

**XXI Konferencja
Naukowo-Szkoleniowa
Alergia Astma Immunologia
Kliniczna Łódź 2022
23-25 czerwca 2022, Łódź**

Sesja Naukowa

Komitety Naukowy Sesji

dr hab. n. med. Maciej Chałubiński, prof. UM – przewodniczący

dr hab. n. med. Anna Lewandowska-Polak, prof. UM

dr n. biol. Adrian Gajewski

dr n. med. Małgorzata Brauncajs

dr n. med. Paulina Gorzelak-Pabiś

dr n. med. Andrzej Eljaszewicz

dr n. med. Piotr Łacwik

SESJA NAUKOWA

Modulacja ilorazu szans reumatoidalnego zapalenia stawów przez geny spoza układu HLA w populacji polskiej

TOMASZ BUDLEWSKI¹, GRZEGORZ GALITA²,
JOANNA SARNIK¹, OLGA BRZEZIŃSKA¹,
MARTA POPLAWSKA³, TOMASZ POPLAWSKI²
I JOANNA MAKOWSKA¹

¹ Klinika Reumatologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Żeromskiego 113, Łódź

² Katedra Genetyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, Pomorska 141/143, Łódź

³ Biobank, Klinika Immunologii i Alergii, Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Pomorska 251, Łódź

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, naprawa DNA, polimorfizm, SNP

Wstęp: W patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) odgrywają rolę trzy podstawowe czynniki: genetyczne, środowiskowe i autoimmunologiczne. Udział czynników genetycznych w rozwoju RZS szacuje się na 50-60%, a udział HLA w tym procesie na 10-40%. Badania asocjacyjne GWAS doprowadziły do zidentyfikowania wielu loci warunkujących podatność na zachorowanie na RZS. Jednymi z głównych polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNPs) związanych z RZS są warianty alleliczne genów PADI4, TRAF1, STAT4, CD40 i PTPN22.

Cel: Celem naszych badań była ocena zmienności genetycznej w RZS w obrębie genów PADI4, TRAF1, STAT4,

CD40 i PTPN22 ryzyka związanych z sygnalizacją receptora komórek T z seropozytywnością.

Materiały i Metody: Materiał do badań stanowił DNA izolowany z komórek PBMC 150 osób chorych na RZS i zdrowych. Genotypy polimorfizmów określano za pomocą Taq-man SNP Genotyping Assay. Przebadano łącznie 5 polimorfizmów dla genów PADI4 (RS2240340), TRAF1 (RS3761847), STAT4 (RS757486), CD40 (RS4810485) i PTPN22 (RS2476601).

Wyniki: Zaobserwowaliśmy związek między występowaniem RZS a polimorfizmami genów: PADI4 (w modelu kodominującym C/T zwiększa iloraz szans RZS w populacji polskiej 3,5 krotnie (OR=3,54) T/T dwukrotnie (OR=2.00), oraz w modelu dominującym niemal 3 krotnie (OR=2.93), STAT4 (zwiększa iloraz szans RZS w populacji polskiej we wszystkich badanych modelach, w modelu kodominującym G/T dwukrotnie (OR=1.89) oraz T/T czterokrotnie (OR=4.07), w modelu dominującym dwukrotnie (OR=2.08) oraz w modelu recesywnym ponad 3 krotnie (OR=3.22)) i PTPN22 (zarówno w modelu kodominującym G/A (OR=1.82) jak i w modelu dominującym (OR=2.14) dwukrotnie zwiększa iloraz szans RZS w populacji polskiej). Polimorfizm genów TRAF1 i CD40 nie modulował ilorazu szans wystąpienia RZS w populacji polskiej. **Podsumowanie:** Wyniki te wskazują na znaczenie genów spoza układu HLA w określaniu ryzyka zachorowania na RZS w populacji polskiej. Związek wielu wariantów ryzyka związanych z sygnalizacją receptora komórek T z seropozytywnością może odgrywać istotną rolę w odmiennych fenotypach klinicznych RZS.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki (NCN, Polska), numer grantu UMO 2017/25/B/NZ6/01358.

Wpływ koinfekcji ludzkiego rinowirusa HRV16 i koronawirusa HCoV229E na aktywację zapalną i przeciwwirusową ludzkiego śródbłonka naczyniowego płuc

MARTA CHUNCIA, MATEUSZ GAWRYSIAK,
MACIEJ CHAŁUBIŃSKI

Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Pomorska 251, 92-213 Łódź

Słowa kluczowe: koinfekcja, rinowirus, koronawirus, odpowiedź zapalna, odpowiedź przeciwwirusowa, ludzki śródbłonek naczyniowy płuc

Wstęp: Rinowirusy (HRV) i koronawirusy (HCoV) są patogenami wywołującymi powszechne infekcje górnych dróg oddechowych u ludzi. Sezonowe szczyty występowania HRV i HCoV nakładają się, dlatego ryzyko koinfekcji może być wysokie. Wykazano, że HRV16 i HCoV229E są zdolne do infekowania komórek śródbłonka i aktywacji odpowiedzi zapalnych *in vitro*. Niewiele wiadomo o możliwości koinfekcji śródbłonka naczyniowego płuc rinowirusem HRV16 i koronawirusem HCoV229E.

Cel: Celem pracy jest ocena wpływu koinfekcji HRV16 i HCoV229E na ludzkie komórki śródbłonka naczyń płucnych.

Materiały i Metody: Ludzkie komórki śródbłonka naczyń płucnych (HMVEC-L) zakażono HRV16, HCoV229E lub jednocześnie HRV16 i HCoV229E w modelu *in vitro*. Następnie oceniano: efekt cytopatyczny w mikroskopie świetlnym, metabolizm w teście MTT, odpowiedź przeciwwirusową i zapalną (poprzez ekspresję IFN β , RANTES, IL-8), aktywność prozakrzepową (poprzez ekspresję czynnika tkankowego TF), wewnątrzkomórkowe mechanizmy odporności przeciwwirusowej (poprzez ekspresję OAS-1,

PKR, MX-1), receptory wewnątrzkomórkowe rozpoznające wirusowe RNA (RIG-I, TLR3) oraz liczbę kopii wirusa metodą real-time PCR.

Wyniki: Wyniki pokazują, że zakażenie HRV16 przyczynia się do szybszej i silniejszej ekspresji IFN β i genów zależnych od interferonu – OAS-1, PKR, MX1 w porównaniu z zakażeniem HCoV229E. Wzrost ekspresji po infekcji HCoV jest widoczny dopiero po 72 godzinach od infekcji. W koinfekcji HRV16 i HCoV229E, ekspresja IFN β , OAS-1, PKR, MX1 jest porównywalna z pojedynczym zakażeniem HRV, ale nie z pojedynczym zakażeniem HCoV. Ponadto ekspresja genów zapalnych i prozakrzepowych w koinfekcji jest również porównywalna tylko z pojedynczą infekcją HRV. Oceniając efekt cytopatyczny z użyciem mikroskopii świetlnej, można zauważyć, że w pojedynczym zakażeniu HRV16 i HCoV229E, zwłaszcza po 48 i 72 godzinach od zakażenia, jest większy efekt cytopatyczny w porównaniu z kontrolą. W koinfekcji dwoma wirusami nie zaobserwowano zwiększonego efektu cytopatycznego. Ponadto, wyniki przedstawione w teście MTT wskazują, że w pewnych punktach czasowych żywotność komórek jest większa w koinfekcji niż w przypadku pojedynczych infekcji. Oceniając liczbę kopii wirusa można zauważyć, że liczba kopii HCoV jest zmniejszona w koinfekcji niż w pojedynczej infekcji. Nie obserwuje się podobnej zależności w przypadku HRV.

Podsumowanie: Rinowirus HRV16 i koronawirus HCoV229E mają różny wpływ na komórki śródbłonka - HRV16 indukuje silniejszą ekspresję IFN β , a tym samym silniejszą ekspresję genów zależnych od interferonu w porównaniu z HCoV229E. Ponadto wygląda na to, że koinfekcja śródbłonka naczyniowego HRV i HCoV229E nie wywołuje silniejszego efektu cytopatycznego niż pojedyncze infekcje. Co ciekawe, wydaje się, że w koinfekcji replikacja HCoV może być hamowana przez HRV i możliwe, że spowodowane jest to aktywacją wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej indukowanej przez rinowirusa HRV16.

Finansowanie: Badania sfinansowane z programu „GrantyUMEDu” nr. 564/1-000-00/564-20-049.

Ekonomika leczenia ciężkiej astmy eozynofilowej i ciężkiej astmy IgE-zależnej lekami biologicznymi w trybie ambulatoryjnej opieki specjalistycznej na przykładzie Centralnego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

JAKUB DĄBROWSKI, EDYTA RUTKOWSKA-TOMASZEWSKA

Instytut Nauk Ekonomicznych, Zakład Zarządzania Finansami, Wydział Prawa, Administracji i Ekonomii Uniwersytetu Wrocławskiego

Słowa kluczowe: astma ciężka, leczenie biologiczne, ekonomika leczenia

Wprowadzenie: Niekontrolowana astma oskrzelowa prowadzi do występowania zaostrzeń u pacjentów. Standardowe metody leczenia glikokortykosteroidami wziewnymi nie zawsze są skuteczne w walce z ciężką odmianą schorzenia, stąd też w Polsce od 2012 roku refundacji przez Narodowy Fundusz Zdrowia podlega leczenie biologiczne ciężkiej astmy eozynofilowej i ciężkiej astmy IgE-zależnej preparatami biologicznymi: Xolair (omalizumab), Nucala (mepolizumab) i Fasenna (benralizumab).

Cel: Celem pracy była analiza kosztochłonności leczenia ciężkiej astmy eozynofilowej i ciężkiej astmy IgE-zależnej metodami biologicznymi w 2021 roku na przykładzie Centralnego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Istotę problemu przedstawiono na tle świadczeń opieki zdrowotnej finansowanych ze środków publicznych w skali kraju.

Materiał i metody: Analizy ekonomiki leczenia astmy ciężkiej dokonano na podstawie danych dotyczących

kosztów hospitalizacji jednodniowej pacjenta leczonego lekiem biologicznym oraz schematu dawkowania poszczególnych preparatów w Klinice Immunologii i Alergii CSK w Łodzi w 2021 roku. Analiza dotyczyła kosztu leku biologicznego oraz innych kosztów towarzyszących temu procesowi, w które wchodzi: koszty personelu, materiałów zużywalnych, środków ochrony osobistej, koszty pośrednie (administracja, laboratorium, sprzętowanie, itp.) oraz amortyzacja. Aby dokładniej zobrazować istotę problemu, w badaniu wykorzystano również dane Narodowego Funduszu Zdrowia dotyczące leczenia astmy oskrzelowej w Polsce na przestrzeni lat 2013 – 2019. W toku działania dokonano analizy aktów prawnych stanowiących o finansowaniu ochrony zdrowia w Polsce oraz dokonano charakterystyki programu lekowego leczenia astmy ciężkiej.

Wyniki: Koszt poniesiony przez jednostkę w trakcie jednodniowej hospitalizacji pacjenta w związku z terapią lekiem biologicznym wyniósł odpowiednio: 1 922,53 zł (Xolair), 4 908,60 zł (Nucala) i 9 257,49 zł (Fasenna). Koszty całkowite, jakie poniósł szpital w związku z prowadzonym leczeniem biologicznym pacjentów z astmą ciężką za rok 2021 ukształtowały się na poziomie 2 201 338,63 zł. W ciągu analizowanego roku w jednostce wykonano tylko 451 podań preparatów biologicznych. Na tle przeprowadzonej analizy wykazano, że z programu lekowego korzysta niewielki odsetek chorych ze zdiagnozowaną ciężką astmą eozynofilową i IgE-zależną.

Podsumowanie: Wyniki analizy dowiodły, że innowacyjne metody leczenia przewlekłej choroby układu oddechowego pomimo udowodnionej wysokiej skuteczności niosą za sobą znaczne koszty, ale nie są wystarczająco spopularyzowane w odniesieniu do istniejących potrzeb. Na podstawie przeprowadzonej oceny wnioskuje się, że polska służba zdrowia powinna nałożyć większy nacisk na spopularyzowanie innowacyjnych metod leczenia ciężkiej astmy oskrzelowej.

Polimorfizm genów naprawy DNA w reumatoidalnym zapaleniu stawów

GRZEGORZ GALITA¹, JOANNA SARNIK²,
OLGA BRZEZIŃSKA², TOMASZ BUDLEWSKI²,
MARTA POPLAWSKA³, JOANNA MAKOWSKA²
I TOMASZ POPLAWSKI¹

¹ Katedra Genetyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, Pomorska 141/143, Łódź

² Klinika Reumatologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Żeromskiego 113, Łódź

³ Biobank, Klinika Immunologii i Alergii, Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Pomorska 251, Łódź

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, naprawa DNA, polimorfizm, SNP

Wstęp: Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest wielogenową, wieloczynnikową i przewlekłą chorobą o podłożu immunologicznym, charakteryzującą się przewlekłym zapaleniem stawów, skłonnością do powstawania deformacji stawów oraz zajęciem tkanek pozastawowych. Ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe wśród pacjentów z RZS jest przedmiotem ciągłych badań ze względu na autoimmunologiczną patogenezę leżącą u podstaw RZS, wspólną etiologię choroby reumatycznej i nowotworów złośliwych oraz stosowanie terapii immunomodulacyjnej, która może zmieniać funkcjonowanie systemu odpornościowego i zwiększać tym samym ryzyko zachorowania na nowotwory złośliwe. Jedną z charakterystycznych cech RZS jest stres oksydacyjny, który powoduje zwiększony poziom uszkodzeń DNA w tkankach chorych z RZS. Czynnikiem genetycznym związanym z predyspozycją do inicjacji procesu transformacji nowotworowej może być polimorfizm genów kodujących białka biorące udział w systemach naprawy DNA. Zróżnicowanie form allelicznych danego genotypu może objawiać się różną aktywnością tych białek a przez to osobniczo-indywidualną zdolnością do naprawy uszkodzeń DNA.

Cel: Celem naszych badań była ocena zmienności genetycznej w RZS w obrębie genów sytemu naprawy uszkodzeń DNA przez wycinanie zasad azotowych (BER), wyci-

nania nukleotydów (NER) oraz system naprawy pęknięć dwuniciowych przez rekombinację homologiczną (HR) i niehomologiczne łączenie końców (NHEJ).

Materiały i Metody: Materiał do badań stanowił DNA izolowany z komórek PBMC 150 osób chorych na RZS i zdrowych. Genotypy polimorfizmów określano za pomocą Taq-man SNP Genotyping Assay. Przebadano łącznie 29 polimorfizmów dla 19 genów kodujących białka związane z naprawą DNA.

Wyniki: Zaobserwowaliśmy związek między występowaniem RZS a polimorfizmami genów: XRCC2 (rs3218536) w modelu naddominującym dla genotypu C/T (OR 2.87; 95% CI 1.09-7.54), RAD51 (rs7180135) w modelu recesywnym dla genotypu A/A (OR 0.51; 95% CI 0.30-0.85) oraz modelu naddominującym dla genotypu A/G (OR 1.65; 95% CI 1.04-2.62), RAD51 (rs1801321) w modelu kodominującym dla genotypu T/T (OR 2.07; 95% CI 1.22-3.52), modelu recesywnym dla genotypu T/T (OR 2.15; 95% CI 1.35-3.42), RAD51B (rs963917) w modelu kodominującym dla genotypu A/A (OR 0.33; 95% CI 0.16-0.68), modelu dominującego dla genotypu A/G-A/A (OR 0.54 ; 95% CI 0.34-0.87), modelu recesywnym dla genotypu A/A (OR 95% 0.41; CI 0.21-0.81), RAD51B (rs963918) w modelu kodominującym dla genotypu T/T (OR 0.42; 95% CI 0.20-0.91), modelu recesywnym dla genotypu T/T (OR 0.55; 95% CI 0.35-0.88), NBN (rs2735383) w modelu kodominującym dla genotypu G/G (OR 0.29; 95% CI 0.10-0.86); modelu recesywnym dla genotypu G/G (OR 0.33; 95% CI 0.12-0.95), XRCC5 (rs207906) w modelu kodominującym dla genotypu A/G (OR 2.00; 95% CI 1.22-3.28), modelu dominującym dla genotypu A/G-A/A (OR 1.91; 95% CI 1.21-3.02), modelu naddominującym dla genotypu A/G (OR 1.83; 95% CI 1.14-2.95), TDG (rs4135054) w modelu kodominującym dla genotypu T/T (OR 0.11; 95% CI 0.01-0.86), w modelu dominującym dla genotypu C/T-T/T (OR 0.53; 95% CI (0.31-0.90) oraz modelu recesywnym dla genotypu T/T (OR 0.12; 95% CI 0.01-0.96).

Podsumowanie: Nasze wyniki sugerują, że odpowiedź komórki na uszkodzenia DNA może odgrywać rolę w procesie patogenezы RZS, a polimorfizmy genów naprawy uszkodzeń DNA mogą być uważane za potencjalne markery RZS.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki (NCN, Polska), numer grantu UMO 2017/25/B/NZ6/01358.

Korelacja pomiędzy nieefektywną naprawą oksydacyjnych uszkodzeń DNA, polimorfizmami kluczowych genów naprawy DNA przez wycinanie zasad oraz poziomem ich ekspresji u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów

GRZEGORZ GALITA¹, JOANNA SARNIK²,
GABRIELA ZAJAC¹, OLGA BRZEZIŃSKA²,
TOMASZ BUDLEWSKI², MARTA POPŁAWSKA³,
JOANNA MAKOWSKA² i TOMASZ POPŁAWSKI¹

¹ Katedra Genetyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, Pomorska 141/143 Łódź

² Klinika Reumatologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Pieniny 30

³ Biobank, Klinika Immunologii i Alergii, Katedra Pulmonologii, Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Pomorska 251

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, naprawa DNA, stres oksydacyjny

Wstęp: Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest chorobą stawów o podłożu autoimmunologicznym, o nieznannej jeszcze etiologii. RZS powoduje przewlekłe zapalenie tkanek stawowych, co powoduje destrukcję chrząstki stawowej i kości. Jedną z charakterystycznych cech RZS jest stres oksydacyjny, najprawdopodobniej indukowany i stymulowany przez nieprawidłową aktywność limfocytów B i T. Jak wykazaliśmy wcześniej, skutkuje to akumulacją oksydacyjnych uszkodzeń DNA w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMC) izolowanych od chorych na RZS. Postawiliśmy hipotezę, że stres oksydacyjny wraz z nieefektywną naprawą przez wycięcie zasad - BER może

być odpowiedzialny za zwiększoną częstość występowania u chorych na RZS chłoniaków i raka płuc. Nieefektywny BER może być skutkiem występowania polimorfizmów genów białek BER oraz zmian epigenetycznych.

Cel: Celem pracy była korelacja pomiędzy naprawą oksydacyjnych uszkodzeń DNA oraz tłem genetycznym i epigenetycznym.

Materiały i Metody: Materiał do badań stanowiły komórki PBMC izolowane z krwi 30 chorych na RZS i 30 zdrowych osób. Uszkodzenia i naprawę DNA oceniano za pomocą elektroforezy w żelu alkalicznym pojedynczych komórek (test kometowy), genotypy polimorfizmów określano za pomocą Taq-man SNP Genotyping Assay, a profil ekspresji genów związanych z BER analizowano za pomocą Real Time qPCR Assay.

Wyniki: Realizując cel pracy określiliśmy poziom oksydacyjnych uszkodzeń DNA oraz kinetykę naprawy uszkodzeń DNA indukowanych przez wodoronadtlenek tert-butylu (TBH) w PBMCs chorych na RZS i osób zdrowych. Wyniki badań uszkodzeń i naprawy DNA zostały skorelowane z genotypami polimorfizmów kluczowych genów BER oraz poziomem ich ekspresji. Zaobserwowaliśmy związek między występowaniem RZS, wrażliwością na TBH (OR 1,39; 95% CI, 1,18-1,65), nieprawidłową naprawą DNA w PBMCs (OR 46,00; 95% CI, 8,70-243,26), polimorfizmem genów XRCC1 (OR 6,07; 95% CI, 1,82-20,22) i MUTYH (OR 4,72; 95% CI, 1,54-14,52) a zmienioną ekspresją kluczowych genów BER.

Podsumowanie: Nasze wyniki sugerują, że warianty genetyczne w obrębie genów BER, jak również czynniki epigenetyczne mogą być powiązane z RZS poprzez modulację odpowiedzi komórkowej na stres oksydacyjny. Ponadto polimorfizmy te mogą być użytecznym dodatkowym markerem w tej chorobie wraz z genetycznymi i/lub środowiskowymi wskaźnikami stresu oksydacyjnego.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki (NCN, Polska), numer grantu UMO 2017/25/B/NZ6/01358.

Zastosowanie testu aktywacji bazofilów w diagnostyce alergii na orzeszki ziemne

JULIA GAWRYJOŁEK¹, MAGDALENA ŻBIKOWSKA-GÖTZ², ZBIGNIEW BARTUZI², ANETA KROGULSKA¹

¹ Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii, Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

² Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

Słowa kluczowe: alergia, orzeszki ziemne, test aktywacji bazofila

Wstęp: Alergia na orzeszki ziemne należy do kluczowych postaci alergii pokarmowej, szczególnie w populacji wieku rozwojowego. Jest to jedna z najczęstszych przyczyn reakcji anafilaktycznej indukowanej pokarmem, potencjalnie o przebiegu zagrażającym życiu. Stąd poszukuje się lepszych metod i nowych algorytmów diagnostycznych pozwalających na większą trafność i bezpieczeństwo rozpoznania. Aktualnie coraz częściej rozważa się uzupełnienie standardowej diagnostyki alergii na orzeszki ziemne o wykonanie testu aktywacji bazofilów (BAT), z uwagi na jej duże bezpieczeństwo oraz wysoką czułość i swoistość, szczególnie wobec alergenów pokarmowych.

Cel: Ocena znaczenia BAT w diagnostyce alergii na orzeszki ziemne.

Materiały i Metody: Do badania zakwalifikowano łącznie 80 dzieci: 65 dzieci z uczuleniem na orzeszki ziemne (grupa badana) i 15 dzieci bez uczuleń/lub chorób alergicznych (grupa kontrolna). U wszystkich pacjentów

przeprowadzono badanie ankietowe, oznaczono sIgE dla orzeszka ziemnego i jego alergenów oraz przeprowadzono BAT z Ara h 1 i Ara h 2. Po uzyskaniu wyników badań pacjentów kwalifikowano do doustnej próby prowokacji (oral food challenge, OFC) z orzeszkiem ziemnym. Ostateczne rozpoznanie alergii na orzeszki ziemne ustalono zgodnie z obowiązującymi zaleceniami, uwzględniając dane z wywiadu, wyniki badań w kierunku uczulenia oraz OFC. Wyniki poddano analizie statystycznej.

Wyniki: Wyniki badań analizowano w następujących grupach: dzieci uczulone, tolerujące orzeszki ziemne (peanut sensitized, but tolerant, PS) (n=23); dzieci, u których nie stwierdzono uczulenia na orzeszki (non-peanut sensitized, non-PS) (n=15); dzieci z alergią na orzeszki ziemne (peanut allergic, PA) (n=42), dzieci bez alergii na orzeszki ziemne (non-peanut allergic, non-PA) (n=38).

W grupie PA dodatni wynik BAT stwierdzono u 31 (73,81%) dzieci, w grupie PS u 2 (8,70%) dzieci, a w grupie non-PS u żadnego dziecka ($p<0,01$). Istotnie statystycznie częściej ujemny wynik stwierdzono w grupie PS (n=16; 69,56%), non-PA (n=28; 73,68%) i kontrolnej (n=12; 80%), niż w grupie PA (n=5; 11,90%) ($p<0,01$). Stwierdzono istotnie statystycznie wyższe pobudzenie bazofilów w grupie PA w porównaniu do grupy PS i non-PA, zarówno po stymulacji Ara h 1, jak i Ara h 2 ($p<0,01$). Włączenie BAT jako kolejnego etapu w diagnostyce alergii na orzeszki ziemne pozwala na zmniejszenie koniecznych do wykonania OFC o 2/3.

Podsumowanie: Zastosowanie dodatkowych metod, takich jak ocena BAT, pozwala na zwiększenie trafności rozpoznania alergii na orzeszki ziemne i zmniejszenie ilości koniecznych do ustalenia rozpoznania o 2/3.

Finansowanie: Grant nr 444 w ramach PDB Katedry i Kliniki Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM UMK.

Odczulanie doustne, jako metoda leczenia 5-letniego chłopca z IgE-zależną alergią na białka mleka krowiego - opis przypadku

JULIA GAWRYJOŁEK, ANETA KROGULSKA

Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii,
Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

Słowa kluczowe: alergia, mleko, odczulanie

Wstęp: Alergia na białka mleka krowiego (ABMK) jest najczęstszą przyczyną alergii na pokarmy w populacji pediatrycznej. Zdecydowana większość dzieci nabiera tolerancję na białka mleka krowiego w pierwszych latach życia. Jednak coraz częściej obserwuje się przetrwałą postać ABMK, która cechuje się ciężkim przebiegiem i wysokim ryzykiem wystąpienia reakcji anafilaktycznej. Przez wiele lat jedyną strategią leczenia ABMK była eliminacja alergenu z diety dziecka. W ostatnich latach obiecującą metodą leczenia alergii pokarmowej jest alergenowo swoista doustna immunoterapia (oral immunotherapy, OIT). Przedstawiamy opis 5-letniego chłopca, u którego zastosowano odczulanie na mleko.

Cel: Przedstawienie opisu pacjenta z ciężką postacią IgE-zależnej ABMK, u którego zastosowano immunoterapię doustną mlekiem.

Opis przypadku: Chłopiec 5 letni jest objęty opieką alergologa z powodu ABMK. Z wywiadu i dokumentacji medycznej wynika, że u dziecka czterokrotnie wystąpiła reakcja anafilaktyczna po spożyciu mleka. Ostatnia reakcja miała miejsce w lutym 2020 r., po przypadkowym spożyciu ci-

astka, zawierającego śladowe ilości mleka. W lipcu 2020r. dziecko było hospitalizowane w Klinice CC UBCP Latitude Food Allergy (SFO, US), gdzie przeprowadzono doustną próbę prowokacyjną z mlekiem wypiekany, której wynik był dodatni (pokrzywka uogólniona, rumień, senność). U chłopca rozpoznano ciężką postać alergii na białka mleka krowiego (alergia na mleko wypiekane, przebyte reakcje anafilaktyczne) i za zgodą rodziców dziecko zakwalifikowano do doustnego odczulania na mleko. Pierwszą dawkę OIT podano w SFO. Leczenie jest dalej kontynuowane w naszej Klinice, zgodnie z protokołem. Aktualnie chłopiec otrzymuje dawkę 160 mg białek mleka krowiego, z dobrą tolerancją. Objawów niepożądanych OIT dotychczas nie obserwowano.

Dyskusja: Zgodnie z wytycznymi EAACI, OIT jest zalecane dla dzieci z przetrwałą IgE-zależną ABMK w wieku od około 4 do 5 lat, celem podwyższenia progu reaktywności klinicznej. Wskazaniem do OIT w ABMK są objawy anafilaksji u pacjentów z IgE-zależną ABMK, u których dieta eliminacyjna jest nieskuteczna, niechciana lub obniżająca jakość życia. Do tej pory unikanie alergenów odpowiedzialnych za wyzwalanie reakcji alergicznych było jedynym skutecznym sposobem leczenia ABMK u pacjentów, u których nie rozwija się naturalna tolerancja mleka. Warto podkreślić, że restrykcyjne unikanie ekspozycji na alergen nie zawsze jest możliwe i może prowadzić do zaburzeń odżywiania i narażać pacjenta na stały stres związany ryzykiem reakcji po przypadkowym spożyciu alergenu.

Podsumowanie: OIT to obiecująca metoda leczenia alergii pokarmowej, odciążając pacjentów od stałego strachu przed nagłymi i poważnymi objawami po spożyciu „szkodliwego” pokarmu i niekończącą się walką o uniknięcie śladowych ilości tych pokarmów w życiu codziennym.

Ocena wpływu mikrośrodowiska śródbłonka naczyń płuca zakażonego rinowirusem HRV16 na polaryzację naiwnych komórek CD4⁺

MATEUSZ GAWRYSIAK, ROBERT SZEWCZYK,
MACIEJ CHAŁUBIŃSKI

Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet
Medyczny w Łodzi, Pomorska 251, 92-213 Łódź

Słowa kluczowe: śródbłonek naczyniowy, infekcje wirusowe, rinowirusy, limfocyty CD4, immunomodulacja

Wstęp: Cięższy przebieg zaostrzeń astmy wywołanej infekcją rinowirusową może wynikać z tego, że u chorych na astmę ludzki rinowirus odmiennie moduluje odpowiedź immunologiczną - generuje opóźnioną i niedostateczną odpowiedź przeciwwirusową, co przyczynia się do zwiększonej jego replikacji i dominacji mechanizmów Th2 zależnych, charakterystycznych dla zapalenia alergicznego. Dzieje się to głównie drogą uwalniania odpowiednich cytokin przez zainfekowany wirusem HRV16 nabłonek oddechowy przyczyniających się do rozwoju odpowiedzi Th2-zależnej. Rola śródbłonka naczyniowego naczyń krwionośnych dróg oddechowych w modulacji lokalnej odpowiedzi immunologicznej w przebiegu infekcji wirusem HRV i jego rola w zaostrzeniach astmy oskrzelowej nie są znane.

Cel: Ocena zdolności śródbłonka naczyniowego płuca po zakażeniu rinowirusem HRV16 do kształtowania tkankowego mikrośrodowiska immunologicznego w odniesieniu do procesu zapalnego toczącego się w przebiegu astmy oskrzelowej.

Materiały i Metody: Komórki śródbłonka naczyń płucnych (ang. *human lung microvascular endothelial cells*, HMVEC-L) zakażano wirusem i po 72 godzinach od zakażenia zabezpieczano nadsącz pochodowlany. Aby uniknąć wpływu samego HRV16, nadsącze były poddawane naświetlaniu światłem UV w celu inaktywacji wirusa. Naiwne limfocyty CD4⁺ izolowano z kożuszków leukocyтарно-plateletowych przy użyciu separatora komórek autoMACS. Separacja miała charakter deplecji frakcji pozytywnej komórek mających na swojej powierzchni: CD8, CD14, CD15, CD16, CD19, CD25, CD34, CD36, CD45RO, CD56, CD123, TCRγ/δ, HLA-DR i CD235a. Frakcja negatywna izolacji reprezentowała naiwne limfocyty CD4⁺. Po izolacji komórki CD4⁺ były aktywowane poprzez stymulację przeciwciałami aCD2/CD3/CD28. Po 24 godzinach od aktywacji do hodowli dodawano nadsącza po hodowli komórek HMVEC-L z HRV16 - aktywnym wirusem w nadsączu oraz wirusem inaktywowanym UV. Komórki CD4⁺ były inkubowane z nadsączami przez 12 dni. Po inkubacji zabezpieczano lizaty komórkowe do oceny ekspresji mRNA. W real time PCR oceniano cytokiny: IFN-γ, IL-4, IL-10, IL-17, a także czynniki transkrypcyjne: T-bet, GATA-3, RORγt oraz Foxp3.

Wyniki: Analiza mRNA wykazała wzrost ekspresji cytokin: IFN-γ, IL-4, natomiast największe wzrosty odnotowano dla IL-17 i IL-10 zarówno dla aktywnego jak i inaktywowanego UV wirusa HRV16. Odnotowano zwiększenie ekspresji wszystkich czynników transkrypcyjnych dla aktywnego HRV16, a dla inaktywowanego UV wirusa tylko RORγt.

Podsumowanie: Mikrośrodowisko zakażonego śródbłonka płuca nie promuje jednej, dominującej ścieżki polaryzacji komórek CD4⁺. Najbardziej aktywowane są ścieżki odpowiedzi komórek Th17 oraz T regulatorowych, które nie wspierają zapalenia alergicznego w przebiegu astmy oskrzelowej.

Surowicze stężenie miRNA-155, miRNA-146a, miRNA-39 w diagnostyce zakażeń *M. tuberculosis* u dzieci

MAGDALENA GODKOWICZ^{1,2},
MAGDALENA KOWALEWSKA-PIETRZAK³,
MAGDALENA DRUSZCZYŃSKA¹

¹ Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237, Łódź

² Szkoła Doktorska Bio-Med-Chem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, ul. Banacha 12/16, 90-237, Łódź

³ Wojewódzki Zespół Zakładów Opieki Zdrowotnej Centrum Leczenia Chorób Płuc i Rehabilitacji w Łodzi, Okólna 181, 91-520, Łódź

Słowa kluczowe: microRNA, gruźlica dziecięca, biomarker

Wstęp: Pomimo, że gruźlica jest jedną z najstarszych chorób zakaźnych, wciąż stanowi istotny problem epidemiologiczny, medyczny i społeczny. Żadna z określonych obecnie metod diagnostycznych nie jest wystarczająco dobra do rozpoznania tej choroby u dzieci. Ostatnie doniesienia na temat potencjalnego wykorzystania małych niekodujących cząsteczek RNA (miRNA) jako biomarkerów gruźlicy dostarczają cennych informacji i solidnych podstaw do opracowania nowych technik diagnostycznych.

Cel: Celem badań była ocena surowiczego poziomu 3 wybranych miRNA (miRNA-155, miRNA-146a, miRNA-39) wraz z określeniem ich potencjału diagnostycznego gruźlicy u dzieci oraz różnicowaniu jej formy aktywnej od latentnej.

Materiały i Metody: Badaniami objęto 98 dzieci zaklasyfikowanych na podstawie kompleksowej analizy wyników badań diagnostycznych, przeprowadzonych przez pulmonologów dziecięcych z Wojewódzkiego Zespołu Zakładów Opieki Zdrowotnej Centrum Leczenia Chorób Płuc i Rehabilitacji w Łodzi. Wśród badanych wyróżniono grupy z: (1) z czynną gruźlicą płuc (TB), (2) z utajonym zakażeniem *M. tuberculosis* (LTBI), (3) z nieprątkowym zapaleniem płuc (NMLD) oraz (4) dzieci zdrowych (HC). W uzyskanych surowicach poziom miRNA-155, miRNA-146a, miRNA-39 został oceniony metodą miREIA (hsa-miR-155-5p miREIA, hsa-miR-146a-5p miREIA, cel-miR-39-3p miREIA) z wykorzystaniem testów firmy Biovendor (Brno, Czechy).

Wyniki: W surowicach dzieci z TB i LTBI obserwowano wyższy poziom miRNA-146a w porównaniu do pozostałych grup, natomiast stężenie miRNA-155 było wyższe w grupach TB i NMLD. Nie wykazano wyraźnych różnic w poziomie miRNA-39 w grupach badanych.

Podsumowanie: Uzyskane wyniki sugerują, że surowiczy poziom miRNA-146a i miRNA-155 może być wykorzystany w rozpoznawaniu i różnicowaniu zakażeń *M. tuberculosis* u dzieci.

Finansowanie: Badania finansowane ze Studenckiego Grantu Badawczego UŁ Magdaleny Godkovicz.

Badanie podatności śródbłonka naczyniowego po eradykacji rinowirusa na ponowne zakażenie HRV16

IZABELA GULBAS, ADRIAN GAJEWSKI, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI

Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

Słowa kluczowe: śródbłonek, rinowirus, reinfekcja, odpowiedź zapalna, wirusowe infekcje dróg oddechowych

Wstęp: Wirusy układu oddechowego w tym rinowirusy (HRV) są najczęstszymi czynnikami wywołującymi infekcje dolnych i górnych dróg oddechowych. Rinowirusy są odpowiedzialne za co najmniej połowę wszystkich przypadków przeziębienia oraz są najczęstszą przyczyną ciężkich zaostrzeń astmy u dzieci i dorosłych (60-80%). Zakażenia rinowirusowe występują w środowisku od wczesnej wiosny do późnej jesieni. Dodatkowo, sezonowe szczyty dla HRV oraz innych wirusów oddechowych często się nakładają, co zwiększa ryzyko kilkukrotnych infekcji tym samym bądź innym wirusem oddechowym w sezonie. Obecnie nie ma badań wskazujących na to, jak długo mogą utrzymywać się wrodzone mechanizmy oporności na ponowną infekcję wirusami oddechowymi w komórkach śródbłonka naczyń płucnych. Nie zostało również wyjaśnione, przez jaki okres czasu infekcja rinowirusowa poprzez indukcję odpowiedzi zapalnej i przeciwwirusowej może zabezpie-

czyć komórki przed ponowną infekcją tym samym lub innym wirusem oddechowym.

Cel: Głównym celem pracy było badanie długości utrzymywania się wrodzonych mechanizmów oporności na ponowną infekcję rinowirusem HRV16 w komórkach śródbłonka naczyń płucnych.

Materiały i Metody: Ludzkie komórki śródbłonka naczyniowego płuc (HMVEC-L) inkubowano z HRV16 (MOI3) przez 3h. Następnie w 72h wymieniano podłoże i dodawano do komórek świeże medium. W 5 dobie od pierwotnego zakażenia, komórki ponownie infekowano wirusem HRV16 (MOI3) przez 3h i hodowano dalej przez 5, 24 i 72 godziny. Aktywność odpowiedzi zapalnej (IL-6, IL-8, RANTES, IP-10) i przeciwwirusowej (IFN β , IFN λ , OAS1, PKR) oceniono za pomocą real-time PCR, testu ELISA oraz cytometrii przepływowej.

Wyniki: HRV16 w krótkim czasie po infekcji zwiększał ekspresję interferonów, enzymów OAS1 i PKR odpowiedzialnych za wewnątrzkomórkowe mechanizmy zahamowania replikacji wirusowej oraz chemokin i cytokin zapalnych. Po ponownej ekspozycji na HRV16 nie obserwowano zwiększonej aktywności odpowiedzi zapalnej i przeciwwirusowej, natomiast zaobserwowano wzrost ekspresji mRNA i białka dla enzymów OAS1 i PKR w porównaniu do pierwotnej infekcji.

Podsumowanie: Zainfekowane komórki śródbłonka naczyń płucnych wykazują długoterminową zwiększoną aktywność wewnątrzkomórkowych mechanizmów walki przeciwwirusowej, w wyniku których komórki te mogą nie być podatne na ponowne zakażenie tym samym bądź innym wirusem oddechowym.

Stężenie katelicyny LL-37 i IFN- γ w popłuczynach pęcherzykowo-oskrzelikowych osób z infekcyjnymi i nieinfekcyjnymi chorobami dolnych dróg oddechowych

AGNIESZKA KIRYSZEWSKA-JESIONEK¹,
MAŁGORZATA BRAUNCAJS¹, JANINA GRZEGORCZYK¹,
ADAM ANTCZAK², DOROTA PASTUSZAK-LEWANDOWSKA¹

¹ Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Klinika Pulmonologii Ogólnej i Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Słowa kluczowe: katelicyna, IFN- γ

Wstęp: Katelicyna LL-37 wydzielana jest m.in. przez komórki nabłonka oskrzeli i pełni istotną rolę w regulacji ich funkcji. Posiada właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Niszczy drobnoustroje w sposób bezpośredni, jak również poprzez aktywację kolejnych procesów immunologicznych. LL-37 działa zarówno na bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. IFN- γ odgrywa szczególną rolę w odpowiedzi na zakażenia patogenami wewnątrzkomórkowymi, ale również w niszczeniu zmienionych komórek gospodarza, takich jak komórki nowotworowe. Zarówno LL-37, jak i IFN- γ pełnią rolę w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej.

Cel: Celem badania była ocena stężenia LL-37 i IFN- γ w chorobach infekcyjnych i nieinfekcyjnych dolnych dróg oddechowych.

Materiały i Metody: W przeprowadzonym badaniu udział wzięło 60 pacjentów. U 21 osób zdiagnozowano infekcyjne zakażenia dolnych dróg oddechowych. W tej grupie pacjentów były osoby chore na astmę w okresie zaostrzenia infekcyjnego, na zapalenie płuc, przewlekłe zapalenie oskrzeli w okresie zaostrzenia infekcyjnego i PO-CHP w trakcie infekcyjnego zaostrzenia. Grupę chorych na nieinfekcyjne zapalenia dróg oddechowych stanowiło 39 pacjentów ze zdiagnozowaną sarkoidozą, śródmiąższową chorobą płuc, i rozstrzeniami oskrzeli. Od wszystkich pacjentów podczas wykonywania bronchoskopii pobrano BAL, w którym oznaczono stężenie katelicyny LL-37 i IFN- γ za pomocą testów ELISA.

Wyniki: U wszystkich chorych wykryto mierzalne stężenia LL-37 i IFN- γ . U chorych na nieinfekcyjne choroby dolnych dróg oddechowych średnia wartość stężenia LL-37 wynosiła 48,4 ng/mL, a IFN- γ 7,9 pg/ml. W grupie pacjentów z infekcją dolnych dróg oddechowych średnia wartość LL-37 wynosiła 54,4 ng/mL, a IFN- γ 7,2 pg/ml. Różnice te nie były istotne statystycznie ($p > 0,05$). Nie zaobserwowano również korelacji pomiędzy stężeniem LL-37 a IFN- γ .

Podsumowanie: Wyniki sugerują, że LL-37 i IFN- γ mogą modulować/regulować zarówno przebieg zakażenia, jak i stanu zapalnego o etiologii innej niż infekcyjna.

Finansowanie: Młodzi Naukowcy – dr Agnieszka Kiryszevska-Jesionek 502-03/1-137-02/502-14-073.

EEC i NAC w ocenie skuteczności AIT u pacjentów z alergicznym nieżytem spojówek i nosa wywołanym przez alergeny roztoczy kurzu domowego

ANNA KOSOWSKA^{1,2}, MAGDALENA ZEMELKA-WIĄCEK²,
MAREK JUTEL^{1,2}

¹ ALL-MED Medyczny Instytut Badawczy,
Wrocław, Polska

² Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,
Wrocław, Polska

Słowa kluczowe: prowokacja alergenowa, immunoterapia swoista

Wstęp: Walidacja wiarygodnych biomarkerów klinicznych i laboratoryjnych ma ogromne znaczenie dla lepszej prospektywnej i retrospektywnej oceny skuteczności AIT (alergenowej immunoterapii swoistej). Obecnie do AIT kwalifikuje się pacjentów głównie na podstawie wywiadu chorobowego i spektrum uczuleń. Użytecznymi narzędziami stratyfikacji pacjentów są próby prowokacji alergenowej. Kabina Ekspozycji Środowiskowej (EEC – Environmental Exposure Chamber) zapewnia generowanie ekspozycji na alergen w dobrze kontrolowanych warunkach, stabilnych i niezależnych od czynników zewnętrznych.

Cel: W badaniu oceniono skuteczność AIT u pacjentów uczulonych na alergeny roztoczy kurzu domowego (HDM – House Dust Mite) na podstawie poprawy klinicznej ocenianej „w terenie” za pomocą skali objawów i zużycia leków (CSMS – Combined Symptom Medication Score), a także po prowokacji alergenem donosowym (NAC – Nasal Allergen Challenge) i ekspozycji w EEC.

Materiały i Metody: Do badania włączono 50 pacjentów z objawami alergicznego nieżytu nosa i spojówek wywołanego przez HDM, potwierdzonego za pomocą punk-

towych testów skórnych (SPT) oraz swoistych przeciwciał IgE (sIgE). Objawy oceniano za pomocą parametrów subiektywnych (skala objawów, skala zużycia leków, CSMS) i metod obiektywnych (rynometria akustyczna) zarówno podczas okresu wysokiego narażenia na HDM „w terenie”, jak i poza sezonem dzięki NAC oraz EEC przed AIT i po 360 dniach AIT.

Wyniki: Wykazano dodatnią korelację pomiędzy SPT z użyciem *Dermatophagoides pteronyssinus* (D.p.) i *Dermatophagoides farinae* (D.f.), $p < 0.05$, $r = 0.65$ oraz pomiędzy SPT D.f. a sIgE D.f. ($p < 0.05$, $r = 0.73$). Nie znaleziono statystycznie istotnych zależności pomiędzy SPT, sIgE a subiektywnymi lub obiektywnymi parametrami ocenianymi podczas NAC, ekspozycji w EEC lub CSMS „w terenie”. Zarówno parametry subiektywne, jak i obiektywne wykazały znaczną poprawę po AIT w NAC i EEC. Objawy oceniane za pomocą CSMS w okresie wysokiego narażenia na HDM po 1 roku AIT był istotnie niższe (69%) w porównaniu do stanu sprzed leczenia ($p < 0.0001$).

Istotną statystycznie redukcję objawów po AIT zaobserwowano w NAC za pomocą metod subiektywnych ($p < 0.0001$) oraz rymetrii akustycznej ($p < 0.0001$, średnia redukcja MCA 32%, MID 13%). W EEC zaobserwowano 30% redukcję objawów ze strony nosa ($p < 0.005$) i 58% redukcję objawów ze strony oczu ($p < 0.005$) po AIT, natomiast nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy w reakcji nosowej mierzonej w rymetrii akustycznej podczas ekspozycji w EEC.

Nie stwierdzono statystycznie istotnej korelacji między CSMS ocenianym przed AIT a innymi parametrami ocenianymi w NAC lub EEC.

Podsumowanie: Kliniczne punkty końcowe oceniane podczas ekspozycji w EEC i NAC znacząco odpowiadają analizie skuteczności AIT za pomocą CSMS podczas okresu wysokiego narażenia na alergen i mogą stanowić alternatywę dla tradycyjnych projektów badań naukowych i klinicznych.

Analiza parametrów gospodarki lipidowej oraz ich związku z przebiegiem alergicznego nieżytu nosa u dzieci

AGNIESZKA KOWALCZYK, ANETA KROGULSKA

Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Słowa kluczowe: alergiczny nieżyt nosa, gospodarka lipidowa

Wstęp: Alergiczny nieżyt nosa (ANN) jest najczęstszą chorobą alergiczną na świecie, której częstość występowania sukcesywnie rośnie. W Europie ANN występuje u 23-30% populacji ogólnej, natomiast w Polsce choruje średnio co czwarte dziecko. Wykazano, że choroby alergiczne, w tym ANN mogą zwiększać ryzyko sercowo-naczyniowe. Z drugiej strony sugeruje się, że hipercholesterolemia może ukierunkowywać odpowiedź immunologiczną organizmu w kierunku Th2-zależnej, która jest charakterystyczna dla schorzeń alergicznych.

Cel: Analiza parametrów gospodarki lipidowej oraz ocena związku pomiędzy występowaniem zaburzeń gospodarki lipidowej a przebiegiem klinicznym ANN, profilem uczulenia, wartościami FeNO, nNO oraz występowaniem i stopniem nadreaktywności oskrzeli u dzieci z ANN.

Materiały i Metody: Do badania włączono 80 dzieci w wieku 7-17 lat chorujących na ANN, w tym 28 dzieci z współtowarzyszącą astmą, będących pod opieką Kliniki

Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM w Bydgoszczy oraz przyklinicznej Poradni Alergologicznej. Grupę kontrolną stanowiło 40 dzieci w podobnym wieku, bez objawów nieżyty nosa w wywiadzie. U pacjentów oceniano stężenie cholesterolu całkowitego, HDL, LDL oraz triglicerydów we krwi. Przeprowadzono także diagnostykę alergologiczną, w tym m.in. punktowe testy skórne, oznaczenie alergenowo swoistych IgE dla alergenów powietrzno pochodnych, pomiary FeNO, nNO oraz próbę prowokacji z metacholiną.

Wyniki: Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy oboma grupami w zakresie wartości cholesterolu całkowitego, LDL oraz triglicerydów ($p > 0,05$). U dzieci z ANN stwierdzono częstsze, w porównaniu z grupą kontrolną występowanie prawidłowych poziomów cholesterolu HDL ($n=70;87,5\%$ vs $n=27;67,50\%$; $p=0,03$). W grupie badanej nieprawidłowo wysokie wartości cholesterolu całkowitego wiązały się z częstszym uczuleniem na alergeny całoroczne: D. pteronyssinus, naskórek psa ($p=0,049$). Pacjenci z prawidłowymi wartościami triglicerydów rzadziej byli uczuleni na naskórek psa ($p=0,042$). Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy parametrami gospodarki lipidowej a natężeniem objawów ANN, poziomami FeNO i nNO oraz występowaniem nadreaktywności oskrzeli u dzieci z ANN ($p > 0,05$).

Podsumowanie: U dzieci z ANN nie stwierdzono częstszego niż w populacji ogólnej występowania dyslipidemii. Wykazano jednak, że zaburzenia gospodarki lipidowej u dzieci z ANN mogą predysponować do uczulenia na alergeny całoroczne.

Finansowanie: Grant w ramach Podstawowej Działalności Badawczej Katedry Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM UMK w Bydgoszczy.

Ocena przebiegu klinicznego alergicznego nieżytu nosa na podstawie analizy klasterowej u dzieci z województwa kujawsko-pomorskiego

AGNIESZKA KOWALCZYK, ANETA KROGULSKA

Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Słowa kluczowe: alergiczny nieżyt nosa, analiza klasterowa

Wstęp: Alergiczny nieżyt nosa (ANN) jest najczęstszą chorobą alergiczną na świecie, której częstość występowania sukcesywnie rośnie. Obraz ANN różni się u poszczególnych pacjentów, co wynika między innymi z odmiennego przebiegu klinicznego (okresowego lub przewlekłego), różnego profilu uczuleń na alergeny powietrzno pochodne oraz zróżnicowanego funkcjonowania pacjentów, zależnego od stopnia ciężkości choroby. Analiza klasterowa pozwala na zastosowanie zindywidualizowanego podejścia do postępowania z pacjentem, zarówno leczenia, jak i profilaktyki. Może także znaleźć zastosowanie w wyodrębnieniu pacjentów o cięższym przebiegu ANN i większym prawdopodobieństwie rozwoju astmy w przyszłości.

Cel: Wyodrębnienie i opis klasterów wśród dzieci z ANN na podstawie analizy czynników klinicznych i środowiskowych.

Materiały i Metody: Do badania włączono 80 dzieci w wieku 7-17 lat chorujących na ANN, w tym 28 dzieci z współtowarzyszącą astmą, będących pod opieką Kliniki Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM w Bydgosz-

czy oraz przyklinicznej Poradni Alergologicznej. Oceniono wpływ objawów ANN na codzienne funkcjonowanie badanych pacjentów oraz przeprowadzono diagnostykę alergologiczną, w tym m.in. przeprowadzono pomiary FeNO, nNO oraz próbę prowokacji z metacholiną. Oznaczono również parametry gospodarki lipidowej: stężenie cholesterolu całkowitego, HDL, LDL oraz triglicerydów.

Wyniki: Wśród badanych dzieci wyodrębniono 4 klasterzy pacjentów, różniące się między innymi przebiegiem ANN oraz częstością współwystępowania astmy. Większość dzieci z klasteru pierwszego ($n=28; 35,00\%$) i drugiego ($n=19; 23,75\%$) chorowała na przewlekły ANN, natomiast z klastera trzeciego ($n=15; 18,75\%$) i czwartego ($n=18; 22,50\%$) na okresowy ANN. W pierwszym klasterze istotnie statystycznie częściej niż w pozostałych trzech współwystępowała z ANN astma ($p=0,0002$), stwierdzano u pacjentów nadreaktywność oskrzeli ($p<0,001$) oraz podwyższone i wysokie wartości FeNO ($p<0,001$). Był to również klaster, w którym dzieci miały najwyższe spośród badanych wartości nNO ($p=0,045$). Pacjenci zakwalifikowani do klasteru trzeciego i czwartego zgłaszali mniejszy niż w pozostałych dwóch klasterach wpływ objawów ANN na codzienne funkcjonowanie. W klasterze pierwszym istotnie częściej stwierdzano nieprawidłowe stężenia cholesterolu całkowitego ($p=0,033$), a w czwartym nieprawidłowo wysokie wartości triglicerydów ($p=0,009$). Z kolei u dzieci z klastera drugiego istotnie rzadziej niż w pozostałych klasterach występowały nieprawidłowe stężenia LDL ($p=0,015$).

Podsumowanie: Dzieci z ANN z województwa kujawsko-pomorskiego stanowią heterogenną grupę pacjentów, różniącą się między innymi przebiegiem ANN i częstością współwystępowania astmy.

Finansowanie: Grant w ramach Podstawowej Działalności Badawczej Katedry Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM UMK w Bydgoszczy.

Odpowiedź komórkowa na archeony halofilne *Halorhabdus rudnickae* i *Natrinema salaciae* prezentowane przez komórki dendrytyczne osób zdrowych

KRZYSZTOF KRAWCZYK¹, CAMILLE LOCHT^{1,2},
DOROTA RYBACZEK³, PAULINA SICIŃSKA⁴,
MAGDALENA KOWALEWICZ-KULBAT¹

¹ Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237, Łódź

² CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR9017-CIIL-Center for Infection and Immunity of Lille, University Lille, CNRS, Inserm, F-59000, Lille, Francja

³ Katedra Cytofizjologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

⁴ Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Pomorska 141/143, 90-236, Łódź

Słowa kluczowe: halofile, cytokiny

Wstęp: Haloterapia to forma leczenia uzdrowiskowego wykorzystująca sól w różnych postaciach, stosowana u pacjentów z chorobami górnych dróg oddechowych m.in. astmą, mukowiscydozą czy przewlekłą obturacyjną chorobą płuc. Dotychczas pozostaje niezbadane, czy korzystne efekty terapeutyczne obserwowane u osób poddanych haloterapii są wynikiem oddziaływania jedynie bioaerozolu solnego, czy też istotną rolę mogą odgrywać archeony halofilne – drobnoustroje zdolne do życia w środowisku o wysokim stopniu zasolenia. Komórki dendrytyczne (KD) jako profesjonalne komórki prezentujące antygen wykazują zdolność do pobudzania limfocytów T dziewiczych i polaryzacji odpowiedzi odpornościowej. Interakcja KD z archeonami halofilnymi jest wciąż słabo poznana.

Cel: Celem pracy było sprawdzenie czy drobnoustroje halofilne (*Halorhabdus rudnickae* oraz *Natrinema salaciae*) są zdolne do pobudzania KD i wzbudzania odpowiedzi limfocytów T dziewiczych.

Materiały i Metody: KD pochodzenia monocytarnego izolowano z kożuszków leukocytarno-płytkowych zdrowych krwiodawców, a następnie stymulowano 24h żywą zawiesiną *Hrd. rudnickae* (szczep wyizolowany z obszaru poeksploatacyjnego Barycz należącego do Kopalni Soli w Wieliczce) oraz *N. salaciae* (szczep wyizolowany z Jeziora Medee w Basenie Morza Śródziemnego). W prezentowanej pracy oceniono: obecność drobnoustrojów wewnątrz KD, procent komórek wykazujących jedno- i dwu-niciowe pęknięcia DNA (metoda mikroskopowa), procent komórek w stanie apoptozy (cytometria przepływowa), ekspresję receptorów na powierzchni KD: CD86, CD80, CD83, CD40 (cytometria przepływowa) oraz profil produkowanych cytokin (IL-12p40, TNF-alfa, IL-10, IL-23). Oceniono także produkcję IL-13, IFN-gamma, IL-10 w ko-hodowlach KD stymulowanych halofilami z autologicznymi limfocytami dziewiczymi T CD4⁺.

Wyniki: Wykazano obecność archeonów halofilnych zarówno w jądrze komórkowym, jak i w cytoplazmie KD. W wyniku stymulacji KD szczepami halofilnymi nie zaobserwowano istotnego wzrostu procenta KD z jedno- i dwu-niciowymi pęknięciami DNA oraz wysokiego procenta komórek w stanie apoptozy, co świadczy o braku niekorzystnego wpływu badanych szczepów na funkcjonowaniu KD. Wykazano, iż KD stymulowane halofilami charakteryzowały się istotnie wyższą ekspresją receptorów powierzchniowych CD86, CD80 oraz CD83 oraz istotnie nasiloną produkcją cytokin (IL-12p40, TNF-alfa oraz IL-10). W przypadku ko-hodowli KD stymulowanych *Hrd. rudnickae* oraz *N. salaciae* z autologicznymi limfocytami dziewiczymi T CD4⁺ zaobserwowano istotnie wyższą produkcję IFN-gamma oraz IL-10, przy braku istotnych różnic w produkcji IL-13.

Podsumowanie: Uzyskane wyniki wskazują, iż archeony halofilne nie wpływają niekorzystnie na funkcjonowanie KD i stanowią bezpieczny stymulator dla tych komórek. Zaobserwowana zdolność archeonów halofilnych prezentowanych przez KD do pobudzania limfocytów T i indukowania zrównoważonej produkcji cytokin o profilu Th1/Th2 zachęca do kontynuowania badań pod kątem określenia w przyszłości właściwości immunomodulujących archeonów halofilnych i ich roli w przywracaniu zaburzonej równowagi odpornościowej.

Finansowanie: Grant NCN 2017/27/N/NZ6/02850.

Analiza wyników punktowych testów skórnych dla panelu ekstraktów alergenów w populacji pacjentów Ośrodka Diagnostyki i Leczenia Astmy i Alergii przy Centralnym Szpitalu Klinicznym UMed w Łodzi

MACIEJ KULMA, BARBARA MAJKOWSKA-WOJCIECHOWSKA, MARCIN KUROWSKI

Klinika Immunologii i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Słowa kluczowe: punktowe testy skórne, diagnostyka alergii

Cel: Celem badania była analiza częstości i dystrybucji uczuleń wobec panelu ekstraktów alergenów wziewnych pacjentów poradni alergologicznej, diagnozowanych w latach 2017-20.

Metody: W badaniach przeprowadzono retrospektywną analizę wyników SPT u 1711 pacjentów z lat 2017–2020. SPT wykonywano przy użyciu zestawu firmy *Allergopharma* dla ekstraktów alergenów wziewnych: *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, pyłku olszy, leszczyny, brzozy, traw (mix), żyta, bylicy, kota, psa, *Alternaria*. Analizowane dane objęły wiek, płęć, średnice bąbli w wynikach SPT. Profile uczuleń oceniano w populacji wszystkich badanych, a także w podgrupach, z podziałem na płęć i podgrupy wieku badanych. I podgrupa objęła dzieci przed okresem dojrzewania w wieku do 10 lat, do drugiej grupy zaliczono osoby w wieku >10-50 lat, a do trzeciej włączono pacjentów w okresie okołomenopauzalnym i starszych, w wieku 50+. Związki pomiędzy wynikami SPT, wiekiem i płęcią badanych osób oceniano po zredukowaniu liczby zmiennych

objaśnianych (czyli wartości średnic bąbli rejestrowanych w mm), za pomocą analizy czynnikowej do czterech czynników o cechach głównych składowych.

Wyniki: Do badania włączono 1711 osób. Średnia wieku uzyskana dla całej grupy badanej wyniosła $30,25 \pm 6,95$ (zakres wieku: 2,57 – 86,42). Rozkład płci wyglądał następująco: 49% (n=840) stanowiły osoby płci żeńskiej i 51% (n=871) płci męskiej. Średnie wieku dla grup osób płci męskiej/żeńskiej wyniosły odpowiednio: $27,90 \pm 6,35$ (zakres wieku: min.:2,92; max.: 86,42) i $32,69 \pm 17,2$ (zakres wieku: min.:2,57; max.: 77,97). Najwyższe częstości uczuleń uzyskano dla pyłku żyta, brzozy i tymotki: odpowiednio 57,22% i 47,34% 44,8%. Następnie olszy 41,32%, leszczyny 38,34% i bylicy 31,85%. Ekstrakty roztoczy *D.pt* i *D.f* i kota stanowiły 41,79%, 36,59%, 37,17%, *Alternaria* 15,72%, a pies 15,72%. Uczulenia monowalentne stwierdzono głównie wobec pyłku traw/zbóż dla 4,97% (n=55). Za pomocą analizy czynnikowej wyodrębniono cztery niezależne główne składowe. Stwierdzono, że średnice bąbli dla traw/zbóż i roztoczy są wyższe u mężczyzn ($p < 0,0001$). Dla wyróżnionych trzech kategorii wiekowych, dla drzew wykazano zależność między kolejnymi grupami wiekowymi. Istotne zróżnicowania wystąpiło między średnice bąbli drzew a I/II grupą wiekową ($p = 0,005$) oraz m. I i III grupą wiekową ($p < 0,0001$). Dla roztoczy największą średnicą bąbli stw. w kategorii wiekowej II. Była ona istotnie różna od kategorii I ($p = 0,0045$) i III ($p = 0,006$). Podobny schemat zróżnicowania wystąpił w czynniku IV pies/kot. Odpowiednio $p = 0,002$ i $p = 0,009$. W przypadku traw największa wartość średnicy bąbli była w kategorii II. Istotne różnice wystąpiły między kategorią I i II ($p = 0,0004$) oraz między II i III ($p = 0,00002$) i I i III ($p = 0,026$).

Wnioski: Dominowało uczulenie na ekstrakty pyłku traw/zbóż. Reaktywność na badane alergeny była wyższa u mężczyzn. W kategoriach wiekowych była najwyższa u osób między 10-50 rokiem życia.

Analiza mikrobioty jelit i skóry u niemowląt z alergią pokarmową i atopowym zapaleniem skóry

EWA ŁÓŚ- RYCHARSKA¹, MONIKA KWIATKOWSKA¹,
MARCIN GOŁĘBIEWSKI^{2,3}, MARCIN SIKORA^{2,3},
TOMASZ GRZYBOWSKI⁴, MARTA GORZKIEWICZ⁴,
MARIA POPIELARZ¹, JULIA GAWRYJOŁEK¹,
ANETA KROGULSKA¹

¹ Department of Pediatrics, Allergology and Gastroenterology, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, 87-100 Toruń, Poland

² Department of Plant Physiology and Biotechnology, Nicolaus Copernicus University in Torun, 87-100 Toruń, Poland

³ Interdisciplinary Centre of Modern Technologies, Nicolaus Copernicus University in Torun, 87-100 Toruń, Poland

⁴ Department of Forensic Medicine, Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, 87-100 Toruń, Poland

Słowa kluczowe: mikrobiota, dzieci, alergja pokarmowa, atopowe zapalenie skóry

Wstęp: Mikrobiota jelitowa u pacjentów z alergią pokarmową (AP) oraz mikrobiota skóry u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry (AZS) różni się od mikrobioty osób zdrowych.

Cel: Celem pracy była analiza mikrobioty jelit i skóry (alfa i beta-diversity, charakterystyka taksonomiczna) niemowląt z alergią (AP i/lub AZS) oraz zdrowych, a także ocena związku między mikrobiotą jelitową i skórną w zależności od stanu klinicznego.

Materiały i Metody: Do badania włączono 59 niemowląt z AP i/lub AZS oraz 28 niemowląt zdrowych w wieku 0-6 mż. Przeprowadzono jednoczesną analizę mikrobioty w dwóch kompartmentach (jelita i skóra). Mikrobiom zbadano za pomocą sekwencjonowania amplikonów genów V3-V4 16S rRNA.

Wyniki: Nie stwierdzono istotnych różnic alfa-diversity mikrobioty skóry i stolca między niemowlętami z alergią i bez alergii. Wykazano natomiast istotny związek beta-diversity z fenotypem alergii, szczególnie mikrobioty stolca. Fenotypy alergii były związane z charakterystycznymi taksonami bakteryjnymi w skórze i mikrobiocie jelit. Stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy mikrobiotą skóry i stolca w zakresie liczebności *Gemella* u niemowląt z alergią, oraz *Lactobacillus* i *Bacteroides* u niemowląt zdrowych.

Podsumowanie: Chociaż mikrobiota jelit i skóry niemowląt z wczesnymi objawami alergii wykazuje podobną różnorodność alfa jak u niemowląt zdrowych, to istnieją pewne różnice w zakresie beta-różnorodności i obfitości niektórych bakterii. Różnice te mogą zależeć od fenotypu alergii. Wykazano współwystępowanie gatunków bakterii w zakresie mikrobioty skóry i stolca. Współwystępowanie to może być różne u pacjentów z alergią i bez alergii.

Finansowanie: Grant OPUS NCN - Numer rejestracyjny 2017/25/B/NZ5/00141 4.

Zaburzona ekspresja TNF- α oraz IL-12 u pacjentów reumatologicznych – czy można winić *Bartonella* spp. za bóle mięśniowo-szkieletowe?

MONIKA E. ŁYSAKOWSKA¹, MAŁGORZATA SZYBKĄ¹,
OLGA BRZEZIŃSKA², SYLWIA MOSKWA¹,
MAGDALENA KONIECZKA¹, JOANNA MAKOWSKA²,
DOROTA PASTUSZAK-LEWANDOSKA¹

¹ Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

² Klinika Reumatologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

Słowa kluczowe: *Bartonella* spp., musculoskeletal symptoms, IL-12, TNF- α

Wstęp: Wśród bakterii z rodzaju *Bartonella* najbardziej znanym patogenem człowieka jest *B. henselae*, najczęściej powodująca chorobę kociego pazura (cat scratch disease, CSD) występującą z przewlekłą limfadenopatią, rzadziej innymi objawami np. infekcyjnym zapaleniem wsierdzia. Pozostałe gatunki mogą być odpowiedzialne min. za gorączkę okopową, angiomatozę bakteryjną, zapalenie wsierdzia. U osób immunokompetentnych te bakterie są usuwane z krążenia a infekcja ogranicza się do węzłów chłonnych. W takich przypadkach odpowiedź immunologiczna jest pośredniczona przez komórki Th1, a czynnik martwicy nowotworu (TNF)- α i interferon-(IFN)- γ odgrywają ważną rolę w zwalczaniu bakterii. Dostępnych jest niewiele danych dotyczących odpowiedzi immunologicznej przeciwko *Bartonella* spp. u osób z objawami ze strony układu mięśniowo-szkieletowego. Dlatego, aby lepiej zrozumieć przebieg zakażenia *Bartonella* spp. u pacjentów reumatologicznych, zbadano u nich ekspresję wybranych cytokin i czynników wzrostu.

Materiał i metody: Uczestnikami badania byli pacjenci Kliniki Reumatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (z niewyjaśnionymi objawami ze strony układu mięśniowo-szkieletowego, n=40) oraz grupa kontrolna złożona z honorowych dawców krwi (n=65). Od osób badanych pobrano próbki krwi do hodowli, badań PCR oraz immunofluorescencji pośredniej. Krew hodowano na podłożach wzbogaconych, a qPCR przeprowadzono na każdej próbce przed i po hodowli. Produkty sekwencjonowano (Hitachi/Applied Biosystems). Ilościowe reakcje RT-PCR określające ekspresję genów dla cytokin i czynników wzrostu przeprowadzono na termocyklerze CFX96 a względną ekspresję genów oznaczono ilościowo metodą porównawczego Ct ($\Delta\Delta Ct$) (geny znormalizowane względem GAPDH). Analiza statystyczna została przeprowadzona za pomocą Statistica v.13.1

Wyniki: DNA *Bartonella* spp. (*B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *B. henselae*) wykryto w 1 próbce od dawców krwi oraz u 6 pacjentów hospitalizowanych z powodu objawów reumatologicznych ($p = 0,007$). Między pacjentami, u których potwierdzono obecność DNA *Bartonella* spp. a pacjentami ujemnymi nie wykazano istotnych różnic w ekspresji genów dla katelicydyny, IL-2, IFN- γ , IL-4 IL-6. Ekspresja TNF- α różniła się istotnie pomiędzy grupami badanymi ($p = 0,0045$), podobnie jak ekspresja IL-12 ($p = 0,0255$). Niewiele jest danych literatury dotyczących ekspresji TNF- α i IL-12 u pacjentów z niewyjaśnionymi objawami reumatologicznymi. Stwierdzono, że niższa ekspresja mRNA TNF- α być związane z wyższymi poziomami bakteriemii w modelach zwierzęcych. W przypadku innych schorzeń, notowano znacznie wyższą ekspresję IL-12 w surowicy pacjentów z RZS w porównaniu z grupą kontrolną.

Podsumowanie: Wyniki badań wskazują na znaczenie gatunków *Bartonella* w powodowaniu zakażeń występujących z objawami bólów mięśniowo-szkieletowych oraz sugerują, że gatunki *Bartonella* mogą modulować odpowiedź immunologiczną u zakażonych gospodarzy.

Finansowanie: Grant 507/1-137-02/507-10-118.

Proteomiczno-metabolomiczna charakterystyka alergii na jady owadów błonkoskrzydłych

JOANNA MATYSIAK

Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Kaliska im. Prezydenta Stanisława Wojciechowskiego w Kaliszu, ul. Kaszubska 13, 62-800 Kalisz

Słowa kluczowe: błonkoskrzydłe, proteomika, metabolomika, biomarkery

Wstęp: Alergia na jad owadów błonkoskrzydłych jest jedną z najczęstszych przyczyn anafilaksji.

Dlatego odpowiednia diagnostyka, immunoterapia oraz zrozumienie mechanizmów odpowiedzi organizmu na użądlenie są bardzo istotne w praktyce alergologicznej.

Cel: Celem badań była charakterystyka pacjentów z alergią na jady owadów błonkoskrzydłych z wykorzystaniem rutynowo stosowanych metod diagnostycznych, jak również badań w oparciu o najnowsze osiągnięcia z dzie-

dziny proteomiki i metabolomiki.

Materiały i Metody: Próbkę surowicy pochodzące od osób z alergią na owady błonkoskrzydłe oraz osób zdrowych analizowano technikami spektrometrii mas: MALDI-TOF/TOF MS oraz LC-ESI-QQQ MS. Peptydy o najwyższych właściwościach dyskryminacyjnych poddano identyfikacji w oparciu o chromatografię cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS). Uzyskane dane poddano analizie chemometrycznej w celu stworzenia modeli dyskryminacyjnych. Analizowano zarówno związki małowcząsteczkowe (np. aminokwasy) jak również peptydy i białka.

Wyniki: Wykazano, że złożona strategia wykorzystująca metody spektrometrii mas, uzupełniona o kompleksowe dane kliniczne i wsparta wielowymiarowymi metodami statystycznymi nadaje się do charakterystyki alergii na jady owadów błonkoskrzydłych.

Podsumowanie: Zaproponowana metodologia może być potencjalnie wykorzystywana w poszukiwaniu wskaźników chorób alergicznych oraz w monitorowaniu postępów immunoterapii.

Ocena wpływu koronawirusa 229E na generację odpowiedzi zapalnej i przeciwwirusowej astmatycznych komórek śródbłonna naczyń płucnych człowieka

ANASTASIIA NOSULENKO^{1,2}, ROBERT SZEWCZYK²,
MAGDALENA CHMIELA¹, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI²

¹ Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej,
Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16,
90-273 Łódź

² Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet
Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251,
92-213 Łódź

Słowa kluczowe: koronawirus 229E, odpowiedź przeciwwirusowa, śródbłonek, astma

Wstęp: Astma jest jedną z najczęstszych chorób układu oddechowego. Ponadto, w patogenezie zaostrzeń astmy bardzo ważną rolę odgrywają wirusowe infekcje dróg oddechowych. Wynika to ze zmniejszonej zdolności komórek pacjentów z astmą do odpowiedzi przeciwwirusowej, a co za tym idzie, zwiększonej podatności na infekcje. Nie wiadomo jednak, czy śródbłonek chorych na astmę również wykazuje zredukowane mechanizmy przeciwwirusowe w odpowiedzi na koronawirusy o niskiej chorobotwórczości, zwłaszcza ludzkiego koronawirusa 229E (HCoV-229E).

Cel: Celem badania jest ocena zdolności komórek śródbłonna naczyń płucnych pochodzących od pacjenta ze stwierdzoną astmą do generowania zapalnej i przeciwwirusowej odpowiedzi podczas infekcji ludzkim Koronawirusem 229E *in vitro*.

Materiały i Metody: W pierwszym etapie komórki śródbłonna naczyń płucnych wyizolowane od pacjenta

z astmą oskrzelową (HMVEC-AS) (Lonza) wysiano na płytke 24-studzienkową w gęstości 2×10^5 /studzienkę. Po uzyskaniu jednolitej warstwy, HMVEC-AS inkubowano przez 3 godziny z HCoV-229E w dawkach zakaźnych: MOI 0,1; MOI 1,0 i MOI 3,0 (MOI-Multiplicity of infection - the ratio of the number of viral particles to the number of target cell cells). W zaplanowanych punktach czasowych (24, 48, 72 i 96 godzin po zakażeniu), lizaty komórkowe i supernatanty (SN) zebrano w celu izolacji mRNA i detekcji białka. Następnie przeprowadzono odwrotną transkrypcję i uzyskanie cDNA. Stosując technikę PCR w czasie rzeczywistym, oceniano ekspresję mRNA dla RANTES, IFN- β , IL-6, IL-8, OAS-1, PKR i MX1 i liczbę kopii wirusa. Do pomiaru stężenia białka w SN użyto testu ELISA. Efekt cytopatyczny (CPE) oceniano za pomocą mikroskopu świetlnego z odwróconym polem widzenia.

Wyniki: W komórkach HMVEC-AS, inkubowanych z HCoV-229E, w 48h po infekcji wykryto kopie wirusa $2,0 \times 10^4$; $3,14 \times 10^5$; $2,11 \times 10^6$ kopii/ul, $p < 0,05$ (odpowiednio: MOI 0,1; 1,0; 3,0). Efekt cytopatyczny wirusa w 48h zaobserwowano tylko dla dawki MOI 3,0 HCoV-229E. Ocena ekspresji mRNA dla przeciwwirusowych IFN- β oraz IFN-zależnych mechanizmów: OAS-1, PKR i MX-1 wykazała znaczny wzrost dopiero po 72 godzinach w komórkach poddanych infekcji dawką MOI 3,0 (odpowiednio 8,6-; 18-; 10- i 999-krotny wzrost). Ponadto wykryto 16- i 202-krotne zwiększenie ekspresji mRNA dla RANTES i IL-6. Dodatkowo ekspresji mRNA IL-6 towarzyszyło uwalnianie białka (1319 pg/ml) w tym samym punkcie czasowym.

Podsumowanie: Komórki HMVEC-AS zakażone HCoV-229E są zdolne do generowania późnej i prawdopodobnie nieskutecznej odpowiedzi przeciwwirusowej. Intensywna indukcja cytokin prozapalnych i przeciwwirusowych wystąpiła w późnym punkcie czasowym po zakażeniu, co może być przyczyną masywnego efektu cytopatycznego i główną cechą śródbłonna u pacjentów z astmą oskrzelową.

Określenie profilu cytokin zaangażowanych w szlak odpowiedzi immunologicznej komórek T pomocniczych typu 17 u dzieci (0-5 lat) z przewlekłymi objawami atopowego zapalenia skóry i alergią na pokarmy

KACPER PACKI¹⁺, JOANNA MATYSIAK²⁺,
SYLWIA KLIMCZAK^{3,4}, ELIZA MATUSZEWSKA¹,
ANNA BRĘBOROWICZ⁵, DAGMARA PIETKIEWICZ¹,
JAN MATYSIAK¹

- ¹ Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań
 - ² Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Kaliska, ul. Kaszubska 13, 62-800 Kalisz;
 - ³ AllerGen, Centrum Medycyny Spersonalizowanej, ul. Słowackiego 1, 97-300 Piotrków Trybunalski
 - ⁴ Zakład Biochemii Kwasów Nukleinowych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź
 - ⁵ Klinika Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej; Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań
- ⁺ Kacper Packi i Joanna Matysiak w równym stopniu przyczynili się do powstania tej pracy

Słowa kluczowe: cytokiny Th17, alergia pokarmowa

Wstęp: Chorzy z alergią na pokarmy stanowią heterogenną grupę. Zróżnicowane są przyczyny objawów, patogeneza i obraz kliniczny. Podstawą podejrzenia alergii pokarmowej (AP) jest wywiad, tylko część objawów można ocenić obiektywnie w oparciu o badanie przedmiotowe, testy *in vitro* i *in vivo* weryfikują IgE zależny mechanizm nadwrażliwości, ale nie ma między nimi pełnej korelacji; niedostępne są metody laboratoryjnej weryfikacji alergii niezależnej od IgE. Brak precyzyjnych metod diagnostycznych uniemożliwia personalizację zaleceń terapeutycznych. Tych problemów nie rozwiązują także stosowane od kilku lat nowe systemy diagnostyczne oparte na diagnostyce molekularnej. Wciąż zauważalna jest potrzeba wprowadzenia nowych markerów diagnostycznych oraz poszukiwania skutecznych celów terapeutycznych. Jednym z głównych czynników ryzyka rozwoju AP jest atopowe zapalenie skóry (AZS). AZS jest zazwyczaj uznawane za paradygmat choroby alergicznej, w której pośredniczą limfocyty Th2 i Th1. Natomiast ostatnie odkrycia naukowe sugerują, również udział komórek T pomocniczych typu 17 (Th17) w patogenezie alergii i AZS.

Cel: Celem badania było oznaczenie stężenia cytokin prozapalnych zaangażowanych w szlak odpowiedzi immunologicznej komórek T pomocniczych typu 17 w surowicy atopowych dzieci z IgE-zależną oraz IgE-niezależną AP. Cytokiny będąc ważnymi mediatorami odporności stanowią obiecujący cel terapeutyczny oraz mogą być rozważane w kontekście potencjalnych czynników prognostycznych.

Materiały i Metody: Do badania włączono 76 dzieci (0-5 lat) z przewlekłymi objawami AZS. Dodatkowo u części pacjentów wystąpiły ostre objawy po ekspozycji na pokarmy pod postacią pokrzywki, obrzęku naczyńioruchowego i/lub anafilaksji. Na podstawie historii choroby, objawów oraz wyników molekularnego badania ALEX2 pacjenci zostali przydzieleni do odpowiedniej grupy: IgE-zależna AP; IgE-niezależna AP; grupa kontrolna (brak AP). Surowice pacjentów zostały poddane badaniu Bio-Plex Pro Human Cytokine Assay. Nowatorska technologia Luminex/XMAP, umożliwiła jednoczesne oznaczenie stężenia 15 cytokin w jednym eksperymencie. Otrzymane dane poddano analizie statystycznej wykorzystując test Kruskala Wallisa, ANOVA oraz krzywe ROC ($p < 0.05$).

Wyniki: Stężenie cytokin zapalnych w surowicy pacjentów z IgE-zależną AP było zwiększone w porównaniu z pozostałymi grupami. Różnica była istotna statystycznie dla IL-1b. W grupie pacjentów z IgE-niezależną AP ekspresja większości cytokin była obniżona porównując z grupą kontrolną i uczestnikami z alergią zależną od IgE. Zgodnie z krzywymi ROC, interleukina 1 beta może być rozważana jako potencjalny czynnik predykcyjny IgE-zależnej AP u małych dzieci z przewlekłymi objawami AZS (AUC~0.7; $p < 0.05$).

Podsumowanie: Nasze wyniki sugerują, że występowanie IgE-zależnej alergii pokarmowej znacząco wpływa na profil cytokin zaangażowanych w szlak odpowiedzi immunologicznej komórek Th17 u pacjentów z przewlekłymi objawami AZS, zwiększając ich ekspresję. Cytokiny te mogą brać udział w patogenezie IgE-zależnej AP. Podwyższone stężenie IL-1 beta w surowicy może być predyktorem alergii pokarmowej w przebiegu AZS. Interleukinę 1beta należy, również uznać za potencjalny cel terapeutyczny. IL-1RA może blokować wiązanie IL-1 beta z receptorem, hamując kaskadę immunologiczną, związaną z odpowiedzią limfocytów Th17. Wymagane są dalsze, zawansowane badania na poziomie proteomicznym, aby potwierdzić nasze założenia. Z pewnością otrzymane dane rzucają nowe światło na rolę i zaangażowanie cytokin prozapalnych w reakcję alergiczną i odpowiedź immunologiczną organizmu w przebiegu AZS.

Finansowanie: Badanie finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, numer grantu DWD/3/10/2019.

Przeciwmiażdżycowe właściwości inhibitorów SGLT2

AGNIESZKA PAWŁOS, MARLENA BRONCEL,
EWELINA WOŹNIAK, PAULINA GORZELAK-PABIŚ

Klinika Chorób Wewnętrznych i Farmakologii
Klinicznej UM, Laboratorium
Immunofarmakologii Tkankowej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Słowa kluczowe: SGLT2i, miażdżycy, proces zapalny

Wstęp: Obecne podejście do leczenia cukrzycy nie koncentruje się już tylko na obniżeniu poziomu glukozy, ale również na plejotropowych działaniach leków hipoglikemizujących, które istotnie poprawiają rokowanie pacjentów chorujących na cukrzycę. Fozyny to leki hipoglikemizujące, które zmniejszają ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych u pacjentów z cukrzycą typu II. Tak ogromne korzyści nie mogą wynikać tylko z obniżenia poziomu glukozy we krwi, a dokładny mechanizm nie jest w pełni poznany. W naszym badaniu chcemy lepiej poznać mechanizmy ateroprotekcyjne tych leków.

Cel: Badanie ma na celu porównanie wpływu trzech inhibitorów SGLT2 (empagliflozyny, kanagliflozyny, dapagliflozyny) na wybrane parametry biorące udział w patogenezie miażdżycy.

Materiały i Metody: Badanie zostało wykonane w modelu komórkowym *in vitro*. Komórki śródbłonka (HUVECs) były preinkubowane z 25-hydroksycholesterolem przez 4 godziny. Następnie, po usunięciu 25-hydroksycholesterolu komórki zostały poddane 24-godzinnej inkubacji z empagliflozyną (1 μ M), kanagliflozyną (1 μ M) lub dapagliflozyną (1 μ M). Następnie została oceniona integralność komórek śródbłonka w systemie xCELLigence i ekspresja mRNA IL-6 i MCP-1.

Wyniki: 25-hydroksycholesterol istotnie obniżył integralność komórek śródbłonka i zwiększył ekspresję mRNA IL-6 i MCP-1 w porównaniu z pożywką kontrolną. Następująca inkubacja komórek HUVEC z empagliflozyną (1 μ M), kanagliflozyną (1 μ M) lub dapagliflozyną (1 μ M) znacząco złagodziła szkodliwy wpływ 25-hydroksycholesterolu na integralność bariery śródbłonkowej po 24 godzinach w systemie xCELLigence. Inkubacja komórek z inhibitorami SGLT2 spowodowała obniżenie ekspresji mRNA IL-6 i MCP-1 w real-time PCR w porównaniu do 25-hydroksycholesterolu.

Podsumowanie: 25-hydroksycholesterol upośledza funkcje barierowe komórek śródbłonka i wywołuje w nich odpowiedź zapalną. Inhibitory SGLT2 wykazują działanie ateroprotekcyjne, które polega na poprawianiu funkcji barierowych komórek śródbłonka uszkodzonych przez 25-hydroksycholesterol wraz z towarzyszącym łagodzeniem odpowiedzi zapalnej.

Zespół Schwartz-Battera w przebiegu COVID-19

KRZYSZTOF ŁUKASZ PIWOWAREK¹, WERONIKA URBAŃSKA¹,
EWELINA GULAS¹, ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI¹,
ANNA RAPIEJKO²

¹ Klinika Chorób Infekcyjnych i Alergologii
Wojskowego Instytut Medycznego,
ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa.

² Studenckie Koło Naukowe „Alergen”
przy Klinice Chorób Infekcyjnych
i Alergologii Wojskowego Instytutu
Medycznego, ul. Szaserów 128,
04-141 Warszawa.

Słowa kluczowe: COVID-19, SIADH, zapalenie płuc

Wstęp: Zespół Schwartz-Battera, określany inaczej jako SIADH (ang. *syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion*), jest chorobą wywołaną niedakwatnym bądź ektopowym wydzielaniem wazopresyny. Do przyczyn tego zespołu zalicza się między innymi choroby płuc, w tym ich zapalenie.

Cel: Celem pracy jest przedstawienie przypadku 68-letniego chorego hospitalizowanego z powodu COVID-19 w Klinice Chorób Infekcyjnych i Alergologii WIM.

Opis przypadku: Pacjent został przyjęty do Kliniki z powodu narastających objawów niewydolności oddechowej ze spadkami saturacji krwi tętniczej do 84% w przebiegu śródmiąższowego zapalenia płuc. Badanie genetyczne potwierdziło obecność SARS-CoV-2. W leczeniu zastosowano remdesiwir, deksametazon, osocze ozdrowieńców, enoksaparynę, tocylizumab, tlenoterapię bierną, a także antybiotykoterapię – początkowo ceftazydym, a następnie piperacylinę z tazobaktamem. Uzyskano poprawę stanu ogólnego, ustąpienie dolegliwości i normalizację wydolności oddechowej. Mimo suplementacji sodu utrzymywała się jednak hiponatremia, a ponadto wystąpiła poliuria do 10 litrów na dobę. Po przeprowadzeniu diagnostyki, w tym badań hormonalnych oraz jonowych krwi i moczu, rozpoznano zespół Schwartz-Battera i włączono skuteczne leczenie – hydrochlorotiazyd i indometacynę.

Dyskusja: Wysokie stężenie cytokin prozapalnych oraz związana z nim hipoksja w przebiegu COVID-19 mogą prowadzić do nieadekwatnego wydzielania hormonu antydiuretycznego poprzez mechanizm nieosmotyczny. Dodatkowo wydaje się, że obniżony przepływ przez krążenie płucne może dodatkowo stymulować wydzielanie wazopresyny. Pewną rolę może odgrywać również związana ze stresem i napięciem emocjonalnym aktywacja osi podwzgórzowo-przysadkowej.

Zespół DRESS u 7-letniego chłopca – case report

MONIKA PRYLIŃSKA-JAŚKOWIAK, ANETA KROGULSKA

Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Słowa kluczowe: DRESS, nadwrażliwość na leki, gorączka, wysypka

Wstęp: Zespół DRESS (*drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms*) to ciężka reakcja nadwrażliwości indukowanej lekami. Występuje zarówno u dorosłych, jak i u dzieci, z równą częstością u obu płci. Objawy pojawiają się od 2 do 8 tygodni po kontakcie z lekiem i obejmują gorączkę powyżej 38,5° C, wysypkę, limfadenopatię, zajęcie narządów wewnętrznych oraz eozynofilię ($\geq 1500/\mu\text{l}$ lub $\geq 20\%$). Rozpoznanie DRESS jest trudne z uwagi na niespecyficzny charakter objawów oraz bezobjawowy początek choroby. Opóźnione rozpoznanie oraz wdrożenie leczenia, może zagrażać życiu pacjenta.

Cel: Przedstawienie opisu przypadku 7-letniego chłopca, leczonego w Klinice Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM w Bydgoszczy, z powodu zespołu DRESS wywołanego wankomycyną.

Opis przypadku: 7-letni chłopiec (M.C.), został skierowany do Kliniki, z powodu gorączki i wysypki. Trzy tygodnie wcześniej był leczony w Oddziale Chirurgii Dziecięcej z powodu zapalenia wyrostka robaczkowego, powikłanego zapaleniem otrzewnej. W leczeniu stosowano m.in. antybiotykoterapię parenteralną, w tym wankomycynę.

Z wywiadu wiadomo, że chłopiec był dotychczas zdrowy, nie prezentował wcześniej objawów alergicznych. Przy przyjęciu do Kliniki chłopiec był w stanie ogólnym dość dobrym. Z odchyień w badaniu fizykalnym stwierdzono bliznę pooperacyjną w obrębie brzucha, zaopatrzoną szwami oraz wysypkę plamisto-grudkową zlokalizowaną na całym ciele, najbardziej nasiloną na twarzy, z towarzyszącym nieznacznym świądem. W badaniach laboratoryjnych wykazano eozynofilię (21%) oraz podwyższone wykładniki stanu zapalnego (CRP 67,5 mg/l). Wysypka miała tendencję do okresowego błędnięcia, zlewania się, a ponadto obserwowano charakterystyczny objaw tarczy strzelniczej. W miejscu wkłuc dożylnych pojawiały się wybroczyny. Wysłunięto podejrzenie zespołu DRESS. Początkowo w leczeniu zastosowano rupatadynę oraz jednorazowo hydrokortyzon. Z uwagi na nasilenie się wysypki oraz pojawienie się obrzęku tkanki podskórnej w obrębie najbardziej nasilonych zmian, do leczenia włączono cefuroksym oraz leki przeciwgorączkowe. W kolejnych dobach hospitalizacji zaobserwowano powiększenie obwodu brzucha, a w echokardiografii stwierdzono obecność płynu w worku osierdziowym. Na podstawie całokształtu obrazu klinicznego oraz obowiązujących kryteriów (RegiSCAR) rozpoznano zespół DRESS i rozpoczęto leczenie systemową sterydoterapią, obserwując znaczną poprawę stanu klinicznego i normalizację parametrów laboratoryjnych.

Podsumowanie: Warto pamiętać, by w diagnostyce różnicowej zespołów chorobowych przebiegających z gorączką i wysypką u dzieci, leczonych wcześniej lekami przeciwdrgawkowymi lub antybiotykami, uwzględniać zespół DRESS. Szybkie rozpoznanie i leczenie jest niezwykle istotne, ponieważ choroba potencjalnie zagraża życiu pacjenta.

Ocena wiedzy studentów kierunków medycznych na temat anafilaksji

ANNA RAPIEJKO¹, JAKUB CHODKOWSKI¹,
WERONIKA URBAŃSKA², EWELINA GULAS²,
KRZYSZTOF ŁUKASZ PIWOWAREK²,
ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI²

- ¹ Studenckie Koło Naukowe „Alergen” przy Klinice Chorób Infekcyjnych i Alergologii Wojskowego Instytutu Medycznego, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa.
² Klinika Chorób Infekcyjnych i Alergologii Wojskowego Instytutu Medycznego, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa.

Słowa kluczowe: anafilaksja, edukacja

Wstęp: Wiedza i praktyczne umiejętności rozpoznawania oraz leczenia anafilaksji stanowią kluczowy element kształcenia kadr medycznych z uwagi na powszechność tej jednostki chorobowej, a także krytycznie wąskie okno terapeutyczne.

Cel: Głównym celem pracy była ocena studentów kierunków medycznych w obszarze wiedzy podstawowej

oraz zasad postępowania w anafilaksji i wstrząsie anafilaktycznym. Celem dodatkowym było określenie samooceny badanej populacji w wyżej wymienionym zakresie.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono na grupie 252 studentów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wykorzystaniem anonimowej ankiety internetowej utworzonej na potrzeby projektu.

Wyniki: Zdecydowana większość uczestników badania poprawnie określiła definicję anafilaksji, jej potencjalne przyczyny i objawy (odpowiednio 86,5%, 75,4% i 100%). Podobnie większość studentów prawidłowo wskazała sekwencję postępowania w anafilaksji, a także lek pierwszego rzutu i drogę jego podania (kolejno 90,5%, 97,2% i 98%). Z drugiej strony, jedynie 12% uczestników uznało, że jest całkowicie pewna swoich umiejętności postępowania w anafilaksji, zaś aż 52% poważnie w nie wątpi. Zdecydowana większość badanych wskazała na konieczność zwiększenia liczby zajęć praktycznych w tym zakresie.

Podsumowanie: Choć stan wiedzy teoretycznej studentów kierunków medycznych wydaje się pozostawać na wysokim poziomie, to uwagę zwraca konieczność zwiększenia w toku studiów nacisku na praktyczne umiejętności diagnozowania i leczenia anafilaksji.

Dobra tolerancja jaja kurzego w postaci wypieku u chłopca z uczuleniem na owomukoid – opis przypadku

JUSTYNA STAMPOR-BEDNARSKA, JULIA GAWRYJOŁEK,
ANETA KROGULSKA

Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Słowa kluczowe: dzieci, alergia pokarmowa na jajo kurze, owomukoid, sIgE, Gal, uczulenie, doustna próba prowokacji

Wstęp: Alergia na jajo kurze jest jedną z kluczowych postaci alergii na pokarmy u dzieci. Ponad 70% dzieci toleruje jajo kurze w postaci wypieku. Najlepszym markerem alergii na jajo kurze jest Gal d 1. Im wyższe stężenie sIgE dla ekstraktu białka jaja, bądź dla Gal d 1, tym wyższe ryzyko wystąpienia alergii na jajo kurze, bez określenia stopnia jej ciężkości.

Cel: Przedstawienie opisu 4-letniego chłopca z AZS, ANN, astmą i „alergią na jajo kurze”.

Opis przypadku: 4-letni chłopiec (R.D.) z AZS, ANN i astmą został skierowany do Kliniki celem weryfikacji alergii na jajo kurze. Z wywiadu wiadomo, że w 1. r.ż. u dziecka rozpoznano AZS o ciężkim przebiegu; od 6. do 12. miesiąca życia chłopiec leczony był doustnie cyklosporyną. Ze względu na uzyskane wyniki badań – wysokie stężenie sIgE dla białka jaja kurzego (owomukoid sIgE 31,5 kU/l; owoalbumina 35,88 kU/l; owotransferyna 28,88kU/l; lizo-

zym 42,88kU/l) i orzeszków ziemnych (Ara h 2 16 kU/l) rozpoznano alergię na jajo kurze i orzeszki ziemne oraz zalecono dietę eliminacyjną. Ponadto wobec zaobserwowania pogorszenia się zmian skórnych po podaniu mleka, w 1 r.ż. stosowano dietę bezmleczną. Począwszy od 2r.ż. wprowadzono mleko z dobrą tolerancją. Do chwili obecnej chłopiec pozostaje na diecie z eliminacją jaja i orzeszków ziemnych (brak ekspozycji nawet na śladowe ilości alergenów). Ponadto wiadomo, że w 2 r.ż. u chłopca rozpoznano astmę i ANN (objawy sezonowe, w okresie pylenia drzew). Wywiad rodzinny – astma i ANN u matki. W chwili przyjęcia do Kliniki stan pacjenta był dobry, z odchyień od normy stwierdzono jedynie suchość skóry. Celem weryfikacji rozpoznania alergii na jajo kurze oceniono sIgE dla ekstraktu jaja, które wynosiło 1,1 kU/l, a w teście ISAC wykazano obesność sIgE dla Gal d 1 w stężeniu 4,5 ISU-E i Gal d 2 w stężeniu 1,8 ISU-E.

Dyskusja: Przeprowadzono doustną prowokację metodą otwartą z jajem wypiekany w temperaturze 180 °C, nie stwierdzając żadnych objawów alergii (próba negatywna). Rozpoznano tolerancję wypiekanego jaja, wobec czego zalecono pacjentowi dalsze regularne spożywanie jaja w formie wypieku. Celem weryfikacji potencjalnej alergii na jajo surowe zaplanowano w kolejnym etapie doustną próbę prowokacji z jajkiem nieprzetworzonym.

Podsumowanie: Powyższy przykład potwierdza kluczowe znaczenie doustnej prowokacji w diagnostyce alergii pokarmowej, nawet w przypadku pacjentów z wysokimi stężeniami sIgE dla alergenów pokarmowych. Wysokie stężenie sIgE dla Gal d 2 (alergenu termostabilnego), bez typowych objawów IgE-zależnej alergii pokarmowej, nie zawsze jest markerem występowania alergii na jajo wypiekane.

Mysi model atopowego zapalenia skóry – wyzwania związane z walidacją eksperymentalnego modelu zwierzęcego

ALEKSANDRA TARASIUK, MARCIN TALAR, MACIEJ SALAGA, JAKUB FICHNA

Katedra Chemii i Biochemii Medycznej, Zakład Biochemii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Mazowiecka 6/8, 92-215 Łódź

Słowa kluczowe: AZS, mysy model AZS

Wstęp: Możliwości określenia mechanizmów związanych z rozwojem atopowego zapalenia skóry (AZS) na podstawie obserwacji klinicznych u ludzi, zwłaszcza we wczesnych jego etapach, są znacząco ograniczone. Dlatego też eksperymentalne modele AZS są ważnym i użytecznym narzędziem pozwalającym na zdobycie wiedzy o etiopatogenezie AZS, a także umożliwiającym opracowanie nowych sposobów leczenia.

Cel: Celem badania była walidacja mysiego modelu AZS.

Materiały i Metody: Badanie przeprowadzono na samcach myszy C57BL/6 (8-12 tygodni). Indukcja AZS polegała

na aplikowaniu na ogoloną skórę karku myszy alergenu – owoalbuminy (OVA) w dawce 1 ug/uL przez okres 63 dni. Po tym czasie myszy poddano eutanazji, pobrano krew, skórę, śledzionę i węzły chłonne, a następnie zmierzono ekspresję wybranych markerów AZS (qPCR, ELISA) oraz przeprowadzono ocenę histopatologiczną skóry myszy (barwienie H&E). Doświadczenia wykonano po uzyskaniu zgody wydanej przez Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Łodzi (nr 49/ŁB 216/2021).

Wyniki: W skórze myszy z AZS wywołanym OVA zauważono zwiększoną ekspresję interleukiny 1 β i TNF-alfa. Ponadto, obraz histopatologiczny skóry myszy z grupy badanej pozwolił zaobserwować hiperplazję naskórka oraz nacieki komórkami układu immunologicznego – neutrofilami.

Podsumowanie: W wyniku badań otrzymano model AZS indukowany roztworem OVA u myszy, który w przyszłości posłuży do testowania nowych substancji łagodzących objawy tej choroby.

Finansowanie: Projekt „Free Fatty Acid receptors (FFAs) as a new pharmacological target in inflammatory bowel disease: validation of hypothesis and design of novel drug candidates” (nr POIR.04.04.00-00-420C/17-02) jest realizowany w ramach programu TEAM Fundacji na rzecz Nauki Polskiej współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Udział komponentów bakteryjnych *Helicobacter pylori* w rozwoju wczesnych zmian promiażdżycowych w obszarze śródbłonka naczyniowego

AGATA TOMASZEWSKA^{1,2}, WERONIKA GONCIARZ¹,
MAGDALENA CHMIELA¹, AGNIESZKA KRUPA¹

¹ Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

² Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Słowa kluczowe: *Helicobacter pylori*, miażdżyca

Wstęp: Miażdżyca jest jedną z najczęstszych chorób cywilizacyjnych XXI wieku. Jednym z ważniejszych czynników ryzyka rozwoju miażdżycy jest stan zapalny w obrębie śródbłonka naczyniowego oraz zaburzenia metabolizmu lipidów rozwijające się w organizmie. Ostatnio coraz częściej sugerowany jest udział czynników zakaźnych wywołujących przewlekły stan zapalny organizmu w progresji wczesnych zmian promiażdżycowych. Do wczesnych zmian promiażdżycowych zaliczane są między innymi: nasilenie stresu oksydacyjnego w śródbłonku naczyniowym prowadzące do peroksydacji lipidów, transformacja makrofagów do komórek piankowatych, będących głównym składnikiem blaszek miażdżycowych, oraz niealkoholowe stłuszczenie wątroby.

Cel: Charakterystyka wczesnych zmian promiażdżycowych indukowanych w obszarze śródbłonka naczyniowego przez komponenty bakteryjne *H. pylori*.

Materiały i Metody: Do badań wykorzystano dwie linie komórkowe: HMEC-1 (ludzkie komórki śródbłonka naczyniowego) oraz THP1 (monocyty ludzkie). Komórki HMEC-

1 eksponowano na działanie lipopolisacharydu *H. pylori* i 7-ketocholesterolu, a następnie oceniano pod kątem obecności stresu oksydacyjnego. Monocyty ludzkie przekształcono w makrofagi przy pomocy PMA i stymulowano analogicznie do komórek HMEC-1. Następnie w celu określenia odsetka powstałych komórek piankowatych, komórki wybarwiano przy pomocy hematoksyliny oraz czerwieni oleistej i obrazowano w mikroskopie świetlnym. Dodatkowo w badaniach wykorzystano fragmenty aort oraz wątroby pochodzące od kawii domowych zakażonych *H. pylori* karmionych paszą normalną lub wysokotłuszczową. Skrawki aorty po barwieniu immunohistochemicznym oceniono pod względem obecności stresu oksydacyjnego, a wątroby po wybarwieniu hematoksyliną i eozyną ocenione zostały pod kątem występowania oznak stłuszczenia wątroby.

Wyniki: Przeprowadzone badania wykazały wzrost stresu oksydacyjnego w komórkach śródbłonka naczyniowego w odpowiedzi na stymulację lipopolisacharydem *H. pylori* oraz 7-ketocholesterolem. Barwienie wykonane *ex vivo* na skrawkach tkanki aortalnej kawii domowych potwierdziło te obserwacje, wskazując na występowanie najsilniejszego stresu oksydacyjnego u zwierząt zakażonych *H. pylori* karmionych paszą wysokotłuszczową. Dodatkowo komponenty *H. pylori* w połączeniu z 7-ketocholesterolem silnie stymulowały makrofagi do transformacji w komórki piankowate. Ocena histopatologiczna tkanek wątroby zwierząt wykazała stłuszczenie w większości wielkokropelkowe występujące wokół naczyń u zakażonych *H. pylori* zwierząt eksponowanych na dietę wysokotłuszczową.

Podsumowanie: Śródbłonek naczyniowy eksponowany na LPS *H. pylori* oraz oksydowane sterole rozwija silny stres oksydacyjny prowadzący do rozwoju wczesnych zmian promiażdżycowych. Co więcej nasilenie transformacji makrofagów w komórki piankowate indukowany czynnikami bakteryjnymi *H. pylori* intensyfikuje rozrost blaszki miażdżycowej.

Ocena rezydujących w płucach komórek mezenchymalnych i progenitorowych w eksperymentalnym modelu astmy eozynofilowej i neutrofilowej

ALICJA WALEWSKA¹, MARLENA TYNECKA¹,
MARCIN MONIUSZKO^{1,2}, ANDRZEJ ELJASZEWICZ¹

¹ Zakład Medycyny Regeneracyjnej i Immunoregulacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polska

² Klinika Alergologii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polska

Słowa kluczowe: astma neutrofilowa, astma eozynofilowa, rezydujące w płucach komórki mezenchymalne i progenitorowe

Wstęp: Niekontrolowane lub słabo kontrolowane zapalenie w obrębie dolnych dróg oddechowych prowadzi do uszkodzenia tkanki płucnej. W konsekwencji indukowane są procesy naprawy, które mogą doprowadzić do powstania nieodwracalnych zmian strukturalnych. Mechanizmy kontrolujące procesy aranżacji dolnych dróg oddechowych nie zostały w wystarczający sposób poznane i opisane. Dotyczy to również roli jaką pełnią w tym procesie komórki macierzyste i progenitorowe rezydujące w obrębie płuc.

Cel: Ocena wpływu zapalenia z przewagą nacieku neutrofilowego lub eozynofilowego na liczebność i heterogenność rezydujących w płucach komórek macierzystych i progenitorowych.

Materiały i Metody: Myszy szczepu C57BL6/cmdb otrzymywały przez nosowo ekstrakt roztocza kurzu domowego. Liczbę rezydujących w płucach mezenchymalnych komórek macierzystych, endotelialnych komórek progenitorowych, komórek endotelialnych oraz fibroblastów oceniano z wykorzystaniem wielokolorowej cytometrii przepływowej po uprzedniej dysocjacji płuc z wykorzystaniem systemu GentleMacs. Analizę uzyskanych danych wykonano przy użyciu oprogramowania FlowJo. Wykorzystano metodę klasycznego bramkowania oraz analizę z użyciem algorytmu tSNE. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie GraphPadPrism testem Mann-Whitney'a.

Wyniki: Wykazano istotny statystycznie ($p < 0,05$) spadek liczby rezydujących w płucach mezenchymalnych komórek macierzystych w modelu astmy neutrofilowej. Przy czym liczba rezydujących w płucach fibroblastów w obu modelach istotnie statystycznie ($p < 0,01$) wzrosła. Nie zaobserwowano natomiast istotnych zmian w liczbie rezydujących w płucach endotelialnych komórek progenitorowych i komórek endotelialnych. Dodatkowo dzięki zastosowaniu algorytmu tSNE wykazano zwiększoną heterogenność w obrębie subpopulacji IrMSC zarówno w modelu astmy neutrofilowej oraz eozynofilowej.

Podsumowania: Zapalenie astmatyczne w obrębie dolnych dróg oddechowych powoduje obniżenie liczebności rezydujących w płucach mezenchymalnych komórek macierzystych przy jednoczesnym wzroście liczby fibroblastów. Konieczne są dalsze badania, które pomogą zrozumieć zaobserwowany fenomen.

Finansowanie: Subwencja Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMB), Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBR).

Wpływ inhibitorów proproteiny konwertazy subtylizyny/keksyny typu 9 na poziom uszkodzeń DNA w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej pacjentów z heterozygotyczną hipercholesterolemią rodzinną

AGNIESZKA WOŹNIAK¹, PAULINA GORZELAK-PABIS¹,
MARLENA BRONCEL¹, BOŻENA BUKOWSKA²,
EWELINA WOŹNIAK¹

¹ Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej, Pracownia Immunofarmakologii Tkankowej, ul. Kniaziewicza 1/5, 91-347 Łódź

² Uniwersytet Łódzki, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

Słowa kluczowe: hipercholesterolemia rodzinna, LDL, inhibitory PCSK9, uszkodzenia oksydacyjne DNA

Wstęp: Heterozygotyczna hipercholesterolemia rodzinna (*heterozygous familial hypercholesterolemia*; HeFH) charakteryzuje się podwyższonym poziomem cholesterolu lipoprotein o niskiej gęstości (LDL-C), zwiększającym ryzyko chorób sercowo-naczyniowych. Pacjenci z HeFH,

stanowią szczególną grupę chorych, u których osiągnięcie pożądanych wartości LDL-C za pomocą standardowych schematów leczenia nie jest możliwe. Inhibitory PCSK9 (PCSK9i) stanowią nową alternatywę w intensyfikacji leczenia hipolipemizującego.

Cel: Celem badań było określenie poziomu uszkodzeń DNA w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej pacjentów z HeFH, a także potencjalnego wpływu PCSK9i na zmniejszenie powstałych uszkodzeń.

Materiały i Metody: Materiałem do badań były jednojądrzaste komórki krwi obwodowej pobranej od pacjentów z HeFH (n=16), którzy zostali zakwalifikowani do programu leczenia PCSK9i (ICD-10 E78.01, I21, I22, I25). Poziom uszkodzeń jedno- i dwuniciowych DNA został oznaczony za pomocą wersji alkalicznej testu kometowego, zarówno przed leczeniem, jak i po 6 miesiącach terapii PCSK9i. Grupą kontrolną stanowili pacjenci z normolipidemią (n=7), nie poddani terapii hipolipemizującej.

Wyniki/Dyskusja/Podsumowanie: Pacjenci z HeFH charakteryzują się występowaniem uszkodzeń DNA. Otrzymane wyniki sugerują, że stosowanie PCSK9i w tej grupie chorych zmniejsza poziom uszkodzeń DNA, w porównaniu z poziomem uszkodzeń DNA przed włączeniem terapii hipolipemizującej, ale nie do poziomu uszkodzeń DNA zaobserwowanych w grupie pacjentów z normolipidemią. Dlatego też, niezbędne wydają się być dalsze badania wyjaśniające mechanizm wpływu PCSK9i na redukcję uszkodzeń DNA u pacjentów z HeFH.

Wpływ nowoczesnych terapii przeciwplatekcyjnych na oksydacyjne uszkodzenia DNA w modelu uszkodzenia śródbłonka naczyniowego utlenionym cholesterolem

EWELINA WOŹNIAK¹, MARLENA BRONCEL¹,
BOŻENA BUKOWSKA², PAULINA GORZELAK-PABIŚ¹

¹ Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej, Pracownia Immunofarmakologii Tkankowej ul. Kniaziewicza 1/5, 91-347 Łódź

² Uniwersytet Łódzki, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

Słowa kluczowe: uszkodzenia oksydacyjne puryn i pirymidyn, dabigatran, riwaroksaban

Wstęp: Główną przyczyną umieralności w Polsce są choroby układu sercowo-naczyniowego. W patogenezie miażdżycy początkiem są zaburzenia funkcji śródbłonka naczyniowego, związane między innymi ze zwiększeniem ekspresji genów odpowiedzialnych za odkładanie się złogów w ścianie naczyń. W konsekwencji dochodzi do nasilenia reakcji wolnorodnikowych, a uwolnienie niestabilnej blaszki miażdżycowej może skutkować zakrzepicą, dlatego obecnie w leczeniu ostrego zespołu wieńcowego zaleca się terapię przeciwplatekową.

Cel: Celem badania była ocena właściwości plejotropowych związanych z działaniem antyoksydacyjnym nowoczesnych terapii przeciwplatekcyjnych - dabigatranu i riwaroksabanu w modelu uszkodzenia komórek śródbłonka naczyniowego żyły pępowinowej (human umbilical vein endothelial cells; HUVEC) utlenionym cholesterolem - 25 hydroksycholesterolem (25-OHC).

Materiały i metody: Pęknięcia jedno- i dwuniciowe DNA oceniono przy użyciu wersji alkalicznej testu kometowego. Uszkodzenie oksydacyjne puryn i pirymidyn oceniono przy użyciu alkalicznej wersji testu kometowego z wykorzystaniem enzymów naprawczych: endonukleazy III (Nth) i ludzkiej 8-oksoguaninowej glikozylazy DNA (hOOG1). Generowanie reaktywnych form tlenu (RFT) określono za pomocą cytometrii przepływowej z wykorzystaniem sondy DCF.

Wyniki: 25-hydroksycholesterol indukował pęknięcia jedno- i dwuniciowe DNA, w tym oksydacyjne uszkodzenia puryn i pirymidyn oraz zwiększał poziom RFT w HUVEC. Poziom RFT został obniżony zarówno przez dabigatran, jak i riwaroksaban. Natomiast tylko działanie dabigatranu było związane z całkowitą naprawą uszkodzeń DNA indukowanych przez oksysterol. Dabigatran zredukował poziom uszkodzeń oksydacyjnych pirymidyn indukowanych przez oksysterol do poziomu komórek kontrolnych.

Podsumowanie: Wyniki niniejszego badania wskazują, że badane antykoagulanty indukowały pośrednią naprawę DNA poprzez hamowanie produkcji RFT. Ponadto wydaje się, że dabigatran ma wyższą aktywność przeciwutleniającą niż riwaroksaban.