozowane na działanie wysokiego ciśnienia i nie podejmowały wysiłku fizycznego. 100% badanych stanowili mężczyźni, będący zawodowymi, doświadczonymi nurkami i przechodzący regularne badania lekarskie.

Wyniki: Wykazano istotny statystycznie spadek ekspresji HSP70 (białka szoku cieplnego 70 kDa) po ekspozycjach na 30 m i podobną zależność po ekspozycji na 60 m. Zaobserwowano istotny wzrost ekspresji HSP90 (białka szoku cieplnego 90 kDa) po ekspozycji na 60 m i tendencję wzrostu ekspresji HSP90 po ekspozycji na 30 m. Wykazano także korelację pomiędzy zmianą aktywności katalazy i stężeniem HSP70 w surowicy po ekspozycji 30 m. Stężenie HSP70 było niższe u osób, u których zmalała aktywność katalazy (CAT). Istnieje również zależność pomiędzy stężeniem HSP70 i aktywnością CAT przed ekspozycją 30 m. Istotne zależności obserwowano też m.in. pomiędzy aktywnością peroksydazy glutationowej (GPx) po ekspozycji i stężeniem HSP90 przed ekspozycją 30 m i stężeniem dialdehydu malonowego (MDA) po ekspozycji i stężeniem HSP90 przed ekspozycją hiperbaryczną, również 30 m.

Wnioski: Ekspozycje w komorze hiperbarycznej symulujące nurkowania do głębokości 30 i 60 m w sposób istotny wpływają na nasilenie stresu oksydacyjnego. Nurkowania symulowane w omawianych warunkach modulują odpowiedź ze strony białek szoku cieplnego, wskazując, że hiperbaria jest istotnym czynnikiem stresowym, wywołującym zmiany biochemiczne. Istnieje zależność pomiędzy nasileniem stresu oksydacyjnego a ekspresją białek szoku cieplnego w warunkach hiperbarii. Wpływ na ekspresję białek szoku cieplnego mają warunki ekspozycji hiperbarycznych, czas ich trwania i zastosowany profil dekompresji. Wzrost ekspresji HSP70 przed nurkowaniem może mieć działanie ochronne, wpływając na nasilenie stresu oksydacyjnego.

P2 Działalność biobanków i ich wpływ na system ochrony zdrowia

Michał Laskowski¹, Magdalena Burczyk², Patrycja Sitek¹, Joanna Gleńska-Olender¹, Agnieszka Matera-Witkiewicz¹

¹ Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego, Biobank Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

² Pracownia Biologii Molekularnej i Cytogenetyki, Klinika Hematologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny we Wrocławiu

Wstęp: Biobanki to instytucje prowadzące i wspierające prace naukowo-badawcze i rozwojowe w dziedzinie biomedycyny. Jednostki zrzeszone w Polskiej Sieci Biobanków (PSB) poprzez swoją działalność wspierają aktywności podejmowane w celu poprawy zdrowia publicznego, przyczyniając się m.in. do opracowania nowych biomarkerów, testów diagnostycznych, terapii oraz leków.

Opis: Konsorcjum BBMRI.pl, którego celem było utworzenie PSB [1] w ramach europejskiej infrastruktury badawczej BBMRI-ERIC, realizuje zadania polegające m.in. na opracowaniu i wdrożeniu spójnych rozwiązań w zakresie systemów zarządzania jakością, IT, kontroli jakości, aspektów etyczno-prawnych. Takie działania umożliwiły wypracowanie odpowiednich standardów w zakresie zapewnienia jakości materiału biologicznego i danych.

PSB liczy 26 członków oraz 17 obserwatorów. Są to jednostki, które przez współpracę wewnątrz Sieci, ale też poprzez kontakt z instytucjami zewnętrznymi tj. uczelnie, instytuty badawcze i naukowe, firmy z branży diagnostycznej i farmaceutycznej, mają istotny wpływ na zdrowie publiczne. Biobank w tych współpracach jest gwarantem dostępu do materiału biologicznego i danych o odpowiednio wysokiej jakości. Dzięki temu otrzymany wynik badania/eksperymentu jest wiarygodny i odtwarzalny.

Współpraca z sektorem R&D firm diagnostycznych opiera się w głównej mierze na poszukiwaniu nowych czynników prognostycznych i predykcyjnych oraz biomarkerów poszczególnych jednostek chorobowych. Dzięki biobankom łatwiejsze staje się pozyskanie odpowiedniej kolekcji, będącej przedmiotem późniejszych badań. W efekcie skróceniu ulega czas opracowania testów diagnostycznych, co przekłada się na czas diagnostyki pacjentów i związany z tym czynnik ekonomiczny, wynikający z zaplanowania farmakoterapii.

W ramach współpracy z sektorem farmaceutycznym/sponsorem w obszarze badań klinicznych możliwe jest pozyskiwanie materiału biologicznego i danych: 1) do konkretnego badania, 2) do realizacji badania prowadzonego dodatkowo, niezależnie od badania klinicznego oraz 3) celem przechowywania i późniejszego wykonania badania, które w obecnej chwili nie jest zdefiniowane, ale może okazać się kluczowe do potwierdzenia lub rozwinięcia badań naukowych w przyszłości. Dzięki zaangażowaniu zasobów i doświadczenia biobanków w nadzorowany i dokumentowany proces gromadzenia wysokiej jakości materiału biologicznego, redukcji ulega także czas wprowadzenia na rynek nowych leków, opracowanych w ramach badań klinicznych.

Podsumowanie: W konsekwencji terapii z użyciem nowych produktów farmaceutycznych stają się skuteczniejsze, łatwiej dostępne, przekładają się na jakość i długość życia pacjentów, a także koszty opieki zdrowotnej. Zaangażowanie biobanków w badania w zakresie szeroko pojętej biomedycyny przynosi niekwestionowane korzyści systemowi ochrony zdrowia, którego bezpośrednim beneficjentem jest pacjent.

Piśmiennictwo:

[1] Witon M, et al., Organization of BBMRI.pl: The Polish Biobanking Network, Biopreserv Biobank, VOL. 15, NO.3, 2017

P3 Fotostabilność leków w aspekcie bezpieczeństwa ich stosowania

Monika Dąbrowska, Żaneta Binert-Kusztal, Małgorzata Starek

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum
Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Wstęp: Badania fotostabilności leków i produktów leczniczych stanowią istotną część badań umożliwiających opracowanie stabilnych, bezpiecznych i skutecznych produktów. Duża liczba substancji leczniczych jest wrażliwa na światło, a ich sformułowane produkty mogą ulegać degradacji podczas produkcji, przechowywania i administracji. Może to skutkować utratą siły działania, zmienioną skutecznością i niekorzystnymi skutkami biologicznymi.

Opis: Ocena stabilności fotochemicznej leku jest niezbędnym elementem procesu opracowywania formułacji w farmacji przemysłowej [1–3]. International Council on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) zawiera regulacje dla przemysłu farmaceutycznego w aspekcie rejestracji leków. Wytyczna ICH Q1B określa badanie fotostabilności nowych substancji i gotowych produktów leczniczych. Kompleksowa ocena fotostabilności substancji leczniczych jest niezwykle istotnym zagadnieniem, a prowadzone badania powinny obejmować zarówno wyjaśnienie zmian strukturalnych, jak i ocenę toksyczności przed i po kontakcie leku ze światłem. Druga wytyczna Europejskiej Agencji Leków (EMA) dotyczy problemu fotobezpieczeństwa substancji leczniczej i skupia się na badaniach fototoksyczności, fotoalergii, fotogenotoksyczności i fotorakotwórczości w testach *in vitro* na komórkach ssących, które mają na celu ocenę potencjalnego ryzyka fotoreaktywności leków. Farmakopea Europejska zaleca ochronę przed światłem dla ponad 250 leków i adiuwantów. Wrażliwość substancji czynnej na określony zakres spektralny promieniowania elektromagnetycznego jest wynikiem struktury chemicznej, fotoreaktywności oraz gotowej postaci leku. Biologiczne konsekwencje działania światła na leki ulegające fotodegradacji są niezwykle istotne. Należy do nich szereg niepożądanych reakcji biologicznych, obejmujących fototoksyczność, fotoalergię, fotouczulanie i inne [4–8]. Reakcje te mogą być również inicjowane przez interakcje leku z endogennymi substancjami w obecności światła. Zastosowanie różnych technik fotostabilizacji może dodatkowo zwiększyć trwałość produktów, a celem prowadzonych w tym kierunku badań jest zapewnienie jakości gotowego produktu wraz ze wszystkimi niezbędnymi atrybutami podczas przechowywania i użytkowania.

Podsumowanie: Znajomość fotostabilności substancji leczniczych oraz sposobu ich degradacji w zmiennych warunkach pomaga odpowiednio ocenić produkt i wprowadzić niezbędne modyfikacje zmierzające do przedłużenia jego trwałości w proponowanych warunkach przechowywania.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki MINIATURA nr 2019/03/X/NZ7/01725.

Piśmiennictwo:

- [1] British Pharmacopoeia, Her Majesty's Stationery Office, London, UK, 2013.
- [2] United States Pharmacopeia 29, United States Pharmacopeial Convention, Rockville, Md, USA, 2012.
- [3] European Pharmacopoeia, European Pharmacopoeial Convention and the European Union, Strasbourg, France, 8th Ed., 2015.
- [4] Beijersbergen van Henegouwen G.M.J. Medicinal photochemistry: phototoxic and phototherapeutic aspects of drugs. *Advances in Drug Research*. 29, 79–170, 1997.
- [5] Moan J. Benefits and adverse effects from the combination of drugs and light. In *Photostability of Drugs and Drug Formulations*. Tonnesen H.H. Ed. 173–188, Taylor & Francis, London, UK, 1996.
- [6] Kullavanijaya P., Lim H.W. Photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 6, 937–958, 2005.
- [7] Epstein J.H., Wintroub B.U. Photosensitivity due to drugs, *Drugs*, 1, 42–57, 1985.
- [8] De Buys H.V., Levy S.B., Murray J.C., Madey D.L., Pinnell S.R. Modern approaches to photoprotection. *Dermatologic Clinics*, 4, 577–590, 2000.

P4 Badanie obecności autoprzeciwciał antyneuronalnych w surowicy pacjentów ze zdiagnozowaną epilepsją

Helena Moreira¹, Edyta Dziadkowiak², Katarzyna Buska³, Marta Janik³, Magdalena Szmyrka⁴, Sławomir Budrewicz², Ewa Barg¹, Anna Pokryszko-Dragan²

¹Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra i Klinika Neurologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

³Euroimmun Polska, Wrocław

⁴Katedra i Klinika Reumatologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp: Epilepsja dotyka około 0,5–1,0% populacji świata. Aktualnie uważa się, że czynniki autoimmunologiczne mogą stanowić niezależną przyczynę tej choroby, jak również mogą pośredniczyć w powstawaniu napadów epileptycznych. Autoprzeciwciała przeciwko białkom na powierzchni neuronów (antyneuronalne) zidentyfikowane zostały jako markery i patogeny w autoimmunologicznych zapaleniach mózgu, którym w około 80% przypadków towarzyszą powtarzające się epileptyczne napady ogniskowe. Należą tu przeciwciała: anty-LGI1, anty-CASPR2, anty-NMDAR, anty-GABABR, anty-AMPA i anty-DPPX. Obecnie rozpoznanie padaczki autoimmunologicznej opiera się głównie na jej cechach klinicznych, obrazowaniu rezonansu magnetycznego i analizie płynu mózgowo-rdzeniowego. Celem badania była ocena częstości występowania autoprzeciwciał antyneuronalnych u pacjentów ze zdiagnozowaną epilepsją.

Materiały i metody: Badania przeprowadzono w grupie 81 pacjentów ze zdiagnozowaną padaczką lekooporną (40), z rozpoznaną epilepsją poudarową (16), z układowym zaburzeniem tkanki łącznej o podłożu autoimmunologicznym (21) oraz z autoimmunologicznym zapaleniem mózgu (2).

Protokół badań został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną. Od wszystkich pacjentów uzyskano pisemną świadomą zgodę udziału w badaniach.

Obecność ludzkich immunoglobulin (IgG) przeciwko neuronalnym antygenom powierzchniowym w surowicy pacjentów oceniano metodą pośredniej immunofluorescencji przy użyciu zestawu testowego IIFT Autoimmunologicznego zapalenia mózgu mozaiki 6 (EUROIMMUN, Polska). Badano obecność sześciu przeciwciał antyneuronalnych: anty-NMDAR, anty-CASPR2, anty-AMPA1/2, anty-LGI1, anty-DPPX i anty-GABA_BR. Procedura testu została przeprowadzona zgodnie z instrukcjami producenta, w rozcieńczeniu 1:10 i 1:100. Wyniki oceniano jakościowo.

Wyniki: U 94% badanych pacjentów nie wykryto obecności przeciwciał antyneuronalnych. W surowicy pięciu chorych wykazano obecność jednego z sześciu ocenianych przeciwciał: anty-NMDAR (jeden pacjent z autoimmunologicznym zapaleniem mózgu), anty-AMPA1/2 (dwóch pacjentów z rozpoznaniem toczenia i zespołu antyfosfolipidowego), anty-LGI1 (jeden pacjent z rozpoznaniem toczenia), anty-DPPX (jeden chory z padaczką lekooporną). Nie stwierdzono obecności anty-GABA_BR i anty-CASPR2 u żadnego pacjenta.

Wnioski: W oparciu o uzyskane wyniki nie można stwierdzić udziału ocenianych autoprzeciwciał antyneuronalnych w patomechanizmie padaczki lekoopornej i poudarowej w grupie badanych pacjentów. Obecność tych przeciwciał u niektórych pacjentów z grupy kontrolnej (ze zdiagnozowaną chorobą o podłożu autoimmunologicznym) mogłaby sugerować potencjalne zastosowanie diagnostyczne w tych jednostkach chorobowych, jednak musi to zostać potwierdzone pogłębionymi badaniami na dużej grupie pacjentów.

Skróty:

LGI1 – inaktywowany glejak bogaty w leucynę-1; **CASPR2** – białko podobne do białka kontaktowego 2, **NMDAR** – receptor N-metylo-D-asparaginianowy, **GABA_BR** – receptor gamma-aminomasłowy B, **AMPA** – receptor glutaminianowy aktywowany kwasem alfa-amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolepropionowym, **DPPX** – białko 6 podobne do peptydazy dipeptydylowej

P5 Parametry metaboliczne u pacjentów z rakiem płuca ze współistniejącą cukrzycą typu 2

Katarzyna Wadowska¹, Piotr Błasiak^{2,3}, Adam Rzechonek^{2,3}, Iwona Bil-Lula¹, Mariola Śliwińska-Mossoń¹

¹ Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

² Katedra i Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Grabiszyńska 105, 53-439 Wrocław

³ Dolnośląskie Centrum Torakochirurgii, Dolnośląskie Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu, ul. Grabiszyńska 105, 53-439 Wrocław

Wstęp i cel pracy: Rak płuca jest najczęściej diagnozowanym nowotworem zarówno w Polsce, jak i na świecie. Chorobom nowotworowym często towarzyszą objawy ogólnoustrojowe, wynikające m.in. ze zmian metabolizmu aminokwasów, białek czy z zaburzeń w szlakach glikolizy i glukoneogenezy, potwierdzone także w badaniach u pacjentów z nowotworem płuca. Celem pracy było wykazanie zmian wartości parametrów metabolicznych u pacjentów z nowotworem płuca i ze współistniejącą cukrzycą typu 2.

Materiał i metody: Krew do badań została pobrana od pacjentów z nowotworem płuca (N=88), hospitalizowanych w Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej, Dolnośląskiego Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu. W osoczu pacjentów oznaczono stężenia glukozy, mleczanów, mocznika oraz aktywność dehydrogenazy mleczanowej (*lactate dehydrogenase*, LDH) przy wykorzystaniu testów diagnostycznych stosowanych rutynowo w medycznych laboratoriach diagnostycznych. Badaną populację podzielono na dwie grupy: pacjentów z nowotworem płuca ze współistniejącą cukrzycą typu 2 (N=21) oraz pacjentów z nowotworem płuca bez współistniejącej cukrzycy typu 2 (N=67). W analizie statystycznej wykorzystano testy nieparametryczne U Manna-Whitneya oraz Kolmogorova-Smirnova przy użyciu programu GraphPad Prism 9.0.2.

Wyniki: W analizie statystycznej wykazano różnice istotne statystycznie pomiędzy wartościami stężeń glukozy pacjentów z cukrzycą i bez cukrzycy (odpowiednio: Me=125 mg/dl i Me=96 mg/dl; $p<0,0001$). Uzyskane wartości stężeń mleczanów w obu grupach były porównywalne (Me=2,10 mmol/l u pacjentów z cukrzycą i Me=2,15 mmol/l u pacjentów bez cukrzycy). Zaobserwowano wyższe wartości stężenia mocznika i aktywności LDH u pacjentów ze współistniejącą cukrzycą w porównaniu do pacjentów bez cukrzycy (odpowiednio: Me=32,50 mg/dl; Me=28,49 mg/dl; i Me=231,0 U/l; Me=213,7 U/l), aczkolwiek nie wykazano różnic istotnych statystycznie. Dodatkowo wykazano wzrost stężenia mleczanów i aktywności LDH powyżej zakresu wartości referencyjnych w obu grupach badanych.

Wniosek: Wzrost wartości stężenia mleczanów i aktywności LDH u pacjentów z nowotworem płuca wskazuje na zmiany metaboliczne u tych pacjentów.

Powyższe badanie zrealizowano w ramach tematu ujętego w systemie Simple pod nr STM.D010.20.129.

P6 Ryzyko wystąpienia reakcji alergicznych po zastosowaniu suplementów diety

Małgorzata Starek, Paweł Gumułka, Anna Błażejewska-Baran, Monika Dąbrowska

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum,
Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Wstęp: Suplementy diety, w myśl obowiązujących przepisów, definiowane są jako środki spożywcze, konsekwencją czego jest ich powszechna dostępność. Przepisy zarówno prawa krajowego, jak i międzynarodowego określają jedynie wymagania dotyczące m.in. dopuszczalnych poziomów zawartości wybranych witamin i składników mineralnych [1]. Jednocześnie liczba rzetelnych badań naukowych dotyczących składu oraz wpływu suplementów diety na zdrowie jest niewielka. Natomiast podobnie jak z każdą inną substancją, w tym przypadku u każdej przyjmującej je osoby może wystąpić reakcja nadwrażliwości na przyjmowane produkty.

Opis: Według danych European Academy of Allergy and Clinical Immunology 60% przypadków alergii pokarmowej u osób dorosłych i dzieci jest związanych z współwystępowaniem alergii wziewnej, natomiast odsetek ten w samej grupie dorosłych sięga wg ostatnich badań epidemiologicznych ponad 80%. Przyczyną takiego stanu rzeczy są reakcje krzyżowe, definiowane jako uczulenie na wspólne epitopy różnych alergenów. W oparciu o kryteria immunologiczne definicja alergii krzyżowej zakłada, że przeciwciała klasy IgE wytworzone przeciwko jednemu alergenowi łączą się z podobnym alergenem, lecz z innego źródła. Ze strony układu oddechowego mogą pojawić się: katar, kaszel, uczucie duszności, natomiast ze strony układu pokarmowego: świąd, obrzęk, nudności, wymioty, dolegliwości bólowe, wzdęcia, biegunka. Stosunkowo często pojawiają się zmiany skórne pod postacią pokrzywki oraz atopowego zapalenia skóry. Najgroźniejsze dla pacjentów są reakcje uogólnione tj. obrzęk naczynioruchowy, napad astmy oskrzelowej, a przede wszystkim wstrząs anafilaktyczny [2]. Znane są przypadki występowania silnych reakcji alergicznych wywołanych suplementami diety, obejmujących duszność, obrzęk naczynioruchowy oraz pokrzywkę, np. po zażyciu tabletek Linea Detox, napojów energetycznych lub iniekcji Dermostabilonu w tkankę tłuszczową; badani w wieku 20–26 lat przed wystąpieniem reakcji nadwrażliwości byli zdrowi [3]. Warto nadmienić, że w suplementach diety istnieje bardzo duża grupa substancji pochodzenia roślinnego, które uwrażliwiają skórę na działanie promieniowania słonecznego, np. dziurawiec, seler, arcydzięgiel czy ruta zwyczajna. Nie bez znaczenia pozostają także stosowane w suplementach diety nośniki, które również mogą uczulać, a nie są w ogóle uwzględniane przez konsumentów.

Podsumowanie: Reasumując, należy stwierdzić, że choć suplementacja diety może wydawać się dobrym sposobem na uzupełnienie niedoborów niektórych składników w organizmie człowieka i kojarzona jest ze zdrowym stylem życia, to jednak obecnie nie są znane długotrwałe skutki jej stosowania. Celowe jest więc prowadzenie badań naukowych, analogicznych jak dla leków, obejmujących wszystkie aspekty bezpieczeństwa stosowania tych produktów.

Piśmiennictwo:

[1] Krasnowska G. i in. ŻYWNOSĆ Nauka Technologia Jakość, 2011,77,5–23;

[2] Wawrzeńczyk A. i in. Alergia Astma Immunologia – przegląd kliniczny, 2018,23,64–66;

[3] Flis P. i in. Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, 2015,21,369–371

P7 Ocena prognostycznego znaczenia wskaźników stanu zapalnego u chorych na raka regionu głowy i szyi poddanych radioterapii samodzielnej lub skojarzonej z chemioterapią

Dorota Nazorek¹, Jolanta Mrochem-Kwarciak¹, Andrzej Wygoda², Aleksandra Chmura¹, Zofia Kołosza³, Tomasz Rutkowski², Krzysztof Składowski²

¹ Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach, Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, Gliwice

² Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach, I Klinika Radioterapii i Chemioterapii, Gliwice

³ Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach, Pracownia Biostatystyki, Gliwice

Wstęp: Podwyższone stężenia dodatnich reaktantów ostrej fazy mogą być rezultatem aktywności komórek nowotworowych, jak i makrofagów towarzyszących nowotworom, rekrutowanych w środowisko guza, jako odpowiedź organizmu na rozwijający się nowotwór. Celem podjętych badań była ocena wartości prognostycznej wskaźników: NLR (*neutrophil-lymphocyte ratio*), LMR (*lymphocyte-monocyte ratio*) oraz PLR (*platelet-lymphocyte ratio*) wyliczanych na podstawie bezwzględnej liczby neutrofilii, limfocytów i płytek krwi, a także mGPS (*modified Glasgow Prognostic Score*) u chorych na raka regionu głowy i szyi.

Materiały i metody: Analizie poddano grupę 191 chorych na: raka gardła górnego (4%), środkowego (39%), dolnego (13%), krtani (36%) oraz raka jamy ustnej (8%), zakwalifikowanych do radioterapii samodzielnej (53%) lub skojarzonej z chemioterapią (47%). U 47% chorych rozpoznano zaawansowanie raka w stopniu T1–2, u pozostałych 53% – w stopniu T3–4. Cechę N0 stwierdzono u 31%, a cechę N+ u 69% chorych. Morfologię krwi obwodowej z różnicowaniem krwinek białych, oznaczenie stężenia białka CRP oraz albumin wykonano przed leczeniem. W trzystopniowej skali mGPS przyjęto: mGPS 0 dla CRP < 10 mg/l i albuminy > 35 g/l, mGPS 1 dla CRP 10 mg/l i albuminy > 35 g/l oraz mGPS 2 dla CRP > 10 mg/l i albuminy < 35 g/l.

Wyniki: Mediana obserwacji wyniosła 40 miesięcy. U 61% chorych stwierdzono całkowitą remisję choroby (CR). Analiza jednoczynnikowa wykazała, że wysoka (podwyższona?) liczba leukocytów (WBC) ($p=0,001$) oraz wysoki wskaźnik NLR ($p=0,01$) są czynnikami wpływającymi na krótszy czas przeżycia wolnego od choroby (DFS). Również znamienny wpływ na czas przeżycia całkowitego (OS) miała wysoka liczba WBC ($p=0,001$), wysoki wskaźnik NLR ($p=0,01$) oraz mGPS ($p=0,04$).

Wnioski: U chorych na raka regionu głowy i szyi wysoka liczba WBC oraz podwyższone wartości NLR są niekorzystnymi czynnikami predykcyjnymi oraz prognostycznymi. W ocenie rokowania w tej grupie chorych istotna wydaje się być ocena różnych wykładników stanu zapalnego. Analiza materiału własnego wskazuje, że u chorych na raka regionu głowy i szyi leczonych z zastosowaniem radioterapii samodzielnej lub skojarzonej z chemioterapią, istotną rolę w ocenie rokowania mogą odgrywać wykładniki stanu zapalnego. Na szczególną uwagę jako negatywnego czynnika prognostycznego i predykcyjnego zasługuje wysoka (podwyższona?) liczba WBC oraz NLR.

P8 Formalno-prawne aspekty pracy diagnosty laboratoryjnego w biobanku

Magdalena Burczyk¹, Michał Laskowski², Agnieszka Matera-Witkiewicz²

¹ Pracownia Biologii Molekularnej i Cytogenetyki, Klinika Hematologii, Uniwersytecki Szpital Kliniczny we Wrocławiu

² Pracownia Przesiewowych Testów Aktywności Biologicznej i Gromadzenia Materiału Biologicznego, Biobank Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

W erze szybkiego rozwoju technik diagnostyki laboratoryjnej, jak i postępujących odkryć naukowych, biobanki znajdują szczególne miejsce w sferze zdrowia publicznego. Materiał biologiczny i dane zgromadzone w biobanku, pomimo iż nie są przedmiotem diagnostycznych badań, służą do celów naukowo-badawczych i rozwojowych, wpływających na ochronę zdrowia społeczeństwa. Warunkiem koniecznym do uzyskania wiarygodnych wyników badań, opracowanych z wykorzystaniem materiału biologicznego i danych zgromadzonych w biobanku, jest ich pobranie, transport, przetwarzanie i przechowywanie, zgodnie z rekomendacjami, które opierają się o standardy obowiązujące dla medycznych laboratoriów diagnostycznych [1]. Biobanki, stosując się do tych wytycznych, są gwarantem jakości materiału biologicznego i zgromadzonych danych, a tym samym wiarygodności rezultatów analiz, których późniejsze wyniki służą m.in. opracowaniu nowych biomarkerów, testów diagnostycznych, leków, programów profilaktycznych podejmowanych przez organy publiczne. Obecność diagnostów laboratoryjnych w zespołach pracujących w biobankach jest więc nieodzowna. Wiedza, przygotowanie merytoryczne i praktyczne z pogranicza medycyny i nauki są kluczowe do pracy z ludzkim materiałem biologicznym gromadzonym w biobanku. Zatrudnienie diagnosty laboratoryjnego w biobanku spotyka się jednak ze znacznymi komplikacjami natury prawnej. W myśl ustawy o diagnostyce laboratoryjnej czynności wykonywane przez diagnostę laboratoryjnego w biobanku nie są czynnościami diagnostyki laboratoryjnej [2]. Diagnosta laboratoryjny pracujący w biobanku z powodu nieprzerwanego niewykonywania swojego zawodu przez okres dłuższy niż pięć lat, zgodnie z art. 14 Ustawy, traci prawo jego wykonywania. Jest to istotny powód, który determinuje fakt, czy diagnosta laboratoryjny zdecyduje się na podjęcie pracy w biobanku. Poprzez swoją pracę diagnosty laboratoryjni, pracujący zarówno w medycznych laboratoriach diagnostycznych, jak i biobankach, mają realny udział w kreowaniu zdrowia społeczeństwa. Jest to wspólna idea łącząca pracę diagnosty z celem funkcjonowania biobanków. Mimo widocznych zależności między pracą diagnosty laboratoryjnego a czynnościami biobankowania materiału biologicznego, brakuje odpowiednich regulacji określających ich zatrudnianie w biobanku. Istnieje więc silna potrzeba uznania czynności wykonywanych w biobankach przez diagnostę laboratoryjnego za czynności diagnostyki laboratoryjnej z jednoczesnym usystematyzowaniem stanu prawnego związanego z funkcjonowaniem biobanków w sferze zdrowia publicznego.

Piśmiennictwo:

[1] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 23 marca 2006 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych, Dz.U. 2006 nr 61 poz. 435 z późn. zm.

[2] Ustawa z dnia 27 lipca 2001 r. o diagnostyce laboratoryjnej (Dz.U. z 2019 r. poz. 2245).

P9 Choroba kala-azar rozpoznana na podstawie mikroskopowej oceny aspiratu szpiku kostnego opis przypadku

Aleksandra Ślęzak¹, Michalina Machera¹, Halina Pela¹, Ewa Kawecka¹, Małgorzata Terpińska^{1,2}

¹ Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. J. Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu, Uniwersyteckie Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej, Wrocław

² Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

Dziewięciomiesięczna dziewczynka została przyjęta do Kliniki Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej z powodu podejrzenia choroby rozrostowej szpiku kostnego. Stwierdzono występowanie gorączki dochodzącej do 40°C. Podwyższonej temperaturze towarzyszył katar oraz sporadyczny kaszel. Na ciele pojawiła się zlewna plamisto-grudkowa wysypka, blednąca przy ucisku, stwierdzono również zaczerwienie spojówek. Wykluczono grypę. Dziecko było apatyczne, z obniżonym apetytem. Ze względu na spadek liczby trombocytów, erytrocytów, odmłodzenie linii białokrwinkowej w rozmazie krwi obwodowej oraz powiększoną śledzionę wysunięto podejrzenie choroby rozrostowej układu krwiotwórczego. Cytologiczna ocena szpiku nie potwierdziła choroby rozrostowej. Pacjentka spełniała kryteria rozpoznania zespołu hemofagocytarnego (HLH, ang. *hemophagocytic lymphohistiocytosis*): gorączka >38,5°C, powiększenie śledziony, pancytopenia krwi obwodowej, hiperferrytynemia, hipertriglicerydemia i hipofibrynogenemia. Mimo zastosowanego leczenia zaobserwowano biochemiczne parametry zaostrzenia HLH. Ponownie spadła liczba płytek krwi, wzrosła aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i stężenie D-Dimerów. Utrzymywało się podwyższone stężenie białka C-reaktywnego (CRP) i prokalcytoniny. Równocześnie wyniki przeprowadzonych badań mikrobiologicznych były ujemne. Z uwagi na niestabilny stan pacjentki, niejasny obraz zmian obserwowanych w badaniu ultrasonograficznym śledziony i narastanie zaburzeń hematologicznych, wykonano kolejną punkcję szpiku. Na podstawie mielogramu wykluczono ostrą chorobę rozrostową, w preparatach szpiku uwidoczniono natomiast komórki typowe dla zakażenia pierwotniakami z rodzaju *Leishmania* L. Pobrany materiał wysłano do weryfikacji do Instytutu Medycyny Tropikalnej w Gdyni. Wynik potwierdzono metodami biologii molekularnej. W związku z obrazem klinicznym, wynikami badań dodatkowych, podróżą do obszaru występowania choroby na kilka miesięcy wstecz, postawiono rozpoznanie leishmaniozy trzewnej (choroby kala-azar). Po wdrożeniu odpowiedniej terapii stan poprawił się, obserwowano zmniejszenie hepatosplenomegalii, obrzęków, spadek parametrów HLH i spadek zapotrzebowania na transfuzje preparatów krwi.

P10 MMP-2 siRNA działa kardioprotekcyjnie na serce poddane uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnemu

Marta Banaszkiewicz, Agnieszka Olejnik, Anna Krzywonos-Zawadzka, Iwona Bil-Lula

Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Wstęp i cel pracy: Uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnemu (I/R) towarzyszy wzrost aktywności metaloproteinazy 2 (MMP-2), degradującej białka kurczliwe serca. Hamowanie ekspresji genu MMP-2 przez zastosowanie małego interferującego RNA (MMP-2 siRNA) powinno działać kardioprotekcyjnie na serce w trakcie I/R. Celem pracy było zbadanie wpływu MMP-2 siRNA na serce poddane I/R.

Materiały i metody: Izolowane serca szczurze perfundowane metodą Langendorffa poddano niedokrwieniu i reperfuzji w obecności lub przy braku MMP-2 siRNA. Zmierzono parametry hemodynamiczne pracy serca. Jako marker uszkodzenia komórki oceniono aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w perfuzatach serc. Zmierzono aktywność MMP-2 i stężenie MMP-2 i MMP-9 w homogenatach serc. Oceniono stężenie troponiny I (TnI) w perfuzatach, jako produktu degradacji tkanki przez MMP-2.

Wyniki: Odzysk funkcji mechanicznej serca w grupie po I/R był znacznie obniżony ($p < 0,05$). Podanie MMP-2 siRNA skutkowało przywróceniem prawidłowej funkcji mechanicznej ($p < 0,05$). Aktywność LDH była istotnie wyższa w perfuzatach I/R ($p < 0,05$) w porównaniu z kontrolą aerobową, co potwierdziło uszkodzenie. Podanie MMP-2 siRNA zmniejszyło aktywność LDH ($p < 0,05$) po I/R. Ekspresja tkankowa MMP-2 i MMP-9 wzrosły w sercach poddanych I/R ($p < 0,05$), natomiast w grupie I/R z MMP-2 siRNA zaobserwowano ich znaczący spadek ($p < 0,05$). Zahamowaniu uległa także aktywność MMP-2 w sercach po I/R poddanych działaniu MMP-2 siRNA ($p < 0,05$). TnI po I/R zostały uwolnione do przestrzeni pozakomórkowej ($p < 0,05$), natomiast podanie MMP-2 siRNA skutkowało zmniejszonym uwolnieniem TnI do przestrzeni pozakomórkowej ($p < 0,05$).

Wnioski: Powyższe badania wykazały, że zastosowanie MMP-2 siRNA przyczyniło się do poprawy funkcji mechanicznej serca oraz zmniejszenia stopnia degradacji białek kurczliwych w uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym serca, stąd MMP-2 siRNA może posiadać działanie kardioprotekcyjne.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki [UMO-2016/23/B/NZ3/03151].

P11 Cytometryczna ocena oporności osmotycznej erytrocytówMichalina Machera¹, Aleksandra Ślęzak^{1,2}, Małgorzata Terpińska^{1,3}¹ Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. J. Mikulicza-Radeckiego we Wrocławiu, Uniwersyteckie Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej, Wrocław² Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Wrocław³ Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

Badanie oporności osmotycznej erytrocytów pozwala ocenić integralność błony komórkowej w roztworze hipotonicznym. Jako test przesiewowy pomaga w diagnostyce sferocytozy wrodzonej najczęstszej, wrodzonej niedokrwistości hemolitycznej. Badanie polegające na ocenie stopnia hemolizy próbki krwi w zmiennym stężeniu NaCl (od hipo- do hipertonicznego) jest zależne od subiektywnej oceny wykonującego i wykazuje słabą czułość. Opierając się na zebranej światowej literaturze, Akademickie Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej – Pracownia Cytometrii Przepływowej Kliniki Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, opracowało protokół wykonania oznaczenia oporności osmotycznej erytrocytów, opierający się na możliwości detekcji ilościowej komórek techniką cytometrii przepływowej. Oznaczeniu podlega próbka krwi obwodowej pobranej na EDTA, zawieszona w 0,9% roztworze soli fizjologicznej oraz ta sama próbka po dodaniu wody destylowanej. Pomiar zachodzi w czasie. Wynikiem badania jest procent komórek pozostałych po hemolizie. Na podstawie przebadanych 120 pacjentów ustalono następujące przedziały referencyjne oraz interpretację wyniku: 0–20% komórek pozostałych po hemolizie: wskazanie do dalszej diagnostyki w kierunku sferocytozy wrodzonej lub innych schorzeń zmniejszających oporność osmotyczną erytrocytów (niedobór dehydrogenazy 6-fosforanowej, hipernatremia); 21–89% komórek pozostałych po hemolizie: wartości fizjologiczne dla rozpadu erytrocytów pod wpływem wody destylowanej; 90–100% komórek pozostałych po hemolizie: wskazanie do dalszej diagnostyki w kierunku talasemii, niedoborów żelaza i innych schorzeń zwiększających oporność osmotyczną erytrocytów (przewlekłe choroby wątroby, hiponatremia, anemia sierpowatokrwinkowa, stan po splenektomii). Technika cytometryczna opisanego badania pozwala na wydanie wyniku w krótkim czasie (30 s w NaCl, następnie 300 s po dodaniu H₂O), nie wymaga specjalnych odczynników (sól fizjologiczna, woda destylowana), a ocena nie jest zależna od operatora. Wymaga jednak podkreślenia, że jest to metoda przesiewowa, na podstawie której poszerzamy diagnostykę pacjenta.

P12 Nowe spojrzenie na stare markery w laboratoryjnej diagnostyce płynotoku

Katarzyna Żybura-Wszół, Iwona Słowikowska

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, 4. Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką SP ZOZ
we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp: Niekontrolowany, najczęściej jednostronny wyciek wodojasnej wydzieliny z nosa, oka lub ucha, który nasila się przy pochylaniu głowy do przodu – taka jest najczęściej opisywana definicja płynotoku. Ucieczka płynu mózgowo-rdzeniowego (płynotok) następuje m.in. po przebytych urazach mechanicznych lub zabiegach m.in. laryngologicznych i jest wynikiem powstania uszkodzenia w kościach czaszki oraz oponie twardej. W związku z faktem, iż część przypadków płynotoku pozostaje przez długi czas nierozpoznana, co niesie za sobą ryzyko wystąpienia zakażeń ośrodkowego układu nerwowego, wydaje się uzasadnione poszukiwanie łatwo dostępnego, swoistego oraz odpowiednio czułego biomarkera obecności płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) w wydzielinie.

Opis: W chwili obecnej podstawą rozpoznania płynotoku jest stwierdzenie nieprawidłowości w badaniach obrazowych. Badania te są jednak drogie oraz trudno dostępne, dlatego od lat poruszana jest kwestia możliwości wykorzystania diagnostyki laboratoryjnej do celów weryfikacji obecności PMR w podejrzanym wydzielinie z nosa, oka lub ucha. Proponowane dotychczas badania, wśród których znajdował się m.in. pomiar stężenia glukozy, a także oznaczenie stężenia chlorków, zostały ostatecznie odrzucone z diagnostyki płynotoku ze względu na brak wystarczającej czułości i swoistości diagnostycznej. Przełomem miało okazać się wprowadzenie B2transferyny (B2Trf), która, jak się wydawało, stanowiła niemalże idealny biomarker o czułości ok. 93% i swoistości bliskiej 100%. Oznaczenie jej wymagało jednak wykonania czasochłonnego i drogiego rozdzału elektroforetycznego. Podobnie do B2Trf, również białko beta trace (BTP) oznaczano skomplikowaną metodą immunoelektroforezy rakietowej (czułość 91%, swoistość blisko 100%). W ostatniej dekadzie udało się jednak skomercjalizować tanią i łatwą metodę oznaczania białka BTP metodą immunonefelometryczną, wykorzystującą mieszaninę poliklonalnych przeciwciał opłaszczonych na cząsteczkach lateksu. Zmiana metody stanowiła zatem szansę na szybką diagnostykę płynotoku. Pojawił się jednak problem określenia punktu decyzyjnego, powyżej którego można by było jednoznacznie stwierdzić obecność PMR w materiale badanym. W ostatnim czasie grupa naukowców opracowała algorytm diagnostyczny ułatwiający interpretację wyników oznaczenia białka BTP. Uwzględnia on stężenie białka w wydzielinie oraz w surowicy, co eliminuje fałszywie pozytywne wyniki, pojawiające się w materiale zanieczyszczonym krwią u pacjentów z niewydolnością nerek. Czy zatem BTP oznaczane metodą nefelometryczną, którego wynik jest weryfikowany w oparciu o swoisty algorytm można uznać za idealny marker płynotoku? W pracy przedstawiono wyniki pacjentów, które interpretowano z wykorzystaniem algorytmu omówionego powyżej.

Podsumowanie: W związku z faktem, że niezdiagnozowany i nieleczony płynotok może stanowić stan bezpośredniego zagrożenia życia, wydaje się zasadne poszukiwanie tańszych i łatwiej dostępnych niż badania obrazowe markerów obecności PMR w wydzielinie. Ogromną szansę stanowi białko BTP, które w ostatnim czasie dzięki wykorzystaniu metody nefelometrycznej oraz zastosowaniu odpowiedniego algorytmu interpretacyjnego stanowi szansę na przyspieszenie procesu diagnostycznego, a co za tym idzie uniknięcie groźnych powikłań.

P13 Rola klasteryny w męskim układzie rozrodczym oraz jej wpływ na męską płodność

Ewa Janiszewska, Ewa Maria Kratz

Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp: Niepłodność męska to gwałtownie narastający problem społeczny na świecie, dotyczący szczególnie państw wysoko rozwiniętych. Szacuje się, że czynnik męski stanowi około 50% niepowodzeń prokreacji. Jednym z kluczowych elementów mających wpływ na przebieg procesu reprodukcji u mężczyzny są białka wchodzące w skład nasienia, wśród których jest klasteryna (ang. *clusterin*, CLU), odgrywająca bardzo istotną rolę w procesie zapłodnienia. Niniejsza praca stanowi przegląd dostępnego piśmiennictwa, dotyczącego potencjalnej roli klasteryny w męskiej płodności.

Opis: Klasteryna, obecna w plazmie nasienia, jest syntetyzowana m. in. w jądrach, najądrzach i kanalikach nasiennych. Produkt genu *CLU*, obecnego na chromosomie 8., to heterodimer, zbudowany z dwóch podjednostek: alfa i beta, połączonych pięcioma mostkami disiarczkowymi. Badania *in vitro* wykazały, że CLU jest glikozylowana w ok. 30%, posiada maksymalnie 6 miejsc glikozylacji, a jej glikany charakteryzują się ekspresją fukozy, antygeny grupowego krwi H i struktur typu Lewis^x/Lewis^a oraz Lewis^y/Lewis^b. CLU odgrywa wiele istotnych biologicznie funkcji, uczestnicząc m. in. w reakcji kapacytacji oraz indukcji tolerancji immunologicznej w żeńskich drogach rozrodczych. Jest ona również czułym biomarkerem stresu oksydacyjnego i posiada aktywność chaperonową. Wykazano, że stężenie CLU w plazmie nasienia niepłodnych pacjentów jest istotnie niższe w porównaniu z mężczyznami płodnymi. Wykazano także istnienie negatywnej zależności między koncentracją tej glikoproteiny a nieprawidłową morfologią plemników, niedoborem protamin i fragmentacją DNA. Pojawiły się również prace, w których przedstawiono istnienie pozytywnej korelacji między stężeniem CLU a odsetkiem nieprawidłowych form plemników, jak również występowaniem fragmentacji DNA. Klasteryna może stać się pomocnym czynnikiem predykcyjnym powodzenia procedury zapłodnienia metodami *in vitro*. Wykazano, że pacjenci, u których procedura wspomaganego rozrodu zakończyła się powodzeniem, wykazywali nadekspresję tej glikoproteiny w plazmie nasienia. Ciekawym aspektem jest także analiza zmian profilu i stopnia glikozylacji CLU w kontekście nieprawidłowości obserwowanych w wynikach standardowej oceny nasienia oraz ekspresji parametrów stresu oksydacyjnego.

Podsumowanie: Ze względu na fakt, iż klasteryna odgrywa bardzo istotną rolę w procesie dojrzewania plemników oraz zapłodnienia, zgłębienie molekularnych mechanizmów mających związek z funkcjami CLU dotyczącymi męskiej rozrodczości jest interesującym zagadnieniem, które jednak wymaga dalszych badań, w tym w kontekście ekspresji markerów stresu oksydacyjnego, wywołującego nieodwracalne uszkodzenia DNA oraz ewentualnych zmian w jej glikozylacji. Dokładniejsze poznanie mechanizmów związanych z wpływem tego białka na męską płodność może przyczynić się do lepszej diagnostyki męskiej niepłodności, co jest szczególnie istotne w przypadku tzw. niepłodności idiopatycznej.

P14 Ocena zależności między stężeniem kinazy białkowej aktywowanej przez 5'-AMP a profilem lipidowym krwi obwodowej u osób z zespołem metabolicznymSylwia Płaczkowska¹, Ewa Żurawska-Płaksej^{2,3}, Michał Wesołowski¹, Anna Szymańska-Chabowska⁴¹ Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław² Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu³ Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław⁴ Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Zawodowych, Nadciśnienia Tętniczego i Onkologii Klinicznej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp i cel pracy: Zaburzenia metaboliczne składające się na zespół metaboliczny są zaliczane do głównych czynników ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Głównym szlakiem biochemicznym łączącym charakterystyczne dla zespołu metabolicznego zmniejszenie aktywności fizycznej i dodatni bilans energetyczny, jest szlak kinazy białkowej aktywowanej przez 5'-AMP (AMPK). Aktywność kinazy białkowej aktywowanej przez 5'-AMP jest bardzo ważna dla utrzymania homeostazy energetycznej na poziomie komórkowym oraz całego organizmu, odgrywa ważną rolę w regulacji przemian lipidów i białek, poprzez stymulację katabolizmu i jednocześnie hamowanie szlaków anabolicznych komórkowego metabolizmu energetycznego. Zarówno fizjologiczna, jak i farmakologiczna aktywacja kinazy białkowej aktywowanej przez 5'-AMP, może poprawić wrażliwość tkanek na insulinę oraz zmniejszyć nasilenie czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Celem pracy było zbadanie istnienia zależności między stężeniem kinazy białkowej aktywowanej przez 5'-AMP a profilem lipidowym krwi obwodowej u osób z zespołem metabolicznym w różnym wieku.

Materiały i metody: W badaniu wzięło udział 80 pacjentów, którzy zostali przydzieleni do czterech równolicznych grup: młodych zdrowych, młodych z zespołem metabolicznym (obie grupy w wieku 20–39 lat), starszych zdrowych i starszych z zespołem metabolicznym (obie grupy w wieku 40–78 lat). U wszystkich pacjentów zebrano wywiad epidemiologiczny, dokonano pomiaru ciśnienia krwi tętniczej oraz parametrów antropometrycznych, a w próbkach krwi pobranej na czczo oznaczono stężenie glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL i LDL, triglicerydów oraz kinazy białkowej aktywowanej przez 5'-AMP.

Wyniki: U osób starszych z zespołem metabolicznym stężenia kinazy białkowej aktywowanej przez 5'-AMP w surowicy były niższe niż u osób młodych (bez względu na występowanie zespołu metabolicznego) oraz starszych bez zespołu metabolicznego, jednak obserwowana różnica była istotna tylko w porównaniu do osób młodych bez zespołu metabolicznego (Me AMPK: 19,0 [18,1–26,5] ng/ml vs 32,1 [19,0–52,7] ng/ml; $p=0,030$). Wykazano również, że w grupie osób starszych z zespołem metabolicznym istotnie niższe stężenia AMPK związane były z nieprawidłowo niskimi wartościami stężeń cholesterolu frakcji HDL (Me AMPK: 18,6 [17,3–19,1] ng/ml vs 26,5 [18,8–28,2] ng/ml; $p=0,014$) i nieprawidłowo wysokimi stężeniami triglicerydów (Me AMPK: 18,5 [18,0–18,9] ng/ml vs 25,7 [19,1–28,2] ng/ml; $p=0,015$).

Wnioski: Występowanie obniżonego stężenia AMPK związane było z rozpoznaniem zespołu metabolicznego tylko w grupie osób starszych, a głównymi lipidowymi czynnikami związanymi z tą zależnością były nieprawidłowo niskie stężenia cholesterolu HDL oraz hipertriglicydemia. Otrzymane przez nas wyniki wskazują, że obniżone stężenie AMPK u osób z zespołem metabolicznym jest związane ze starszym wiekiem i/lub długoletnim przebiegiem zaburzeń metabolicznych, jednakże wysunięte wnioski wymagają potwierdzenia w badaniu przeprowadzonym na liczniejszej grupie pacjentów.

P15 Wykorzystanie ciągłej mechanicznej perfuzji nerki szczurzej w hipotermii jako modelu dawcy po śmierci sercowej – metodyka

Anna Radajewska, Iwona Bil-Lula, Jakub Szyller, Anna Krzywonos-Zawadzka

Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp i cel pracy: Przeszczepienie nerki jest jednym z najczęściej wykonywanych zabiegów transplantacyjnych, a dodatkowo gwarantuje poprawę jakości życia chorym dializowanym i ze schyłkową niewydolnością nerek. Zgoda na wykorzystywanie organów, uzyskanych od zmarłych dawców z powodu ustania krążenia, zwiększyła pulę organów do przeszczepienia, jednocześnie stawiając nowe wyzwania, ze względu na wydłużony okres niedokrwienia i hipoksji narządu. Kwasica, zmniejszenie integralności błony komórkowej, aktywacja metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej, a także wzrost aktywności wolnych rodników zwiększają uszkodzenie komórek wraz z wydłużeniem czasu przechowywania narządu. Celem pracy była optymalizacja metody przechowywania nerki szczurzej od dawcy po śmierci sercowej przeznaczonej do przeszczepienia, dzięki zastosowaniu ciągłej mechanicznej perfuzji w hipotermii.

Materiały i metody: W pracy wykorzystano nerki szczurze, pobrane od samców Wistar o masie 270–320 g. Po znieczuleniu i uśpieniu zwierząt, jama brzuszna została nacięta metodą laparotomii pośrodkowej w celu odsłonięcia lewej nerki. Nerkę poddano lokalnej ischemii na skutek okluzji lewej tętnicy nerkowej *in situ* przez 30 min (czas ciepłego niedokrwienia). Następnie nerka została wyekstrahowana i przepłukana 100 ml płynu KPS-1 metodą ciągłej mechanicznej perfuzji w hipotermii (aparat CMP, Emka Technologies, Francja) przez 1 h. Po przepłukaniu narządu nerkę umieszczono w 100 ml płynu KPS-1 i perfundowano mechanicznie w hipotermii przez kolejne 22 h (czas zimnego niedokrwienia). Następnie nerki zważono i zamrożono w ciekłym azocie do dalszych badań biochemicznych. Podczas perfuzji co 6 godzin pobierano płyn perfuzyjny (2 ml), który po zwirowaniu stanowił materiał do oceny markerów uszkodzenia (KIM-1, NGAL, LDH, CytOx).

Wyniki: Zaproponowana metoda ciągłej mechanicznej perfuzji w hipotermii umożliwia monitorowanie parametrów hemodynamicznych parametrów pracy nerki, ciśnienia oraz przepływu, podczas perfuzji. Ustalono iż optymalny czas perfuzji, umożliwiający ocenę zmian niedokrwiennych podczas przechowywania to 23 h. Analiza wykazała, że optymalne wartości ciśnienia i przepływu (nie powodujące uszkodzenia nerki) podczas perfuzji to < 50 mmHg oraz 0,15 ml/min.

Wnioski: Uważamy, iż zaproponowany model zimnej, ciągłej perfuzji mechanicznej pozwala na stały monitoring parametrów hemodynamicznych pracy nerki oraz biochemicznych markerów uszkodzenia podczas przechowywania. Dodatkowo, zaproponowany model będzie idealnym narzędziem do dalszych badań eksperymentalnych polegających na farmakologicznej modyfikacji płynu przewoźnego zmniejszającego skutki uszkodzenia narządu podczas przechowywania.

Badanie finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, w ramach projektu nr. UMO-2017/27/B/NZ4/00601.

P16 Sirtuiny jako multipotencjalne markery diagnostyczneKatarzyna Sołkiewicz¹, Agnieszka Kaczmarek¹, Agnieszka Piwowar², Ewa Maria Kratz¹¹ Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław² Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp: Sirtuiny (SIRT) to białka enzymatyczne, które odgrywają istotną rolę w funkcjonowaniu ludzkiego organizmu. Przypisuje się im udział w licznych procesach zachodzących w komórkach m. in. w potranslacyjnej modyfikacji białek, wyciszaniu transkrypcji genów, indukowaniu procesów naprawczych, a także w regulacji procesów metabolicznych. Wykazano również, że sirtuiny odgrywają istotną rolę w obniżaniu poziomu reaktywnych form tlenu, jak również w stymulacji wzrostu komórek, ich starzeniu się i śmierci. Tak szeroki zakres procesów, na które mają wpływ sirtuiny, powoduje, że w ostatnim czasie sirtuiny stały się obiektem wielu badań mających na celu nie tylko szczegółowe poznanie mechanizmów ich działania i odgrywanej przez nie roli biologicznej, ale także wykorzystania ich jako potencjalnych markerów diagnostycznych.

Opis: Sirtuiny 1–7 należą do rodziny deacetylaz aktywnych wobec cząsteczek lizyny histonów, których aktywność zależy od dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD⁺) [1]. Grupę wszystkich sirtuin cechuje obecność rdzenia katalitycznego, stałego fragmentu aminokwasowego zbudowanego z ok. 275 aminokwasów. Częścią zmienną jest długość sekwencji aminokwasowej na N- i C-końcach poszczególnych homologów, co wpływa na ich zróżnicowaną masę cząsteczkową [2]. Sirtuiny są zaangażowane w liczne procesy zachodzące w komórce. Sirtuiny 1–3, oprócz udziału w procesie deacetylacji, posiadają również zdolność do usuwania reszt acylowych z białek. Sirtuina 4 uczestniczy w reakcji deacetylacji i lipoamidacji, przyczyniając się do utrzymania odpowiedniego stężenia lipidów w organizmie. Sirtuina 5 ma zdolność modyfikacji związków posiadających grupę malonylową lub sukcyinylową, wpływając tym samym na tempo przebiegu podstawowych procesów metabolicznych w komórkach ssaków. Sirtuina 6 wykazuje właściwości przeciwnowotworowe, co jest związane ze zwiększoną aktywnością deacylasy, a przez to ma ona zdolność łatwiejszego usuwania grup acylowych z reszt lizyny, wpływając równocześnie na zwiększenie wydzielania czynnika martwicy nowotworów α (TNF α). Sirtuina 7 poprzez deacetylację reszt lizyny przyczynia się do wyciszania transkrypcji genów [1]. Ze względu na ich lokalizację w komórce wyróżnia się sirtuiny jądrowe, mitochondrialne i cytoplazmatyczne [3]. Substratami dla reakcji katalizowanych przez sirtuiny mogą być także białka, takie jak czynniki transkrypcyjne, białka enzymatyczne i strukturalne, co znacząco wpływa na poszerzenie spektrum ich działania w procesach fizjologicznych i/lub patologicznych [4].

Podsumowanie: Sirtuiny poprzez wielokierunkowość ich oddziaływań uczestniczą w regulacji wielu procesów metabolicznych w organizmie, odgrywając istotną rolę zarówno w utrzymaniu homeostazy organizmu, jak i w patogenezie wielu stanów chorobowych. Zróżnicowana lokalizacja narządowa poszczególnych sirtuin czyni je także multipotencjalnymi markerami, które mogą wzbogacić panel diagnostyczny wielu schorzeń.

Piśmiennictwo:

- [1] Frydzińska Z., Owczarek A., Winiarska K.: Sirtuins and their role in metabolism regulation. *Postepy Biochem.*, 2019;22;65(1):31-40
- [2] Mei Z., Zhang X., Yi J., Huang J., He J., Tao Y.: Sirtuins in metabolism, DNA repair and cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2016;35:182
- [3] Greiss S., Gartner A.: Sirtuin/Sir2 phylogeny, evolutionary considerations and structural conservation. *Mol. Cells.* 2009;28;407-415
- [4] Lipska K., Filip A.A., Gumieniczek A.: Postępy w badaniach nad inhibitorami deacetylaz histonów jako lekami przeciwnowotworowymi. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 2018; 72: 1018-1031

P17 Antyoksydacyjne działanie białka Klotho podczas uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego kardiomiocytów

Agnieszka Olejnik, Marta Banaszekiewicz, Anna Krzywonos-Zawadzka, Iwona Bil-Lula

Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

Wstęp i cel: Ostre niedokrwienie z następczą reperfuzją (I/R) prowadzi do stresu oksydacyjnego, aktywacji enzymów proteolitycznych i degradacji białek kurczliwych serca. Klotho jest białkiem transbłonowym, produkowanym głównie w nerkach i mózgu. Ostatnie doniesienia naukowe wskazują na ekspresję Klotho również w komórkach serca. Celem pracy była ocena wpływu białka Klotho na stres oksydacyjny i uszkodzenie kardiomiocytów podczas I/R.

Materiały i metody: W badaniach zastosowano linię komórkową ludzkich kardiomiocytów (HCM). Grupę kontrolną stanowiły komórki utrzymywane w warunkach tlenowych, grupę badaną komórki poddane I/R *in vitro*, w której część była inkubowana z rekombinowanym białkiem Klotho (I/R+Klotho). Badania obejmowały ocenę nasilenia stresu oksydacyjnego, aktywacji enzymów proteolitycznych oraz stopnia degradacji białek kurczliwych w HCM.

Wyniki: Całkowita aktywność reaktywnych form tlenu i azotu (ROS/RNS) była istotnie wyższa ($p < 0,05$) w HCM z grupy I/R w porównaniu z grupą tlenową. Całkowita zdolność antyoksydacyjna (TAC) komórek ujemnie korelowała z aktywnością ROS/RNS ($p < 0,05$, $r = -0,49$). Inkubacja komórek poddanych uszkodzeniu z białkiem Klotho ograniczyła produkcję ROS/RNS ($p < 0,05$) i wzmocniła ich zdolność antyoksydacyjną ($p < 0,05$). Stężenie metaloproteiny macierzy pozakomórkowej 2 (MMP-2) było istotnie niższe ($p < 0,05$) w komórkach poddanych I/R niż w grupie tlenowej. Aktywność MMP-2 w supernatantach komórkowych była istotnie wyższa ($p < 0,05$) w grupie I/R w porównaniu do grupy tlenowej, co świadczy o uwalnianiu MMP-2 do przestrzeni pozakomórkowej podczas uszkodzenia I/R. Aktywność MMP-2 pozytywnie korelowała z produkcją ROS/RNS ($p < 0,05$, $r = 0,49$). Inkubacja komórek z białkiem Klotho podczas I/R istotnie zmniejszyła ($p < 0,05$) ilość uwalnianego MMP-2 i pozakomórkową aktywność MMP-2. Stężenie łańcuchów lekkich miozyny (MLC1) w supernatantach komórkowych pozytywnie korelowało z aktywnością ROS/RNS ($p < 0,05$, $r = 0,36$), co wskazuje na degradację i uwalnianie MLC1 do przestrzeni pozakomórkowej podczas I/R. Stężenie MLC1 w supernatantach komórkowych było istotnie niższe ($p < 0,05$) w grupie I/R+Klotho, sugerując ograniczoną degradację.

Wnioski: Białko Klotho ochroniło kardiomiocyty przed uszkodzeniem poprzez ograniczenie stresu oksydacyjnego oraz zwiększenie zdolności antyoksydacyjnej komórek. W badaniach wykazano redukcję degradacji białek kurczliwych przez enzymy proteolityczne po zastosowaniu białka Klotho podczas I/R, sugerując działanie kardioprotekcyjne Klotho.

Badania finansowane były przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w programie „Regionalna Inicjatywa Doskonałości”, numer projektu RID.Z501.19.010.

P18 Zmiany aktywności żelatynazy B w czasie przechowywania koncentratów krwinek płytkowych – badania wstępne

Alina Rak-Pasikowska¹, Kornela Hałucha¹, Dominika Kunachowicz², Stella Kielan², Agnieszka Sapa-Wojciechowska¹, Aneta Wrzyszczyńska³, Iwona Bil-Lula¹

¹Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

²SKN Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

³Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp i cel pracy: Metaloproteinazy (MMP) to enzymy należące do grupy endopeptydaz zależnych od cynku i wapnia, które uczestniczą m.in. w degradacji składników macierzy zewnątrzkomórkowej i jej remodelingu. Badania wykazały, że ich ekspresja ma istotne znaczenie dla migracji megakariocytów oraz uwalniania płytek krwi. Obecność kilku typów metaloproteinaz, w tym MMP-9 (żelatynazy B), została wykryta w płytkach krwi. Na podstawie badań dotyczących MMP-9, przypisuje się jej rolę inhibitora aktywacji trombocytów. Metaloproteinazy są również uwalniane przez inne tkanki i komórki organizmu np. leukocyty, co może mieć wpływ na aktywność MMP-9 w koncentraty krwinek płytkowych (KKP) – preparatach krwiopochodnych niezbędnych m.in. w leczeniu zaburzeń funkcji płytek krwi. Celem pracy była ocena zmian aktywności MMP-9 w KKP podczas ich przechowywania.

Materiały i metody: Trzy KKP zostały przygotowane w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa we Wrocławiu. Każdy KKP na etapie przygotowywania został podzielony na trzy części. Jedna z części została poddana filtracji (F), do drugiej dodano doksycykliny (D) jako inhibitora metaloproteinaz (osiągając końcowe stężenie w koncentracie 10 µM), trzecia część nie była poddawana dodatkowym procesom (NF). Otrzymane w ten sposób koncentraty były przechowywane jednocześnie w takich samych warunkach, odpowiadających standardowym warunkom przechowywania KKP. Próbkę koncentratów były oddzielane od głównego pojemnika w dniu przygotowania (0 godzin) oraz po 24, 48, 72 i 144 godzinach przechowywania. Z części każdej oddzielonej próbki wyizolowano płytki krwi wykorzystując metodę opracowaną w Katedrze Analityki Medycznej. Drugą część każdej próbki poddano dwukrotnemu wirowaniu (900 × g przez 10 minut) w celu uzyskania nadsączy bez komórek, stanowiącego środowisko, w którym zawieszone były płytki. W każdej uzyskanej próbce (izolowane płytki oraz nadsączy) oznaczono aktywność MMP-9, wykorzystując do tego metodę zymografii żelatynowej. Analizę wyników przeprowadzono w programie Statistica 13.3.

Wyniki: W celu oceny zmiany aktywności MMP-9 w czasie przechowywania przeprowadzono analizę wariancji powtarzanych pomiarów dla rang Friedmana. Nie stwierdzono istotnych zmian aktywności MMP-9 w wyizolowanych płytkach krwi w czasie przechowywania w żadnym rodzaju KKP (F p = 0,71125; NF p = 0,85569; D p = 0,40601). Istotnych zmian nie zaobserwowano również w nadsączach (F p = 0,71125; NF p = 0,76027; D p = 0,56904). Przy użyciu testu Wilcozona porównano różne rodzaje preparatów (NF i F oraz NF i D). Nie zaobserwowano istotnych różnic w aktywności MMP-9 zarówno w płytkach, jak i w nadsączach, pomiędzy różnymi rodzajami KKP.

Wnioski: Aktywność MMP-9 nie ulega zmianie w czasie przechowywania KKP niezależnie od dodatku doksycykliny lub obecności leukocytów. Jednak w celu potwierdzenia wyciągniętych wniosków badania niewątpliwie należy rozszerzyć o kolejne koncentraty.

P19 Białko Klotho wspomaga funkcje metaboliczne kardiomiocytów i działa ochronnie na serce podczas uszkodzenia niedokrwienno/reperfuzyjnego

Agnieszka Olejnik, Anna Krzywonos-Zawadzka, Marta Banaszkiewicz, Iwona Bil-Lula

Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

Wstęp i cel: Podczas ostrego niedokrwienia z następczą reperfuzją (I/R) obserwuje się zmiany strukturalne i funkcjonalne tkanki sercowej. Ekspresja białka Klotho ma miejsce głównie w nerkach i mózgu. Białko to jest również uwalniane do przestrzeni pozakomórkowej i płynów ustrojowych. Badania potwierdzają właściwości antyoksydacyjne, antyapoptotyczne i przeciwzapalne białka Klotho. Celem pracy była ocena wpływu białka Klotho na funkcje metaboliczne kardiomiocytów i uszkodzenie serca podczas I/R.

Materiały i metody: W badaniach zastosowano linię komórkową ludzkich kardiomiocytów (HCM) oraz model izolowanych serc szczurzych. HCM i wyizolowane serca poddano uszkodzeniu I/R z podażą lub nie białka Klotho. Grupę kontrolną stanowiły komórki/serca utrzymywane w warunkach tlenowych. Analizowano stopień uszkodzenia i funkcje metaboliczne w HCM oraz aktywność enzymów proteolitycznych w izolowanych sercach.

Wyniki: Aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) jako markera uszkodzenia była istotnie wyższa ($p<0,05$) w HCM z grupy I/R w porównaniu do komórek utrzymywanych w warunkach tlenowych. Inkubacja HCM z białkiem Klotho znacząco obniżyła aktywność LDH ($p<0,05$) w komórkach poddanych uszkodzeniu I/R. Wykazano obniżony wychwyt glukozy ($p<0,05$) i zwiększoną produkcję mleczanów ($p<0,05$) przez HCM podczas I/R. Wychwyt glukozy ujemnie korelował z aktywnością LDH ($p<0,05$, $r=-0,65$), a produkcja mleczanów dodatnio korelowała z aktywnością LDH ($p<0,05$, $r=0,39$). Inkubacja HCM z Klotho ustabilizowała wychwyt glukozy ($p<0,05$) i ograniczyła produkcję mleczanów ($p<0,05$) w warunkach I/R. Stężenie i aktywność metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej 2 i 9 (MMP-2, MMP-9) w sercach było istotnie wyższe w grupie I/R. Podaż Klotho podczas I/R istotnie ograniczyła stężenie i aktywność MMP-2 i MMP-9 ($p<0,05$) w izolowanych sercach.

Wnioski: Białko Klotho ograniczyło uszkodzenie i zaburzenia metaboliczne kardiomiocytów oraz chroniło serce przed aktywacją enzymów proteolitycznych. Badania sugerują zastosowanie Klotho jako potencjalnego czynnika kardioprewencyjnego/kardioprotekcyjnego podczas niedokrwienno uszkodzenia serca.

Badania finansowane były przez Narodowe Centrum Nauki [2019/33/N/NZ3/01649].

P20 Dwuskładnikowa mieszanina inhibitorów poprawia kurczliwość kardiomiocytów poddanych niedokrwieniu i reperfuzji

Anna Krzywonos-Zawadzka¹, Marta Banaszkiewicz¹, Agnieszka Olejnik¹, Agnieszka Krysta², Iwona Bil-Lula¹

¹Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

²Studenckie Koło Naukowe przy Pracowni Perfuzji Serca, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp i cel pracy: Wśród głównych czynników przyczyniających się do uszkodzenia serca podczas niedokrwienia/reperfuzji (I/R) są: zwiększone wytwarzanie nadtlenoazotynu (ONOO^-) i zwiększona aktywacja metaloproteinazy 2 macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-2). Wykazano, że stres oksydacyjny podczas I/R indukuje fosforylację i nitrowanie/nitrozylację białek kurczliwych mięśnia sercowego, takich jak łańcuchy lekkie miozyny (MLC1 i MLC2). Fosforylacja i nitrowanie/nitrozylacja MLC zwiększają ich degradację przez MMP-2, co prowadzi do zaburzenia funkcji skurczowej serca. Wykazano również, że ONOO^- pośrednio aktywuje MMP-2.

We wcześniejszych pracach wykazaliśmy, że podanie azotanowej pochodnej barbituranów chroni serce przed uszkodzeniem I/R [1]. Celem tego badania była ocena, czy podawanie mieszaniny podprogowych dawek inhibitora kinazy łańcuchów lekkich miozyny (ML-7 (0,5 μM)) oraz inhibitora MMPs (azotanowej pochodnej barbituranów (0,1 μM)) wpływa ochronnie na kurczliwość kardiomiocytów poddanych I/R.

Materiały i metody: Wyizolowane serca szczurze samców rasy Wistar o masie 300–350 g perfundowano buforem Krebsa w aparacie do perfuzji firmy EMKA Technologies (metoda Langendorffa). Serca perfundowano 25 min w warunkach tlenowych, następnie poddano je 20 min globalnemu niedokrwieniu i 30 min reperfuzji. Mieszaninę inhibitorów podawano na 10 min przed i 10 min po niedokrwieniu. Wskaźniki hemodynamiczne serca monitorowano przez wyznaczenie RPP: ilorazu maksymalnej różnicy ciśnienia skurczowego i rozkurczowego w lewej komorze i częstotliwości skurczów serca. Dodatkowo w tkance sercowej oraz w płynie perfuzyjnym oznaczono parametry biochemiczne: MMP-2 i LDH, a także dokonano oceny kurczliwości wyizolowanych szczurzych kardiomiocytów (IonOptix, Milton, MA, USA).

Wyniki: Parametry hemodynamiczne pracy serca były znacząco obniżone w sercach poddanych I/R w stosunku do kontroli tlenowej. Podanie mieszaniny poprawiło wszystkie analizowane parametry hemodynamiczne ($p < 0,05$). Zarówno w homogenatach serc, jak i perfuzatach wykazano zwiększoną aktywność MMP-2 oraz aktywność LDH w grupie I/R w porównaniu z kontrolą tlenową. Zastosowanie mieszaniny znacznie obniżyło aktywność MMP-2 (w tkance serca $p = 0,04$ i perfuzatach $p = 0,008$) oraz poprawiło kurczliwość kardiomiocytów ($p = 0,0004$).

Wnioski: Wykazaliśmy, że jednoczesne podanie subterapeutycznych dawek azotanowej pochodnej barbituranów (0,1 μM) oraz ML-7 (0,5 μM) poprawia mechaniczną funkcję serca. Podanie mieszaniny zmniejsza aktywność LDH, zapobiega wzrostowi aktywności MMP-2 w wyniku I/R oraz chroni MLC1 przed degradacją, poprawiając kurczliwość kardiomiocytów.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr UMO-2016/23/B/NZ3/03151, finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Piśmiennictwo:

[1] Krzywonos-Zawadzka A i wsp. Pharmacological Protection of Kidney Grafts from Cold Perfusion-Induced Injury. Biomed Res Int. 2019,14:9617087.

P21 Zmiany w aktywności MMP-2 płytek krwi w warunkach chemicznego niedokrwienia i reperfuzji – badania wstępne

Kornela Hałucha¹, Alina Rak-Pasikowska¹, Aneta Wrzyszczyńska², Iwona Bil-Lula¹

¹Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

²Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp i cel pracy: Poza powszechnie znaną rolą płytek krwi w utrzymaniu hemostazy, płytki krwi zostały powiązane m.in. z procesem gojenia się ran i patomechanizmem wielu chorób, w tym chorób sercowo-naczyniowych. Aktywacja płytek krwi w zawale mięśnia serca może być spowodowana obecnością komponentu zapalnego, ponieważ nie wykazano wpływu niedokrwienia na stopień aktywacji płytek krwi u pacjentów z niewydolnością serca. Płytki krwi zawierają i, w wyniku aktywacji, uwalniają do otoczenia metaloproteinazę 2 (MMP-2), w ilości zależnej od stopnia aktywacji płytek krwi. Jest prawdopodobne, że MMP-2 uwolniona z płytek krwi może powodować aktywację kolejnych płytek krwi, a także mieć właściwości proagregacyjne. Celem pracy było zbadanie zmian w aktywności MMP-2 w płytkach krwi poddanych chemicznemu niedokrwieniu i reperfuzji (N/R).

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiły płytki krwi wyizolowane z krwi pobranej na cytrynian sodu od pięciu zdrowych ochotników. Izolacja płytek krwi została przeprowadzona przy wykorzystaniu ciągłego gradientu gęstości OptiPrep (Sigma-Aldrich) metodą opracowaną w Katedrze Analityki Medycznej. Wyizolowane płytki krwi zostały poddane procedurze N/R składającej się z trzech etapów: 15 minut stabilizacji, 9 minut hipoksji oraz reperfuzji trwającej 10 lub 20 minut. Na etapach stabilizacji i reperfuzji płytki krwi zawieszone były w buforze HEPES z dodatkiem 55 $\mu\text{mol/l}$ CaCl_2 i 0,75 mg/ml albuminy surowicy bydlęcej (BSA). Hipoksja została wywołana dodatkiem 0,4 mmol/l cyjanku sodu – inhibitora oddychania tlenowego oraz 4,4 mmol/l 2-deoksyglukozy, która jest inhibitorem glikolizy. Badania w serii kontrolnej zostały przeprowadzone analogicznie do serii badanej, z wyjątkiem etapu hipoksji – do próbek w serii kontrolnej została dodana świeża porcja buforu użytego na etapie stabilizacji i reperfuzji. Aktywność MMP-2 została oceniona metodą zymografii żelatynowej w płytkach krwi zabezpieczonych po każdym etapie procedury. Zymogramy zostały zeskanowane przy użyciu densytometru (BioRad GS-800) i analizowane przy użyciu oprogramowania Quantity One (BioRad). Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu programu GraphPad Prism v.5.

Wyniki: W serii badanej zaobserwowano ciągły spadek aktywności MMP-2 w płytkach krwi na każdym etapie procedury N/R ($p=0,004$). Po etapie hipoksji aktywność MMP-2 w płytkach krwi spadła o 62,74% w porównaniu do wartości uzyskanych po etapie stabilizacji. Po etapie 10 i 20 minutowej reperfuzji aktywność MMP-2 w płytkach krwi uległa obniżeniu o odpowiednio 74,58% i 75,57% w porównaniu do wartości uzyskanych po etapie stabilizacji. Po etapie hipoksji i reperfuzji aktywność MMP-2 była wyższa w serii kontrolnej niż w serii badanej, po ostatnim etapie procedury (20 minutowej reperfuzji) aktywność MMP-2 w serii badanej była niższa o około 46% ($p=0,043$) w porównaniu do serii kontrolnej.

Wnioski: Aktywność MMP-2 w płytkach krwi w wyniku N/R uległa obniżeniu, co najprawdopodobniej było spowodowane uwolnieniem MMP-2 z płytek krwi i świadczy o aktywacji płytek krwi w warunkach N/R.

P22 Normalizacja biodostępności tlenu azotu w sercach poddanych niedokrwieniu i reperfuzji

Anna Krzywonos-Zawadzka, Agnieszka Olejnik, Marta Banaszkiewicz, Iwona Bil-Lula

Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp i cel pracy: Patofizjologia uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego (I/R) jest złożona i wymaga wielokierunkowych działań w celu osiągnięcia pożądanych efektów terapeutycznych. Głównymi czynnikami przyczyniającymi się do uszkodzeń I/R są: zwiększony stres oksydacyjny, zwiększona ekspresja syntazy tlenu azotu (NOS), aktywacja metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMPs), a także potranslacyjne modyfikacje białek kurczliwych, co czyni je bardziej podatnymi na degradację proteolityczną. Wzmocniona produkcja tlenu azotu (NO) oraz nadtlendioazotynu (ONOO^-) w miejscu I/R prowadzi do niefizjologicznej nitracji/nitrozylacji białek kurczliwych kardiomiocytów i działania cytotoksycznego ONOO^- . Zarówno nitracja/nitrozylacja, jak i fosforylacja łańcuchów lekkich miozyny 1 (MLC1) zwiększają podatność białek kurczliwych na ich proteolityczną degradację pod wpływem MMP-2. W celu ochrony serca przed cytotoksycznym efektem I/R proponujemy zastosowanie mieszaniny stężeń trzech inhibitorów: doksycykliny (inhibitor MMP-2), L-NAME (nieselektywny inhibitor NOS) i ML-7 (inhibitor kinazy łańcuchów lekkich miozyny).

Materiały i metody: Kardioprotekcyjne działanie mieszaniny badano metodą Langendorffa na izolowanych sercach szczura. Wyizolowane serca samców rasy Wistar o masie 300–350 g poddano perfuzji buforem Krebsa na aparacie do perfuzji serc szczurzych firmy EMKA Technologies. Serca perfundowano 25 min w warunkach tlenowych, następnie poddano je 20 min globalnemu niedokrwieniu i 30 min reperfuzji. Inhibitory enzymów podawano na 10 min przed i 10 min po niedokrwieniu. Wskaźniki hemodynamiczne serca monitorowano przez wyznaczenie ilorazu maksymalnej różnicy ciśnienia skurczowego i rozkurczowego w lewej komorze i częstotliwości skurczów serca. Dodatkowo w tkance sercowej oznaczono parametry biochemiczne: MMP-2, LDH, iNOS, eNOS, eNOS S1177, ADMA, NO.

Wyniki: Zastosowanie mieszaniny: Doxy (1,0 μM), ML-7 (0,5 μM) i L-NAME (2 μM) zwiększa odzysk mechanicznej funkcji serca, prowadzi do normalizacji aktywności MMP-2 oraz redukcji syntezy iNOS oraz ADMA. W konsekwencji stężenie NO wrasta do poziomu obserwowanego w kontroli tlenowej.

Wnioski: Mieszanina niskich stężeń inhibitorów MMP-2, MLC i NOS hamuje produkcję NOS i ADMA oraz normalizuje biodostępność NO. Mieszanina Doxy, ML-7 i L-NAME chroni serce przed uszkodzeniem w wyniku I/R i może stanowić nową strategię farmakologicznej prewencji lub leczenia w praktyce klinicznej.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2016/23/B/NZ3/03151 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

P23 Doksycyklina chroni nerki przeznaczone do transplantacji podczas zimnej perfuzji – analiza proteomiczna

Iwona Bil-Lula¹, Michael Mosser², Anna Krzywonos-Zawadzka¹, Grzegorz Sawicki^{1,3}

¹ Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

² Department of Surgery, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada

³ Department of Anatomy, Physiology and Pharmacology, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada

Wstęp i cel pracy: W Polsce prawo dopuszcza możliwość pobierania narządów od dawców po nieodwracalnym zatrzymaniu krążenia (DCD), co wiąże się ze wzrostem liczby dawców, niemniej jednak jest przyczyną pogorszenia kondycji przeszczepianych narządów. Nerki pobrane od dawców DCD są szczególnie narażone na uszkodzenie niedokrwienno/reperfuzyjne (I/R), stanowiące konstelację procesów patofizjologicznych obejmujących m.in I/R, stres oksydacyjny z powstaniem reaktywnych form tlenu (ROS), aktywację cytotoksycznych enzymów [1]. Stopień tego uszkodzenia ma istotny wpływ na przeżywalność przeszczepu, wpływa na wystąpienie ostrego odrzucania, pierwotnego braku funkcji, opóźnienia funkcji przeszczepu i nieprawidłowej funkcji przeszczepu, co z kolei wiąże się z powrotem pacjenta do dializ [2]. Jednym z głównych wyzwań transplantologii jest więc zoptymalizowanie metod przechowywania tkanek w celu poprawy jakości przeszczepianych narządów. Celem pracy była ocena nefroprotektoryjnego działania doksycykliny (Doxy) podczas zimnej perfuzji nerki w modelu szczurzym *ex vivo*. Celem szczegółowym była farmakoproteomiczna ocena białek docelowych dla protekcji nerek w hipotermii.

Materiały i metody: Nerki szczurze zostały poddane perfuzji ciągłej w hipotermii z dodatkiem lub bez dodatku doksycykliny (22 h). Przeanalizowano perfuzaty, w których oznaczono markery uszkodzenia nerek (dehydrogenazę mleczanową – LDH i lipokalinę związaną z żelatynazą neutrofili – NGAL). Białka wyizolowane z tkanki nerkowej przeanalizowano przy użyciu elektroforezy 2DE, a białka zidentyfikowano przy użyciu spektrometrii masowej (MS).

Wyniki: Zaobserwowano dwukrotny wzrost aktywności LDH (jako markera uszkodzenia tkanek), dwukrotny wzrost białka całkowitego oraz dziesięciokrotny wzrost stężenia NGAL w perfuzatach nerek poddanych niedokrwieniu w warunkach hipotermii w porównaniu do kontroli ($p < 0,05$). Zarówno LDH, jak i NGAL uległy normalizacji pod wpływem Doxy (100 μ M). Badanie mikroskopią elektronową tkanki nerkowej wykazało objawy apoptozy komórek w postaci uszkodzenia mitochondriów oraz formowania ciałek gęstych. Perfuzja nerek doksycykliną chroniła mitochondria przed uszkodzeniem i hamowała tworzenie ciałek gęstych. Analiza MS białek w tkance poddanej niedokrwieniu w hipotermii wykazała białka podlegające zmianom: dimetyloaminoahydrolaza N(G),N(G)-dimetyloargininy i kinaza fosfoglicerynianowa ulegały obniżeniu podczas perfuzji w hipotermii, natomiast Doxy (100 μ M) przywracała prawidłową syntezę tych białek.

Wnioski: Doksycyklina działa protekcyjnie na tkankę nerkową podczas uszkodzenia w wyniku niedokrwienia w warunkach perfuzji ciągłej w hipotermii.

Badanie finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, nr. UMO-2017/27/B/NZ4/00601.

Piśmiennictwo:

[1] Krzywonos-Zawadzka A: Pharmacological Protection of Kidney Grafts from Cold Perfusion-Induced Injury. Biomed Res Int. 2019 May 14;2019:9617087.

[2] Moers, C. et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. N. Engl. J. Med. 360, 7–19 (2009).

P24 Badania diagnostyczne w proteinozie pęcherzyków płucnych

Katarzyna Wadowska, Iwona Bil-Lula, Mariola Śliwińska-Mossoń

Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp: Choroby autoimmunologiczne to grupa chorób, obejmująca ponad 100 jednostek chorobowych o przewlekłym przebiegu oraz autoimmunizacyjnym podłożu. Dotykają one niemal 7% światowej populacji, a liczba zachorowań stale rośnie. Diagnostyka chorób autoimmunologicznych jest oparta na wykrywaniu w surowicy swoistych dla danej choroby autoprzeciwciał [1,2]. Jedną z chorób autoimmunologicznych jest samoistna postać proteinozy pęcherzyków płucnych (PAP, *pulmonary alveolar proteinosis*), w patogenezie której kluczową rolę odgrywają przeciwciała przeciwko czynnikowi stymulującemu kolonie granulocytów/makrofagów (GM-CSF) – anty-GM-CSF [3].

Opis: Proteinoza pęcherzyków płucnych jest rzadką chorobą, charakteryzującą się odkładaniem się fosfolipidów i białek surfaktantu w pęcherzykach płucnych, prowadzącym do zaburzenia wymiany gazów oddechowych. „Samoistna” postać autoimmunologiczna PAP stanowi ok. 90% przypadków. Chorobom autoimmunologicznym i uwalnianiu autoantygenów w wyniku zniszczenia tkanek towarzyszy nieswoisty stan zapalny. Miejscowe i ogólnoustrojowe zapalenie jest również konsekwencją szkodliwego działania składników dymu tytoniowego, które jest czynnikiem rozwoju większości chorób płuc. Również w przypadku PAP, w przeważającej części dotyka ona chorych palących papierosy [1,4].

Diagnostyka autoimmunologicznej PAP, pomimo dostępnych badań laboratoryjnych, opiera się na diagnostyce obrazowej oraz rozpoznaniu różnicowym z infekcyjnym zapaleniem płuc, obrzękiem płuc, organizującym się zapaleniem płuc, ostrym śródmiąższowym zapaleniem płuc, krwawieniem pęcherzykowym czy rakiem oskrzelikowo-pęcherzykowym [4]. W badaniach laboratoryjnych najczęściej obserwuje się podwyższoną aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oraz podwyższone stężenia białek surfaktantu SP-A, SP-B i SP-D w surowicy chorych, jednak parametry te nie są wystarczająco swoiste dla PAP. Możliwości diagnostyki laboratoryjnej w diagnozowaniu autoimmunologicznej postaci tej rzadkiej choroby płuc obejmują również oznaczenia markerów nowotworowych, jak antygen rakowo-łożyskowy (CEA) i CYFRA 21-1 oraz autoprzeciwciał anty-GM-CSF w surowicy. Wykonywane są także badania cytologiczne popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych (BAL) i biopsja przezoskrzelowa płuc [3,4,5].

Podsumowanie: Badaniem laboratoryjnym o największym znaczeniu diagnostycznym wydaje się oznaczenie przeciwciał anty-GM-CSF, charakteryzujące się 100% czułością i swoistością. Wzrost stężenia przeciwciał anty-GM-CSF w surowicy nie tylko uczestniczy w patogenezie PAP, ale także może stanowić nieinwazyjny test, który w szybki i prosty sposób pozwoli na rozpoznanie autoimmunologicznej postaci tej choroby.

Piśmiennictwo:

- [1] Nowis D, Wańkowicz-Kalińska A, Winiarska M. Zjawiska autoimmunizacyjne, Choroby autoimmunizacyjne człowieka w: Immunologia. Wydawnictwo Naukowe PWN SA. Warszawa 2017, 362-365.
- [2] Demkow U. Diagnostyka laboratoryjna zaburzeń odporności, Choroby autoimmunizacyjne w: Diagnostyka laboratoryjna. PZWL Wydawnictwo Lekarskie. Warszawa 2019, 451.
- [3] Sobiecka M. Pulmonary alveolar proteinosis. Postępy Nauk Medycznych 2016, 1, 31-36.
- [4] Rowińska-Zakrzewska E, Bestry I. Choroby śródmiąższowe płuc, Proteinoza pęcherzyków płucnych w: Interna Szczeklika. Medycyna Praktyczna. Kraków 2012, 705-706.
- [5] Arai T, Inoue Y, Sugimoto C, Inoue Y, Nakao K, Takeuchi N, Matsumuro A, Hirose M, Nakata K, Hayashi S. CYFRA 21-1 as a disease severity marker for autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. Respiriology 2014, 19, 246-252.

P25 Polimorfizm genetyczny *NF-κB1* 94 ins/del ATTG w przewlekłej białaczce limfocytowej

Iwona Urbanowicz, Wiesława Nahaczewska

Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Katedra Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wrocław

Wstęp: Jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B (NF-κB) jest plejotropowym czynnikiem zaangażowanym w indukcję ekspresji szerokiej gamy genów, szczególnie tych, które sprzyjają proliferacji komórkowej i zaburzeniom ich apoptozy. NF-κB odgrywa również istotną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej i zapalnej, stymuluje angiogenezę, inwazję nowotworową oraz proces przerzutowania. Liczne badania ujawniły związek między funkcjonalnym polimorfizmem -94ins/del ATTG (rs28362491) w regionie promotorowym genu *NF-κB1* a podatnością na zachorowanie na różne typy nowotworów. Jednakże występowanie i rola polimorfizmu -94ins/del ATTG (rs28362491) w regionie promotorowym genu *NF-κB1* u pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową (CLL) nie były dotychczas badane. Przewlekła białaczka limfocytowa jest najczęstszym nowotworem limfoproliferacyjnym osób dorosłych półkuli zachodniej. Wciąż pozostaje schorzeniem nieuleczalnym. W patogenezie CLL bierze się pod uwagę zaburzenia regulacji cyklu komórkowego oraz procesu apoptozy. Niewykluczone, iż polimorfizm w regionie promotorowym -94ins/del ATTG (rs28362491) *NF-κB1* może mieć znaczenie w rozwoju CLL.

Cel pracy: Celem pracy była ocena częstości występowania polimorfizmu genetycznego w regionie promotorowym -94ins/del ATTG (rs28362491) genu *NF-κB1* u chorych na CLL oraz wykazanie jego potencjalnego związku ze zwiększoną predyspozycją do zachorowania na CLL i ze stadium zaawansowania klinicznego CLL wg klasyfikacji Rai.

Materiał i metody: Materiał stanowiła krew pełna pobrana od 156 chorych na CLL, leczonych w Katedrze i Klinice Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku we Wrocławiu. DNA limfocytów wyizolowano przy użyciu zestawu NucleoSpin®Blood. Analizę genotypowania polimorfizmu -94ins/del ATTG (rs28362491) w genie *NFκB1* przeprowadzono za pomocą real-time PCR i metodą elektroforezy kapilarnej przy użyciu Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer. Za pomocą testu chi-kwadrat porównano częstość występowania genotypów polimorfizmu -94ins/del ATTG (rs28362491) w genie *NF-κB1* pacjentów z CLL w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego Rai oraz w porównaniu do grupy kontrolnej.

Wyniki: Wszystkie przypadki CLL oraz grupa kontrolna znajdowały się w równowadze Hardy'ego-Weinberga. Wykazano, że genotyp homozygotyczny del/del polimorfizmu -94ins/del ATTG (rs28362491) w genie *NF-κB1* 2,23-krotnie zwiększa ryzyko wystąpienia przewlekłej białaczki limfocytowej ($p=0,02$). Ponadto u pacjentów del/del dodatkowo częściej występowało mniej agresywne stadium CLL wg klasyfikacji Rai – stadium 0.

Wnioski: Polimorfizm w regionie promotorowym genu *NF-κB1* może być związany z predyspozycją do CLL oraz ze stadium zaawansowania choroby.

P26 Zastosowanie sekwencjonowania metodą Sangera do weryfikacji zmian patogennych w diagnostyce zaburzeń hematologicznych metodą NGS

Sylwia Metryka

Klinika Pediatrii, Onkologii i Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Wstęp: Sekwencjonowanie DNA to proces, w którym zostaje określona sekwencja ułożenia nukleotydów w nici DNA. Potrzeba metod, które w krótkim czasie pozwoliłyby na poznanie sekwencji dużej liczby genów, była impulsem do powstania Sekwencjonowania Nowej Generacji. Wszystkie te metody łączy zdolność do masowo równoległego sekwencjonowania DNA, czyli sekwencjonowania małych fragmentów DNA w milionach równoległych reakcji. Niezwykle ważna jest identyfikacja defektów genetycznych, ponieważ wpływa to na każdy z etapów procesu diagnostyczno-prognostyczno-terapeutycznego. Wszystkie metody sekwencjonowania generują swoje dla siebie błędy, ponieważ błąd przypadkowy jest nieodłącznym elementem każdej metody diagnostycznej. Należy dążyć do minimalizacji szans powstania błędów, jednak zwykle nie da się w pełni im zapobiec. Obecnie brakuje dokładnych wytycznych dotyczących badań genetycznych w Polsce. Powszechną praktyką jest potwierdzanie wyników NGS za pomocą metody Sangera, która od ponad dwóch dekad uznawana jest za „złoty standard”.

Cel pracy: Celem pracy była ocena skuteczności weryfikacji zmian wykrytych w badaniach NGS za pomocą metody Sangera i ocena konieczności weryfikacji zmian wykrytych metodą NGS o dużej głębokości odczytu.

Materiały i metody: Materiał do badań stanowiły próbki krwi obwodowej oraz szpiku kostnego. Grupa badana liczyła 52 pacjentów. Sekwencjonowanie NGS przeprowadzono z wykorzystaniem 3 różnych zestawów do przygotowywania bibliotek w oparciu o technologię SureSelect XT (Agilent Technologies). W przypadkach ujawnienia wariantów patogennych za pomocą metody NGS, została zastosowana weryfikacja za pomocą metody Sangera z użyciem specyficznych par starterów. Wybrane fragmenty DNA zostały zsekwencjonowane zarówno u pacjentów, jak i rodziców.

Wyniki: W 29 spośród 36 przypadków warianty wykryte za pomocą NGS zostały potwierdzone za pomocą sekwencjonowania Sangera, przy czym w 4 przypadkach konieczne było ponowne zaprojektowanie primerów. W przypadku 7 pacjentów wyniki nie zostały potwierdzone za pomocą sekwencjonowania Sangera.

Wnioski: Liczne prace dowodzą, że nie ma konieczności weryfikacji każdego wyniku uzyskanego za pomocą Sekwencjonowania Nowej Generacji. Wyjątkiem są tu wyniki o niskim pokryciu, które w dalszym ciągu powinny być potwierdzane, w celu wykluczenia błędów sekwencjonowania. Podczas analizy wyniku należy mieć jednak świadomość możliwości wystąpienia błędów i wyniki niepewne poddawać weryfikacji. Próg niskiego pokrycia powinien być wyznaczony przez każde laboratorium, na podstawie wcześniejszych wyników, jak i doświadczenia osoby analizującej. Brak konieczności potwierdzania każdego wyniku pozwoli także na skrócenie czasu jego uzyskania. Dodatkowo zmniejszone zostaną koszty, które dotychczas związane były z Sekwencjonowaniem Nowej Generacji i następnie sekwencjonowaniem Sangera. Pozwoli to na szybsze i efektywniejsze działanie laboratorium wykonującego analizy genetyczne.

P27 Dlaczego mierzyć hormon anty-Müllerowski (AMH) w pediatrycznych zaburzeniach rozwoju płci (DSD)?

Agnieszka Ochocińska

Instytut "Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka", Zakład Biochemii, Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej, Warszawa

Wstęp: Zaburzenia rozwoju płciowego (*disorders of sex development*, DSD) należą do grupy chorób rzadkich, wynikających z nieprawidłowości genetycznych, których występowanie w Europie szacuje się na jeden przypadek na 4,5–5 tysięcy osób. Podjęcie decyzji o nadaniu płci u noworodków z DSD w wielu przypadkach jest bardzo trudne. Oznaczenie testosteronu w surowicy jest niewystarczające do diagnostyki różnicowej. Pomocnym parametrem w takich sytuacjach może być hormon anty-Müllerowski (AMH), wytwarzany w dużych ilościach przez niedojrzałe komórki jądra Sertoliego.

Opis: Zaburzenia rozwoju płciowego charakteryzują się dysgenezją gonad oraz obniżoną syntezą lub osłabionym działaniem androgenów u mężczyzn (XY) bądź zwiększoną produkcją androgenów u kobiet (XX). Noworodki dotknięte tym zaburzeniem często prezentują nieprawidłowo ukształtowane narządy płciowe, co może być źródłem trudności diagnostycznych, zwłaszcza gdy stwierdzana płeć dziecka nie jest pewna. Obok badania podmiotowego i przedmiotowego kolejnym krokiem w diagnostyce noworodka podejrzanego o DSD jest wykonanie serii badań laboratoryjnych we krwi (elektrolity, testosteron, androstendion, 17-OHP, LSH, FSH), a także w moczu (badanie ogólne, profil steroidowy). Przydatnym i wiarygodnym biomarkerem funkcji jąder i jajników w diagnostyce różnicowej DSD jest AMH, zwłaszcza w konfrontacji z oceną stężenia testosteronu w surowicy. Komórki Sertoliego jąder wytwarzają duże ilości AMH od wczesnego życia płodowego do początku okresu dojrzewania, natomiast komórki ziarniste pęcherzyków pierwotnych, preantralnych i małych antralnych jajnika produkują niewielkie ilości AMH od późnego okresu płodowego do klimakterium. W przypadku dysgenezji gonad przy kariotypie 46,XY obserwuje się niskie stężenie AMH, w niewrażliwości na androgeny i wadach syntezy androgenów – prawidłowe lub wysokie. Wirylicacja noworodka 46, XX wskazuje na działanie androgenów podczas rozwoju płodu, albo z tkanki jąder, albo z nadnerczy lub łożyska. Rozpoznanie wrodzonego przerostu nadnerczy jest zwykle dość łatwe, ale inne stany mogą być trudniejsze do zidentyfikowania. U noworodków 46,XX oznaczenie AMH w surowicy może z łatwością wykryć istnienie tkanki jąder, co prowadzi do rozpoznania jajnikowej DSD. W przypadkach DSD zależnych od chromosomów płci, gdzie gonady są mniej lub bardziej dysgenetyczne, poziomy AMH wskazuje na ilość funkcjonującej tkanki jąder. U chłopców z zespołem przetrwałych przewodów Müllera niewykrywalny lub bardzo niski poziom AMH w surowicy sugeruje mutację genu AMH, podczas gdy poziomy AMH w zakresie wartości referencyjnych wskazują na mutację receptora AMH.

Podsumowanie: U każdego dziecka z zaburzeniami rozwoju płci powinien być zbadany kariotyp, ale nie oznacza to, że wynik tego badania zawsze przesądza jednoznacznie o wyborze płci. Cennym narzędziem współczesnej diagnostyki umożliwiającym postawienie jednoznacznej diagnozy jest ocena stężenia białkowego hormonu anty-Müllerowskiego.

P28 Nowe wytyczne dotyczące stosowania hemoglobiny glikowanej (HbA1c) w diagnostyce cukrzycy w Polsce

Agnieszka Ochocińska

Instytut "Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka", Zakład Biochemii, Radioimmunologii i Medycyny Doświadczalnej, Warszawa

Wstęp: Polskie Towarzystwo Diabetologiczne (PTD) uznało w „Zaleceniach klinicznych postępowania u chorych z cukrzycą 2021” hemoglobinę glikowaną (HbA1c) za kryterium rozpoznania cukrzycy, z wartością $\geq 6,5\%$ jako progiem diagnostycznym. Jak dotąd cukrzyca w Polsce była rozpoznawana wyłącznie na podstawie oznaczenia stężenia glukozy we krwi, co w wielu ostrych stanach chorobowych było obciążone dużym ryzykiem błędu.

Opis: Diagnostyka cukrzycy w Polsce wg zaleceń PTD opierała się do roku 2020 wyłącznie na pomiarze stężenia glukozy w osoczu krwi żyłnej. W najnowszych wytycznych Zespół ds. Zaleceń, zgodnie z wytycznymi Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (American Diabetes Association – ADA) stosującego takie podejście od roku 2010, uznał hemoglobinę glikowaną (HbA1c) za kryterium rozpoznania cukrzycy, z wartością $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol) jako progiem diagnostycznym. Dotychczas PTD nie zalecało używania HbA1c do rozpoznania cukrzycy przede wszystkim ze względu na niewystarczającą kontrolę jakości metod laboratoryjnych w Polsce oraz nieustaloną wartość diagnostyczną HbA1c w rozpoznaniu cukrzycy dla polskiej populacji. Poprawa standaryzacji oznaczeń hemoglobiny glikowanej w Polsce umożliwia od roku 2021 jej powszechne zastosowanie w rozpoznawaniu cukrzycy i stanów przedcukrzycowych. Według najnowszych zaleceń dopuszcza się jednak wykorzystywanie w codziennej praktyce wyłącznie oznaczeń wykonywanych w laboratorium i z zastosowaniem metod analitycznych certyfikowanych przez National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP). Nadal nie rekomenduje się wykonywania badań w miejscu opieki nad pacjentem, nawet jeśli zastosowany analizator POCT (*point-of-care testing*) jest certyfikowany przez NSGP. Oznaczanie odsetka HbA1c w porównaniu do pomiarów glikemii ma wiele zalet: nie zależy od wpływu czynników zewnętrznych, takich jak stres, spożyty pokarm, ostre stany chorobowe. Pomiar HbA1c charakteryzuje się także mniejszą zmiennością wewnątrzosobniczą niż oznaczenie glikemii na czczo i 2 godziny po doustnym teście tolerancji glukozy (*Oral Glucose Tolerance Test* – OGTT). Zalecenia podkreślają jednak pewne ograniczenia badania. Kryteria diagnostyczne oparte na stężeniu glukozy w osoczu powinny być nadal stosowane w przypadku, gdy wartość HbA1c może być zaburzona przez czynniki niezwiązane z glikemią, takie jak: niedokrwistość (z niedoboru żelaza, hemolityczna), znaczna, nagła utrata krwi, dializoterapia, choroby wątroby i nerek, hemoglobinopatie oraz wiek czy rasa.

Podsumowanie: Zastosowanie HbA1c do rozpoznania cukrzycy mimo częściowych ograniczeń uprości diagnostykę cukrzycy szczególnie u pacjentów hospitalizowanych i ułatwi rozpoczęcie wcześniejszego jej leczenia. Przypuszczalnie dalsze udoskonalenia i poprawa jakości analitycznej metod oznaczania HbA1c w trybie POCT umożliwią wykorzystanie w przyszłości również tego narzędzia w wykrywaniu i rozpoznawaniu cukrzycy i stanów przedcukrzycowych.

P29 Zespół HELLP jako ciężkie powikłanie stanu przedrzucawkowego lub rzucawki

Ewa Hampel-Wiśniewska

Ginekologiczno-Położniczy Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: Zespół HELLP należy do najpoważniejszych powikłań ciąży i stanowi zagrożenie dla życia kobiety i płodu. Na świecie częstość występowania tego zespołu wynosi od 0,17 do 0,9 % wszystkich kobiet w ciąży i od 10 do 20% w przypadku występowania stanu przedrzucawkowego. Choroba najczęściej rozwija się w drugiej połowie ciąży (najczęściej pomiędzy 27. a 37. tygodniem ciąży), ale może wystąpić również w połogu (najczęściej w ciągu 48 h po porodzie).

Opis: Wystąpienie zespołu HELLP charakteryzuje triada objawów: małopłytkowość, hemoliza oraz podwyższenie aktywności enzymów wątrobowych. Wyróżnia się częściowy lub niekompletny zespół, składający się z jednego lub dwóch objawów głównych. Obecnie zespół HELLP uważa się za wariant ciężkiego stanu przedrzucawkowego lub powikłanie, gdyż stanowi około 30% wszystkich stanów rzucawki. Przypuszcza się, że przyczyną wystąpienia choroby są zaburzenia krzepnięcia krwi, uszkodzenie śródbłonna naczyń krwionośnych, prowadzące do wewnątrznacyniowej aktywacji płytek krwi, które uwalniają tromboksan i serotoninę, powodujące miejscowe obkurczenie naczyń krwionośnych, adhezję i agregację płytek krwi oraz odkładanie fibryny. Erytrocyty ulegają zniszczeniu przy przechodzeniu przez małe naczynia z uszkodzonym śródbłonkiem i złogami fibryny, w efekcie dochodzi do mikroangiopatycznej niedokrwistości hemolitycznej. Niedrożność naczyń wątroby, zaburzająca przepływ krwi, prowadzi do niedotlenienia i martwicy hepatocytów, w efekcie dochodzi do podwyższonej aktywności enzymów wątrobowych. Trombocytopenia jest skutkiem zwiększonego zużycia i niszczenia płytek krwi. Do najważniejszych czynników ryzyka wystąpienia zespołu HELLP zalicza się: nadciśnienie tętnicze i białkomocz podczas trwania ciąży, przebycie choroby w poprzedniej ciąży, wiek powyżej 25 lat, rasa biała, wielorództwo. Objawy kliniczne są niespecyficzne i stanowią trudność we wczesnym rozpoznaniu zespołu HELLP. Do podstawowych objawów zespołu HELLP zalicza się ból w prawym górnym kwadrancie brzucha, złe samopoczucie, proteinuria, nadciśnienie, ból głowy, nudności i wymioty. Śmiertelność kobiet w zespole HELLP według większości danych piśmiennictwa wynosi około od 1% do 25%. Główną przyczyną zgonów są krwotoki śródczaszkowe, ostra niewydolność krążeniowo-oddechowa, zespół wykrzepiania wewnątrznacyniowego, niewydolność nerek, posocznica, krwawienie z wątroby.

Podsumowanie: Zespół HELLP jest zaburzeniem wielonarządowym, ujawniającym się najczęściej w trzecim trymestrze ciąży. Diagnostyka laboratoryjna opiera się na potwierdzeniu wystąpienia hemolizy w krwi obwodowej, wykazaniu wzrostu bilirubiny i aktywności LDH, zmniejszeniu poziomu haptoglobiny w surowicy, wzrostu aktywności enzymów wątrobowych przy obniżonej liczbie płytek krwi. Wczesne postawienie diagnozy i natychmiastowe wdrożenie leczenia jest kluczowe w zapobieganiu występowania ciężkich powikłań dla kobiety i dziecka.

P30 Wpływ palenia papierosów na stężenie czynnika martwicy nowotworu-alfa u pacjentów z nowotworem płuca

Paulina Paulus¹, Piotr Błasiak^{3,4}, Adam Rzechonek^{3,4}, Iwona Bil-Lula², Mariola Śliwińska-Mossoń²

¹ SKN Specjalistycznych Analiz Biologicznych, Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

² Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

³ Katedra i Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Grabiszyńska 105, 53-439 Wrocław

⁴ Dolnośląskie Centrum Torakochirurgii, Dolnośląskie Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu, ul. Grabiszyńska 105, 53-439 Wrocław

Wstęp: Czynn timer martwicy nowotworu-alfa (*tumor necrosis factor α* – TNF- α) jest pleiotropową cytokiną prozapalną, zaangażowaną w wiele procesów zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych. Patogenną rolę TNF- α wykazano m.in. w rozwoju insulinooporności, w chorobach autoimmunologicznych, a także w chorobach nowotworowych, w tym nowotworach płuc. Głównym czynn timer rozwoju nowotworów płuc jest palenie tytoniu, które w różnorodny sposób wpływa na układ immunologiczny. Jednym z jego efektów jest zwiększenie produkcji cytokin prozapalnych, takich jak TNF- α . Celem pracy była ocena wpływu palenia papierosów na stężenie TNF- α u pacjentów z nowotworem płuca.

Materiał i metody: Badaną populację stanowili pacjenci (średnia wieku 67,35 $\pm$ 7,92 roku) ze zdiagnozowanym nowotworem płuca (n=98), którzy byli hospitalizowani w Katedrze i Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej Dolnośląskiego Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu. Pacjentów podzielono na palących i niepalących na podstawie otrzymanych z bezpośredniego wywiadu danych o paleniu i oznaczenia stężenia kotyniny – metabolitu nikotyny (metoda ELISA). Grupa palących pacjentów wypalała średnio 33,96 $\pm$ 10,90 paczki/rok. Stężenie TNF- α w surowicy oznaczono przy użyciu komercyjnego testu (Human TNF-alpha DuoSet ELISA, firmy R&D Systems). Otrzymane dane zostały opracowane statystycznie za pomocą programu Statistica 13.3.

Wyniki: Wykazano statystycznie istotną różnicę pomiędzy średnimi wartościami stężeń TNF- α niepalących a palących pacjentów z nowotworem płuca (odpowiednio: 2,25 $\pm$ 0,82 ng/ml vs 3,62 $\pm$ 1,27 ng/ml; p=0,0352). Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy wartościami stężeń TNF- α palących pacjentów a ilością wypalonych dziennie paczek papierosów w stosunku do liczby lat palenia (r=0,6; p=0,0003).

Wnioski: Palenie papierosów istotnie wpływa na stężenie TNF- α w surowicy pacjentów z nowotworem płuca, co może być ważnym czynn timer potencjalnych zmian w rozwoju tego nowotworu.

P31 Czynniki prowadzące do rozwoju uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego narządówAgnieszka Krysta¹, Marika Jarosz¹, Anna Krzywonos-Zawadzka², Iwona Bil-Lula²¹ Studenckie Koło Naukowe przy Pracowni Perfuzji Serca, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu² Katedra Analityki Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej i Hematologii Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp: Wieloczynnikowe uszkodzenia narządów, związane z niedokrwieniem i reperfuzją, stanowią znaczący problem kliniczny. Dotyczy on pacjentów z niewydolnością serca, chorobą wieńcową oraz biorców uszkodzonych organów przeznaczonych do przeszczepienia. Choć przyczyny i następstwa wynikające z uszkodzenia tkanek i narządów mogą być odmienne, wieloczynnikowe mechanizmy uszkodzenia tylko nieznacznie różnią się od siebie. Poznanie i zrozumienie procesów patofizjologicznych zachodzących w niedokrwionych narządach jest podstawą do opracowania nowych strategii terapeutycznych.

Opis: Czasowe przerwanie krążenia, powodujące niedokrwienie danego obszaru lub całego narządu oraz następcza reperfuzja zaburzają funkcje hemodynamiczne i metaboliczne organu. Podczas niedokrwienia w komórkach następuje przesunięcie metabolizmu w kierunku glikolizy beztlenowej. Obniżenie sprawności katalitycznej łańcucha oddechowego prowadzi do spadku adenozyntofosforanu, zaburzenia pracy pompy sodowo-potasowej i w konsekwencji do gromadzenia toksycznych produktów przemiany materii. Ograniczona zdolność śródbłonna naczyń krwionośnych do rozkurczu prowadzi do wydzielania mediatorów prozapalnych, infiltracji komórek odpowiedzi immunologicznej i powstawania reaktywnych form tlenu i azotu. Istotny wpływ na uszkodzenie tkanek mają również metaloproteinazy – enzymy macierzy pozakomórkowej (MMPs). Ich fizjologiczną funkcją jest umożliwienie migracji komórek, poprzez degradację kolagenu i innych białek macierzy pozakomórkowej. Podczas uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego dochodzi do nadmiernej aktywacji MMPs z jedoczesną inaktywacją ich endogennych inhibitorów (TIMPs). Wykazano, iż wzrost aktywności MMPs dodatnio koreluje z czasem niedokrwienia oraz stopniem zaburzenia funkcji narządu.

Podsumowanie: Mechanizm niedokrwienno-reperfuzyjny jest złożonym, wieloczynnikowym procesem szczególnie istotnym w dziedzinie kardiologii i transplantologii. Wzajemnie przebiegające i przenikające się reakcje utrudniają jednoznaczne określenie przyczyny remodelingu niedotlenionych tkanek, dlatego istotne jest poszukiwanie rozwiązań terapeutycznych skupiających się na różnych etapach tych uszkodzeń.

P32 „KORONA I ORĘŻ” czyli zastosowanie metod oceny przeciwciał w walce z koronawirusem SARS-CoV-2Agnieszka Orawiec¹, Paulina Ochmann²¹Samodzielny Publiczny Zespół Opieki Zdrowotnej w Świdnicy²Medyczne Laboratorium Diagnostyczne Medicina B. Basta, M. Basta SC., Kluczbork

Wstęp: Utrzymywanie się epidemii wywołanej wirusem SARS-CoV-2 wymusza poszukiwanie nowych narzędzi diagnostycznych użytecznych w walce z koronawirusem. Swoistym orężem są metody serologiczne pomocne w diagnostyce odpowiedzi organizmu na przebyte zakażenie SARS-CoV-2. Poniższa praca ma na celu przedstawienie dostępnych metod oceny przeciwciał anty-SARS-CoV-2 z uwzględnieniem zasadności oznaczania tych przeciwciał.

Opis: Wykrycie przeciwciał świadczących o kontakcie z wirusem znalazło zastosowanie w retrospektywnej diagnostyce i epidemiologii COVID-19 oraz określeniu rzeczywistej skali zakażenia. Pozwala nam to na identyfikację osób, mających ujemny wynik PCR, będących w późniejszej fazie choroby. Testy serologiczne są również pomocne przy diagnozowaniu powikłań u osób, które przeszły infekcję grypopodobną, a nie były wcześniej badane na obecność SARS-CoV-2. Za pomocą testów serologicznych możemy zidentyfikować potencjalnych dawców osocza w celu biernej immunizacji chorych na COVID-19, a także oceniać efektywność szczepienia. Dostępne na rynku testy serologiczne wykrywają przeciwciała anty SARS-CoV-2 w klasach IgM, IgG i IgA. Dynamika i przebieg tworzenia się poszczególnych klas przeciwciał u pacjentów chorych na COVID-19 są w dalszym ciągu poznawane. Testy serologiczne, służące do wykrywania przeciwciał anty-SARS-CoV-2, opierają się na metodach: immunoenzymatycznych, immunochromatograficznych, tzw. testach kasetkowych, testach Western blot, testach immunofluorescencji pośredniej i neutralizacji. Ważnym kryterium wyboru testu jest rodzaj zastosowanego antygeny wirusa, przeciwko któremu skierowane są wykrywane przeciwciała. Antygenami SARS-CoV-2 wykorzystywanymi w diagnostyce są białko N (nukleokapsydu) oraz białko S (kolca). Wykrycie przeciwciał skierowanych przeciwko białku N jest oznaką wcześniejszej ekspozycji na SARS-CoV-2 lub pokrewne wirusy i niekoniecznie jest to wskaźnik obecności przeciwciał neutralizujących. Przeciwciała neutralizujące celują głównie w białko S koronawirusów, w szczególności w podjednostkę S1 i domenę w niej zawartą – RBD. Ponadto czułość, swoistość testów w danej metodzie powinny być jednymi z najważniejszych kryteriów wyboru.

Podsumowanie: Prezentowane obecnie testy serologiczne do diagnostyki przeciwciał anty SARS-CoV-2 różnią się metodologią, oznaczanymi klasami przeciwciał, wyborem odpowiedniego antygeny wirusowego, czułością i swoistością. Jednym z ograniczeń testów jest możliwość reakcji krzyżowych na skutek infekcji innymi niż SARS-CoV-2 szczepami koronawirusa. Testy przesiewowe wymagają również weryfikacji czulszymi metodami np. immunoblot. Dokładna znajomość zastosowanego testu, pozwala na właściwą interpretację wyniku i dalsze postępowanie kliniczne.

P33 Ocena zastosowania badań przesiewowych w izolacji bakterii wieloopornych

Marek Wilk

Medyczne Laboratorium Diagnostyka Sp. z o.o., al. Konstytucji 3 Maja 13, Zielona Góra

Wstęp: Wzrastająca oporność patogenów szpitalnych na antybiotyki utrudnia terapię i ogranicza jej skuteczność. Najważniejszymi i stwarzającymi najpoważniejsze problemy drobnoustrojami w zakażeniach szpitalnych są metycylinooporne gronkowce złociste (MRSA) oraz pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* produkujące β -laktamazy o szerokim spektrum substratowym (ESBL). Badania przesiewowe w kierunku wykrywania tych patogenów są jedną z metod eliminujących bakterie wielooporne (MDR).

Cel pracy: Celem pracy była ocena zastosowania w diagnostyce mikrobiologicznej podłoży chromogennych jako podłoży przesiewowych do identyfikacji oraz określenia wybranych mechanizmów oporności na antybiotyki u drobnoustrojów patogennych, izolowanych z materiałów klinicznych. W pracy zbadano nowe podłoża chromogenne, umożliwiające izolację i identyfikowanie bakterii (chromID *S. aureus*, chromID CPS3; bioMerieux) odpowiadających za zakażenia ran i tkanek miękkich (*S. aureus*) oraz zakażenia układu moczowego (ziarenkowce z rodzaju *Enterococcus*, pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*). Użyto również podłoża chromID MRSA oraz chromID ESBL (bioMerieux). Dzięki zawartości substratów chromogennych oraz antybiotyków, takich jak cefoksytyna i cefpodoksym, są one używane do wstępnego wykrywania szczepów MRSA oraz ESBL. W pracy zbadano 627 próbek klinicznych, posiewanych na podłoże bezpośrednio z materiału klinicznego.

Wyniki: W wyniku przeprowadzonych posiewów, dla podłoża chromID *S. aureus* oraz chromID CPS3 czułość po 24 h inkubacji wynosiła odpowiednio 100 i 98,7%, natomiast swoistość 96,7 i 97,6%. Czułość i swoistość uzyskana po 48 h inkubacji dla podłoża chromID MRSA wynosiły 100 oraz 99,5%, natomiast po 24 h inkubacji dla podłoża chromID ESBL wynosiły 81,2 oraz 97,6%.

Wnioski: Wysoka czułość oraz swoistość, uzyskane dla badanych podłoży przesiewowych, potwierdzają korzyść z zastosowania podłoża chromID *S. aureus* oraz chromID CPS3 jako podłoża przesiewowego do diagnostyki mikrobiologicznej materiałów z dróg moczowych i materiałów, gdzie spodziewanym czynnikiem etiologicznym zakażenia jest *S. aureus*. Uzyskane wyniki potwierdzają także użycie nowych podłoży chromogennych, jak chromID MRSA i chromID ESBL, umożliwiających szybkie i bezpośrednie wykrycie szczepów MRSA oraz ESBL bezpośrednio z materiału klinicznego.

P34 Terapia zarażenia COVID-19 osoczem ozdowieńców

Iwona Pakos, Aneta Rokseła

Synevo Wrocław, Dolnośląski Szpital Specjalistyczny im. T. Marciniaka, ul. Fieldorfa 2, Wrocław

Zakażenie wirusem SARS-CoV-2 stymuluje powstanie w organizmie specyficznych przeciwciał: IgA, IgM oraz IgG. Dzięki tej różnorodności istnieje możliwość określenia fazy infekcji.

Badanie poziomu specyficznych przeciwciał jest szczególnie ważne dla osób, które są narażone na kontakt z racji wykonywanego zawodu, w badaniach epidemiologicznych, w badaniach nad lekiem i szczepionką przeciwko COVID-19, a także w identyfikacji ozdowieńców z wysokim mianem przeciwciał IgG.

Podanie osocza z wysokim mianem specyficznych przeciwciał anty-SARS-CoV-2 przyspiesza reakcję immunologiczną organizmu, pomagając tym samym osobom z ciężkim przebiegiem choroby oraz tym, którzy nie są w stanie wytworzyć własnych przeciwciał bądź wytwarzają je zbyt wolno. Przeciwciała aktywują u biorcy odpowiedź immunologiczną skierowaną przeciwko SARS-CoV-2 i mają zdolność dezaktywacji patogenu. Immunoglobuliny mogą zarówno zwiększyć odporność, jak i zmniejszyć nasilenie objawów infekcji u osób już zakażonych. Osocze wykorzystywane w terapii może oddać osoba zwana ozdowieńcem. Jest to osoba, u której potwierdzono materiał genetyczny wirusa SARS-CoV-2 metodą Real Time PCR lub testem antygenowym, która przechorowała COVID-19 bądź przeszła zakażenie bezobjawowo. Może to być także osoba, która nie miała stwierdzonego zakażenia, ale w jej krwi obecne są przeciwciała skierowane przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. Osocze pobierane jest w Regionalnych Centrach Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w całej Polsce na dwa sposoby – metodą plazmaferezy lub przez odpowiednią preparatykę krwi pełnej.

Terapia osoczem ozdowieńców jest bardzo ważna w leczeniu ostrych przypadków zakażeń SARS-CoV-2. Jest stosowana na całym świecie, ponieważ jest stosunkowo bezpieczna, skraca czas choroby, łagodzi objawy oraz obniża śmiertelność. Nie może być jednak stosowana w monoterapii, czyli jako pojedynczy lek, który jest w stanie wyleczyć chorego.

**Bio-Ksel Sp. z o.o.**

ul. Kaliowa 3
86-300 Grudziądz
tel.: +48 (56) 462 24 24
fax: +48 (56) 462 33 33
e-mail: biuro@bio-ksel.pl
www.bio-ksel.com.pl

**Eppendorf Poland Sp. z o.o.**

al. Jerozolimskie 212
02-486 Warszawa
tel.: +48 22 571 40 20
fax: +48 22 571 40 30
e-mail: info@eppendorf.pl
www.eppendorf.com

**Fundacja „Farmacja Dolnośląska”**

ul. Borowska 213
50-556 Wrocław
tel.: 71 33 62 731
e-mail: fundacja@farmacja.wroc.pl
www.farmacja.wroc.pl

**Fundacja Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu**

ul. Mikulicza Radeckiego 5
50-345 Wrocław
tel.: 71 784 11 84(85)
fax: 71 784 00 49
e-mail: fundacjaum@fundacjaum.pl
www.fundacjaam.pl



PZ HTL S.A.

ul. Daniszewska 4
03-230 Warszawa
tel.: (22) 492 19 00
fax: (22) 492 19 93
e-mail:
htl.customercare@corning.com
www.htl.pl



**Krajowa Izba Diagnostów
Laboratoryjnych**

ul. Konopacka 4
03-428 Warszawa
tel.: +48 22 741 21 55 w. 100
fax: +48 22 741 21 56
e-mail: biuro@kidl.org.pl
www.kidl.org.pl



MedPharm Polska Sp. z o.o.

ul. Powstańców Śląskich 28-30
53-333 Wrocław
tel.: (71) 33 50 360
fax: (71) 33 50 361
e-mail: info@medpharm.pl
www.medpharm.pl



MPW MED. INSTRUMENTS

SPÓŁDZIELNIA PRACY
ul. Boremlowska 46
04-347 Warszawa
tel.: (22) 610 50 14
fax: (22) 610 55 36
e-mail: mpw@mpw.pl
www.mpw.pl



**POLSKIE TOWARZYSTWO
DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ
ODDZIAŁ WROCŁAW**

**Polskie Towarzystwo Diagnostyki
Laboratoryjnej Oddział Wrocław**
ul. R. Weigla 5
50-981 Wrocław
www.ptdl.pl



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

**Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu**
wyb. Ludwika Pasteura 1
50-367 Wrocław
www.umed.wroc.pl

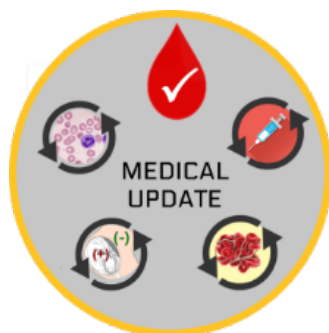


**Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytetu Medycznego im.
Piastów Śląskich we Wrocławiu**
ul. Borowska 211
50-556 Wrocław
www.farmacja.umed.wroc.pl



Edra Urban & Partner Sp. z o.o.

ul. Kościuszki 29
50-011 Wrocław
tel.: +48 71 330 61 89
e-mail: biuro@edraurban.pl
www.edraurban.pl



Medical Update

ul. Mickiewicza 3
05-420 Józefów
e-mail: biuro@medicalupdate.pl
www.medicalupdate.pl



Merck Sp. z o.o.

al. Jerozolimskie 142 B 7
02-305 Warszawa
tel.: +48225359700
fax: +48225359703
e-mail: biuro@merckgroup.com
www.merckgroup.com

VADEMECUM

WYROBÓW MPW MED. INSTRUMENTS



Polecamy najnowszą książkę

Maria Mantur • Anna Radzimowska

Ocena mikroskopowa komórek w płynach z jam ciała
Microscopic evaluation of cells in body cavity fluids



PRACTICAL ATLAS

MedPharm Polska

PRAKTYCZNY ATLAS

Niezbędnik każdego diagnosty

Do nabycia na stronie
wydawnictwa:

medpharm.pl

Do połowy kwietnia
obowiązuje specjalna cena:
99,00 zł brutto.

Dodatkowo, do zamówienia
zostanie dołączony prezent
książkowy!