tom 30. nr 2. czerwiec 2025
volume 30, no 2, June 2025

kwartalnik
quarterly

ISSN 1427-3101
eISSN 2083-2834

2/25
SUPLEMENT

Alergia Astma Immunologia

przegląd kliniczny

IMPACT FACTOR 0.2

PUNKTY MEiN 20

Index Copernicus Value 101.15

KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW SESJI NAUKOWEJ

XXIV Konferencja Naukowo-Szkoleniowa
„ALERGIA ASTMA IMMUNOLOGIA KLINICZNA"
Łódź 2025

© Alergia Astma Immunologia 2024
www.alergia-astma-immunologia.pl

OPEN ACCESS
EMERGING SOURCES CITATION (Web of Science)
Clarivate Analytics
CC BY NC

Alergia Astma Immunologia
przegląd kliniczny

Redakcja

dr hab. n med. Maciej Chałubiński, prof. UM
Redaktor naczelny

mgr Izabela Gulbas
Sekretarz redakcji

dr n. biol. Adrian Gajewski
Skład

Szanowni Czytelnicy i Czytelniczki,

oddajemy w Państwa ręce specjalny numer Kwartalnika Alergia Astma Immunologia – przegląd kliniczny.

Bieżący numer jest suplementem do czerwcowego wydania i ma charakter książki abstraktów XXIV Konferencji Naukowo-Szkoleniowej Alergia Astma Immunologia Kliniczna. Motywem przewodnim tegorocznego spotkania będzie: Innowacja i integracja w alergologii. Podczas naszej konferencji postaramy się odpowiedzieć na kilka kluczowych pytań: Gdzie rodzi się alergologa, w laboratorium czy gabinecie? Co nowego w nadwrażliwości na leki? Alergia narządu wzroku – alergologa czy okulista? Jak nowocześnie postępować, diagnozować i leczyć choroby alergiczne? Jak powinien wyglądać nowoczesny gabinet alergologiczny? Jak współpracować ze specjalistami z innych dziedzin medycyny? I wreszcie, być może rzecz najbardziej kluczowa, jak wdrażać innowacje a zarazem rozwijać integrację w alergologii? Podobnie jak w latach poprzednich, organizujemy Sesję Naukową, podczas której młodzi naukowcy przedstawią wyniki prowadzonych badań z zakresu alergologii klinicznej i podstawowej oraz nauk pokrewnych. Ponad to, koleżanki i kolegów towarzyszących nam w codziennej pracy klinicznej pragnę powitać na II Forum Pielęgniarstwa Alergologicznego, podczas którego podejmiemy dyskusję nad praktycznymi aspektami diagnostyczno-pielęgnacyjno-terapeutycznymi w opiece alergologicznej.

Wydawca:
Stowarzyszenie Pomocy Chorym na Astmę i Choroby Alergiczne

Prezes: mgr Ewa Zielińska
V-ice Prezes: dr hab. n med. Maciej Chałubiński, prof. UM
Skarbnik: dr n. biol. Adrian Gajewski
Sekretarz: dr n. med. Barbara Majkowska-Wojciechowska
Członek: dr n. med. Ewa Smorawska-Sabanty

Adres redakcji:

ul. Pomorska 251 bud. C5, 92-213 Łódź
tel.: 42 675 73 80
e-mail: izabela.gulbas@umed.lodz.pl

ALERGIA ASTMA IMMUNOLOGIA
przegląd kliniczny
tom 30. nr 2. czerwiec 2025
SUPLEMENT

XXIV Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Alergia Astma Immunologia Kliniczna” 5-7 czerwca 2025, Łódź

Książka abstraktów sesji naukowej

KOMITET NAUKOWY

dr hab. n. med. Maciej Chałubiński, prof. UM – przewodniczący
dr hab. n. med. Aleksandra Wardzyńska, prof. UM – wiceprzewodnicząca
dr hab. n. med. Joanna Glück, prof. ŚUM – wiceprzewodnicząca
prof. dr hab. n. med. Grażyna Bochenek
dr n. med. Eliza Brożek-Mądry
prof. dr hab. n. med. Zenon Brzoza
dr n. biol. Adrian Gajewski
prof. dr hab. n. med. Radosław Gawlik
prof. dr hab. n. med. Aneta Krogulska
dr hab. n. o zdr. Edyta Krzych-Fałta
prof. dr hab. n. med. Maciej Kupczyk
dr hab. n. med. Marcin Kurowski, prof. UM
prof. dr hab. n. med. Paweł Majak
dr hab. n. med. Michał Panek, prof. UM
spec. Piel. Danuta Sicińska
prof. dr hab. n. med. Magdalena Trzeciak

KOMITET ORGANIZACYJNY

dr n. biol. Adrian Gajewski – przewodniczący
mgr Izabela Gulbas – wiceprzewodnicząca
Małgorzata Jakubiak – sekretarz
Mgr Iwona Dziembała-Gładysz
Dr n. med. Barbara Majkowska Wojciechowska

OPEN ACCESS

Harmonogram Sesji Naukowej

Clinical Study

CS. 1 HIPEREOZYNOFILIA BEZ GRANIC: NIETYPOWY PRZYPADEK Z ZAJĘCIEM OUN, ZATOK PRZYNOSOWYCH I WĘZŁÓW CHŁONNYCH SZYI
Wiktoria Balińska, Marta Kołacińska-Flont, Maria Mozga, Izabela Kupryś-Lipińska, Wioletta Pietruszewska s. 45

CS. 2 PIERWOTNY NIEDOBÓR ODPORNOŚCI JAKO PRZYCZYNA ZŁOŻONEGO OBRAZU KLINICZNEGO
Patryk Cegiełka, Adrian Pal, Maciej Chałubiński, Adrian Gajewski s. 46

CS. 3 RÓŻNE OBLICZA ZESPOŁU HIPEREOZYNOFILOWEGO U DWÓJKI PACJENTÓW PEDIATRYCZNYCH
Agnieszka Kowalczyk, Justyna Stampor-Bednarska, Aneta Krogulska s. 47

CS. 4 ZNACZENIE BADAŃ MOLEKULARNYCH W DIAGNOSTYCE I MONITOROWANIU IGE-ZALEŻNEJ ALERGII NA BIAŁKA MLEKA KROWIEGO U DZIECI, BADANIE PILOTAŻOWE
Maria Popielarz, Agnieszka Kowalczyk, Julia Tworowska, Magdalena Żbikowska-Götz, Zbigniew Bartuzi, Aneta Krogulska s. 48

CS 5 OD DUSZNOŚCI DO REGRESJI – PRZYPADEK ALERGICZNEGO ZAPALENIA PĘCHERZYKÓW PŁUCNYCH Z DOBRĄ ODPOWIEDZIĄ NA TERAPIĘ SYSTEMOWYM GKS
Katarzyna Majchrzak s. 49

CS. 6 ASTMA OSKRZELOWA POD MASKĄ OBTURACJI UTRWALONEJ HIPEREOZYNOFILIA W PRZEBIEGU CHOROBY NOWOTWOROWEJ
Elizabeth Malaya, Magdalena Adamczewska s. 50

CS. 7 CIĘŻKIE POWIKŁANIA IMMUNOTERAPII NOWOTWORU PRZEŁYKU W POSTACI MIOPATII ZAPALNEJ
Maria Możdżan, Agnieszka Cieplucha, Aleksandra Opinc-Rosiak, Joanna Makowska, Anna Lewandowska-Polak, Olga Brzezińska s. 51

CS. 8 PROGRAMY LEKOWE PROWADZONE W KLINICE IMMUNOLOGII I ALERGII UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI W LATACH 2018-2025 – ANALIZA DANYCH ADMINISTRACYJNYCH I KLINICZNYCH
Alicja Nowak-Jurek, Karolina Frachowicz-Guerreiro, Monika Antczak-Marczak, Aleksandra Wardzyńska, Maciej Chałubiński s. 52

CS. 9 JATROGENNA EOZYNOFILIA I BEZPIECZEŃSTWO DUPILUMABU W LECZENIU ASTMY CIĘŻKIEJ – DOŚWIADCZENIA WŁASNE
Krzysztof Olesiejuk, Karolina Frachowicz-Guerreiro, Aleksandra Likońska, Alicja Nowak-Jurek, Aleksandra Wardzyńska, Monika Antczak-Marczak, Maciej Chałubiński s. 53

CS. 10 IMMUNOLOGICZNE KONSEKWENCJE WYPADKU KOMUNIKACYJNEGO
Adrian Pal, Patryk Cegiełka, Maciej Chałubiński, Adrian Gajewski s. 54

CS. 11 DRUGIE ŻYCIE W RUCHU – SPEKTAKULARNA POPRAWA U AKTYWNEGO PACJENTA Z NR-AXSPA DZIĘKI TERAPII BIOLOGICZNEJ SEKUKINUMABEM
Jagoda Rogowska, Olga Brzezińska, Aleksandra Opinc-Rosiak, Filip Styrzyński s. 55

CS. 12 WYBRANE HEMATOLOGICZNE WSKAŹNIKI ZAPALENIA SYSTEMOWEGO U PACJENTÓW Z ALERGIĄ POKARMOWĄ PO PRZEBYTEJ REAKCJI ANAFILAKTYCZNEJ – DONIESIENIE WSTĘPNE
Jakub Wąsik, Marcin Kurowski s. 56

OPEN ACCESS CC BY NC

Basic Science

BS. 1 OCENA WPŁYWU HRV-A16 I HCOV-229E NA EKSPRESJĘ CYTOKIN TYPU TH1, TH2, TH17, TREG ORAZ CZĄSTEK PREZENTACJI ANTYGENU W LUDZKIM ŚRÓDBŁONKU NACZYŃ PŁUCNYCH – WYNIKI PILOTAŻOWE
Iwona Dziembała-Gładysz, Adrian Gajewski, Mateusz Gawrysiak, Izabela Gulbas, Maciej Chałubiński s. 57

BS. 2 IMMUNOMODULACYJNE WŁAŚCIWOŚCI EKSTRAKTÓW Z *PLEUROZIUM SCHREBERI* POCHODZĄCEGO Z FITOCENOZ LEŚNYCH O ZRÓŻNICOWANYM STOPNIU SUKCESJI WZGLĘDEM JEDNOJĄDRZASTYCH KOMÓREK KRWI OBWODOWEJ
Nikodem Gąsienica-Gliwa, Justyna Agier, Agnieszka Kobylińska, Grzegorz Wolski, Marek Fol s. 58

BS. 3 SYSTEMOWA ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNA NA TERAPIĘ ANTY-IL-5 W CIĘŻKIEJ ASTMIE
Mateusz Grochowski, Agnieszka Lis, Roman Skiepko, Kinga Bodnarczuk, Damian Pogodziński, Andrzej Eljaszewicz, Marcin Moniuszko s. 59

BS. 4 WPŁYW GLIKOKORTYKOSTEROIDÓW NA EKSPRESJĘ RECEPTORÓW KORONAWIRUSOWYCH ACE2, DPP4 I AP-N NA ŚRÓDBŁONKU NACZYŃ PŁUCNYCH ZAKAŻONYM RINOWIRUSEM HRV16 I PODATNOŚĆ NA INFEKCJE KORONAWIRUSAMI W IMMUNOPATOLOGII PRZEWLEKŁYCH CHORÓB ZAPALNYCH UKŁADU ODDECHOWEGO
Izabela Gulbas, Adrian Gajewski, Maciej Chałubiński s. 60

BS 5 OCENA BIOZGODNOŚCI *IN VIVO* MIKROKAP-SUŁEK ALGINIANOWYCH ZAWIERAJĄCYCH ENKAPSULOWANE *MYCOBACTERIUM BOVIS* BCG, JAKO ELEMENT TERAPII SKIEROWANEJ PRZECIWKO ZAKAŻENIU PAŁECZKAMI *HELICOBACTER PYLORI*
Patrycja Jaroniek, Marek Brzeziński, Magdalena Chmiela, Weronika Gonciarz s. 61

BS. 6 WPŁYW RECEPTORA NOD2 NA PRODUKCJĘ CYTOKIN I EKSPRESJĘ RECEPTORÓW POWIERZCHNIOWYCH MONOCYTÓW W ODPOWIEDZI NA BCG (*BACILLUS CALMETTE-GUÉRIN*) I ANTYGENY WIRUSOWE
Magdalena Jurczak, Joanna Kaczmarek, Magdalena Kowalewska-Pietrzak, Paulina Stelmach, Magdalena Druszczyńska s. 62

BS. 7 OCENA WPŁYWU 5% HIPOKSJI NA WŁAŚCIWOŚCI IMMUNOLOGICZNE KOMÓREK MIKROWASKULARNEGO ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ PŁUCNYCH
Jolanta Kalinowska, Robert Szewczyk, Mateusz Gawrysiak, Maciej Chałubiński s. 63

BS. 8 WEWNĄTRZKOMÓRKOWA I POWIERZCHNIOWA EKSPRESJA TLR3 W LUDZKIM ŚRÓDBŁONKU MIKRONACZYNIOWYM PŁUC
Wojciech Karpik, Mateusz Gawrysiak, Sylwia Michlewsk, Maciej Chałubiński s. 64

BS. 9 WPŁYW DŁUGOTRWAŁEGO STRESU U STUDENTÓW MEDYCYNY NA POZIOM KORTYZOLU I PARAMETRY MORFOLOGICZNE KRWI OBWODOWEJ
Jan Kinasiewicz, Krzysztof Śliwa s. 65

BS. 10 ROLA INTERFERONU B W OGRANICZENIU ZAKAŻENIA LUDZKIEGO ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ PŁUCNYCH KORONAWIRUSEM HCOV-229E
Kamila Kochanowska, Sylwia Michlewska, Magdalena Chmiela, Maciej Chałubiński, Mateusz Gawrysiak s. 66

BS. 11 WZROST INTEGRALNOŚCI BARIERY NABŁONKOWEJ PRZEZ ARCHEONY HALOFILNE *HALORHABDUS RUDNICKAE* W MODELU LINII KOMÓRKOWEJ CALU-3
Krzysztof Krawczyk, Serafin Zawadzki, Anna Macieja, Sylwia Michlewska, Marlena Tynecka, Joanna Wieczfińska, Magdalena Kowalewicz-Kulbat s. 67

BS. 12 ŚWIADOMOŚĆ ROLI MIKROBIOTY I MECHANIZMÓW IMMUNOLOGICZNYCH W PATOGENEZIE NCHZJ WŚRÓD STUDENTÓW KIERUNKÓW MEDYCZNYCH
Magdalena Porębska, Elżbieta Kozłowska s. 68

OPEN ACCESS CC BY NC

BS.13 OPTYMALIZACJA IZOLACJI KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO Z LUDZKIEJ TKANKI PŁUCNEJ DO ANALIZ FENOTYPOWYCH I MOLEKULARNYCH
Ewelina Sochacka, Robert Szewczyk, Mateusz Gawrysiak, Jolanta Kalinowska, Szymon Wcisło, Krzysztof Lewandowski, Adrian Gajewski, Maciej Chałbiński s. 69

BS.14 OCENA WPŁYWU HIPOKSJI NA MARKERY STANU ZAPALNEGO MIKROWASKULARNYCH KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ PŁUCNYCH
Robert Szewczyk, Jolanta Kalinowska, Maciej Chałbiński s. 70

BS.15 ZMIANY W EKSPRESJI MEDIATORÓW ZAPALNYCH I AKTYWNOŚCI SZLAKU NF-KB W KOMÓRKACH CACO-2 HODOWANYCH W WARUNKACH NORMOKSJI I HIPOKSJI
Zuzanna Tomaszewska, Andrzej Polańczyk, Aleksandra Piechota-Polańczyk s. 71

BS.16 OPTYMALIZACJA IZOLACJI KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO Z POLIPÓW NOSA OD PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁYM ZAPALENIEM ZATOK PRZYNOSOWYCH
Patryk Cegiełka, Adrian Pal, Wioletta Pietruszewsak, Maciej Chałubiński, Adrian Gajewski s. 72

OPEN ACCESS CC BY NC

Hipereozynofilia bez granic: nietypowy przypadek z zajęciem OUN, zatok przynosowych i węzłów chłonnych szyi

WIKTORIA BALIŃSKA[1], MARTA KOŁACIŃSKA-FLONT[2], MARIA MOZGA[2], IZABELA KUPRYŚ-LIPIŃSKA[2], WIOLETTA PIETRUSZEWSKA[1]

[1] Klinika Otolaryngologii, Onkologii Głowy i Szyi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
[2] Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Słowa kluczowe: hipereozynofilia, nacieki eozynofilowe, choroba Kimury

Wstęp

Hipereozynofilia (liczba eozynofilów >1500 kom./µl) to stan kliniczny wymagający szerokiej diagnostyki różnicowej. Jej przewlekłe utrzymywanie się, szczególnie w połączeniu z zajęciem wielu narządów, stanowi znaczne wyzwanie diagnostyczne i terapeutyczne. Przedstawiony przypadek ilustruje złożony przebieg kliniczny z postępującym zajęciem różnych układów, w tym struktur w obrębie głowy i szyi.

Cel

Prezentacja przypadku pacjenta z przewlekłą hipereozynofilią, powikłaną zmianami ogniskowymi w mózgu, zajęciem struktur nosa i zatok, oraz węzłów chłonnych – w kontekście diagnostyki różnicowej i podejmowanych prób leczenia.

Opis przypadku

43-letni mężczyzna od 2017 roku pozostaje w obserwacji z powodu utrzymującej się hipereozynofilii i uogólnionej limfadenopatii. Choroba rozpoczęła się od powiększenia węzłów chłonnych podżuchwowych. Biopsja wykazała nacieki eozynofilowe sugerujące chorobę Kimury. Wykluczono podłoże hematologiczne, pasożytnicze i alergiczne. W 2018 roku rozpoczęto terapię glikokortykosteroidami, jednak choroba postępowała. W 2020 roku, z powodu nasilenia objawów i dalszego powiększania węzłów chłonnych, wdrożono cyklosporynę, którą przerwano z powodu nefrotoksyczności. Leczenie steroidami było kontynuowane.

Od połowy 2021 roku pojawiły się nowe objawy: bóle stawowe i duszność. W badaniu TK głowy (październik 2021) wykazano pojedyncze zmiany ogniskowe w mózgu, niepowodujące objawów neurologicznych. Biopsje przeprowadzone w 2022 roku (kość czaszki) potwierdziły obecność nacieków eozynofilowych. Jesienią 2022 roku pacjent zgłosił utratę węchu, niedrożność nosa oraz nasilającą się duszność – objawy sugerujące zajęcie górnych dróg oddechowych. Rozpoczęto leczenie mepolizumabem, z uzyskaniem częściowej stabilizacji. W 2023 roku badania w kierunku HHV6 i EBV były ujemne, jednak w marcu 2024 wykazano aktywację EBV. We wrześniu 2023 wykluczono infekcję Bartonella henselae (choroba kociego pazura). Terapia biologiczna jest nadal kontynuowana.

Dyskusja

Przypadek ilustruje złożoność i wielowymiarowość przewlekłej hipereozynofilii. Kluczowe wyzwania obejmują:

- różnicowanie między zespołem hipereozynofilowym (HES), chorobą Kimury, a IgG4-zależną chorobą zapalną,
- interpretację wielonarządowego zajęcia, w tym nietypowych zmian w OUN i zatokach,
- dobór leczenia w kontekście ograniczeń terapeutycznych (nefrotoksyczność, odpowiedź na GKS),
- ocenę wpływu infekcji wirusowych na przebieg choroby.

Szczególnie interesujące jest nietypowe zajęcie laryngologiczne (nos, zatoki), które stanowiło pierwszą manifestację nawrotu/systemowego rozsiewu.

Podsumowanie

Prezentowany przypadek podkreśla znaczenie interdyscyplinarnego podejścia w diagnostyce i leczeniu przewlekłej hipereozynofilii. Pomimo zastosowania nowoczesnej diagnostyki i leczenia biologicznego, rozpoznanie pozostaje niejednoznaczne, a dalsze prowadzenie pacjenta wymaga ścisłej obserwacji, weryfikacji hipotez diagnostycznych oraz elastycznego podejścia terapeutycznego.

OPEN ACCESS CC BY NC

Pierwotny niedobór odporności jako przyczyna złożonego obrazu klinicznego

PATRYK CEGIEŁKA, ADRIAN PAL, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI, ADRIAN GAJEWSKI

Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Słowa kluczowe: niedobory odporności, przewlekła choroba ziarniniakowa

Wstęp

Niedobory odporności to grupa chorób, którą charakteryzuje zróżnicowana manifestacja kliniczna, przebieg i rokowanie. W populacji najczęściej obserwuje się wtórne niedobory odporności związane z zakażeniami, niedożywieniem, chorobami hematologicznymi czy leczeniem immunosupresyjnym. Pierwotne zaburzenia odporności wynikają z uwarunkowań genetycznych i bardzo często diagnozowane są z dużym opóźnieniem. Kliniczna manifestacja tych zaburzeń nie ogranicza się jedynie do częstszych infekcji – na ich obraz mogą także składać się cechy autoimmunizacji, choroby autozapalne, alergiczne oraz zwiększona tendencja do nowotworzenia. Poniższy opis przedstawia pacjenta, który manifestuje wiele zróżnicowanych objawów sugerujących złożoną dysfunkcję układu immunologicznego.

Opis przypadku

Do Poradni Immunologicznej zgłosił się 27 letni niskorosły mężczyzna z podejrzeniem pierwotnego niedoboru odporności. Historia chorobowa pacjenta jest obszerna i obejmuje liczne hospitalizacje na różnych oddziałach z powodu m.in.: histiocytozy z komórek Langerhansa rozpoznanej w wieku 8 lat, zapalenia oraz dysplazji włóknistej kości żuchwy. W wieku 18 lat rozpoznano u niego młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. Dodatkowo pacjent przebył gruźlicę pierwotną układu oddechowego, a od kilku lat leczy się także z powodu ropnych wykwitów na twarzy oraz skórze kończyn dolnych spowodowanych zakażeniem promienicami. Diagnostyka pacjenta w poradni immunologicznej obejmowała, oprócz dokładnego wywiadu podmiotowego i przedmiotowego, liczne badania laboratoryjne, w tym genetyczne. Badanie cytometryczne wykazało obniżoną aktywność enzymu oksydazy NADPH (tzw. wybuch tlenowy) przy prawidłowym odsetku komórek wykazującym aktywność tego enzymu, co w połączeniu z objawami pacjenta pozwoliło na wysnucie podejrzenia przewlekłej choroby ziarniniakowej (CGD). Badania genetyczne wykazały dodatkowo nieopisany wcześniej wariant mutacji genu *IFNGR1*, która może powodować rodzaj ultrarzadkiego niedobór odporności. Obecnie pacjent jest na etapie dalszej szczegółowej diagnostyki, wdrażania działań profilaktycznych oraz leczenia.

Dyskusja

Przewlekła choroba ziarniniakowa jest rzadkim (1:200 000) pierwotnym niedoborem odporności, który charakteryzuje się przede wszystkim zwiększoną podatnością na ciężkie, nawracające infekcje bakteryjne i grzybicze oraz rozwojem ziarniniaków. Manifestacja kliniczna tej choroby jest jednak znacznie szersza i może obejmować także choroby zapalne jelit czy choroby autoimmunologiczne. Nietypowy obraz pacjenta obejmujący zaburzenia układu kostnego oraz mutację genu IFNGR1 sugerują złożoną dysfunkcję immunologiczną, która wymaga poszerzenia diagnozy w celu optymalizacji leczenia.

OPEN ACCESS

Różne oblicza zespołu hipereozynofilowego u dwójki pacjentów pediatrycznych

AGNIESZKA KOWALCZYK, **JUSTYNA STAMPOR-BEDNARSKA**, ANETA KROGULSKA

Katedra Pediatrii, Alergologii I Gastroenterologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Słowa kluczowe: zespół hipereozynofilowy, eozynofilowe choroby przewodu pokarmowego, dupilumab

Wstęp

Zespół hipereozynofilowy (HES) jest rzadkim schorzeniem, w którym hipereozynofilii obwodowej towarzyszy uszkodzenie narządów wewnętrznych wynikające z nacieków eozynofilowych.

Cel

Celem pracy jest przedstawienie przypadków dwóch dziewczynek, u których zdiagnozowano wtórny HES z zajęciem przewodu pokarmowego.

Opis przypadków

Pierwsza dziewczynka (N.H., 9 lat) została przyjęta do Klinik w 7 roku życia celem diagnostyki z powodu ciężkiej eozynofilii oraz okresowo występujących bólów brzucha. Od 6 roku życia w badaniach laboratoryjnych stwierdzano eozynofilię (4-9,7 tys./µl). W toku diagnostyki wykonano m.in. badania serologiczne w kierunku infestacji pasożytniczej, PTS pokarmowe, biopsję szpiku, badania obrazowe (USG jamy brzusznej, USG węzłów chłonnych, RTG klatki piersiowej), ECHO serca, badania endoskopowe. Z nieprawidłowości stwierdzono: dodatnie PTS z mąką pszenną i żytnią, białkiem jaja kurzego, orzechem laskowym i orzeszkiem ziemnym oraz w badaniu histopatologicznym obecne nacieki eozynofilowe w ścianie przełyku (16 eozynofili/HPF) i żołądka (70 eozynofili/HPF). Rozpoznano wtórny zespół hipereozynofilowy z zajęciem przewodu pokarmowego. Remisję eozynofilowego zapalenia przełyku i żołądka z towarzyszącą normalizacją eozynofilii obwodowej udało się u dziecka uzyskać dopiero po wdrożeniu łącznego leczenia miejscowego budezonidem, inhibitorem pompy protonowej i diety eliminacyjnej (białka mleka krowiego – eliminacja empiryczna; jajo, orzech laskowy i ziemny, mąka pszenna i żytnia – eliminacja celowana).

Druga dziewczynka (M.S., 9 lat) została przyjęta do Kliniki w 9 roku życia z powodu ciężkiej eozynofilii celem diagnostyki. Z uwagi na ciężką postać atopowego zapalenia skóry (AZS) dziecko było leczone dupilumabem w ramach Programu Lekowego. W II punkcie kontrolnym leczenia w badaniach laboratoryjnych stwierdzono hipereozynofilię (22,64 tys./µl). W toku szerokiej diagnostyki wykonano m.in. badania serologiczne w kierunku infestacji pasożytniczej, biopsję skóry, biopsję szpiku, diagnostykę obrazową (USG jamy brzusznej, USG węzłów chłonnych, RTG i TK klatki piersiowej), badania endoskopowe, ECHO serca. Z odchyleń od normy stwierdzono obecność przeciwciał wobec glisty ludzkiej, Giardia lamblia i tasiemca bąblowca oraz eozynofilowe nacieki w ścianie jelita grubego (85 eozynofili/HPF). Rozpoznano wtórny zespół hipereozynofilowy z zajęciem przewodu pokarmowego. W leczeniu zastosowano preparaty przeciwpasożytnicze oraz miejscowo budezonid, osiągając zmniejszenie eozynofilii (0,76x10^3/µl). Pacjentkę w chwili obecnej zdyskwalifikowano z terapii dupilumabem.

Podsumowanie

HES jest w pediatrii chorobą rzadką, a ponad 90% stanowi jego wtórna postać. Diagnostyka przyczyn HES jest wieloetapowa i obejmuje m.in. poszukiwanie schorzeń mieloproliferacyjnych, ocenę zakażeń pasożytniczych oraz wykazanie manifestacji narządowej hipereozynofilii. Leczenie HES często jest złożone i długotrwałe.

OPEN ACCESS CC BY NC

Znaczenie badań molekularnych w diagnostyce i monitorowaniu IgE-zależnej alergii na białka mleka krowiego u dzieci, badanie pilotażowe

MARIA POPIELARZ[1], AGNIESZKA KOWALCZYK[1], JULIA TWOROWSKA[1], MAGDALENA ŻBIKOWSKA-GÖTZ[2], ZBIGNIEW BARTUZI[2], ANETA KROGULSKA[1]

[1] Katedra Pediatrii, Alergologii I Gastroenterologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

[2] Katedra Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Słowa kluczowe: alergia na białka mleka krowiego; alergia pokarmowa; alergenowoswoiste immunoglobuliny E; doustna próba prowokacji pokarmem; diagnostyka komponentowa, molekularna;

Wstęp

Alergia na białka mleka krowiego (ABMK) jest jedną z najczęstszych postaci alergii pokarmowej i dotyczy od 2 do 3% populacji pediatryczne. Cały czas poszukuje się nowych narzędzi, które mogłyby udoskonalić diagnostykę ABMK.

Cel

Celem pracy było ustalenie przydatności oznaczania alergenów mleka krowiego metodą molekularną w diagnostyce i ocenie nabywania tolerancji na mleko krowie u dzieci z IgE-zależną alergią na ten pokarm.

Materiały i Metody

Do badania włączono 49 dzieci (w wieku średnio 2 lata 8 miesięcy) z IgE-zależną ABMK. W dwóch punktach czasowych analizie poddano dane z wywiadu, ocenę asIgE przeciwko ekstraktowi mleka krowiego, alfa-laktoalbuminie (ALA), beta-laktoglobulinie (BLG), kazeinie i albuminie surowicy bydlęcej oznaczanych techniką fluoroimmunoenzymatyczną (FEIA, ImmunoCAP 100) oraz wyniki doustnych prób prowokacji z mlekiem krowim pieczonym (muffin mleczny według receptury Jaffe Food Allergy Institute) i/lub surowym (bezlaktozowa mieszanka modyfikowana lub pasteryzowane mleko krowie zgodnie z zaleceniami PTA i EAACI).

Wyniki

Zarówno w alergii na mleko pieczone, jak i w alergii na mleko surowe, najlepszym markerem reaktywności klinicznej było stężenie asIgE dla kazeiny (odpowiednio ≥7,01 kU/L; AUC=0,869 oraz ≥5,96 kU/L; AUC=0,710). Najlepszym predyktorem anafilaksji podczas OFC z mlekiem pieczonym było stężenie asIgE dla kazeiny ≥7,01 kU/L (AUC=0,60). Z kolei najlepszym markerem anafilaksji w przebiegu OFC z mlekiem surowym było stężenie asIgE dla BLG ≥1,71 kU/L (AUC=0,724). Czynnikiem prognostycznym przetrwałej ABMK, ocenianej w II etapie badania, było uzyskanie w momencie diagnozy ABMK (tj. w I etapie badania) stężenia asIgE dla BLG >13,31 kU/L i ALA >10,48 kU/L lub ekstraktu mleka krowiego >1,95 kU/L. Z kolei czynnikiem sprzyjającym nabyciu tolerancji na mleko krowie było uzyskanie w momencie diagnozy ABMK (tj. w I etapie badania) stężenia asIgE dla BLG ≤13,30 kU/L lub ALA ≤0,22 kU/L i kazeiny ≤0,94 kU/L lub ekstraktu mleka krowiego ≤1,95 kU/L.

Podsumowanie

Markery reaktywności klinicznej w poszczególnych fenotypach ABMK są różne, choć zarówno w alergii na mleko pieczone, jak i w alergii na mleko surowe, najlepszym markerem pozostaje kazeina. W celu monitorowania ABMK największą przydatność mają asIgE dla kazeiny i ekstraktu mleka oraz ALA i BLG. Oznaczanie alergenów mleka krowiego wyłącznie metodą molekularną nie jest wystarczające w diagnostyce i monitorowaniu ABMK.

OPEN ACCESS CC BY NC

Od duszności do regresji – przypadek alergicznego zapalenia pęcherzyków płucnych z dobrą odpowiedzią na terapię systemowym GKS

KATARZYNA MAJCHRZAK

Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii, Kopcińskiego 22, 99-153 Łódź

Słowa kluczowe: alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych, choroby śródmiąższowe płuc, tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości, glikokortykosteroidy

Wstęp

Alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (AZPP) to immunologicznie uwarunkowana ziarniniakowa choroba śródmiąższowa płuc, wynikająca immunopatologicznej odpowiedzi na wziewne antygeny organiczne lub hapteny. Przewlekła postać AZPP niesie trudności diagnostyczne, gdyż przypomina w obrazie klinicznym inne śródmiąższowe choroby płuc.

Cel

Opis przypadku ma na celu zaprezentowanie skuteczności leczenia glikokortykosteroidami (GKS) u pacjenta z AZPP oraz znaczenia kontroli obrazowej i czynnościowej w procesie terapeutycznym.

Opis przypadku

68-letni pacjent zgłosił się do Oddziału Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii z kilkumiesięcznym suchym kaszlem i narastającą dusznością. W badaniu przedmiotowym stwierdzono symetryczne trzeszczenia nad polami płucnymi. Tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości (TKWR) klatki piersiowej wykazała mozaikowy obraz rozsianych zagęszczeń o charakterze „matowej szyby”, pogrubienie przegród oraz zmiany siateczkowate, głównie w dolnych partiach płuc. W badaniach czynnościowych stwierdzono restrykcję i upośledzenie dyfuzji gazów. Na podstawie wyników bronchoskopii z płukaniem oskrzelowo-pęcherzykowym (BAL) i przezoskrzelową biopsją płuca a także obrazu TKWR postawiono rozpoznanie AZPP przebiegającego z włóknieniem płuc. Rozpoczęto leczenie prednizonem (30 mg/d). W kontrolnym HRCT, po 4 miesiącach, odnotowano znaczną regresję zmian śródmiąższowych. Poprawie uległy parametry wentylacyjne oraz wydolność wysiłkowa. W oparciu o stabilny stan kliniczny pacjenta, oceniany podczas regularnych wizyt kontrolnych w okresie 1,5 roku, zdecydowano o odstawieniu systemowej terapii glikokortykosteroidowej oraz zalecono dalsze leczenie w trybie ambulatoryjnym.

Dyskusja

Przypadki AZPP opisywane w literaturze wskazują, że mimo ryzyka progresji do włóknienia, choroba może być częściowo odwracalna, o ile leczenie wdrożono we wczesnym stadium. Kluczowe znaczenie ma wczesne rozpoznanie i eliminacja ekspozycji na antygeny. Rozpoznanie opiera się na podstawie objawów klinicznych, obrazu TKWR, BAL oraz wyników biopsji płuca. Opisany przypadek potwierdza, że odpowiednio dobrana terapia pozwala uzyskać znaczną poprawę stanu klinicznego.

Podsumowanie

AZPP może imitować inne śródmiąższowe choroby płuc, jednak odpowiednia diagnostyka i leczenie za pomocą GKS mogą prowadzić do stabilizacji lub regresji zmian. Stały nadzór i kontrola czynnościowa są niezbędne dla oceny skuteczności terapii i podejmowania dalszych decyzji terapeutycznych.

OPEN ACCESS CC BY NC

Astma oskrzelowa pod maską obturacji utrwalonej hipereozynofilia w przebiegu choroby nowotworowej

ELIZABETH MALAYA, MAGDALENA ADAM-CZEWSKA

Klinika Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii, Kopcińskiego 22, 99-153 Łódź

Słowa kluczowe: diagnostyka różnicowa, ciężka eozynofilia, wtórna hipereozynofilia, onkologia, rak prostaty, astma, choroby obturacyjne

Wstęp

Hipereozynofilia (>1,500 kom/μL) może być objawem wielu jednostek chorobowych charakteryzujących się zapaleniem typu 2 (T2), nie tylko chorobami pasożytniczymi. Eozynofilia we krwi obwodowej może powodować naciek eozynofilowy do tkanek prowadząc do ich uszkodzenia, np. do skóry, układu oddechowego, układu pokarmowego, czy układu krążenia. Niniejszy przypadek prezentuje pacjenta z utrwaloną obturacją oskrzeli w przebiegu hipereozynofilii wtórnej do choroby nowotworowej.

Cel

Przedstawienie przykładu maskowania astmy przez obturacje utrwaloną obfitym naciekiem eozynofilowym do miąższu obu płuc, wtórnym do choroby nowotworowej.

Opis przypadku

Pacjent lat 73, przyjęty z powodu narastających od kilku tygodni duszności i kaszlu. W wywiadzie przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP), refluks żołądkowo-przełykowy (GERD) i zapalenie błony śluzowej żołądka (o etiologii *H. pylori*). W toku diagnostyki stwierdzono: osłuchowo świsty, furczenia nad polami płucnymi; włókniste zagęszczenia i śródmiąższowe nacieki, z wydzieliną zalegającą w oskrzelach w obrazie tomografii (TK) wysokorozdzielczej klatki piersiowej; liczba eozynofilów we krwi obwodowej 10 tys. kom/μL; utrwalona obturacja oskrzeli w spirometrii. Ponadto: podwyższone stężenie dehydrogenazy mleczanowej (LDH), kinazy fosfokreatynowej (CK), troponiny, przyspieszone OB, krew utajona w kale, podwyższony poziom antygenu specyficznego dla prostaty (PSA 229 ng/mL), pęcherz modelowany przez gruczoł krokowy i podejrzenie zmian meta w TK miednicy; stercz twardy, guzowaty, powiększony w badaniu *per rectum*, w badaniu histopatologicznym bioptatu prostaty potwierdzono raka gruczołu krokowego. U pacjenta wdrożono systemowe glikokortykosteroidy (sGKS) celem uzyskania cytoredukcji eozynofilów (800 kom/μL po 4 dniach). Uzyskano poprawę stanu ogólnego pacjenta, ustąpienie obturacji oraz odwracalność obturacji w próbie rozkurczowej. Pacjenta wypisano do domu z zaleceniem dalszego leczenia specjalistycznego pod okiem urologa, hematologa i gastrologa.

Dyskusja

Granica pomiędzy przyczynami eozynofilii, często nie jest wyraźna ze względu na podobny obraz kliniczny. Ponadto nierzadko choroby związane z zapaleniem T2 współistnieją. Choroby nowotworowe są jedną z wielu przyczyn wtórnej eozynofilii, które muszą być uwzględnione w diagnostyce różnicowej, szczególnie u pacjentów z ciężką eozynofilią, naciekiem do tkanek i utrzymaniem się eozynofilii pomimo leczenia. Heterogenność eozynofilii może mieć wpływ na rozpoznanie, stąd ostateczne o ostatecznym rozpoznaniu decyduje wynik badania histopatologicznego.

Podsumowanie

Przy utrzymującej się eozynofilii we krwi obwodowej pomimo leczenia ukierunkowanego konieczna jest ponowna diagnostyka, gdyż eozynofilia może maskować inne jednostki chorobowe jak np. astmę oskrzelową.

OPEN ACCESS

Ciężkie powikłania immunoterapii nowotworu przełyku w postaci miopatii zapalnej

MARIA MOŻDŻAN, AGNIESZKA CIEPLUCHA, ALEKSANDRA OPINC-ROSIAK, JOANNA MAKOWSKA, ANNA LEWANDOWSKA-POLAK, OLGA BRZEZIŃSKA

Klinika Reumatologii z Pododdziałem Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Słowa kluczowe: miopatia zapalna, powikłania immunoterapii

Wstęp

Reumatologiczne powikłania leczenia inhibitorami punktu kontrolnego (ICI) są niedocenianym problemem klinicznym. Do ich najcięższych objawów niepożądanych należą miopatie zapalne, które w zależności od nasilenia objawów wymagają odpowiedniej terapii.

Opis przypadku

64-letni pacjent został przyjęty do Kliniki Reumatologii UMŁ w celu diagnostyki zaników mięśni i ich osłabienia. W wywiadzie stan po resekcji raka przełyku, z następczą radio- i immunoterapią. Podano 11 dawek niwolumabu, od ostatniej dawki odstąpiono ze względu na wzrost parametrów wątrobowych. Miesiąc po zakończeniu leczenia, pacjent zgłosił nagłe osłabienie siły mięśniowej, głównie kończyn dolnych, wymagającej poruszania się na wózku inwalidzkim. W badaniu fizykalnym zaniki wszystkich grup mięśni i asymetryczne osłabienie mięśni kończyn dolnych (lewa ⅗, prawa ⅖ w skali Lovetta). W badaniach laboratoryjnych: podwyższone wartości AST (93,4 U/L), mioglobiny (83 µg/L), CK MB mass (7,89 ng/ml) oraz troponiny (261 ng/L), CRP (38 mg/l) z ujemną prokalcytoniną. TSH powyżej 20 IU/mL, wolne hormony poniżej dolnej granicy normy. Przeciwciała ANA i przeciwtarczycowe nieobecne. W związku z podejrzeniem immunologicznego uszkodzenia wątroby chory jeszcze w warunkach oddziału onkologii otrzymał początkowo 10mg prednizonu, następnie 1mg/kg mc z częściową poprawą, suplementowano również hormony tarczycy. Podczas hospitalizacji w Klinice Reumatologii podano choremu pulsy z metylprednizolonu, uzyskując poprawę siły mięśniowej i sprawności ruchowej i apetytu. Rozpoczęto rehabilitację ruchową. Kontynuowano steroidoterapię (prednizon 40 mg) doustnie przez 7 dni, z następczą, planowaną redukcją dawki sterydów.

Podsumowanie

Opisywany przypadek jest przykładem ciężkiego powikłania immunoterapii o charakterystyce seronegatywnej miopatii zapalnej z towarzyszącą niedoczynnością tarczycy. Zapalenie mięśni wikła leczeniem ICI u 0,5-1% chorych. ICI spowodowały wielki postęp w leczeniu pacjentów z wieloma nowotworami, jednak ze względu na generowane powikłania autoimmunologiczne stanowią jednocześnie duże wyzwanie kliniczne zarówno dla onkologów, jak i lekarzy innych specjalności.

OPEN ACCESS CC BY NC

Programy lekowe prowadzone w Klinice Immunologii i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 2018-2025 – analiza danych administracyjnych i klinicznych

ALICJA NOWAK-JUREK, KAROLINA FRACHOWICZ-GUERREIRO, MONIKA ANTCZAK-MARCZAK, ALEKSANDRA WARDZYŃSKA, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI

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

Słowa kluczowe: astma ciężka, atopowe zapalenie skóry, pokrzywka przewlekła spontaniczna, zespoły autozapalne, wrodzony obrzęk naczynioruchowy, leczenie biologiczne, programy lekowe

Wstęp

Leczenie biologiczne stanowi obecnie ważny element terapii ciężkich postaci chorób alergicznych. W Klinice Immunologii i Alergii prowadzonych jest w ramach finansowania NFZ 5 programów lekowych: B.44 (astma ciężka), B.86 (wrodzone zespoły autozapalne), B.107 (pokrzywka przewlekła spontaniczna), B.122 (dziedziczny obrzęk naczynioruchowy o ciężkim przebiegu), B.124 (atopowe zapalenie skóry).

Cel

Celem niniejszej analizy było przedstawienie danych statystycznych dotyczących ilości włączeń pacjentów do programów lekowych wg lat i podawanych leków, zmiany leku biologicznego na inny lek biologiczny, statusu chorych oraz przyczyn zawieszenie lub zakończenia leczenia w ww. programach lekowych.

Materiały i Metody

Przeprowadzono retrospektywną analizę dokumentacji medycznej dostępnej w systemie SMPT (datę włączenia do programu lekowego, przyjmowany lek, status pacjenta, przyczynę zakończenia leczenia, ilość cykli leczenia) pacjentów leczonych w ramach programów lekowych w Klinice Immunologii i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wyniki/Dyskusja

Do analizy włączono 370 pacjentów. Łączna liczba pacjentów we wszystkich programach lekowych prowadzonych w Klinice Immunologii i Alergii o statusie „aktywny w programie lekowym” wynosiła 277. W programie lekowym B.44 leczenia astmy ciężkiej łączna ilość włączeń wyniosła 222 (187 pacjentów). Obecnie 161 pacjentów jest aktywnych w programie lekowym. Najwięcej pacjentów otrzymuje lek dupilumab (45). U 55 pacjentów zakończono program lekowy, w tym 27 pacjentów miało zmieniony lek na inny, u 3 pacjentów zmieniono lek dwukrotnie. Najczęściej zmieniano lek na dupilumab (15). Wśród przyczyn zakończenia leczenia najczęstsza była niższa niż dobra odpowiedź w skali GETE. W programie lekowym B.107 leczenia przewlekłej pokrzywki spontanicznej łączna ilość włączeń wyniosła 117. Obecnie 31 pacjentów jest aktywnych w programie lekowym, 28 pacjentów jest w zawieszeniu. 6 pacjentów miało aż 7 cykli leczenia. U 51 pacjentów zakończono program. Do programu lekowego B.124 (Leczenie AZS) włączono łącznie 58 pacjentów. Najczęściej podawanym lekiem jest dupilumab (35). Obecnie 48 pacjentów jest aktywnych w programie lekowym. U 7 pacjentów zakończono program, natomiast u 1 pacjenta zmieniono lek na dupilumab. W programie lekowym B.122 (Leczenie profilaktyczne napadów HAE) leczonych jest 7 pacjentów. W programie lekowym B.86 (Leczenie chorób autozapalnych) leczonych jest 2 pacjentów. W tych dwóch programach żaden z włączonych pacjentów nie zakończył leczenia.

Podsumowanie

Ścisłe monitorowanie pacjentów pozwala na lepszą kontrolę przebiegu terapii i ocenę jej rzeczywistego wpływu na stan pacjentów.

OPEN ACCESS CC BY NC

Jatrogenna eozynofilia i bezpieczeństwo dupilumabu w leczeniu astmy ciężkiej – doświadczenia własne

KRZYSZTOF OLESIEJUK, KAROLINA FRACHOWICZ-GUERREIRO, ALEKSANDRA LIKOŃSKA, ALICJA NOWAK-JUREK, ALEKSANDRA WARDZYŃSKA, MONIKA ANTCZAK-MARCZAK, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI

Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Słowa kluczowe: leczenie biologiczne astmy, eozynofilia

Wstęp

Dzięki wprowadzeniu nowoczesnych terapii biologicznych znacząco wzrosły możliwości skutecznej kontroli astmy, a remisja stała się osiągalna nawet u pacjentów z najcięższym przebiegiem choroby. Leczenie dupilumabem wiąże się z charakterystycznym wzrostem eozynofilii, jednak znaczenie kliniczne tego zjawiska wciąż budzi dyskusje.

Cel

Prospektywna ocena dynamiki zmian liczebności eozynofilów w morfologii krwi obwodowej u pacjentów leczonych dupilumabem w kontekście profilu bezpieczeństwa leku.

Materiały i Metody

Do badania włączono 16 chorych z astmą ciężką leczonych dupilumabem. Zebrano dane kliniczne oraz wyniki laboratoryjne. Pacjentów oceniano przy włączeniu do programu, po 4 tygodniach, po 6 miesiącach, po roku oraz po 2 latach obserwacji.

Wyniki/Dyskusja

Liczba eozynofilii rosła w grupie leczonej dupilumabem. Maksymalnie eozynofilia wzrosła z 800 kom/μL do 2250 kom/μL. W badanej grupie nie zaobserwowano pojawienia się objawów klinicznych chorób eozynofilowych.

Podsumowanie

W przebiegu leczenia dupilumabem ma miejsce wzrost liczebności eozynofilii we krwi obwodowej, jednak istotność kliniczna tego efektu pozostaje dyskusyjna.

OPEN ACCESS CC BY NC

Immunologiczne konsekwencje wypadku komunikacyjnego

ADRIAN PAL, PATRYK CEGIEŁKA, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI, ADRIAN GAJEWSKI

[1] Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Słowa kluczowe: niedobory odporności, splenektomia

Wstęp

Wtórne niedobory odporności (WNO) to zaburzenia układu odpornościowego, które wynikają z działania egzogennych lub endogennych czynników. Mogą mieć różny stopień nasilenia. Czasami powodują poważne konsekwencje zdrowotne – taką historię opisuje poniższy przypadek.

Opis przypadku

34-letni mężczyzna zgłosił się do poradni immunologicznej z powodu częstych infekcji, niekontrolowanej astmy oraz innych poważnych schorzeń. Powyższe problemy zaczęły występować po wypadku i splenektomii w wieku młodzieńczym. Od tego czasu pacjent był wielokrotnie hospitalizowany z powodu ciężkich infekcji i zaostrzeń astmy. Cierpiał także na ropień okołomigdałkowy oraz okołoodbytniczy, i ropnie okołowierzchołkowe. Obraz kliniczny uzupełniały schorzenia ortopedyczne - rzekomy staw łódeczkowaty i zwyrodnienie nadgarstka. W poradni wykonano badania, które wykazały liczne nieprawidłowości, w tym: nieprawidłowe poziomy immunoglobulin, trombocytozę, leukocytozę i podwyższony poziom B-globuliny. U mężczyzny najważniejsze było zaplanowanie i wdrożenie odpowiedniej profilaktyki. Pacjent wymagał leczenia każdej z towarzyszących chorób, ale jednocześnie holistycznego podejścia.

Dyskusja

Śledziona jest delikatnym narządem, który może pęknąć podczas urazu - wówczas wymaga usunięcia. Wielu pacjentów nie doświadcza zmian w funkcjonowaniu układu odpornościowego, jednak czasami występują objawy istotnego niedoboru odporności. To pokazuje, że elementy tworzące organizm są ze sobą powiązane, a dysfunkcja jednego z nich może zaburzyć funkcjonowanie całości. Pacjenci z WNO wymagają wczesnej diagnozy, kompleksowej opieki, odpowiedniego leczenia i regularnego monitorowania.

OPEN ACCESS CC BY NC

Drugie życie w ruchu – spektakularna poprawa u aktywnego pacjenta z nr-axSpA dzięki terapii biologicznej sekukinumabem

JAGODA ROGOWSKA, OLGA BRZEZIŃSKA, ALEKSANDRA OPINC-ROSIAK, FILIP STYRZYŃSKI

[1] Klinika Reumatologii i Immunologii Klinicznej z Pododdziałem Chorób Wewnętrznych, Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 2 w Łodzi

Słowa kluczowe: nieradiograficzna spondyloartropatia osiowa, IL-17, HLA-B27, sekukinumab

Wstęp

Nieradiograficzna spondyloartropatia osiowa (nr-axSpA) to przewlekła choroba zapalna, charakteryzująca się zapalnym bólem krzyża, entezopatiami i zajęciem stawów krzyżowo-biodrowych, często bez uchwytnych zmian w RTG. W patogenezie kluczową rolę odgrywają czynniki genetyczne, zwłaszcza obecność HLA-B27, oraz nadaktywacja osi IL-23/IL-17. Interleukina 17A stymuluje rekrutację komórek zapalnych i rozwój entezopatii. Sekukinumab, przeciwciało monoklonalne blokujące IL-17A, hamuje ten szlak i stanowi skuteczną terapię u pacjentów z wysoką aktywnością choroby mimo leczenia konwencjonalnego.

Opis przypadku

67-letni pacjent, przewodnik górski, od ponad 10 lat pozostaje pod opieką reumatologiczną z powodu osiowych i obwodowych objawów zapalnych w przebiegu nr-axSpA. W 2013 roku pacjent przeszedł operacyjną wymianę zastawki aortalnej z powodu ciężkiej niedomykalności. Pierwsze dolegliwości pojawiły się około 2014 roku i obejmowały zapalne bóle kręgosłupa, nawracające zapalenie kolan, entezopatie ścięgna Achillesa oraz obrzęki stawów skokowych. Badania wykazały obecność HLA-B27 i nadżerki w CT stawów krzyżowo-biodrowych, mimo braku zmian typowych dla ZZSK w RTG. Wcześniejsze próby leczenia sulfasalazyną i metotreksatem zakończyły się niepowodzeniem, w tym ciężką pancytopenią. W kolejnych latach pacjent stosował wyłącznie NLPZ w maksymalnych dawkach, jednak bez trwałej poprawy. W 2023 roku, z uwagi na znaczne nasilenie objawów osiowych i obwodowych oraz utrzymującą się wysoką aktywność choroby (VAS 100/100, BASDAI 8,4, ADAS 5,27), pacjent został zakwalifikowany do programu lekowego B.82 i włączony do terapii sekukinumabem w dawce 150 mg w schemacie nasycającym. Po 3 miesiącach leczenia uzyskano spektakularną odpowiedź kliniczną z pełnym ustąpieniem bólu (VAS 0/100), normalizacją parametrów zapalnych (CRP 1,2 mg/L) oraz znaczącą poprawą funkcji (ADAS 0,64). Pacjent powrócił do pełnej aktywności fizycznej.

Dyskusja

Przedstawiony przypadek pokazuje wyjątkowo szybką i głęboką odpowiedź na leczenie sekukinumabem u pacjenta z nr-axSpA. Pomimo wieloletniego, nasilonego bólu, sztywności i nieskuteczności terapii klasycznej, już po kilku dawkach uzyskano pełne ustąpienie objawów. Po 3 miesiącach leczenia VAS spadł do 0/100, a pacjent powrócił do intensywnej aktywności fizycznej, w tym maratonów górskich, bez konieczności stosowania NLPZ. Tak szybka i głęboka odpowiedź kliniczna potwierdza znaczenie immunomodulacji szlaku IL-17A. Warto również zauważyć możliwy związek niedomykalności aortalnej z przewlekłym stanem zapalnym w przebiegu spondyloartropatii, co potwierdza systemowy charakter tej choroby.

OPEN ACCESS CC BY NC

Wybrane hematologiczne wskaźniki zapalenia systemowego u pacjentów z alergią pokarmową po przebytej reakcji anafilaktycznej – doniesienie wstępne

JAKUB WĄSIK, MARCIN KUROWSKI

Klinika Immunologii i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

Słowa kluczowe: alergia pokarmowa, anafilaksja, wskaźniki zapalenia systemowego

Wstęp

Coraz powszechniejsze stają się badania nad wskaźnikami zapalenia układowego w wielu jednostkach chorobowych. Do wskaźników takich należą: stosunek liczby monocytów do limfocytów (MLR), neutrofilów do limfocytów (NLR), eozynofilów do limfocytów (ELR) oraz bazofilów do limfocytów (BLR). Trwają badania innych laboratoryjnych wskaźników zapalenia systemowych w kontekście anafilaksji.

Cel

Celem badania było poszukiwanie zależności między MLR, NLR, ELR i BLR, a natężeniem reakcji uogólnionej związanej z ekspozycją na alergeny pokarmowe w populacji dorosłych.

Materiały i Metody

Dorośli pacjenci diagnozowani w kierunku alergii pokarmowych zostali włączeni do retrospektywnego badania obserwacyjnego. Dokonano analizy wyżej wymienionych wskaźników wyliczonych na podstawie wyników badań morfologii krwi wykonanych w stabilnym okresie choroby w ramach rutynowej diagnostyki. Do ustalenia stopnia ciężkości anafilaksji wykorzystano cztery skale oceny: Sampson (2003), Błażowskiego (2021), Muellera (1966) i WAO (2020). Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą testów ANOVA Kruskala-Wallisa – ocena poszczególnych wskaźników w odniesieniu do stopnia nasilenia reakcji, U Manna-Whitneya – dla poszczególnych wskaźników oraz obecności/braku choroby atopowej oraz korelacji rang Spearmana dla określenia istnienia zależności między poszczególnym wskaźnikiem a liczbą chorób atopowych.

Wyniki

Poddano analizie 58 pacjentów (48 kobiet, 10 mężczyzn) z potwierdzoną reakcją uogólnioną oraz IgE-zależną alergią pokarmową. Mediana wieku – 41 lat (zakres 19-76). U 38 (66%) pacjentów występowała co najmniej jedna choroba atopowa. Mediany wskaźników wynosiły: MLR = 0,233 (IQR = 0,197-0,299); NLR = 1,587 (IQR = 1,222-2,655); ELR = 0,105 (IQR = 0,057-0,814); BLR = 0,018 (IQR = 0,013-0,03). Nie stwierdzono istotnie statystycznej różnicy między wartościami wskaźników w grupach pacjentów o różnym stopniu nasilenia reakcji po pokarmach po zastosowaniu każdej ze skal oceny natężenia anafilaksji. Nie odnotowano również zależności między liczbą chorób atopowych, a wartościami wyżej wspomnianych wskaźników.

Podsumowanie

Wskaźniki MLR, NLR, ELR, BLR nie wykazują związku z natężeniem przebytej reakcji uogólnionej wywołanej ekspozycją na alergeny pokarmowe. Współistnienie chorób atopowych również nie wpływa na wartość tych wskaźników w badanej grupie. Co ciekawe, zakres wartości MLR, NLR, ELR i BLR u chorych z uogólnionymi reakcjami po pokarmach nie odbiega od wartości podawanych w literaturze u osób zdrowych. Zależności te wymagają jednak szerszych badań uwzględniających większe grupy chorych oraz inne wskaźniki zapalenia systemowego z zastosowaniem bardziej zaawansowanych metod statystycznych, np. analizy wieloczynnikowej.

OPEN ACCESS

Ocena wpływu HRV-A16 i HCoV-229E na ekspresję cytokin typu Th1, Th2, Th17, Treg oraz cząstek prezentacji antygenu w ludzkim śródbłonku naczyń płucnych – wyniki pilotażowe

IWONA DZIEMBAŁA-GŁADYSZ, ADRIAN GAJEWSKI, MATEUSZ GAWRYSIAK, IZABELA GULBAS, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI

[1] Klinika Immunologii i Alergii, Katedra Reumatologii, Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź

Słowa kluczowe: śródbłonek naczyń płucnych, rinowirus, koronawirus, odpowiedź immunologiczna, cytokiny limfocytów T

Wstęp

Śródbłonek naczyniowy płuc to półprzepuszczalna bariera regulująca transport substancji i komórek odpornościowych między krwią a tkankami oraz aktywnie uczestnicząca w odpowiedzi immunologicznej. Wykazano, że może być infekowany przez wirusy, m.in. HRV-A16, generując zapalną oraz przeciwwirusową (IFN-β) odpowiedź immunologiczną. Nadal jednak niewiele wiadomo o wpływie infekcji wirusowej na adaptacyjną odpowiedź immunologiczną śródbłonka, zwłaszcza w kontekście modulacji profilu cytokin limfocytów T i zdolności prezentacji antygenu.

Cel

Ocena wpływu ludzkiego rinowirusa HRV-A16 i koronawirusa HCoV-229E na ekspresję cytokin typu T, czynników transkrypcyjnych oraz cząstek prezentacji antygenu w ludzkim śródbłonku naczyń płucnych.

Materiały i metody

Ludzkie komórki śródbłonka mikrokrążenia płucnego (HMVEC-L) poddawano ekspozycji w odrębnych eksperymentach wirusami HRV-A16 lub HCoV-229E w trzech dawkach infekcyjnych (MOI: 0,1; 1,0; 3,0) przez 3 godziny. Po inkubacji usuwano zawiesinę wirusową, a hodowlę kontynuowano do wyznaczonych punktów czasowych (HRV-A16: 5, 24, 72 h; HCoV-229E: 48, 72, 96 h), w których pobierano materiał do analiz. Następnie izolowano całkowity RNA, przeprowadzano odwrotną transkrypcję do cDNA i oceniano zmiany ekspresji genów metodą Real Time PCR.

Wyniki/Dyskusja

Zakażenie HMVEC-L wirusami HRV-A16 i HCoV-229E indukowało zależny od dawki wzrost ekspresji genów IFN-β i RANTES, co wskazuje na aktywację odpowiedzi przeciwwirusowej. Dodatkowo, wzrost ekspresji IFN-α (HRV-A16: T24; HCoV-229E: T48, T72) sugeruje aktywację odpowiedzi typu Th1. Wzrost GATA-3 (HRV-A16: T72; HCoV-229E: T48) nie korelował z ekspresją cytokin Th2 – IL-4 i IL-13 były niewykrywalne w komórkach infekowanych HRV-A16 i wymagają potwierdzenia dla HCoV-229E. Markery odpowiedzi typu Th17 (IL-17, RORγT) były niewykrywalne lub wymagają dalszej weryfikacji. Oba wirusy indukowały odpowiedź typu Treg – wzrost FOXP3 (HRV-A16: T72; HCoV-229E: T48, T72) i TGF-β (HRV-A16: T24; HCoV-229E: T48, T72). Zakażenie wirusami zwiększało ekspresję HLA-A i CD80 (HRV-A16: T72; HCoV-229E: T48, T72), natomiast ekspresji HLA-DRA, CD86 i CD209 nie wykryto lub wymaga dalszego potwierdzenia w kolejnych analizach.

Podsumowanie

Odpowiedź śródbłonka na HRV-A16 i HCoV-229E obejmuje wzrost ekspresji IFN-α (Th1) i aktywację odpowiedzi Treg. Nie wykazano ekspresji cytokin Th2 i Th17, mimo obecności czynnika transkrypcyjnego Th2. Ekspresja HLA-A i CD80 wskazuje na potencjał prezentacji antygenu.

Finansowanie

Badanie finansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS 22 nr NCN 2021/43/B/NZ5/00973. Kierownik projektu: dr hab. n. med. Maciej Chałubiński, prof. UM

OPEN ACCESS CC BY NC

Immunomodulacyjne właściwości ekstraktów z *Pleurozium schreberi* pochodzącego z fitocenoz leśnych o zróżnicowanym stopniu sukcesji względem jednojądrzastych komórek krwi obwodowej

NIKODEM GĄSIENICA-GLIWA[1,2], JUSTYNA AGIER[2], AGNIESZKA KOBYLIŃSKA[3], GRZEGORZ WOLSKI[3], MAREK FOL[1]

[1] Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90-232 Łódź
[2] Zakład Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii Doświadczalnej, Centrum Badań Molekularnych Chorób Cywilizacyjnych MOLecoLAB, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Mazowiecka 5, 92-215 Łódź
[3] Katedra Geobotaniki i Ekologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90-232 Łódź

Słowa kluczowe: *Pleurozium schreberi*, komórki jednojądrzaste krwi obwodowej, monocyty, immunomodulacja

Wstęp

Rokietnik pospolity (*Pleurozium schreberi*) to gatunek mchu powszechnie występujący zarówno w lasach, jak i w obrębie terenów bagiennych oraz podmokłych. Mchy są grupą roślin dobrze poznaną w kontekście ekologicznym i zaznaczyły swoją pozycję w biomonitoringu jako elemencie oceny jakości środowiska. Są również coraz częściej uznawane za cenne źródło substancji aktywnych, których wpływ na komórki ludzkie wciąż nie jest dobrze poznany. Istniejące doniesienia na temat prozdrowotnych właściwości związków pochodzących z mchów pozwalają sądzić, że mogą one być szerzej wykorzystywane w lecznictwie/ kosmetyce, np. w preparatach skórnych czy jako składniki opatrunków ze względu na ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe.

Cel

Ocena właściwości biologicznych ekstraktów z *Pleurozium schreberi*, pozyskanego z czterech różnych siedlisk leśnych, na komórki odpornościowe człowieka. Celem badań była analiza czy i w jakim zakresie różne obszary występowania tej rośliny mogą wpływać na efektywność oddziaływania ekstraktów na ludzkie komórki jednojądrzastych krwi obwodowej, w szczególności monocyty.

Materiały i Metody

Badania prowadzono na ludzkich jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej izolowanych z kożuszka leukocytarno-płytkowego techniką wirowania separującego z użyciem gradientu Histopaque®-1077 oraz monocytach pozyskiwanych techniką MACS® MicroBeads. Cytotoksyczność związków przebadano wykorzystując metodę wychwytu czerwieni obojętnej, a do analizy migracji komórek zastosowano test mikrokomorowy Boydena. Do oceny wpływu ekstraktów na immunoregulatorowe właściwości komórek układu odpornościowego zastosowano technikę qRT-PCR oraz cytometrię przepływową.

Wyniki/Dyskusja

Odnotowano, że warunki środowiska (różne fitocenozy leśne), których element stanowi rokietnik pospolity (las „młodnik” sosnowy: 5-15 lat, las sosnowy 50-letni, dukt przy sosnowym lesie, las typu dąbrowa) mają wpływ na aktywność biologiczną pozyskanych ekstraktów. Ekstrakty pozyskane z mchu zlokalizowanego w lesie „młodniku” oraz lesie typu dąbrowa posiadają właściwości proliferacyjne wobec komórek jednojądrzastych krwi obwodowej w stężeniach 31,25 i 62,5 µg/mL, natomiast najwyższy potencjał do indukcji migracji monocytów zaobserwowano dla ekstraktu pozyskanego z mchu w lesie sosnowym o wieku określonym na 50 lat. Dla tego ekstraktu, przy stężeniu 62,5 µg/mL, zaobserwowano również wzrost ekspresji receptora TLR4 oraz ekspresji genu plejotropowej cytokiny IL-6 w monocytach.

Podsumowanie

Badania udokumentowały, potencjał immunomodulujący ekstraktów z *Pleurozium schreberi* oraz ich możliwe wykorzystanie w medycynie i/ lub w kosmetyce.

Finansowanie

Współfinasowane przez Uniwersytet Łódzki w ramach programu Studenckich Grantów Badawczych.

OPEN ACCESS CC BY NC

Systemowa odpowiedź immunologiczna na terapię anty-IL-5 w ciężkiej astmie

MATEUSZ GROCHOWSKI[1], AGNIESZKA LIS[1], ROMAN SKIEPKO[1], KINGA BODNAR-CZUK[2,3], DAMIAN POGODZIŃSKI[2], ANDRZEJ ELJASZEWICZ[2], MARCIN MONIUSZKO[1]

[1] Klinika Alergologii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A, 15-276 Białystok
[2] Centrum Medycyny Regeneracyjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Waszyngtona 15 B, 15-269 Białystok
[3] Centrum Bioinformatyki i Analizy Danych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Jerzego Waszyngtona 15C, 15-269 Białystok

Słowa kluczowe: astma, terapia biologiczna, immunologia

Wstęp

Leczenie ciężkiej astmy eozynofilowej uległo znaczącej poprawie dzięki zastosowaniu terapii biologicznych ukierunkowanych na eozynofile. Przeciwciała monoklonalne, takie jak mepolizumab i benralizumab, działają odpowiednio poprzez blokowanie interleukiny 5 (IL-5) lub jej receptora (IL-5Rα), prowadząc do redukcji lub eliminacji eozynofili, a w konsekwencji zmniejszenia stanu zapalnego w drogach oddechowych. Mimo udokumentowanej skuteczności klinicznej, wpływ tych terapii na systemową odpowiedź immunologiczną pozostaje wciąż nie w pełni poznany.

Cel

Celem naszego badania było porównanie efektów terapii biologicznej przeciwko IL-5/IL-5Rα na poziomie systemowej odpowiedzi immunologicznej z wykorzystaniem technologii proteomiki celowanej OLINK (panel inflammation oraz Immune Responses).

Materiały i Metody

Do badania włączono 10 dawców zakwalifikowanych do leczenia benralizumab i 7 pacjentów zakwalifikowanych do leczenia mepolizumab. Materiał pobierany był przed rozpoczęciem terapii, 1 miesiąc oraz 2-3 miesiące po rozpoczęciu terapii.

Wyniki

Analiza zmian w systemowym profilu immunologicznym po rozpoczęciu terapii anty-IL-5/IL-5Rα ujawniła wyraźne, lecz zróżnicowane modyfikacje ekspresji białek w zależności od zastosowanego przeciwciała. W grupie pacjentów leczonych mepolizumabem, po 1 miesiącu od rozpoczęcia terapii zaobserwowano wzrost poziomu białek SIT1, HSD11B1 oraz PRKCQ, przy jednoczesnym spadku ekspresji CD28 i ARTN. Wydłużona obserwacja do 2–3 miesięcy wykazała dalsze zmiany, w tym zwiększoną ekspresję CXCL6, CLEC4C i MCP-3, oraz obniżenie poziomu CLEC4D, FGF19 i TGFα.W przypadku terapii benralizumabem, po 1 miesiącu leczenia zaobserwowano istotny wzrost ekspresji białek takich jak SIT1, BTN3A2, CLEC4G, CLEC7A oraz PD-L1, przy jednoczesnym obniżeniu poziomu IL-5 w osoczu. Po 2–3 miesiącach terapii benralizumabem stwierdzono wzrost stężenia m.in. CCL23, EIF5A oraz CD40, przy obniżonej ekspresji chemokiny CCL11 (eotaksyna).

Podsumowanie

Uzyskane wyniki wskazują na immunomodulujące działanie obu terapii w zakresie systemowej odpowiedzi immunologicznej, obejmującej zarówno mediatory odpowiedzi nieswoistej jak i adaptacyjnej. Pomimo porównywalnych efektów klinicznych stosowanych terapii ich wpływ na systemową odpowiedź immunologiczną wydaj się różny. Dlatego konieczne są dalsze badania, aby lepiej poznać wpływ tych nowoczesnych terapii biologicznych na dynamiczne zmiany w obrębie systemowej odpowiedzi immunologicznej.

OPEN ACCESS CC BY NC

Wpływ glikokortykosteroidów na ekspresję receptorów koronawirusowych ACE2, DPP4 i AP-N na śródbłonku naczyń płucnych zakażonym rinowirusem HRV16 i podatność na infekcje koronawirusami w immunopatologii przewlekłych chorób zapalnych układu oddechowego

IZABELA GULBAS, ADRIAN GAJEWSKI, MACIEJ CHAŁUBIŃSKI

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

Słowa kluczowe: budezonid, śródbłonek, receptory koronawirusowe

Wstęp

Wirusowe infekcje dróg oddechowych wywołane rinowirusami (HRV) i koronawirusami, są najczęstszym czynnikiem powodującym ciężkie zaostrzenia astmy, gdzie rinowirusy stanową ich 60-80%, natomiast koronawirusy 4-8%. W patogenezie zapalenia astmatycznego ważną funkcję odgrywa śródbłonek, który nie tylko jest źródłem mediatorów zapalnych, ale również wykazuje ekspresję receptorów umożliwiających wejście wirusów do komórek: ICAM-1 (HRV16), AP-N (HCoV-229E), DPP4 (MERS-CoV) i ACE2 (SARS-CoV-2). Budezonid, wykazuje działanie przeciwzapalne i stosowany jest m.in. w leczeniu astmy i COVID-19. Budezonidu może wpływać na replikację wirusów i ekspresję receptorów na komórkach nabłonka natomiast jego działanie na śródbłonek i ekspresję receptorów koronawirusowych pozostaje słabo poznane.

Cel

Celem badania jest analiza wpływu budezonidu na ekspresję receptorów koronawirusowych (ACE2, DPP4, AP-N) na zakażonym rinowirusem śródbłonku naczyń płucnych.

Materiały i Metody

Ludzkie komórki śródbłonka naczyniowego płuc (HMVEC-L) preinkubowano przez 24h z budezonidem (1 ng/mL), a następnie infekowano HRV16 (MOI 3) przez 3h i hodowano dalej przez 5, 24 i 72 godziny. W odpowiednich punktach czasowych aktywność odpowiedzi zapalnej (IL-8, RANTES) i przeciwwirusowwej (IFNβ) oceniono za pomocą real-time PCR, natomiast ekspresję białka oceniono za pomocą testu ELISA.

Wyniki

Zaobserwowano, że sam budezonid może obniżać ekspresję mRNA dla receptorów AP-N, DPP4 i ACE2 oraz ICAM-1 w 24h i IFN-β w 5h w porównaniu z kontrolą. W komórkach śródbłonka naczyniowego płuc preinkubowanych przez 24h budezonidem, a później infekowanych HRV16 przez 3h budezonid ograniczał wzrost ekspresji receptorów: AP-N i DPP4 (72 h), ACE2 (5 h) oraz ICAM-1 (5h) w porównaniu do komórek infekowanych tylko HRV16. W Przypadku komórek śródbłonka preinkubowanych przez 24h budezonidem, a później infekowanych HRV16 odpowiedź przeciwwirusowa była osłabiona – ekspresja IFN-β spadała (24h), co zaobserwowano również na poziomie białka (72 h). W zakresie odpowiedzi zapalnej zaobserwowano obniżenie ekspresji IL-8 (5 h) i RANTES (24 h) na poziomie mRNA oraz białka również w komórkach wcześniej preinkubowanych przez 24h budezonidem, a później infekowanych HRV16 przez 3h .

Podsumowanie

Budezonid może hamować ekspresję receptorów koronawirusowych oraz może osłabiać odpowiedź zapalną i przeciwwirusową generowaną przez zakażony rinowirusem śródbłonek naczyń płucnych.

Finansowanie

Grant Naukowo-Badawczy Polskiego Towarzystwa Alergologicznego Nr 1/GNB/2022.

OPEN ACCESS CC BY NC

Ocena biozgodności *in vivo* mikrokapsułek alginianowych zawierających enkapsulowane *Mycobacterium bovis* BCG, jako element terapii skierowanej przeciwko zakażeniu pałeczkami *Helicobacter pylori*

PATRYCJA JARONIEK[1,3], MAREK BRZEZIŃSKI[2], MAGDALENA CHMIELA[3], WERONIKA GONCIARZ[3]

[1] Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów PAN w Łodzi; ul. Matejki 21/23, 90-237 Łódź, Polska
[2] Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych, Polska Akademia Nauk; ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź, Polska
[3] Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wstęp
Rosnąca lekooporność pałeczek *Helicobacter pylori* (Hp) stanowi wyzwanie w leczeniu zakażeń o tej etiologii. Przewlekły stan zapalny wywołany obecnością Hp w żołądku może prowadzić do wystąpienia wrzodów żołądka i dwunastnicy, a także prowadzić do rozwoju nowotworów. W badaniach wykazano terapeutyczne właściwości prątków szczepionkowych *Mycobacterium bovis* BCG. Zastosowanie preparatu w formie enkapsulowanej z jednoczesnym dostarczeniem substancji o właściwościach mukoadhezyjnych, np. chitozanu może potencjalnie zwiększać odporność preparatu na degradację, a w efekcie wpływać na zmniejszoną adhezję pałeczek Hp do błony śluzowej żołądka.

Cel
Ocena biozgodności *in vivo* mikrokapsułek (MK) alginianowych zawierających enkapsulowane *Mycobacterium bovis* BCG.

Materiały i Metody
Określono efekt biodystrybucji na modelu kawii domowej (zgoda ŁB 16/234/2022) badanych MK po podaniu per os. Po 24h oraz 72h oznaczano w surowicy i wątrobie poziom aminotransferaz (test ELISA), surowicze stężenie CRP, cytokin prozapalnych, cystatyny c oraz poziomu przeciwciał klasy IgE (test ELISA). Wykonano także analizę histopatologiczną (barwienie H&E) preparatów cienkowarstwowych z nerek, wątroby oraz śledzony.

Wyniki
W badaniu potwierdzono biozgodność opracowanych i analizowanych pod względem fizykochemicznym MKs *in vitro* (dane nieuwzględnione) oraz *in vivo*. Wykazano wysoką efektywność enkapsulacji żywych prątków BCG w zastosowanym nośniku, co zapewnia ochronę przed degradacją oraz biodostępność w kwaśnym pH żołądka oraz w zasadowym pH jelita.

Podsumowanie
Niezbędne jest przeprowadzenie dalszych badań na modelu eksperymentalnym zakażenia Hp *in vivo*, celem potwierdzenia właściwości bójczych MK z enkapsulowanymi *Mycobacterium bovis* BCG.

Finansowanie
Badania zostały sfinansowane z Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursu SONATA 18 pt: ”Ocena zdolności prątków *Mycobacterium bovis* BCG-onko do kontrolowania rozwoju zakażenia *Helicobacter pylori*”, UMO-2022/47/D/NZ7/01097.
Wyniki objęte zgłoszeniem patentowym „Sposób enkapsulacji prątków szczepionkowych *Mycobacterium bovis* BCG w nośniku alginianowym do zwalczania zakażenia bakteriami *Helicobacter pylori*” (numer zgłoszenia: P.451605) są bardzo ograniczone.

OPEN ACCESS CC BY NC

Wpływ receptora NOD2 na produkcję cytokin i ekspresję receptorów powierzchniowych monocytów w odpowiedzi na BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) i antygeny wirusowe

MAGDALENA JURCZAK[1,2,3], JOANNA KACZMAREK[4], MAGDALENA KOWALEWSKA-PIETRZAK[4], PAULINA STELMACH[1], MAGDALENA DRUSZCZYŃSKA[1]

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

[2] Centrum Badań Molekularnych Chorób Cywilizacyjnych MOLecoLAB, Zakład Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, , 92-215 Łódź

[3] Szkoła Doktorska Bio-Med-Chem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów PAN w Łodzi, 90-237 Łódź

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

Słowa kluczowe: *Bacillus Calmette–Guérin*, drugi koronawirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego, Syncytialny wirus oddechowy

Wstęp

Szczepionka *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), oprócz działania przeciwgruźliczego, wykazuje zdolność wzmacniania nieswoistej odporności wrodzonej poprzez indukcję tzw. wyszkolonej odporności. Receptor NOD2 odgrywa kluczową rolę w tym procesie, pośrednicząc w aktywacji monocytów i modulacji ich odpowiedzi na różnorodne patogeny, w tym wirusy.

Cel

Celem badania była ocena, czy odporność indukowana przez szczepienie BCG wzmacnia odpowiedź immunologiczną na SARS-CoV-2 i RSV u dzieci poprzez mechanizmy zależne od receptora NOD2 oraz czy wpływa na profil cytokin i ekspresję receptorów powierzchniowych, odzwierciedlających zmianę fenotypu monocytów.

Materiały i Metody

W badaniu zastosowano model *in vitro* oparty na pełnej krwi dzieci szczepionych BCG, różniących się serostatusem wobec SARS-CoV-2 i syncytialnego wirusa oddechowego (RSV). Hodowle stymulowano antygenami RSV, SARS-CoV-2 oraz/lub żywymi prątkami BCG. Oceniano ekspresję mRNA wybranych cytokin (IL-2, IL-6, IL-1β, IL-8, TNF, IL-4, IL-10) oraz receptora NOD2 metodą qPCR. Po 48-godzinnej stymulacji aktywację monocytów oceniano metodą cytometrii przepływowej, analizując markery powierzchniowe CD14, HLA-DR, CD11b i CD206.

Wyniki/Dyskusja

Stymulacja kombinacją BCG i RSV prowadziła do istotnego wzrostu ekspresji NOD2 zarówno w grupach RSV(+), jak i RSV(−)/SARS-CoV-2(−). U dzieci z dodatnim serostatusem wobec SARS-CoV-2 najwyższą ekspresję NOD2 odnotowano po stymulacji samym RSV. Współstymulacja BCG i RSV znacząco zwiększała poziomy cytokin IL-1β, IL-6, we wszystkich grupach, natomiast połączenie BCG i SARS-CoV-2 nasilało produkcję IL-2 w grupie SARS-CoV-2(+). Zaobserwowano występowanie dodatniej korelacji pomiędzy ekspresją NOD2 a poziomami IL-4 i IL-6, a także ujemną korelację z IL-1β w grupie SARS-CoV-2(+). Analiza cytometryczna wykazała zwiększoną ekspresję CD14 we wszystkich grupach oraz podwyższony poziom HLA-DR u dzieci RSV(+) i RSV(+)/SARS-CoV-2(+). Nie odnotowano istotnych zmian w ekspresji CD11b, natomiast CD206 wykazywał trend wzrostowy w grupie RSV(+)/SARS-CoV-2(+).

Podsumowanie

BCG może modulować odpowiedź przeciwwirusową poprzez aktywację szlaków zależnych od receptora NOD2, co prowadzi do zmian w profilu cytokin i ekspresji markerów powierzchniowych monocytów. Uzyskane wyniki wspierają koncepcję wykorzystania BCG jako potencjalnego środka immunomodulującego w profilaktyce lub łagodzeniu przebiegu infekcji wirusowych.

OPEN ACCESS CC BY NC

Ocena wpływu 5% hipoksji na właściwości immunologiczne komórek mikrowaskularnego śródbłonka naczyń płucnych

JOLANTA KALINOWSKA[1], ROBERT SZEWCZYK[1], MATEUSZ GAWRYSIAK[1,2], MACIEJ CHAŁUBIŃSKI[1]

[1] Klinika Immunologii i Alergii, Katedra Reumatologii, Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

[2] Klinika Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A, Białystok

Słowa kluczowe: hipoksja, śródbłonek

Wstęp

Hipoksja, definiowana jako stan niedoboru tlenu, prowadzi do dysfunkcji śródbłonka naczyń krwionośnych. Ze względu na swoje właściwości proangiogenne oraz prozapalne, uznawana jest za istotny czynnik patofizjologiczny w rozwoju astmy oskrzelowej i POChP. Mimo to, mechanizmy wpływu nagłej i przewlekłej hipoksji na funkcjonowanie komórek śródbłonka mikronaczyniowego oraz ich zdolność adaptacyjną do warunków niedotlenienia pozostają nie do końca poznane.

Cel

Celem badania była ocena zdolności adaptacyjnych komórek śródbłonka płuc do warunków obniżonego poziomu tlenu w modelu hipoksji ustalonej oraz zaindukowanej.

Materiały i Metody

Eksperymenty przeprowadzono na ludzkich komórkach śródbłonka mikronaczyniowego płuc (HMVEC-L; LONZA), wysiewanych na 24-dołkowe płytki (2 × 10^5 kom/well). Komórki hodowano w 3 różnych modelach hodowlanych: normoksji (N; 21% O_2, 5% CO_2, 37°C), hipoksji (H; 5% O_2, 5% CO_2, 37°C, komora Coy Laboratories) oraz w modelu normoksyjno-hipoksyjnym (NH), gdzie po 2 pasażach w normoksji komórki przenoszono do hipoksji po 24 h od wysiania (T_0). Ekspresję HIF1α, HIF2α, PHD2, VEGF, IL-6 i IFN-β analizowano metodą RT PCR po 5, 24, 48 i 72h. Żywotność oceniano testem MTT, natomiast z użyciem cytometrii przepływowej oceniono apoptozę – barwieniem aneksyną V-FITC, i proliferację – testem EdU. Ekspresję VE-kadheryny oceniano z użyciem mikroskopii konfokalnej.

Wyniki

Test MTT wykazał, że komórki hodowane w warunkach hipoksji (H) cechowały się wyższą żywotnością – o 25% po 48h i o 48% po 72h – w porównaniu do komórek normoksyjnych (N). Analiza proliferacji wykazała istotnie większy odsetek komórek proliferujących w grupie H (22%) względem NH (10%) i N (8%) (p=0,0095). W warunkach hipoksji (H) stwierdzono 5-krotny wzrost ekspresji mRNA RANTES i VEGF-α po 24 h. Zaobserwowano obniżoną ekspresję mRNA cytokin IL-6 i IL-8 oraz czynników HIF-1α i HIF-2α zarówno w hipoksji ustalonej (H), jak i zaindukowanej (NH, 24h). Średnia intensywność fluorescencji VE-kadheryny [FITC] wynosiła odpowiednio: 23,8 (N), 26,5 (NH) i 35,2 (H).

Podsumowanie

Długotrwała ekspozycja na warunki hipoksji (H) może wpływać na wybrane właściwości zapalne i przeciwwirusowe komórek HMVEC-L. Co istotne, w porównaniu do modelu krótkotrwałego niedotlenienia (NH), przewlekła hipoksja wiązała się z wyższą żywotnością oraz intensywniejszą proliferacją komórek śródbłonka. Powyższe obserwacje mogą stanowić podłoże do zrozumienia sposobu adaptacji HMVEC-L do warunków hipoksji.

Finansowanie

Badanie finansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS 22 nr NCN 2021/43/B/NZ5/00973. Kierownik projektu: dr hab. n. med. Maciej Chałubiński, prof. UM

OPEN ACCESS CC BY NC

Wewnątrzkomórkowa i powierzchniowa ekspresja TLR3 w ludzkim śródbłonku mikronaczyniowym płuc

WOJCIECH KARPIK[1], MATEUSZ GAWRYSIAK[1], SYLWIA MICHLEWSKA[2], MACIEJ CHAŁUBIŃSKI[1]

[1] Klinika Immunologii i Alergii, Katedra Reumatologii, Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

[2] Pracownia Obrazowania Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banach 12/16, 92-237 Łódź

Słowa kluczowe: śródbłonek, TLR3, poly(I:C), odpowiedź przeciwwirusowa

Wstęp

Komórki śródbłonka naczyniowego płuc mogą być infekowane przez wirusy oddechowe takie jak ludzki rinowirus 16. Nawet 85% zaostrzeń objawów astmy powodowane jest przez rinowirusy. Zakażenie śródbłonka prowadzi do silnej aktywacji zapalnej i przeciwwirusowej. Jednym z mechanizmów aktywacji może być pobudzenie receptora TLR3 rozpoznającego wirusowe dsRNA. TLR3 występuje głównie wewnątrzkomórkowo w endosomach, lecz doniesienia literaturowe potwierdzają także powierzchniową lokalizację TLR3. Brakuje natomiast badań wyjaśniających, czy TLR3 występuje na powierzchni komórek śródbłonka naczyniowego płuc, oraz jaką rolę odgrywa w indukowaniu odpowiedzi przeciwwirusowej.

Cel

Ocena *in vitro* ekspresji wewnątrzkomórkowej i powierzchniowej receptora TLR3 na ludzkich komórkach śródbłonka mikronaczyniowego płuc.

Materiały i Metody

Wykorzystano ludzkie pierwotne komórki śródbłonka mikronaczyniowego płuc (HMVEC-L). Komórki wybarwiono przeciwciałami anty-TLR3 (BioLegend, TLR-104, PE) wewnątrzkomórkowo z permabilizacją i powierzchniowo bez permabilizacji. Ekspresję oceniono metodą cytometrii przepływowej, dodatkowo oznaczając zmianę w ekspresji TLR3 po stymulacji komórek z użyciem różnych stężeń agonisty TLR3 – poly(I:C), w punktach czasowych T24h, T48h, T72h . Dodatkowo oceniono ekspresję TLR3 w mikroskopie konfokalnym.

Wyniki

Wykazano wewnątrzkomórkową i powierzchniową ekspresję receptora TLR3 na komórkach śródbłonka. Stymulacja śródbłonka poly(I:C) w stężeniu 10µg/mL powoduje wzrost ekspresji receptora TLR3. Ze względu na wstępny charakter badań, istotność statystyczna z użyciem testu U Manna-Whitney'a, wyliczona została jedynie dla T24h (N=4-5). Już w 24 godzinie stymulacji z użyciem poly(I:C) wewnątrzkomórkowa ekspresja TLR3 wzrasta (p=0,029) o 26,1% (SEM ± 11,26), a powierzchniowa ekspresja wzrasta o 20,3% (p=0.127, SEM ± 8,89) względem niestymulowanej kontroli.

Podsumowanie

Badania potwierdzają wewnątrzkomórkową oraz powierzchniową ekspresję TLR3 w komórkach ludzkiego śródbłonka mikronaczyniowego. Stymulacja śródbłonka z użyciem polu(I:C) powoduje szybki wzrost wewnątrzkomórkowej ekspresji TLR3 już w 24 godzinie eksperymentu.

Finansowanie

Badanie finansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS 22 nr NCN 2021/43/B/NZ5/00973. Kierownik projektu: dr hab. n. med. Maciej Chałubiński, prof. UM

OPEN ACCESS CC BY NC

Wpływ długotrwałego stresu u studentów medycyny na poziom kortyzolu i parametry morfologiczne krwi obwodowej

JAN KINASIEWICZ, **KRZYSZTOF ŚLIWA**

Collegium Medicum im. Władysława Biegańskiego, UJD Częstochowa

Słowa kluczowe: stres, kortyzol, morfologia krwi

Wstęp

Stres psychologiczny towarzyszący intensywnym okresom nauki, takim jak sesja egzaminacyjna, może znacząco oddziaływać na funkcjonowanie układu nerwowego i immunologicznego. Kluczową rolę w odpowiedzi organizmu na stres odgrywa oś podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA), której aktywacja prowadzi do wzrostu stężenia glukokortykoidów, w tym kortyzolu. Przewlekle podwyższony poziom kortyzolu (hiperkortyzolemia) wykazuje działanie immunosupresyjne i może sprzyjać rozwojowi procesów zapalnych.

Cel

Celem badania była ocena wpływu przewlekłego stresu związanego z okresem egzaminacyjnym na stężenie kortyzolu oraz wybrane parametry morfologii krwi obwodowej u studentów kierunku lekarskiego.

Materiały i metody

W badaniu uczestniczyło 40 studentów medycyny. Pobierano krew żylną w dwóch punktach czasowych: (1) na dwa dni przed rozpoczęciem sesji egzaminacyjnej oraz (2) dwa tygodnie po jej zakończeniu. Oceniano stężenie kortyzolu w surowicy oraz podstawowe parametry morfologii krwi. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem testów porównawczych.

Wyniki

Zaobserwowano istotny wzrost stężenia kortyzolu w okresie sesji egzaminacyjnej w porównaniu do wartości po jej zakończeniu. Wśród parametrów morfologicznych odnotowano obniżony poziom hemoglobiny oraz wzrost liczby leukocytów w trakcie trwania sesji. Zmiany te mogą sugerować reakcję organizmu na stres przypominającą odpowiedź zapalną.

Wnioski

Przewlekły stres egzaminacyjny może prowadzić do istotnych zmian hormonalnych i hematologicznych, wskazujących na aktywację odpowiedzi zapalnej. Uzyskane wyniki potwierdzają negatywny wpływ długotrwałego stresu na homeostazę organizmu oraz podkreślają potrzebę wdrażania działań profilaktycznych w grupie studentów narażonych na intensywne obciążenie psychiczne.

OPEN ACCESS CC BY NC

Rola interferonu β w ograniczeniu zakażenia ludzkiego śródbłonka naczyń płucnych koronawirusem HCoV-229E

KAMILA KOCHANOWSKA[1], SYLWIA MICHLEWSKA[2], MAGDALENA CHMIELA[1], MACIEJ CHAŁUBIŃSKI[3], MATEUSZ GAWRYSIAK[3]

[1] Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Łódź
[2] Pracownia Obrazowania Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych, Uniwersytet Łódzki, ul. Banach 12/16, 92-237 Łódź
[3] Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

Słowa kluczowe: interferon β, śródbłonek, RV-A16, HCoV-229E, koinfekcja

Wstęp

Ludzkie rinowirusy oraz koronawirusy należą do wirusów oddechowych, powodujących łagodne przeziębienia. Wywołują też zaostrzenia astmy oskrzelowej oraz POChP, a szczyty zachorowań dla tych dwóch grup wirusów nakładają się wczesną wiosną, co może potencjalnie przekładać się na zwiększone ryzyko jednoczesnej infekcji. Śródbłonek naczyniowy stanowi bogate źródło cytokin, w tym cytokin prozapalnych oraz przeciwwirusowych. Ostatnie badania pokazują potencjalną możliwość zakażenia śródbłonka naczyń płucnych, co mogłoby przekładać się na udział tej tkanki w generowaniu odpowiedzi odpornościowej skierowanej przeciwko wirusom oddechowym. Zakażenie komórek śródbłonka naczyń płucnych wirusem RV-A16 powoduje szybki wzrost wydzielania cytokin odpowiedzi przeciwwirusowej i prozapalnej, takich jak IFN-β, OAS-1 czy PKR, który może pełnić rolę protekcyjną w przypadku zakażenia wirusem HCoV-229E.

Cel

Celem badań było stwierdzenie, czy po zakażeniu śródbłonka naczyń płucnych wirusem RV-A16 wydzielony przez śródbłonek naczyń płucnych interferon-β ogranicza zakażenie tych komórek wirusem HCoV-229E.

Materiały i Metody

Założono hodowlę komórkową mikrowaskularnych komórek śródbłonka naczyń płucnych (HMVEC-L), którą preinfekowano RV-A16, a następnie infekowano HCoV-229E. Hodowlę prowadzono w obecności przeciwciał anty-hIFN-β (4 μg/mL), dodanych po preinfekcji wirusem RV-A16, w celu zablokowania działania interferonu β. Po inkubacji analizowano ekspresję genów za pomocą Real-Time PCR dla interferonu β, białek odpowiedzi przeciwwirusowej (OAS-1, PKR, MX1) oraz RANTES i IL-6, a także produkcję białek za pomocą testów ELISA i cytometrii przepływowej. Ograniczenie w liczbie kopii wirusa sprawdzono za pomocą qPCR oraz zobrazowano w mikroskopii konfokalnej.

Wyniki

Wyniki uzyskane w koinfekcji pokazują wzrost ekspresji mRNA dla IFN-β oraz białek odpowiedzi przeciwwirusowej i prozapalnej – syntazy 2’-5’- oligoizoadenylanowej 1(OAS-1), kinazy białkowej R (PKR), białka wiążącego GTP indukowanego interferonem Mx-1 (Mx-1), RANTES i IL-6. Sugeruje to skuteczność rinowirusa w indukcji odpowiedzi przeciwwirusowej przeciwko HCoV-229E. Ponadto, zakażone komórki produkują zwiększone ilości białek odpowiedzi przeciwwirusowej – OAS-1 i PKR po 72 godzinach od zakażenia koronawirusem. Po tym samym czasie, kolokalizacja białek w mikroskopii konfokalnej pozwoliła zaobserwować zmniejszoną liczbę kopii wirusa HCoV-229E w przypadku koinfekcji. Oznaczenie liczby kopii metodą qPCR pozwoliło ostatecznie potwierdzić ograniczenie replikacji HCoV-229E na skutek infekcji RV-A16. Uzyskane wyniki sugerują potencjalne protekcyjne działanie IFN-β wydzielonego przez śródbłonek naczyniowy płuc po preinfekcji RV-A16 objawiające się jako ograniczanie replikacji koronawirusa.

Podsumowanie

Interferon-β wydzielony przez preinfekowany śródbłonek naczyń płucnych może potencjalnie ograniczać zakażenie wirusem HCoV-229E.

Finansowanie

Badanie sfinansowane w ramach programu Studenckie Granty Badawcze Uniwersytetu Łódzkiego.

OPEN ACCESS CC BY NC

Wzrost integralności bariery nabłonkowej przez archeony halofilne *Halorhabdus rudnickae* w modelu linii komórkowej Calu-3

KRZYSZTOF KRAWCZYK[1], SERAFIN ZAWADZKI[2,3], ANNA MACIEJA[4], SYLWIA MICHLEWSKA[5], MARLENA TYNECKA[6], JOANNA WIECZFIŃSKA[7], MAGDALENA KOWALEWICZ-KULBAT[1]

[1] Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki, Łódź, Polska
[2] Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Ogólnej, Uniwersytet Łódzki, Łódź, Polska
[3] Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, Łódź, Polska
[4] Zakład Mikrobiologii i Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź, Polska
[5] Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Pracownia Obrazowania Mikroskopowego i Specjalistycznych Technik Biologicznych, Uniwersytet Łódzki, Łódź, Polska
[6] Centrum Medycyny Regeneracyjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, Polska
[7] Zakład Immunopatologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź, Polska

Słowa kluczowe: archeony, halofile, nabłonek, bariera nabłonkowa

Wstęp

Nabłonek górnych dróg oddechowych stanowi pierwszą barierę przed czynnikami obecnymi w powietrzu, do których należą zanieczyszczenia, pyły, alergeny, ale także drobnoustroje. Archeony halofilne to drobnoustroje niepatogenne, zdolne do życia w warunkach wysokiego zasolenia, na przykład kopalniach soli czy w słonej żywności. Pomimo, iż wykazano obecność archeonów halofilnych w aerozolu solnym i solankach występujących w kopalniach soli, w których regularnie odbywają się zabiegi haloterapii, to jednak wpływ tych drobnoustrojów na organizm człowieka pozostaje słabo zbadany.

Cel

Celem pracy było zbadanie interakcji archeonów halofilnych, *Halorhabdus rudnickae*, wyizolowanych z obszaru poeksploatacyjnego „Barycz” należącego do Kopalni Soli Wieliczka, z komórkami nabłonkowymi ludzkiej linii Calu-3, w kontekście zdolności tych drobnoustrojów do zwiększania integralności bariery nabłonkowej.

Materiały i Metody

Komórki ludzkiej linii Calu-3, wykorzystane jako model ludzkiej bariery nabłonkowej, stymulowano zawiesiną żywych archeonów halofilnych *Hrd. rudnickae*. Cytotoksyczne i genotoksyczne działanie halofili oceniono, odpowiednio, za pomocą zestawu CCK-8 oraz alkalicznej wersji testu kometowego. Proliferację komórek analizowano z wykorzystaniem xCELLigence RTCA. Ekspresję białka ZO-1 przeprowadzono przy użyciu mikroskopu konfokalnego Leica TCS SP8. Poziom cytokin w supernatantach pohodowlanych oceniono za pomocą testu ELISA.

Wyniki

Stymulacja komórek Calu-3 halofilami *Hrd. rudnickae* nie wpłynęła istotnie na wzrost poziomu cytotoksyczności ani genotoksyczności badanych komórek. W wyniku stymulacji komórek Calu-3 *Hrd. rudnickae* zaobserwowano: istotne nasilenie proliferacji komórek, istotnie wyższą ekspresję białka ZO-1 oraz istotny spadek wydzielania TGF-beta 1, w porównaniu do komórek niestymulowanych.

Wnioski

Zaobserwowany brak działania cyto- i genotoksycznego archeonów halofilnych na komórki linii Calu-3 sugeruje, iż archeony halofilne stanowią bezpieczny stymulator ludzkich komórek nabłonkowych, a ich zdolność do istotnej poprawy integralności bariery nabłonkowej może w znaczący sposób przyczynić się do wykorzystania tych drobnoustrojów lub ich produktów w procesach niwelowania zaburzeń bariery nabłonkowej.

Finansowanie

NCN Preludium 2017/27/N/NZ6/02850

OPEN ACCESS CC BY NC

Świadomość roli mikrobioty i mechanizmów immunologicznych w patogenezie NChZJ wśród studentów kierunków medycznych

MAGDALENA PORĘBSKA[1], ELŻBIETA KOZŁOWSKA[2]

[1] Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
2 Zakład Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii Doświadczalnej, Centrum Badań Molekularnych Chorób Cywilizacyjnych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Mazowiecka 5, 92-215

Słowa kluczowe: nieswoiste choroby zapalne jelit, mikrobiota jelitowa

Wstęp

Nieswoiste choroby zapalne jelit (NChZJ), takie jak choroba Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego, to przewlekłe schorzenia o złożonej, wieloczynnikowej etiologii. Ich rozwój wiąże się z zaburzoną odpowiedzią immunologiczną na bodźce środowiskowe u osób z predyspozycją genetyczną. Coraz większą uwagę poświęca się mikrobiocie jelitowej, kluczowej dla homeostazy przewodu pokarmowego i funkcjonowania układu odpornościowego. Zaburzenia jej składu, określane jako dysbioza, często towarzyszą NChZJ i mogą inicjować lub nasilać proces zapalny.

Cel

Ocena poziomu wiedzy studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi na temat mechanizmów immunologicznych związanych z NChZJ oraz roli mikrobioty w ich patogenezie.

Materiały i Metody

Badanie przeprowadzono w 2024 roku za pomocą autorskiej ankiety wśród 100 studentów różnych kierunków Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wyniki

Największą grupę stanowili studenci dietetyki (47%). 80,85% studentów dietetyki poprawnie wskazało GALT jako tkankę limfatyczną związaną z jelitami. Najwyższą znajomość charakterystyki NChZJ wykazali studenci dietetyki (78,72%), a najniższą – farmacji (65,22%). Mechanizmy immunologiczne poprawnie identyfikowało ponad 60% studentów kierunku lekarskiego. Przeciwciała ANCA i ASCA jako markery diagnostyczne najczęściej wskazywali studenci kierunku lekarskiego (53,85%). Najwięcej odpowiedzi wskazujących na zależność skuteczności probiotykoterapii od przebiegu choroby pochodziło od studentów dietetyki (72,34%). Różnice między kierunkami były istotne statystycznie w przypadku odpowiedzi dotyczących GALT ($\chi^2 = 12,88$; $p=0,0049$), charakterystyki NChZJ ($\chi^2 = 12,18$; $p=0,0068$) i probiotykoterapii ($\chi^2 = 19,53$; $p=0,0002$).

Podsumowanie

Studenci Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wykazują zadowalający poziom wiedzy o immunologii i mikrobiocie w kontekście NChZJ. Najlepsze wyniki osiągnęli studenci dietetyki. Wyniki podkreślają potrzebę interdyscyplinarnego nauczania zagadnień związanych z immunologią i mikrobiotą w edukacji medycznej.

OPEN ACCESS CC BY NC

Optymalizacja izolacji komórek śródbłonka naczyniowego z ludzkiej tkanki płucnej do analiz fenotypowych i molekularnych

EWELINA SOCHACKA[1], ROBERT SZEWCZYK[1], MATEUSZ GAWRYSIAK[1], JOLANTA KALINOWSKA[1], SZYMON WCISŁO[2], KRZYSZTOF LEWANDOWSKI[2], ADRIAN GAJEWSKI[1], MACIEJ CHAŁBIŃSKI[1]

[1] Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź
[2] Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej, ul. Żeromskiego, 90-549 Łódź

Słowa kluczowe: śródbłonek, izolacja komórek, choroby płuc

Wstęp

Komórki śródbłonka naczyniowego odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy naczyń krwionośnych oraz w patogenezie wielu chorób płuc, takich jak nadciśnienie płucne, astma czy przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP). Ich bezpośrednia analiza z ludzkiej tkanki płucnej umożliwia pogłębienie wiedzy na temat molekularnych i funkcjonalnych zmian zachodzących w mikrośrodowisku naczyń płucnych. Pomimo to, izolacja żywotnych i reprezentatywnych komórek śródbłonka naczyniowego z miąższu ludzkiego płuca pozostaje istotnym wyzwaniem technicznym.

Cel

Celem projektu jest opracowanie i optymalizacja metody izolacji komórek śródbłonka naczyniowego z tkanki płucnej pacjentów, umożliwiającej ich dalszą charakterystykę fenotypową i molekularną.

Materiały i metody

Fragmenty tkanki płucnej od chorych na astmę, POChP i od osób bez przewlekłych chorób zapalnych układu oddechowego pozyskiwane są we współpracy z Kliniką Chirurgii Klatki Piersiowej, Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej w Łodzi (nr zgody Komisji Bioetycznej – RNN/195/23/KE). W pierwszej kolejności pobrany materiał jest mechanicznie rozdrabniany przy użyciu skalpela, a następnie podlega trawieniu enzymatycznemu z wykorzystaniem kolagenazy typu II. Po inkubacji zawiesiny komórkowej materiał zostaje przefiltrowany i poddany wirowaniu. Otrzymany osad komórkowy wykorzystywany jest do identyfikacji i izolacji frakcji śródbłonkowej z użyciem zestawu przeciwciał firmy Miltenyi Biotec ($CD31^+CD45^-$) oraz automatycznego separatora AutoMACS.

Wyniki

Opracowana przez nas metoda umożliwia skuteczne pozyskanie frakcji komórek pozytywnych – CD31+ oraz negatywnych – $CD45^-$, wskazujących na ich śródbłonkowy fenotyp. Proces izolacji jest powtarzalny i daje spójną populację komórek, choć ich liczba jest relatywnie niska. Obserwujemy również ograniczoną adhezję komórek do podłoża w warunkach hodowlanych, co może ograniczać ich dalsze zastosowanie w eksperymentach funkcjonalnych.

Podsumowanie

Stworzyliśmy protokół izolacji komórek śródbłonka naczyniowego z ludzkiej tkanki płucnej, który umożliwia ich selekcję i analizę. Aktualnie prowadzimy prace nad poprawą efektywności adhezji oraz zwiększeniem liczby uzyskiwanych komórek. Opracowana strategia stanowi istotny punkt wyjścia do pogłębionych analiz funkcji śródbłonka w kontekście przewlekłych chorób zapalnych układu oddechowego.

Finansowanie

Badanie finansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS 22 nr NCN 2021/43/B/NZ5/00973. Kierownik projektu: dr hab. n. med. Maciej Chałubiński, prof. UM

OPEN ACCESS CC BY NC

Ocena wpływu hipoksji na markery stanu zapalnego mikrowaskularnych komórek śródbłonka naczyń płucnych

ROBERT SZEWCZYK, JOLANTA KALINOWSKA, MACIEJ CHAŁBIŃSKI

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

Słowa kluczowe: hipoksja, śródbłonek, markery stanu zapalnego

Wstęp

Hipoksja, definiowana jako stan niewystarczającej do utrzymania homeostazy ilości tlenu, prowadzi do dysfunkcji śródbłonka naczyń krwionośnych. Ze względu na niedotlenienie komórek, a miejscowo również i tkanek, prowadzi do indukcji zapalenia, które rozważa się jako istotny czynnik patofizjologii astmy oskrzelowej i POChP. Mimo to, wpływ jaki krótko- i długotrwała hipoksja wywiera na funkcjonowanie komórek śródbłonka naczyń płucnych pozostaje nieznany. Wiele prac porusza kwestię wpływu hipoksji na komórki unieśmiertelnione- nowotworowe. Brak jest natomiast prac, które poruszają tematykę wpływu nieodtleniania na markery stanu zapalnego w odniesieniu do pierwotnych hodowli komórek śródbłonka naczyń płucnych.

Cel

Celem badania była ocena wpływu krótko- i długotrwałego niedotlenienia (hipoksji) na wyznaczniki stanu zapalnego mikrowaskularnych komórek śródbłonka naczyń płucnych.

Materiały i Metody

Eksperymenty przeprowadzono na ludzkich komórkach śródbłonka mikronaczyniowego płuc (HMVEC-L; LONZA), wysiewanych na 24-dołkowe płytki (2×10^5 kom/well). Komórki hodowano w 3 różnych modelach hodowlanych: normoksji (N; 21% O_2, 5% CO_2, 37°C), Hipoksji (H; 5% O_2, 5% CO_2, 37°C, komora Coy Laboratories) oraz w modelu normoksyjno-hipoksyjnym (NH), gdzie po 2 pasażach w normoksji komórki przenoszono do hipoksji po 24 h od wysiania (T_0). Ekspresję TLR3, TLR7, RIG-I, MDA-5, NLRP3, IL-25, IL-33, TSLP, PD-L1, PD-L2, LAG-3 oraz IRF-7 analizowano metodą RT PCR po 5, 24, 48 i 72h. Poziom wydzielanego do środowiska wzrostu białka badano przy użyciu immunoenzymatycznego testu ELISA dla: PD-L1, PD-L2 i LAG3.

Wyniki

Wyniki względnej ekspresji mRNA wykazały wzrost dla alarminy IL-33 już w 5h eksperymentu dla układu komórek długotrwałej hipoksji. Zwiększoną ekspresję mRNA zaobserwowano również w przypadku grupy receptorów wrodzonej odpowiedzi immunologicznej: TLR3, TLR7, RIG-I oraz MDA-5. Co ciekawe, długotrwały wpływ niedotlenienia spowodował również indukcję ekspresji mRNA czynników odpowiedzialnych za kontrolę aktywacji układu odpornościowego takich jak PD-L1 i PD-L2 już w 48h eksperymentu. Wzrostu ekspresji mRNA nie zaobserwowano dla czynnika regulującego aktywację limfocytów LAG-3. Poziom wykrytego w supernatantach białka LAG-3 i PD-L2 był statystycznie istotnie wyższy dla komórek śródbłonka poddanych długotrwałej hipoksji względem kontroli już po 24h od rozpoczęcia eksperymentu.

Podsumowanie

Zarówno krótko- jak i długotrwała hipoksja może wpływać na ekspresję wrodzonych elementów układu receptorowego i wyznaczników stanu zapalnego komórek śródbłonka naczyń płucnych. Zaskakującym wydaje się fakt równoczesnej indukcji zarówno receptorowej, jak i regulacyjnej funkcji komórek śródbłonka naczyń płucnych szczególnie w przypadku długotrwałego wystawienia na warunki ograniczonej dostępności tlenu.

Finansowanie

Badanie finansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki OPUS 22 nr NCN 2021/43/B/NZ5/00973. Kierownik projektu: dr hab. n. med. Maciej Chałubiński, prof. UM

OPEN ACCESS CC BY NC

Zmiany w ekspresji mediatorów zapalnych i aktywności szlaku NF-κB w komórkach Caco-2 hodowanych w warunkach normoksji i hipoksji

ZUZANNA TOMASZEWSKA[1], ANDRZEJ POLAŃCZYK[2], ALEKSANDRA PIECHOTA-POLAŃCZYK[1]

[1] Zakład Hodowli Komórkowych i Analiz Genomowych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Żeligowskiego 7/9, 90-752, Łódź
[2] Akademia Pożarnicza, Wydział Inżynierii Bezpieczeństwa i Ochrony Ludności, Warszawa

Słowa kluczowe: NF-κB, IL-6, Caco-2, hipoksja, nabłonek jelitowy, mediatory zapalne

Wstęp

Nabłonek jelitowy naturalnie funkcjonuje w warunkach obniżonego stężenia tlenu, wynikającego z dużego gradientu tlenowego pomiędzy unaczynioną błoną śluzową a niemal beztlenowym światłem jelita. Hipoksja odgrywa istotną rolę w regulacji odpowiedzi zapalnej, szlak NF-κB jest jednym z kluczowych regulatorów ekspresji mediatorów zapalnych takich jak IL-6, która odgrywa ważną rolę w rozwoju chorób zapalnych jelit.

Cel

Celem badania była ocena wpływu warunków normoksji i hipoksji na aktywację szlaku NF-κB oraz wydzielanie IL-6 przez komórki Caco-2 stymulowane IL-1β lub siarczanem dekstranu sodu (DSS).

Materiały i Metody

Komórki linii Caco-2, uzyskane z ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego, hodowano przez 72 godziny w warunkach normoksji (21% O_2, 5% CO_2) lub hipoksji (0,5% O_2, 5% CO_2) w pełnym podłożu zawierającym 10% FBS. Następnie komórki głodzono przez 1 godzinę w medium pozbawionym FBS i stymulowano przez 24 godziny odpowiednio: IL-1β (25 ng/ml), DSS (1% lub 5%) lub pozostawiono bez stymulacji (kontrolna). Po zakończonej inkubacji pożywkę hodowlaną pozostawiono do oznaczenia poziomu IL-6 metodą ELISA, a komórki utrwalono i wybarwiono białka p65 oraz fosfo-p65 w celu analizy aktywności szlaku NF-kB. Wybarwione komórki analizowano za pomocą mikroskopu konfokalnego. Wszystkie doświadczenia wykonano w trzech powtórzeniach biologicznych.

Wyniki

W warunkach normoksji i hipoksji zarówno IL-1β, jak i DSS 5% indukowały wzrost wydzielania IL-6 w komórkach Caco-2, przy czym działanie DSS było istotnie silniejsze w hipoksji. Intensywność jądrowej fluorescencji p-p65 wskazywała na aktywację szlaku NF-κB we wszystkich grupach. Wskaźnik aktywacji NF-κB był najwyższy po stymulacji DSS 5% i DSS 1%, szczególnie w hipoksji, co potwierdza wzmożoną odpowiedź zapalną w warunkach hipoksji.

Podsumowanie

Uzyskane wyniki sugerują, że IL-1β silnie indukuje wydzielanie IL-6 w komórkach Caco-2, natomiast aktywacja szlaku NF-κB była bardziej nasilona po stymulacji DSS. Różnice te mogą wynikać z odmiennego mechanizmu lub przebiegu czasowego aktywacji szlaku NF-κB. Hipoksja dodatkowo nasilała aktywację NF-κB, co może mieć znaczenie w patogenezie stanów zapalnych przewodu pokarmowego.

Finansowanie

W poniższych badaniach wykorzystano mikroskop konfokalny FV3000 (Olympus) należący do Laboratorium BRaIn Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

OPEN ACCESS CC BY NC

Optymalizacja izolacji komórek śródbłonka naczyniowego z polipów nosa od pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych

PATRYK CEGIEŁKA[1] i ADRIAN PAL[1], WIOLETTA PIETRUSZEWSKA[2], MACIEJ CHAŁBIŃSKI[1], ADRIAN GAJEWSKI[1]

[1] Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź
[2] Klinika Otolaryngologii, Onkologii Głowy i Szyi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Słowa kluczowe: śródbłonek, izolacja komórek, polipy, PZZPzPN

Wstęp

Komórki śródbłonka naczyń są bardzo ważnym elementem budowy organizmu. Śródbłonek pełni również ważną rolę w odpowiedzi odpornościowej. Błona śluzowa nosa jest bogato unaczyniona i stanowi pierwszą linię obrony. Natomiast bezpośrednia rola komórek śródbłonka w rozwoju i patologii jaką są polipy nosa nie jest poznana.

Cel

Celem projektu jest opracowanie i optymalizacja metody izolacji komórek śródbłonka naczyniowego z polipów nosa u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych, które posłużą do oceny ich bezpośredniego udziału w przewlekłym zapaleniu zatok z polipami nosa.

Materiały, Metody, Wyniki

W pierwszym etapie podjęto próby doboru optymalnych warunków izolacji komórek z tkanki metodą magnetycznej separacji z uprzednio homogenizowanej w sposób mechaniczny tkanki. Uzyskano populację komórek frakcji CD45(-)CD31(+), jednak ich liczba i żywotność nie były zadowalające. W kolejnych próbie zastosowano trawienie tkanki roztworem kolagenazy II a następnie separacji magnetycznej. Zastosowanie tej metody okazało się być bardziej skuteczne (wzrost żywotności komórek). Kolejno dopracowane metodę ustalając optymalne stężenie kolagenazy II, czas inkubacji oraz sposób przygotowania tkanki. Trawioną tkankę poddawano separacji magnetycznej negatywnej, aby uzyskać frakcję komórek CD45(-), która w następnym etapie była poddawana kolejnej separacji – pozytywnej w celu uzyskania komórek CD31(+). Wyizolowane komórek wysiewane na płytki hodowlane, hodowlę prowadzono przez kolejne dni, w warunkach inkubatora hodowlanego. Obserwowano wzrost i żywotność komórek. Kontrolowano czystość wyizolowanych komórek z zastosowaniem technik cytometrii przepływowej. Komórki o fenotypie CD45(-)CD31(+) stanowiły blisko 95-97%, co wskazywało na poprawność izolacji i otrzymywanie hodowli komórek śródbłonka naczyniowego. Wyizolowane komórki poddawano procedurze zamrażania w celu biobankowania wyizolowanych komórek, a następnie rozmrażania i hodowli, każdorazowo oceniając żywotność komórek. W kolejnym sprawdzono ekspresję powierzchniową receptorów wejścia dla wirusów oddechowych w tym ICAM-1, APN oraz ACE-2 i DDPIV. Wyizolowane komórki posiadały ekspresję powierzchniową wymienionych receptorów. W kolejnym kroku wyizolowane komórek śródbłonka poddawano zakażeniu wirusem HRV16 w trzech różnych dawkach MOI (0,1; 1,0; 3,0). Komórki po opłukaniu wirusa, hodowano odpowiednio: 0, 5, 12, 24, 48 i 72 godziny celem potwierdzenia zakażenia i odpowiedzi komórek na to zakażenie. W każdym punkcie czasowym zabezpieczano materiał biologiczny (lizat komórkowy, supernatant). Z lizatu komórkowego izolowano mRNA, a następnie przeprowadzono reakcję odwrotnej transkrypcji, w celu oceny ekspresji genów metodę Real Time PCR. W Zabezpieczonym materiale oceniono liczbę kopii wirusa HRV16 oraz ekspresję genów (IFN-beta, RANTES). W zabezpieczonym materiale wykazano wzrost liczby kopii wirusa, zależny od dawki infekcyjnej, oraz wzrost ekspresji mechanizmów przeciwwirusowych – IFN-beta oraz cytokiny RANTES. Potwierdzono ze wyizolowane komórki śródbłonka naczyniowego z tkanki polipów mogą być zakażane przez ludzki rinowirus HRV16.

Finansowanie

Badanie finansowane w ramach projektu studenckiego w ramach programu „GRANTY UMEDU”.

OPEN ACCESS CC BY NC