

DIAGNOSTA

ROK X
NR 1 (26)
MARZEC
2012

ISSN 2084-1663

laboratoryjny

BEZPŁATNA GAZETA KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

Diagnostyka hematologiczna

Z perspektywy roku...



BD PHOENIX™

Najnowocześniejszy aparat do identyfikacji i określania lekowrażliwości mikroorganizmów



Zgodność z najnowszymi zaleceniami EUCAST

- Pojemność 100 paneli, max. 200 badań ID/AST dla paneli Combo, dostępne również panele ID only oraz MIC only
- **Nowy panel do identyfikacji 63 gatunków grzybów**
- **Nowe panele do oznaczania lekowrażliwości z 3 do 7 rozcieńczeń w postępie geometrycznym dla pojedynczego antybiotyku, dające możliwość oznaczenia prawdziwej wartości MIC**
- Ponad 140 GD Taxa, ponad 160 GN Taxa
- Wbudowany system ekspercki

BD BACTEC™ FX

Automatyczne systemy do posiewów krwi



- Najnowocześniejszy aparat na rynku
- Prostota obsługi i bezpieczeństwo stosowania
- Intuicyjny ekran dotykowy
- Kompatybilność butelek z podłożami z systemem próżniowym BD Vacutainer®
- Najszersza gama podłoży: tlenowe, beztlenowe, lityczne, pediatryczne, grzybicze
- Dostosowanie pojemności aparatu do potrzeb użytkownika
- Precyzja i powtarzalność wyników
- Najnowsza fluorescencyjna technologia pomiaru
- Kompatybilność podłoży z inhibitorami antybiotyków z systemem MaldiToF™ firmy Bruker

W NUMERZE



*Z okazji zbliżających się
Świąt Wielkanocnych pragnę
złożyć Wszystkim Państwu
Diagnostom najlepsze życzenia.*

*Niech emanująca ciepłem,
serdeczna rodzinna atmosfera
oddzieli nas, choć na kilka dni,
od niepokojów codzienności, niesie
odpoczynek, daje radość i pokój.*

3 Z perspektywy roku...

DR ELŻBIETA PUACZ, Prezes KRDL

DIAGNOSTYKA

8 Uwagi na temat zawodu medycznego hematologa laboratoryjnego

PROF. DR HAB. WIESŁAW W. JĘDRZEJCZAK

**9 Organizacja i funkcjonowanie ośrodków dawców szpiku
w nowym systemie prawnym w Polsce**

DR ALEKSANDRA DĄBROWSKA

**12 Znaczenie oceny chimeryzmu u chorych po przeszczepie szpiku
kostnego – przegląd stosowanych technik**

DR ANNA MŁYNARCEWSKA

14 Sprawdź swoją wiedzę – test

16 Rejestry Niespokrewnionych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej

DR ANNA MARIA GRONKOWSKA

**20 Poszukiwanie i dobór dawcy komórek krwiotwórczych
do zabiegu allotransplantacji**

MGR INŻ. PATRYCJA RYBARCZYK

23 Zespół hemofagocytarny – hemofagocytrana limfiohistiocytoza (HLH)

PROF. DR HAB. MARIA WĄSIK, DR INŻ. KATARZYNA POPKO

**26 Bankowanie materiału komórkowego wykorzystywanego do
przeszczepów szpiku**

DR ELŻBIETA URBANOWSKA

28 Konflikt matczyno-płodowy

PROF. DR HAB. KRYSZYNA MAŚLANKA

OKIEM PRAWNIKA

30 Odmowa wykonania badania przez diagnostę laboratoryjnego

AGNIESZKA GÓRCKA

WYDARZENIA

31 Biobanki są niezbędne do rozwoju nauk biomedycznych

DR ŁUKASZ KOZERA

34 Lekcja angielskiego

BEZPŁATNA GAZETA KRAJOWEJ IZBY DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

Wydawca

Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych
03-428 Warszawa; ul. Konopacka 4
tel. 22-741-21-55, 22-741-21-57
22-741-11-60 faks: 22-741-21-56
Numer rachunku:
72102010420000880200105692
Bank PKO BP IV Oddział Warszawa

Redakcja:

Elżbieta Puacz – Prezes KRDL
Mariusz Lis – Dyrektor ds. Finansowych
i Rozwoju KIDL
Grzegorz Szych – konsultacja techniczna
Nakład 11500 egz.



DR ELŻBIETA PUACZ
PREZES KRAJOWEJ RADY
DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH

Z perspektywy roku...

Minał pierwszy rok pracy III kadencji KRDL. Rok bardzo pracowity dla mnie, nowego Prezydium, biura KIDL i wszystkich życzliwych, chętnych do pomocy diagnostów. Czas pochylić się nad tym okresem i przeanalizować, co udało nam się zrobić, co zapoczątkowaliśmy, co należy jeszcze dopracować i jakie zadania stoją przed nami.

Rzeczy najpilniejsze

By móc sprawnie funkcjonować, musieliśmy rozpocząć od uporządkowania zastanej księgowości. Choroba (a następnie śmierć w styczniu ubiegłego roku) dotychczasowej księgowej spowodowała olbrzymie zaległości w prowadzeniu spraw księgowych. Szybkie znalezienie nowej księgowej, jej heroiczna praca (nawet w niedziele) oraz zaangażowanie i kompetencje Dyrektora ds. Finansów i Rozwoju spowodowały, że mogliśmy na czas przedstawić plany budżetowe. Zostały uporządkowane sprawy ewidencji mienia KIDL, zakresy obowiązków i opisy stanowisk pracowników biura KIDL, dopracowano i wprowadzono w życie regulamin pracy biura KIDL. Nowy Sekretarz KRDL odpowiedział na 540 pism od diagnostów laboratoryjnych, które napłynęły do biura KIDL podczas poprzedniej kadencji. Były to: 392 pisma w sprawie skreślenia z listy diagnostów, 72 zaległe decyzje o zmniejszeniu lub zawieszeniu składek i 76 innych – w sprawach różnych. W 2011 roku do biura wpłynęło 6790 pism. Ogółem z biura KIDL wystano 3821 pism, co sprawia, że na każdy dzień roboczy przypadało 15,16 pisma. Biuro KIDL wystosowało 123 pisma do Ministerstwa Zdrowia, 46 pism do Narodowego Funduszu Zdrowia, wydało 90 opinii do projektów ustaw i rozporządzeń. Radcy Prawni KIDL wydali w formie pisemnej 175 opinii prawnych.

Sytuacja finansowa KIDL

Rok 2011 III kadencja KIDL rozpoczęła z kwotą 71 339 zł 59 gr. Od początku III kadencji zostały spłacone wszystkie zobowiązania finansowe podjęte przez II kadencję KRDL. Przeprowadzono remont klatki schodowej z naprawą instalacji elektrycznej za 92 834 zł 25 gr oraz instalację systemu przeciwpożarowego w całym budynku za 87 256 zł 20 gr. W grudniu 2011 roku został zakupiony służbowy samochód Kia Cee'd za kwotę 49 858 zł dla potrzeb KIDL. Dyrektor ds. Finansów i Rozwoju wprowadził kontrolowane wydatkowanie i oszczędności w użytkowaniu telefonów komórkowych, internetu mobilnego, materiałów biurowych. Oszczędności przyniosła też zmiana realizacji przelewów bankowych – wprowadziliśmy bankowość elektroniczną. Zostały zlikwidowane ryczałty paliwowe wypłacane dwojgu pracownikom biura KIDL w wysokości 1004 zł miesięcznie (za wykorzystywanie samochodów prywatnych do celów służbowych). Pozyskane firmy zewnętrzne opłaciły różne wydarzenia organizowane przez KIDL (ponad 130 tys. zł). Rok 2011 zakończył się kwotą 512 792 zł 92 gr na koncie KIDL.

Ewidencja

W omawianym roku do grona diagnostów przyjęto 822 osoby. Na wniosek zainteresowanych wykreślono 499 diagnostów. W dniu 31.12.2011 r. w ewidencji KRDL medycznych laboratoriów diagnostycznych znajdowały się 2622 podmioty, z czego 60 proc. to niepubliczne jednostki ochrony zdrowia.

Gazeta „Diagnosta Laboratoryjny”

W ubiegłym roku gazeta „Diagnosta Laboratoryjny” zmieniła swą szatę graficzną, została wpisana w międzynarodowy znormalizowany rejestr wydawnictw ciągłych (ISSN), uzyskując numer 2084-1663. ISSN służy do jednoznacznej identyfikacji danego tytułu, wprowadzając go do światowego systemu informacji. „Diagnosta Laboratoryjny” pojawia się kwartalnie i kolportowany jest do wszystkich płacących składki diagnostów oraz do bibliotek każdego Uniwersytetu Medycznego w Polsce. Dzięki pozyskaniu reklamodawców wydawaniem gazety nieobciążany jest już budżet KIDL. Jest to zasługa Dyrektora ds. Finansów i Rozwoju.

Najważniejsze z ważnych

Ze względu na obfitość prowadzonych działań przez III kadencję KRDL w 2011 roku przedstawię tylko najważniejsze.

Opis zawodu diagnosty laboratoryjnego w Dyrektywie Unijnej 2005/36/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 07.09.2005 r. w sprawie kwalifikacji zawodowych.

Dyrektwa unijna opisuje wymogi kształcenia oraz kwalifikacje i umiejętności dla osób wykonujących poszczególne zawody. Są wśród nich opisane zawody: lekarza, pielęgniarki, farmaceuty, fizjoterapeuty, ratownika górskiego, ratownika wodnego, architekta itp. Niestety – nie ma opisu naszego. Nowelizowana ustawa o szkolnictwie wyższym umożliwiła rektorom uczelni kształcenie do zawodów nieopisanych w dyrektywie według własnych programów. Oszczędności na uczelniach wyższych mogą spowodować obniżenie poziomu kształcenia na tych kierunkach w wyniku redukcji godzin nauczania. KRDL wraz z Konferencją Prodziekanów kierunku: analityka medyczna/medycyna laboratoryjna przedstawiła w Ministerstwie Nauki i Szkolnictwa Wyższego następstwa takiej decyzji. Dr hab. prof. UW Zbigniew Marciniak, Podsekretarz Stanu w Ministerstwie Nauki i Szkolnictwa Wyższego, po zapoznaniu się z obecnie obowiązującym programem kształcenia, wyraził swoje zaskoczenie wysokimi wymogami stawianymi absolwentom kierunku analityka medyczna. Ponadto nie ukrywał, że dotychczas nasz kierunek w Ministerstwie Nauki i Szkolnictwa Wyższego zaliczano do nauk chemicznych, a nie kierunku medycznego (fakt ten wskazuje na brak wiedzy w społeczeństwie o zawodzie diagnosty laboratoryjnego). Wielkie zaangażowanie i determinacja prof. dr hab. Mileny Dąbrowskiej, spowodowała obietnicę przyjęcia przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego opracowanych standardów kształcenia i oceny posiadanych umiejętności przez absolwentów kierunku: analityka medyczna, jako rozporządzenia do ustawy i komentarza (niestety, do dnia dzisiejszego obietnicy nie spełniono).

Jako Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych – za pośrednictwem Europosła, prof. dr hab. Mirosława Piotrowskiego – rozpoczęliśmy starania o wprowadzenie opisu naszego zawodu w wyżej wymienionej dyrektywie unijnej. O zasadność naszego wniosku, Parlament Europejski zapytał wszystkie 23 Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej działające w Europie, które poparły nasze starania. W ostatnim tygodniu maja otrzymałam list od prof. Piotrowskiego informujący, że nasz wniosek został przyjęty i rozpoczynają się prace nad opisem naszego zawodu. Aby przyspieszyć proces i wzmocnić zainteresowanie europarlamentarzystów,

rozpoczęliśmy akcję „nękania” członków parlamentu mailami z prośbą o poparcie naszej inicjatywy. Efekt był niezadowolający, odezwali się tylko niektórzy polscy Europosłowie i zaoferowali swą pomoc. Dzięki niej skontaktowano mnie z Europosem Rafałem Trzaskowskim, pracującym w Europejskiej Komisji Spraw Rynku Wewnętrznego, który rozpoczął monitorowanie naszego wniosku. Konieczne dla naszej inicjatywy jest aktywne poparcie grupy EC 4 Europejskiego Komitetu Chemików Klinicznych, w którym Polskę reprezentuje prof. dr hab. Grażyna Syniawska-Odrowąż. Czasu na działanie mamy niewiele, ponieważ w listopadzie tego roku nastąpi zakończenie nowelizacji omawianej dyrektywy. Na początku września 2011 r. odbyłam spotkanie z Panią Dyrektorem Danutą Czarnecką, Koordynatorem strony Polskiej Grupy ds. Uznawania Kwalifikacji Zawodowych w Brukseli. Po przedstawieniu naszej inicjatywy Pani Dyrektor zadeklarowała zdobycie poparcia dla naszych starań w tym zakresie, m.in. poprzez propagowanie naszej inicjatywy wśród koordynatorów działających w ramach ww. Grupy z poszczególnych państw członkowskich, a także podjęła się pomocy w uznawaniu kwalifikacji polskich diagnostów laboratoryjnych szukających pracy w innych państwach Europy. Z listów diagnostów wiem, że Pani Dyrektor Czarnecka już pomogła, zgłaszającym się do niej za pośrednictwem KIDL, diagnostom w uznaniu ich kwalifikacji w innych państwach UE.

Nowelizacja rozporządzenia w sprawie specjalizacji i uzyskiwania tytułu specjalisty przez diagnostów laboratoryjnych.

Wielu młodych diagnostów, podczas spotkań ze mną, poruszało problem kosztów związanych ze specjalizacją i egzaminem specjalizacyjnym. W związku z tym poprosiłam o spotkanie Podsekretarza Stanu w Ministerstwie Zdrowia Andrzeja Włodarczyka, który z dużym zainteresowaniem wysłuchał uwag dotyczących kosztów i problemów, z którymi muszą zmierzyć się diagnosty pragnący uzyskać tytuł specjalisty. Minister Włodarczyk nie ukrywał swego zdziwienia skalą trudności, które musi pokonać diagnosta. Obiecał swą pomoc i po pisemnym przedstawieniu przez nas problemu rozpoczęto proces nowelizacji naszego rozporządzenia i zmiany egzaminu specjalizacyjnego z trzystopniowego na dwustopniowy, czyli skróceniu egzaminu do dwóch części: teoretycznej (przeprowadzanej w formie testu lub egzaminu ustnego) oraz praktycznej. Pozwoli to na zmniejszenie wysokości opła-



Podziękowanie Członkom Organów KRDL II kadencji – Jachranka, czerwiec 2011 r.

ty egzaminacyjnej, przy zachowaniu dotychczasowego poziomu weryfikacji wiedzy zdających. Inną ważną zmianą jest zniesienie limitu 36 miesięcy przeznaczonych na złożenie egzaminu po ukończeniu programu specjalizacji, wzrasta także rola i uprawnienia kierownika specjalizacji. Rozporządzenie przeszło cały tryb legislacyjny i czeka na podpis Pana Ministra.

Projekt rozporządzenia w sprawie wykazu specjalizacji uprawniających lekarza do samodzielnego wykonywania czynności diagnostyki laboratoryjnej w medycznym laboratorium diagnostycznym.

Gorące i pełne emocji były wrześniowe dni, gdy do biura KIDL został przesłany projekt powyższego rozporządzenia. Po konsultacjach z PTDL i Prodziekanami kierunku analityka medyczna dokonałam dokładnej analizy programu szkolenia na kierunku lekarskim oraz specjalizacji. KRDL w swoim piśmie przedstawiła tylko 9 specjalizacji lekarskich uprawniających do samodzielnego wykonywania czynności diagnostyki laboratoryjnej. Zwróciłam się do krajowych konsultantów w poszczególnych dziedzinach lekarskich z prośbą o poparcie projektu KRDL. Otrzymałam je. Naczelna Izba Lekarska miała jednak odmienne zdanie, proponowała 24 specjalizacje lekarskie uprawniające do samodzielnego wykonywania czynności diagnostyki laboratoryjnej i to bez określenia zakresu wykonywanych czynności. Odbyła się konferencja uzgodnieniowa, na którą na moją prośbę przyjechał prof. Maciej Szmítkowski, za co bardzo dziękuję. PTDL reprezentował prof. Bogdan Solnica. Przybył także Krajowy Konsultant ds. genetyki lekarskiej prof. Lucjusz Jakubowski. Nie było żadnego reprezentanta NIL. Po ożywionej dyskusji i przedstawieniu argu-

mentów merytorycznych, a także licznych indywidualnych rozmowach z decydentami, na kierownictwie Ministerstwa Zdrowia nie przyjęto zmian proponowanych przez NIL i pozostawiono rozporządzenie w formie z 2007 roku.

Rozporządzenia wynikające z ustawy o działalności leczniczej

W lipcu największe emocje wzbudziły projekty, a następnie wydane w oparciu o nie (bez uwzględnienia naszych uwag): rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej, rozporządzenie w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu leczenia szpitalnego, a także rozporządzenie w sprawie kwalifikacji wymaganych od pracowników na poszczególnych rodzajach stanowisk pracy w podmiotach leczniczych niebędących przedsiębiorcami i rozporządzenie zmieniające rozporządzenie w sprawie wynagradzania pracowników publicznych zakładów opieki zdrowotnej. Wszystkie weszły w życie, bo „musiały wejść ze względu na czas”. Jednakże podjęte przez nas działania doprowadziły do spotkania uzgodnieniowego w Ministerstwie Zdrowia, podczas którego uznano, że zachodzi konieczność aktualizacji klasyfikacji badań laboratoryjnych (KBL). I tego, jakże trudnego, zadania podjęła się KIDL pod opieką merytoryczną prof. J. K. Kulpy. W tej benedyktyńskiej pracy wzięli udział wspaniali ludzie oddani sprawie diagnostyki. Wielkie wyrazy podziękowania chcę złożyć Danusi Kozłowskiej Skarbnikowi KRDL i przede wszystkim prof. Bogdanowi Solnicy. Po moich rozmowach z Prezesem ds. medycznych NFZ Maciejem Dworskim dołączyliśmy do KBL, opracowane przez KIDL, wymogi wobec laboratorium wykonującego określone badanie laborato-

ryjne. Obecnie prace są już na ukończeniu i zostają przekazane Ministrowi Zdrowia.

Pominięcie uwag KRDL przy pracach nad rozporządzeniem w sprawie kwalifikacji wymaganych od pracowników przyczyniło się do spotkania mojego i Przedstawiciela Krajowego Związku Zawodowego Pracowników Medycznych Laboratoriów Diagnostycznych z Ministrem Cezarym Rzemkiem, który obiecał uwzględnić nasze poprawki przy zmianie tego rozporządzenia w I kwartale 2012 roku.

Zorganizowane z inicjatywy KIDL spotkanie w Ministerstwie Zdrowia w sprawie nieprawidłowości i pominięcia diagnostów laboratoryjnych w systemie informatycznym funkcjonującym w ramach programu profilaktyki szybkiej macicy skutkowało wprowadzeniem zmian w Zarządzeniu Prezesa NFZ. Za pomoc merytoryczną serdecznie dziękuję Elżbiecie Borowiec-Dumka.

Kolejną bardzo ważną kwestią rozpoczętą w 2011 roku, a już bliską ukończenia, jest ocena jakości badań wykonywanych z zakresu ogólnie pojętej genetyki. Wielkim zmartwieniem onkologów, patomorfologów, genetyków, a także producentów leków onkologicznych jest słaba jakość świadczonych usług diagnostycznych w wielu laboratoriach wykonujących czynności diagnostyki molekularnej i genetycznej. Skutkuje to wieloma bardzo groźnymi konsekwencjami dla pacjenta. O istniejącej sytuacji było informowane Ministerstwo Zdrowia. Aby zapobiegać takim zjawiskom, za aprobatą Ministra Zdrowia, powstała „Grupa Robocza ds. powołania Centralnego Ośrodka ds. Jakości w Medycznej Diagnostyce Genetycznej”. Na mocy rozporządzenia, Ministerstwo Zdrowia zadeklarowało powołanie do życia wyżej wymienionego ośrodka już w 2012 roku. Uzyskanie przez laboratorium certyfikatu jakości świadczonych usług diagnostycznych z zakresu diagnostyki genetycznej, wydane go przez ten ośrodek, umożliwi wykonywanie badań genetycznych. Kolejnym problemem dla diagnostów było, nierozróżnianie przez NFZ badań molekularnych wykonywanych przy: diagnostyce chorób nowotworowych, badań genetycznych człowieka i diagnostyki chorób infekcyjnych. Odpowiedzią na ten problem będzie nowelizacja rozporządzenia o świadczeniach gwarantowanych, w których pracach weźmie udział KIDL.

Szkolenia

W ubiegłym roku KIDL zorganizowała 12 konferencji, kursów i szkoleń dla diagnostów laboratoryjnych. Koszty szkolenia nie przekroczyły 150 zł za osobę. Ogółem

➔ wzięło w nich udział ponad 700 diagnostów laboratoryjnych. Dużym zainteresowaniem cieszy się szkolenie dla kierowników MLD „W obliczu zmian rynkowych”. Po zakończeniu obchodów 10-lecia powstania samorządów diagnostów laboratoryjnych, czyli jesienią bieżącego roku, powrócimy do organizowania szkoleń.

Uchwały KRDL

W roku 2011 odbyły się cztery posiedzenia KRDL, podczas których uchwalono 41 uchwał. Na wyjazdowym posiedzeniu KRDL w Jachrance wręczono podziękowania i dyplomy dla osób pracujących w organach samorządowych II kadencji KRDL.

Promocja zawodu diagnosty laboratoryjnego

Kapituła Nagrody Zaufania przyznała dla KIDL statuetkę Złoty OTIS za akcję „Uwaga nerki!”, w której udział – na prośbę samorządu diagnostów – wzięły medyczne laboratoria, wykonując badania eGFR. Wyniki akcji prowadzonej pod patronatem prof. Bolesława Rutkowskiego, Krajowego Konsultanta w dziedzinie Nefrologii, wykazały u 18 proc. badanych nieprawidłowości w filtracji kłębuszkowej nerek przy braku objawów klinicznych. Wielka gala wręczenia statuetek zgromadziła wiele mediów ogólnopolskich, dzięki czemu o naszym zawodzie informowały Panorama TVP2, Wydarzenia POLSAT, „Manager Apteki”, „Świat Lekarza”, „Na zdrowie. Dostępne bez recepty”, lokalne media Warszawy.

Podczas gali wręczenia statuetki Złoty OTIS promowana była nasza nowa ogólnopolska akcja społeczna „Nie mam HCV!”. Wychodząc naprzeciw potrzebom naszego społeczeństwa i ukazania rangi zawodu diagnosty, Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych zorganizowała Ogólnopolską Społeczną Akcję „Nie mam HCV!”. W 35 laboratoriach różnych miast Polski diagnosty laboratoryjni przez cały tydzień od 9 do 13 maja 2011 r. społecznie wykonali blisko 3500 badań w kierunku zakażenia HCV. Wyniki tej akcji pokazały, jak ważne w diagnostyce zakażeń są badania laboratoryjne i że konieczne są badania potwierdzające.

Miłym akcentem naszej akcji było znaczące zainteresowanie mediów. Cieszy także postawa Polaków, którzy tłumnie przybyli do przedstawionych na liście laboratoriów. W 90 proc. z nich ofiarowane odczynniki na akcję „Nie mam HCV!” wyczerpały się już pierwszego dnia.

Naszą akcję rozpowszechniały media ogólnopolskie: Dzień Dobry TVN, Wiado-



Nagroda KRDL dla najlepszego absolwenta kierunku: analityka medyczna – Wrocław 2011 r.

mości TVP1, POLSAT, lokalne media w Katowicach i Bydgoszczy oraz prasa zdrowotna i strony internetowe Naczelnej Izby Lekarskiej, KIDL, Fundacji Na zdrowie. Dla mnie, jako Prezesa KRDL, najpiękniejszym wymiarem akcji była postawa diagnostów, którzy dobrowolnie włączyli się w akcję, by kolejny raz całkowicie charytatywnie służyć dobru pacjenta, profilaktyce i promocji zdrowia. Z całego serca Państwu za to dziękuję. Szczególnie pragnę podziękować zespołowi dr M. Krajewskiej z Łodzi za wykonanie wszystkich badań potwierdzających.

Jako Prezes KRDL reprezentowałam nasz samorząd na 32 konferencjach. Brałam udział w dyplomatorium absolwentów kierunku: analityka medyczna, potączonym z wręczeniem PWZDL w uczelniach medycznych: Lublina, Poznania i Wrocławia. Odbyłam ponad 85 spotkań z politykami, naukowcami oraz osobami działającymi na rzecz diagnostyki laboratoryjnej. Moje artykuły i wywiady pojawiły się w „Rzeczpospolitej”, „Rynku zdrowia”, „Pulsie medycyny”, „Świecie Lekarza”, „Medical Tribune”, „Managerze Apteki”, „Na zdrowie” oraz „Medicus”. Brałam udział w licznych audycjach radiowych i telewizyjnych, promujących nasz zawód i znaczenie diagnostyki laboratoryjnej.

Objęłam refleksję wielość działań, ich wagę i skuteczność, nie sposób nie zauważyć, że mamy za sobą rok ciężkiej pracy, ale rok dobry, rok, który służył promocji naszego zawodu. Nie byłoby jednak sukcesów, gdyby nie zaangażowanie wielu serc i umysłów, gdyby nie dobroć, poświęcenie, bezinteresowność. Dlatego dziękuję wszystkim życzliwym i pomocnym członkom Prezydium, poszczególnym diagnostom oraz pracownikom Biura KIDL.

Co przed nami?

Obchody 10-lecia samorządu diagnostów laboratoryjnych i Pierwszy Ogólnopolski Dzień Diagnosty Laboratoryjnego.

W tym roku upływa 10 lat od I Krajowego Zjazdu Diagnostów Laboratoryjnych, który odbył się w dniach 5-7 grudnia 2002 roku we Wrocławiu. To wtedy został wybrany pierwszy Prezes KRDL, pierwsza Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych, Pierwszy Rzecznik Dyscypliny i członkowie Sądów Dyscyplinarnych, wtedy też powstały pierwsze uchwały nadające życie samorządowi diagnostów laboratoryjnych.

W celu promocji naszego zawodu, w tym roku inaugurujemy coroczne obchody Ogólnopolskiego Dnia Diagnosty Laboratoryjnego. Szukaliśmy terminu najdogodniejszego, czyli ciepłego, długiego dnia, nieobciążonego historycznymi wydarzeniami politycznymi, a bliskiego diagnostyce laboratoryjnej... i znaleźliśmy! 27 maja 1961 roku o 3:00 nad ranem Heinrich J. Matthaei i Marshall Warren Nirenberg odkryli tajemnicę kodu genetycznego, a tym samym tajemnicę życia na Ziemi. Ich odkrycie dało podwaliny wszelkim późniejszym dokonaniom z dziedziny genetyki i biotechnologii. Stąd dzień 27 maja został obrany Dniem Diagnosty Laboratoryjnego.

W tym roku mamy szczególną okazję potężenia w majowe dni dwóch wielkich wydarzeń z życia Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych: dziesięć lat istnienia samorządu zawodowego diagnostów laboratoryjnych i Dzień Diagnosty Laboratoryjnego. Uroczysta Gala z okazji 10-lecia istnienia samorządu zawodowego diagnostów laboratoryjnych została objęta Honorowym Patronatem Małżonki Prezydenta RP Anny Komorowskiej i odbędzie się 24 maja 2012 r.

w Pałacu Prymasowskim przy ul. Senatorskiej w Warszawie.

W sprawie obchodów 10-lecia istnienia samorządu diagnostów laboratoryjnych KRDL podjęła następujące uchwały: Nr 42/III/2012, Nr 44/III/2012 i Nr 47/III/2012. Został powołany Komitet Organizacyjny, któremu przewodniczyć. Dla naszej społeczności został napisany „Hymn Diagnostów Laboratoryjnych” (słowa: Jadwiga Lis, muzyka: Piotr Orzeł), który zamieszczamy obok. Obchody Dnia Diagnosty Laboratoryjnego i 10-lecia samorządu zawodowego diagnostów laboratoryjnych w poszczególnych miastach Polski odbędą się: **13-14.04.2012** w Gdańsku, **20-21.04.2012** w Poznaniu, **11-12.05.2012** w Katowicach, **18-19.05.2012** w Krakowie, **24.05.2012** w Warszawie, **22 i 26.05.2012** w Lublinie, **01-02.06.2012** w Białymstoku i **28-29.09.2012** we Wrocławiu.

Podczas obchodów dnia diagnosty w każdym mieście będzie prezentowana wystawa informująca o zawodzie diagnosty laboratoryjnego, w całości przygotowana przez KIDL. Oprócz informacji o samorządzie zawodowym diagnostów laboratoryjnych, wystawa przedstawiać będzie ukazane znaczenie diagnostyki laboratoryjnej w diagnozie i terapii wybranych chorób. Ponadto w poszczególnych miastach zaplanowane jest uroczyste wręczenie nagród i odznaczeń diagnostom laboratoryjnym oraz medycznym laboratoriom diagnostycznym. Podczas Dnia Diagnosty Laboratoryjnego mieszkańcy miast będą mieli możliwość otrzymania zaproszeń na bezpłatne badania laboratoryjne.

Podejmowane działania legislacyjne

Ten rok już obfituje w kontynuację podjętych i zainicjowanie nowych działań, do których należą: udział KIDL w pracach nad ustawą o zdrowiu publicznym, udział KIDL w realizacji Narodowego Programu Zdrowia Publicznego, prace nad wejściem w życie rozporządzenia, które wprowadza przy rejestracji MLD konieczność pozytywnej opinii KIDL i Wojewódzkiego Konsultanta, działania kończące prace nad rozporządzeniem w sprawie technologicznego opisu medycznych procedur diagnostycznych, rozmowy w sprawie poprawienia zdawalności egzaminów specjalizacyjnych w dziedzinach diagnostyki laboratoryjnej, pilotowanie utworzenia w Komisji Europejskiej platformy kwalifikacji zawodu diagnosty laboratoryjnego we wszystkich państwach członkowskich Unii Europejskiej oraz monitorowanie i intensy-

fikowanie prac Komisji Europejskiej w zakresie włączenia opisu zawodu diagnosty laboratoryjnego do Dyrektywy Unijnej, a także prace nad oceną i unormowaniem obciążenia pracą diagnosty laboratoryjnego. Pragniemy, by w przyszłości w naszej ustawie zwiększono czynności diagnostyki laboratoryjnej o pobieranie materiału do badań, kierowanie medycznym laboratorium oraz prace na rzecz samorządu, by ułatwić sposób ewidencji laboratoriów i by zawód diagnosty pozostał dostępny tylko dla absolwentów kierunków: analityka medyczna oraz mikrobiologia medyczna i biotechnologia medyczna. Chcemy powrócić do centralnego kształcenia specjalizacyjnego, tak jak jest to u lekarzy, a przez to podnieść poziom zdawalności i obniżyć koszty ponoszone przez diagnostów. W tym miejscu pragnę zdemontować pojawiającą się w środowisku informację o podjętych pracach przez KRDL nad utworzeniem dwóch ustaw o zawodzie diagnosty i o izbach diagnostów. Jest ona całkowicie nieprawdziwa!

Życzymy sobie nietopniejącego zapału i sił w realizacji zamierzeń, przychylności decydentów, życzliwej pomocy od diagnostów zatroskanych sprawami diagnostyki laboratoryjnej w Polsce. Razem możemy więcej, przecież tylko wspólne działania i wzajemne

wspieranie się spowodują realizację zamierzonych planów, podniesienie prestiżu naszego zawodu oraz poprawę sytuacji diagnostyki laboratoryjnej w całym systemie ochrony zdrowia. Na Nadzwyczajnym Krajowym Zjeździe Lekarzy z podziwem patrzyłam na jedność środowiska lekarskiego w dążeniu do realizacji postawionych celów. Moim marzeniem jest, aby taka jedność i wzajemne wspieranie się, na stałe zamieszkały w społeczności diagnostów laboratoryjnych. Miejmy świadomość, że decydentom trudniej negocjować jest postulaty środowiska silnego, zgodnego, „mówiącego jednym głosem”, łatwiej zaś skłóconego, zdezorientowanego, osłabionego intrygami czy pomówieniami. W czasach, gdy dążenia rządu zmierzają do deregulacji zawodów, musimy być solidarni. Niech integracja środowiska stanie się naszym wspólnym założeniem na kolejny rok pracy. Spotykajmy się na konferencjach, włączajmy się w redagowanie naszej gazety, korzystajmy ze szkoleń, użytkujmy budynek na Konopackiej – czując się w nim jak w domu. Cieszymy się 10-leciem i Ogólnopolskim Dniem Diagnosty Laboratoryjnego, promującym nasz zawód. Po pierwszym roku pracy, raz jeszcze Państwu dziękuję i obiecuję, że nadal dokładać będę wszelkich starań, by skutecznie walczyć o interesy naszej grupy zawodowej, promować ją i godnie reprezentować.

Hymn diagnostów laboratoryjnych

st. Jadwiga Lis
muz. Piotr Orzeł



By nie gasły nadzieje,
Trzeba wiedzy rzetelnej,
Sprawnych dłoń pomocnych w diagnozie,
Serc otwartych na ludzi
I pokory, co mówi:
Najważniejsze jest dobro pacjenta.

Ref. *Salus aegroti, salus aegroti*
Salus aegroti suprema lex.

Chcemy skracać cierpienie,
Pomóc w walce z chorobą,
Być filarem skutecznej terapii.
Chcemy wspierać lekarzy,
Sił i czasu nie szczędzić,
Aby życia płomyczek nie zanikł.

Ref. *Salus aegroti, salus aegroti*
Salus aegroti suprema lex.

Uwagi na temat zawodu medycznego hematologa laboratoryjnego

Hematologia, od początku jej wyodrębnienia, była specjalizacją laboratoryjno-kliniczną, dlatego że podstawowa diagnostyka oraz ocena wyników leczenia od początku opierała się na mikroskopowej ocenie rozmazu szpiku i krwi obwodowej. Lekarz hematolog równie sprawnie musiał się posługiwać mikroskopem jak słuchawkami. Pierwotnie hematologia była specjalizacją wyłącznie lekarską, ale liczba i złożoność badań laboratoryjnych, jakie trzeba było wykonywać w celu właściwego rozpoznania i leczenia chorób krwi, stale się zwiększała. Obecnie do wspomnianych mikroskopowych badań mielo-gramu doszły badania immunofenotypowe, cytogenetyczne, biologii molekularnej, koagulologiczne i inne. Co więcej, integralną częścią leczenia hematologicznego stało się przeszczepianie komórek krwiotwórczych z bardzo dużym udziałem zabiegów wykonywanych w laboratorium, tj. z badaniami pobranych komórek, ich preparatyką, przechowywaniem i rozmrażaniem.

Nie jest możliwe, aby wszystkie te czynności wykonywał lekarz hematolog jednocześnie prowadzący chorego w poradni, na oddziale czy w ośrodku przeszczepiania komórek krwiotwórczych. Już wcześniej większe ośrodki hematologiczne zatrudniały coraz lepiej (choć często nieformalnie) wykształconych diagnostów laboratoryjnych, którzy albo przejmowali wykonywanie wyżej, wymienionych czynności od lekarzy hematologów albo wręcz wprowadzali je pierwotnie w ośrodkach hematologicznych. Część z nich uzyskiwała w tej dziedzinie stopnie i tytuły naukowe, ale wraz ze zrozumieniem, że jest to niewystarczające, doszło do ustanowienia specjalizacji z laboratoryjnej hematologii medycznej dla diagnostów laboratoryjnych zatrudnionych przede wszystkim w laboratoriach wspomagających ośrodki hematologiczne (włączając w to ośrodki onkologii i hematologii dziecięcej), w tym w bankach komórek krwiotwórczych.

W ten sposób powstał zawód laboratoryjnego hematologa medycznego, a specjalizacja pierwotnie szczegółowa stała się specjalizacją podstawową. Proces jej uru-

chamiania okazał się złożony. O ile stosunkowo proste było wprowadzenie egzaminów specjalizacyjnych dla diagnostów od dawna wykonujących ten zawód w mechanizmie tzw. krótkiej ścieżki, o tyle kształcenie od podstaw nadal napotyka na zasadnicze trudności. Podjęto nieudaną próbę zastąpienia funkcjonującego przez lata trybu specjalistycznego kształcenia lekarzy jakimś innym trybem, w którym zasadniczą rolę mają odgrywać uczelnie medyczne. Nawet w ośrodku kierowanym przez konsultanta krajowego w dziedzinie hematologii, gdzie istnieją wszelkie merytoryczne warunki do uruchomienia tego rodzaju kształcenia, nie udało się tego zrobić, a osoba za to odpowiedzialna na Wydziale Farmacji nie potrafi nawet wskazać, jak można to zrobić.

W odniesieniu do specjalizacji lekarskich system jest prosty. Ośrodek, który uznaje, że jest przygotowany do rozpoczęcia takiego kształcenia (jeden specjalista może kształcić maksymalnie trzech specjalizantów, a ośrodek musi mieć zakontraktowane wykonanie rocznie co najmniej 50 hospitalizacji specjalistycznych z danej dziedziny na każdego specjalizowanego), występuje do specjalnej komisji powołanej przez ministra zdrowia o akredytację po zaopiniowaniu przez właściwego konsultanta. Jeśli komisja pozytywnie rozpatrzy wniosek, przyznaje określoną liczbę miejsc specjalizacyjnych, w ramach których w danym ośrodku odpowiednia liczba lekarzy może rozpocząć kształcenie po rejestracji i uzyskaniu karty specjalizacyjnej z właściwego dla danego województwa wydziału zdrowia publicznego. Dlaczego system ten nie może być zastosowany w przypadku diagnostów laboratoryjnych, jest dla piszącego niezrozumiałe.

Z kolei system weryfikacji wiedzy i umiejętności za pomocą egzaminu specjalizacyjnego jest zbliżony do systemu egzaminów lekarskich. Pora w tym miejscu wyjaśnić, jakie kompetencje sprawdza. Podstawowy wymóg jest następujący: wiedza odnośnie laboratoryjnej diagnostyki hematologicznej powinna być proporcjonalna do wiedzy lekarza hematologa. Diagnosta nie musi znać metod leczenia chorób krwi itd.,



PROF. DR HAB. WIESŁAW W. JĘDRZEJCZAK, KONSULTANT KRAJOWY W DZIEDZINIE HEMATOLOGII, KATEDRA I KLINIKA HEMATOLOGII, ONKOLOGII I CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH WUM W WARSZAWIE

ale powinien wiedzieć, jak zinterpretować wyniki badań morfologii krwi, koagulogramu czy szpiku. Jest to istotą jego zawodu, podobnie jak umiejętność wykonania czynności w laboratorium. Taki specjalista musi też być w stanie zinterpretować wynik badania immunofenotypowego przynajmniej podstawowych nowotworów krwi, cytogenetycznego i biologii molekularnej. Osoby, które nie zdały egzaminu specjalizacyjnego w ramach krótkiej ścieżki, popełniły błędy podczas interpretacji nieprawidłowych wyników podstawowych hematologicznych badań laboratoryjnych.

W związku ze zmianą statusu specjalizacji – ze szczegółowej na podstawową – jej program został zmodyfikowany i wzbogacony w moduł dotyczący ogólnej analityki medycznej. Uzgodniony projekt został już rok temu przekazany przez konsultanta krajowego odpowiednim instytucjom i nie jest jasne, dlaczego do tej pory nie jest powszechnie dostępny. Jego istotą jest maksymalne zbliżenie do programu specjalizacji z hematologii dla lekarzy, w aspektach, w których właściwy proces diagnostyczno-leczniczy bezpośrednio zależy od dobrej współpracy lekarzy i diagnostów laboratoryjnych.

Rola laboratoryjnych hematologów medycznych będzie się w przyszłości powiększać. Już obecnie wiele nowotworowych chorób krwi jest obligatoryjnie rozpoznawanych w oparciu o badania immunofenotypowe, cytogenetyczne lub biologii molekularnej. Leczenie przewlekłej białaczki szpikowej musi być w ten sposób monitorowane zgodnie z programem terapeutycznym NFZ. Zapotrzebowanie na takich specjalistów istnieje i w przyszłości będzie się sukcesywnie powiększać.



**DR ALEKSANDRA
DĄBROWSKA, OŚRODEK
DAWCÓW SZPIKU, ZAKŁAD
TRANSFUZJOLOGII, INSTYTUT
HEMATOLOGII I TRANSFUZJO-
LOGII, WARSZAWA**

Organizacja i funkcjonowanie ośrodków dawców szpiku w nowym systemie prawnym w Polsce

W roku 2011 wprowadzono w Polsce nowe zasady organizacyjne związane z pozyskiwaniem i badaniem potencjalnych dawców komórek krwiotwórczych oraz z pobieraniem i udostępnianiem materiału transplantacyjnego ośrodkom przeszczepiania szpiku. Dotychczas w naszym kraju niezależną działalność prowadziło 6 rejestrów dawców szpiku, z których 5 zajmowało się rekrutacją i badaniem wolontariuszy chętnych do oddania komórek krwiotwórczych dla niespokrewnionego biorcy. Każdy z tych rejestrów dysponował swoją bazą danych, którą udostępniał Międzynarodowej Organizacji Dawców Szpiku - BMDW (*Bone Marrow Donor Worldwide*) i na prośbę ośrodków przeszczepiania szpiku dokonywał przeszukania swojego rejestru w celu znalezienia zgodnego dawcy dla wytypowanego chorego lub prowadził takie poszukiwania korzystając z jednolitej bazy BMDW. Obecnie część tych zadań przejęło Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne do Spraw Transplantacji „Poltransplant,” zaś pozostałe zadania powierzono ośrodkom dawców szpiku. Doborem niespokrewnionych dawców szpiku zajmują się cztery wyspecjalizowane ośrodki doboru dawców kontraktowane rokrocznie przez „Poltransplant” na zasadzie konkursu i pracujące bezpośrednio na rzecz ośrodków przeszczepowych i ich pacjentów. W zakresie rekrutacji niespokrewnionych dawców szpiku i udostępniania pozyskanych od nich komórek krwiotwórczych do transplantacji kluczowa rola przypada obecnie Ośrodkom Dawców Szpiku. Do tych zmian polska ochrona zdrowia była przygotowywana od dłuższego czasu a ich wprowadzenie poprzedzono wydaniem szeregu nowych aktów prawnych.

Ośrodki dawców szpiku zostały powołane do życia przepisami Ustawy o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów, która wdraża przepisy Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie ustalenia norm jakości i bezpiecznego oddawania, pobierania, testowania, przetwarzania, konserwowania, przechowywania i dystrybucji tkanek i komórek ludzkich. Ustawa o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów wskazuje krajowego konsultanta w dziedzinie hematologii jako osobę sprawującą nadzór merytoryczny nad działalnością ośrodków dawców szpiku i określa jednocześnie zadania tych ośrodków. Do zadań ośrodków dawców szpiku należy pozyskiwanie potencjalnych dawców allogenicznego szpiku i komórek krwiotwórczych krwi obwodowej, gromadzenie danych personalnych i kontaktowych potencjalnych dawców oraz informacji o ich antygenach zgodności tkankowej - HLA (*Human Leucocyte Antigens*), sprawowanie opieki nad dawcami a także współpraca z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami przeszczepiającymi komórki krwiotwórcze w zakresie udostępniania materiału przeszczepowego.

Ośrodki dawców szpiku mogą być tworzone przez podmioty lecznicze lub fundacje, które otrzymały pozwolenie Ministra Zdrowia, wydawane na podstawie wniosku skierowanego za pośrednictwem Krajowego Centrum Bankowania Tkanek i Komórek i po uzyskaniu pozytywnej opinii Krajowej Rady Transplantacyjnej. Warunkiem uzyskania pozwolenia na prowadzenie działalności ośrodka dawców szpiku jest dysponowanie pomieszczeniami zabezpieczonymi przed utratą danych dawców komórek krwiotwórczych, zatrudnianie odpowiednio wykwalifikowanego personelu a także posiadanie i stosowanie standardowych procedur operacyjnych umożliwiających prawidłową realizację zadań oraz zapewnienie bezpieczeństwa dawców i biorców. Ocena spełnienia powyższych warunków dokonywana jest po wnikliwej kontroli prze-

prowadzanej przez przedstawicieli Krajowego Centrum Bankowania Tkanek i Komórek.

W roku 2011 zaczęło funkcjonować w Polsce 12 ośrodków dawców szpiku; 3 zostały stworzone przez organizacje niepubliczne (działający przy Fundacji Przeciwko Leukemii NZOZ Medigen, Fundację Urszuli Jaworskiej i Fundację DKMS), 4 zorganizowały medyczne centra naukowe posiadające jednocześnie status ośrodków transplantacyjnych: Wojskowy Instytut Medyczny (WIM), Instytut Hematologii i Transfuzjologii (IHIT), Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych z Bankiem Dawców Szpiku (DCTK) we Wrocławiu oraz Uniwersyteckie Centrum Kliniczne (UCK) w Gdańsku a 5 pozostałych powstało przy Regionalnych Centrach Krwioudawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK): w Białymstoku, Katowicach, Kielcach, Lublinie i Poznaniu. W lutym 2012 r. działalność rozpoczął kolejny ośrodek, utworzony przez SP ZOZ Centralny Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Lokalizację ośrodków dawców szpiku w Polsce przedstawia rycina 1. Jak łatwo zauważyć, rozmieszczenie tych placówek na terenie kraju jest nierównomierne. Tylko 2 działają w Polsce północnej, natomiast aż 5 z nich ma swoją siedzibę w Warszawie, co w istotny sposób wpływa na ich funkcjonowanie. Ośrodki dawców szpiku zlokalizowane w centrum kraju rekrutują potencjalnych dawców z odległych województw, co później utrudnia kontakty i opiekę nad dawcą po oddaniu komórek krwiotwórczych a w rezultacie podnosi koszty pozyskania materiału do przeszczepienia.

Podstawowym zadaniem ośrodków dawców szpiku jest rekrutacja potencjalnych dawców i gromadzenie informacji o nich w postaci tradycyjnej dokumentacji oraz w formie elektronicznej, tj. w komputerowej bazie danych. Zgodnie z Ustawą o ochronie danych osobowych wszystkie dane personalne oraz kontaktowe są poufne a dostęp do nich ma wyłącznie uprawniony personel ośrodka dawców szpiku i „Poltransplantu”. Do BMDW, ośrodków doboru



➔ dawcy oraz do ośrodków transplantacyjnych przekazywane są wyłącznie dane HLA wraz z niepowtarzalnym numerem identyfikacyjnym kandydata na dawcę. Pozyskanie chętnych do oddania komórek krwiotwórczych jest możliwe przede wszystkim dzięki intensywnym działaniom edukacyjnym i promowaniu dawstwa szpiku. Działalność tego rodzaju prowadzą wszystkie ośrodki dawców szpiku oraz „Poltransplant”. Ich przedstawiciele rozdają ulotki promocyjne, umieszczają w miejscach publicznych plakaty informujące o możliwości przystąpienia do ruchu honorowych dawców szpiku, wygłaszają w szkołach prelekcje propagujące ideę transplantologii, dzięki którym przeszczepianie komórek, tkanek i organów staje się dla młodego pokolenia sprawą oczywistą i konieczną. Bardzo istotne znaczenie ma współpraca ośrodków dawców szpiku z mediami, gdyż akcje edukacyjne i reklamowe prowadzone w środkach masowego przekazu mają najszerzy zasięg. Dotychczas najpopularniejszym sposobem pozyskania potencjalnych dawców komórek krwiotwórczych były akcje rekrutacyjne podczas imprez publicznych oraz na wyższych uczelniach, w jednostkach wojskowych, szkołach, zakładach pracy i parafiach. W ostatnich latach pozyskano wielu chętnych do oddania szpiku z grona honorowych krwiodawców, co stało się możliwe dzięki współpracy i zaangażowaniu wszystkich centrów krwiodawstwa i krwiolecznictwa; nie tylko tych, które posiadają ośrodki dawców szpiku. Rozpowszechnienie informacji o działalności ośrodków dawców szpiku w Internecie oraz liczne akcje edukacyjne powodują wzrost świadomości społecznej i coraz częściej sprawiają, że potencjalnych dawców komórek krwiotwórczych nie trzeba szukać, ponieważ zgłaszają się sami. Największą bazą potencjalnych dawców (ponad 250 000 osób) dysponuje obecnie Fundacja DKMS, pozostałe ośrodki dawców szpiku mają zarejestrowanych po kilkanaście tysięcy chętnych do oddania komórek krwiotwórczych.

Badania HLA u potencjalnych dawców komórek krwiotwórczych mogą wykonywać medyczne laboratoria diagnostyczne posiadające pozwolenie Ministra Zdrowia na testowanie komórek w celach transplantacyjnych. Większość ośrodków dawców szpiku dysponuje własnym zapleczem laboratoryjnym, pozostałe zlecają wykonanie badań HLA uprawnionym pracownikom typowania tkankowego, których obecnie działa w Polsce 17. Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie ośrodków dawców szpiku dopuszcza również

możliwość zlecenia tych badań certyfikowanym laboratorium zagranicznym, tj. takim, które udokumentowały spełnianie wymagań polskich przepisów odnoszących się do testowania komórek do celów transplantacyjnych. Z takiego rozwiązania korzysta Fundacja DKMS, która współpracuje z DKMS Niemcy. Część badań antygenów zgodności tkankowej u potencjalnych dawców komórek krwiotwórczych jest finansowana przez „Poltransplant”, na podstawie umowy. Ze względu na wysokie koszty badań HLA wpłynęło to w istotny sposób na rozszerzenie baz danych ośrodków dawców szpiku działających przy placówkach naukowo-badawczych oraz centrach krwiodawstwa i krwiolecznictwa, których działalność dotychczas była ograniczona nie przez brak chętnych do oddania komórek krwiotwórczych, ale przede wszystkim przez brak środków na sfinansowanie badań.

Na mocy Ustawy o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów stworzono Centralny Rejestr Niespokrewnionych Potencjalnych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej (CRNPDSiKP) prowadzony przez Centrum Organizacyjno-Koordynacyjne do Spraw Transplantacji „Poltransplant”. Ma on charakter ogólnopolski, gdyż wszystkie ośrodki dawców szpiku zobligowane zostały do przekazywania mu danych o swoich dawcach i funkcjonuje na tej zasadzie, że każdy z ośrodków korzystając z indywidualnego linku uzyskuje dostęp do danych rekrutowanych przez siebie dawców: może je uaktualniać, rozszerzać i rejestrować nowych wolontariuszy. Niestety, 2 prywatne ośrodki dawców szpiku przy Fundacjach DKMS oraz Przeciwno Leukemii, dotychczas nie przekazały swoich baz danych do CRNPDSiKP, wskutek czego obecnie w Polsce funkcjonują 3 niezależnie działające rejestry. W zamyśle ustawodawcy zmiana organizacyjna, jaką było stworzenie jednego krajowego rejestru potencjalnych dawców komórek krwiotwórczych ma wykluczyć możliwość zarejestrowania tej samej osoby w różnych ośrodkach dawców szpiku i tym samym wyeliminować koszty kilkakrotnego wykonania badań HLA.

Koordinacja rekrutacji i poszukiwania niespokrewnionego dawcy komórek krwiotwórczych, którą powierzono „Poltransplantowi” polega nie tylko na prowadzeniu CRNPDSiKP i przekazywaniu zawartych w nim danych do BMDW, ale obejmuje również kontraktowanie ośrodków doboru dawców oraz finansowanie procedur związanych ze znalezieniem zgodnego dawcy komórek krwiotwórczych i pobraniem od niego materiału do przeszczepienia. „Poltransplant” pośredniczy również w kontaktach między

placówkami zaangażowanymi w wykonanie tych zadań. Organizacje spełniające podobną rolę są zwane na zachodzie hub (ang. *hub* – piasta, ośrodek, centrum, rdzeń).

W ramach koordynacji poszukiwań niespokrewnionego dawcy komórek krwiotwórczych „Poltransplant”:

- ▶ Udostępnia ośrodkom doboru niespokrewnionego dawcy kody dostępu i hasła do bazy BMDW (obecnie procedurę doboru realizują w Polsce 4 ośrodki: DCTK, NZOZ Medigen, IHiT oraz SP Centralny Szpital Kliniczny Warszawskiej Akademii Medycznej),
- ▶ Przyjmuje od ośrodków transplantacyjnych prośby o dobór zgodnego dawcy dla chorych zakwalifikowanych do przeszczepienia komórek krwiotwórczych,
- ▶ Przekazuje zlecenie do ośrodków doboru niespokrewnionego dawcy i pośredniczy w przepływie zleceń i wyników badań w procesie doboru,
- ▶ Ośrodki doboru niespokrewnionego dawcy szpiku dokonują przeglądu bazy BMDW, opracowują strategię, nadzorują i modyfikują przebieg doboru pod kątem konkretnego pacjenta. W razie braku wystarczających danych HLA zlecają ośrodkom dawców szpiku realizację procedury dotypowania wyselekcjonowanych potencjalnych dawców i/lub pobrania próbki na ostateczne typowanie potwierdzające (wiąże się to z koniecznością odświeżenia przez ODS wskazanego dawcy, pobrania od niego próbki krwi i wykonania uzupełniających badań HLA, markerów chorób zakaźnych i grupy krwi),
- ▶ Procedura doboru prowadzona jest do momentu znalezienia zgodnego dawcy lub wykazania braku akceptowalnego dawcy. Wynik doboru raportowany jest do kliniki transplantacyjnej oraz do „Poltransplantu”,
- ▶ Ośrodek doboru dawców i „Poltransplant” otrzymują z ośrodka transplantacyjnego informację o akceptacji dobranego dawcy, planowanej dacie przeszczepienia oraz rodzaju materiału transplantacyjnego (komórki krwiotwórcze z krwi obwodowej lub szpiku),
- ▶ „Poltransplant” otrzymuje z ośrodka transplantacyjnego i przekazuje ośrodkowi dawców szpiku, który opiekuje się wytypowanym dawcą zlecenie na realizację procedury pobrania komórek do przeszczepienia. Wiąże się to z koniecznością nawiązania kontaktu obu ośrodków, ustalenia żądanej ilości komórek krwiotwórczych oraz terminu ich odbioru, wezwania dawcy w celu przeprowadze-

nia ostatecznych badań kwalifikacyjnych, przesłania wyników tych badań do ośrodka transplantacyjnego, wezwania dawcy i pobrania materiału transplantacyjnego w ścisłej korelacji czasowej z przygotowaniem radiacyjnym i/lub chemicznym chorego oraz wydaniem tego materiału kurierowi z ośrodka przeszczepiającego,

- ▶ „Poltransplant” przyjmuje z ośrodków dawców szpiku raporty o realizacji procedury pobrania oraz przeszczepienia i w oparciu o nie prowadzi rejestr transplantacji a na jego podstawie sporządza raporty, które prezentują stan transplantacji w naszym kraju.

Wszystkie czynności niezbędne do realizacji zleceń otrzymywanych z klinik przeszczepowych i ośrodków doboru za pośrednictwem „Poltransplantu”, których ośrodek dawców szpiku nie jest w stanie wykonać samodzielnie może na podstawie umowy powierzyć innym podmiotom leczniczym, posiadającym stosowne uprawnienia. Ośrodki dawców szpiku prowadzone przez fundacje oraz RCKiK zlecają odpowiednim podmiotom leczniczym wykonanie badań analitycznych i diagnostycznych niezbędnych na etapie ostatecznej kwalifikacji dawcy. Z reguły również pobranie komórek krwiotwórczych odbywa się poza ośrodkiem dawców szpiku, gdyż pozwolenie na wykonywanie tych zabiegów posiadają jedynie ośrodki przeszczepiania szpiku, dysponujące odpowiednio wykwalifikowanym personelem, zapleczem laboratoryjnym oraz pomieszczeniami zabiegowymi. Tylko ośrodki dawców szpiku działające w WIM, IHiT, DCTK oraz UCK mogą zapewnić dawcy pobranie szpiku lub komórek krwiotwórczych z krwi obwodowej w obrębie własnej instytucji. Wydanie pobranego materiału przeszczepowego zagranicznemu ośrodkowi transplantacyjnemu wiąże się z koniecznością uzyskania od „Poltransplantu” zgody na wywóz ludzkich komórek a obowiązek wystąpienia o taką zgodę i przedstawienia wszystkich wymaganych w tym celu dokumentów spoczywa na ośrodku dawców szpiku.

Zmiany organizacyjne związane z powołaniem ośrodków dawców szpiku objęły również zmianę zasad finansowania kosztów pobrania komórek krwiotwórczych. Poprzednio rejestr organizujący pobranie wystawiał fakturę za udostępnienie materiału transplantacyjnego ośrodkowi wykonującemu przeszczepienie, zaś obecnie ośrodek dawców szpiku otrzymuje od „Poltransplantu” refundację kosztów związanych z badaniami kwalifikacyjnymi dawcy i pobraniem komórek krwiotwórczych na zasadach usta-

lonych w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia w sprawie szczegółowego ustalania kosztów czynności związanych z pobieraniem, przechowywaniem, przetwarzaniem, sterylizacją i dystrybucją komórek, tkanek i narządów.

Bardzo istotnym zadaniem ośrodków dawców szpiku jest otoczenie dawcy opieką przed zabiegiem pobierania komórek krwiotwórczych, w czasie pobytu w placówce dokonującej pobrania oraz po pobraniu. Rozumie się przez to przede wszystkim zapewnienie dawcy odpowiedniej opieki medycznej, ale również zadbanie o bezpieczny transport do miejsca pobrania i z powrotem, zwrot ewentualnych udokumentowanych kosztów związanych z oddaniem komórek krwiotwórczych, udzielenie zwolnienia lekarskiego za czas nieobecności w pracy związanej z przygotowaniem do pobrania oraz

tytułu otrzymuje odznakę oraz legitymację „Dawca Przeszczepu”. Pomimo tego, że obowiązek wręczenia odznaki i legitymacji potwierdzającej posiadanie tytułu „Dawca Przeszczepu” spoczywa na podmiocie leczniczym, w którym odbywało się pobranie komórek krwiotwórczych, to zazwyczaj uroczystości podczas których odznaczani są dawcy organizują ośrodki dawców szpiku. Dawcy, którzy oddali komórki krwiotwórcze więcej niż jeden raz zostają uhonorowani tytułem „Zasłużony Dawca Przeszczepu” a odznaki i legitymacje potwierdzające posiadanie tego tytułu wręcza Minister Zdrowia, na wniosek ośrodka dawców szpiku przekazanego za pośrednictwem „Poltransplantu”. Każdy dawca komórek krwiotwórczych jest uprawniony do korzystania poza kolejnością z ambulatoryjnej opieki zdrowotnej, a tym

RYCINA 1: Rozmieszczenie ośrodków dawców szpiku w Polsce



1. Uniwersyteckie Centrum Kliniczne
2. RCKiK Białystok
3. RCKiK Poznań
4. Wojskowy Instytut Medyczny
5. Instytut Hematologii i Transfuzjologii
6. NZOZ Medigen
7. Fundacja Urszuli Jaworskiej
8. Fundacja DKMS
9. Centralny Szpital Kliniczny UM
10. Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych
11. RCKiK Lublin
12. RCKiK Kielce
13. RCKiK Katowice

czas hospitalizacji i okres rekonwalescencji. Zakres czynności związanych z badaniem potencjalnego dawcy na etapie ostatecznej kwalifikacji do oddania komórek krwiotwórczych oraz z badaniami monitorującymi stan zdrowia dawców po pobraniu tych komórek został określony w Rozporządzeniach Ministra Zdrowia. Obowiązkowe jest wykonanie badań kontrolnych dawcy bezpośrednio po pobraniu oraz w 3 i 12 miesięcy później, ze wskazaniem na przedłużeniu okresu monitorowania stanu zdrowia dawcy do 10 lat po pobraniu komórek krwiotwórczych i w związku z tym większość ośrodków dawców szpiku wzywa później swoich podopiecznych co 12 miesięcy w celu wykonania badań przeglądowych.

Ośrodek dawców szpiku zobowiązany jest również do udzielenia dawcy informacji o przywilejach należnych mu z tytułu oddania komórek krwiotwórczych. Dawcy, który oddał komórki krwiotwórcze przysługuje tytuł „Dawca Przeszczepu”. Posiadacz takiego

który w związku z zabiegiem pobrania doznali uszkodzenia ciała lub rozstroju zdrowia przysługuje odszkodowanie. Osobom posiadającym tytuł „Zasłużonego Dawcy Przeszczepu” przysługuje bezpłatne zaopatrzenie w leki podstawowe i uzupełniające oraz wydawane na podstawie recepty preparaty regenerujące układ krwiotwórczy.

Przystosowanie się do nowych zasad organizacyjnych było pewną rewolucją, szczególnie dla tych ośrodków dawców szpiku, które dotychczas zajmowały się wyłącznie pozyskiwaniem potencjalnych dawców. Musiały one podjąć wiele nowych obowiązków a konieczność wywiązania się z nich okazała się nie tak odległa w czasie, jak się to początkowo wydawało, albowiem pierwsze pobrania komórek krwiotwórczych od dawców, nad którymi opiekę sprawują ośrodki dawców szpiku zorganizowane przez RCKiK miały miejsce już po kilku miesiącach ich działalności.

Piśmiennictwo dostępne u autora.

Znaczenie oceny chimeryzmu u chorych po przeszczepie szpiku kostnego

– PRZEGLĄD STOSOWANYCH TECHNIK

DR ANNA MŁYNARCZEWSKA, PRACOWNIA DIAGNOSTYKI MOLEKULARNEJ, KLINIKA HEMATOLOGII, ONKOLOGII I CHORÓB WEWNĘTRZNYCH, SP CSK WUM

Allogeniczne przeszczepienie komórek hematopoetycznych to procedura, podczas której do odpowiednio przygotowanego organizmu biorcy wprowadzane są obce komórki krwiotwórcze. Dawcą komórek może być, dobrane w układzie HLA (ang. *human leukocyte antigens*), rodzeństwo pacjenta bądź dawca niespokrewniony.

Jedną z metod służących do badania skuteczności przeprowadzonej procedury jest oznaczanie chimeryzmu poprzyszczepowego. Jest to metoda pozwalająca już na poziomie molekularnym ocenić czy komórki w badanym materiale po zabiegu transplantacji u chorego pochodzą od dawcy i jaki jest odsetek tych komórek krwiotwórczych u biorcy.

Chimeryzm poprzyszczepowy

Badanie chimeryzmu poprzyszczepowego wykonuje się z próbki pochodzącej z pełnej krwi obwodowej, ze szpiku lub z wyizolowanych subpopulacji komórkowych. W zależności od procentowej zawartości komórek, z charakterystycznym markerem dawcy, znajdujących się wśród badanych komórek biorcy można ustalić stopień chimeryzmu po transplantacji. Z pełnym chimeryzmem (ang. CC – *complete chimerism*) mamy do czynienia, jeżeli 100 proc. badanych komórek z krwi obwodowej lub szpiku u biorcy posiada marker komórek od dawcy. Najlepsza sytuacja jest wtedy, gdy występuje pełny chimeryzm. Świadczy to o przyjęciu się przeszczepionych komórek krwiotwórczych, co wiąże się z wystąpieniem pełnej remisji oraz dłuższym przeżyciem wolnym od choroby.

Mieszany chimeryzm (ang. MC – *mixed chimerism*) występuje we wczesnym etapie po transplantacji, kiedy komórki biorcy współistnieją z komórkami dawcy. Wykrywane są zarówno komórki z markerem informatywnym dawcy, jak i biorcy. Jest to stan przejściowy (ang. *transient mixed chimerism*) i po pewnym czasie przechodzi w pełny chimeryzm. U biorców, u których

zostało zastosowane niepełne przygotowanie mieloablacyjne do zabiegu transplantacji, ten stan przejściowy może trwać około 30 dni. Jednak gdy stan mieszanego chimeryzmu utrzymuje się dłużej lub jeśli ma on charakter postępujący (ang. *progressive mixed chimerism*), to oznacza, że narasta odsetek komórek z markerem charakterystycznym dla biorcy w stosunku do wcześniejszego wyniku badania i na ogół wiąże się to ze zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby.

Brak chimeryzmu, czyli odnowa autologicznych (ang. AR – *autologous recovery*) defektywnych komórek krwiotwórczych

około- i poprzyszczepowym, można uchwycić moment pojawienia się chimeryzmu mieszanego, który oznacza podjęcie swojej funkcji przez przeszczepione zdrowe komórki krwiotwórcze dawcy, aż do wykazania chimeryzmu pełnego, oznaczającego brak choroby, co było celem transplantacji. Natomiast, gdy obserwuje się długotrwały okres stanu chimeryzmu mieszanego, a następnie przewagę odsetka komórek o charakterystyce chorego to można przewidywać ewentualną wznowę choroby.

Istotna jest ocena chimeryzmu w różnych subpopulacjach komórkowych, ponieważ różne populacje mogą cechować się różnym odsetkiem komórek charakterystycznych dla dawcy i biorcy, co z reguły odzwierciedla ewentualne komplikacje u chorego po przeszczepieniu komórek

Prowadząc badania w okresie około- i poprzyszczepowym, można uchwycić moment pojawienia się chimeryzmu mieszanego, który oznacza podjęcie swojej funkcji przez przeszczepione zdrowe komórki krwiotwórcze dawcy, aż do wykazania chimeryzmu pełnego, oznaczającego brak choroby, co było celem transplantacji.

chorego, jest sytuacją, kiedy w badanym materiale wykrywane są tylko własne komórki biorcy, co świadczy o niepowodzeniu przeszczepu i nie wszczepieniu się komórek dawcy, których zadaniem było zregenerowanie układu immunologicznego u chorego. Wszystkie te sytuacje zobrazowane zostały na rysunku 1.

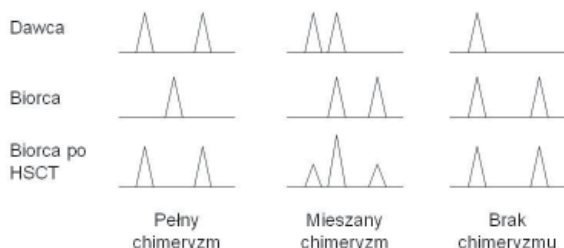
Znaczenie badań chimeryzmu poprzyszczepowego

Badanie chimeryzmu poprzyszczepowego wykonywane jest wielokrotnie po transplantacji. W badaniu zawsze porównuje się – pod względem charakterystycznego markera dla komórek dawcy, a nieobecność na komórkach biorcy – komórki biorcy sprzed zabiegu transplantacji, komórki dawcy i komórki biorcy po zabiegu transplantacji. Pozwala to na monitorowanie zmian oraz ich dynamiki w czasie od dnia „0”, tj. dnia zabiegu. Prowadząc badania w okresie

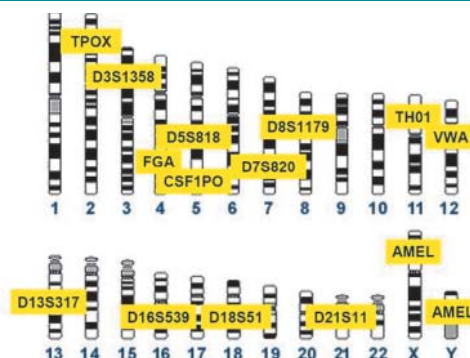
krwiotwórczych. Najważniejsza wydaje się ocena stopnia chimeryzmu w populacji limfocytów T. Obserwowanie stanu mieszanego chimeryzmu, badanego dla tej populacji limfocytów, związane jest z obniżonym ryzykiem wystąpienia ciężkiej postaci choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD – *graft versus host disease*), podczas gdy pełny chimeryzm w tej subpopulacji związany jest ze zwiększonym prawdopodobieństwem wystąpienia tej choroby. Istnieje również pozytywny aspekt obecności limfocytów T biorcy, ponieważ są one odpowiedzialne za wystąpienie pożądanego u chorego reakcji przeszczep przeciw białaczce (GVL – *graft versus leukemia*).

Badanie chimeryzmu w populacji limfocytów B jest szczególnie ważne u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną z komórek B. Wówczas ocena odsetka mieszanego chimeryzmu w tej populacji limfocytów, przy wyższym stosunku komórek charakte-

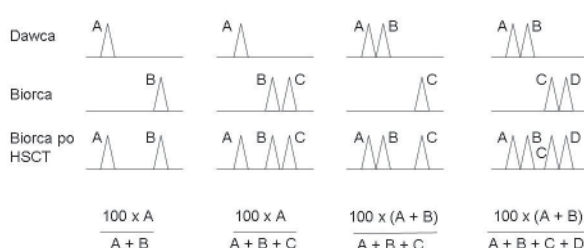
RYSUNEK 1. Możliwe stany chimeryzmu poprzyszczepowego. W przypadku chimeryzmu pełnego, obraz biorcy po przeszczepieniu jest identyczny, jak obraz dawcy. W przypadku chimeryzmu mieszanego, pacjent po przeszczepie ma cechy zarówno dawcy, jak i biorcy. Przy braku chimeryzmu, obraz biorcy jest analogiczny przed, jak i po przeszczepieniu.



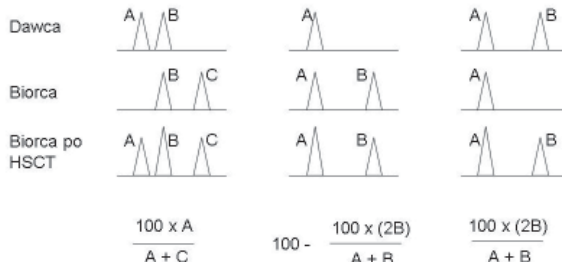
RYSUNEK 2. Przykładowe miejsca polimorficzne znajdujące się na poszczególnych chromosomach ludzkiego genomu (z STRBase, <http://www.csl.nist.gov/strbase/ppt/intro.pdf>).



RYSUNEK 3. Wzory używane do obliczeń odsetka chimeryzmu dla par z różnymi allelami – obliczanie odsetka komórek z charakterystycznym markerem dawcy dla par posiadających różny pik.



RYSUNEK 4. Wzory używane do obliczeń odsetka chimeryzmu dla par ze wspólnym allelem – obliczanie odsetka komórek z charakterystycznym markerem dawcy dla par posiadających taki sam pik.



rystycznych dla chorego, świadczy o wznowie choroby.

Metody służące do oznaczania chimeryzmu poprzyszczepowego

ABO – początkowo, w celu oznaczenia odsetka komórek biorcy po transplantacji komórek krwiotwórczych, stosowano oznaczanie markerów grupowych krwinek czerwonych. Jednak metoda ta okazała się mało precyzyjna, ze względu na fakt, iż eryocyty żyją dość długo tj. około 90 dni, i zmiana grupy krwi biorcy na grupę krwi, którą miał dawca komórek może nastąpić w odległym czasie po przeszczepieniu. Poza tym metoda ta była ograniczona jedynie do par dawca-biorca różniących się pod względem grup głównych krwi. Dodatkowo znaczące utrudnienie stanowiły przetoczenia masy erytrocytarnej we wczesnym okresie po transplantacji, które mogłyby dawać fałszywe wyniki.

HLA – badane były też różnice w antygenach HLA (ang. *human leukocyte antigen*) dawcy i biorcy, jeżeli jest taka obecna np. po transplantacjach krwi pępowinowej. Nie jest natomiast przydatna w przypadku przeszczepień macierzystych komórek krwiotwórczych od dawcy w pełni zgodnego pod względem HLA.

FISH – Fluorescencyjna Hybrydyzacja *in situ* (ang. *Fluorescent in situ Hybridiza-*

tion) jest techniką cytogenetyczną służącą do wykrywania określonych sekwencji DNA za pomocą sond znakowanych fluorochromem. Metoda ta ma szerokie zastosowanie w diagnostyce chorób krwi, jednak sondy używane do badania chimeryzmu poprzyszczepowego dotyczą płci – chromosomów XY, a więc metoda ta stosowana może być jedynie po transplantacjach różnoplciowych.

STR-PCR – (ang. *Short Tandem Repeat Polymerase Chain Reaction*) jest metodą najczęściej wykorzystywaną do oznaczania chimeryzmu. Opiera się na występującym w genomie polimorfizmie mikrosatelitarnym. Pozwala ocenić stopień chimeryzmu w małej ilości komórek pobranych wraz z próbką krwi lub szpiku, kiedy każda ilość tych komórek ma istotne znaczenie dla chorego. Jest wysoce informatywna i ma dużą czułość, co jest ważne w przypadkach pacjentów z niską komórkowością oraz gdy badany chimeryzm jest na poziomie około 95 proc. Odpowiednio dobrane wzory umożliwiają obliczenie zawartości komórek charakterystycznych dla dawcy i dla biorcy. Obecnie dostępne są już testy komercyjne, które pozwalają jednocześnie przeprowadzać reakcję z wieloma starterami multipletowo-skierowanymi na różne charakterystyczne miejsca polimorficzne. Tego typu reakcje multipleksowe zwiększają prawdopodobieństwo znalezienia informatywnego

markera dla konkretnej pary dawca-biorca. Istotne jest, aby oznaczać chimeryzm z użyciem kilku par starterów. Wydajność reakcji PCR dla różnych sekwencji STR może być odmienna, ponieważ charakterystyczne dla danej pary miejsca polimorficzne, wykorzystywane do określania stopnia chimeryzmu poprzyszczepowego, znajdują się na wielu różnych chromosomach (rysunek 2).

Miejsca polimorficzne są to charakterystyczne odcinki poszczególnych genów, które zbudowane są z następujących po sobie, powtarzających się fragmentów zawierających od 1 do 6 par zasad. Powtórzenia te mogą znajdować się w części promotorowej genu, w intronach lub innych sekwencjach niepodlegających transkrypcji. Ilość powtórzeń takiego fragmentu może być bardzo różna, co określa wysoką informatywność, ponieważ zwiększa prawdopodobieństwo, że pacjent i dawca będą mieć różną ilość powtórzeń takich samych sekwencji par zasad tzw. mikrosatelit. Większa ilość powtórzeń daje w reakcji PCR większy produkt, który migruje z inną prędkością w przeprowadzanej potem elektroforezie w żelu poliakrylamidowym. Z pary starterów używanych do reakcji PCR, jeden znakowany jest fluorochromem, który podczas elektroforezy w sekwenatorze wzbudzany jest laserowo. Dzięki temu możliwy jest komputerowy odczyt i analiza wyników. Do przeprowadzenia analizy bada-

➔ nia, niezbędny jest zarchiwizowany materiał dawcy oraz biorcy przed przeszczepieniem, co służy do oznaczenia markerów informatywnych oraz jako kontrola pozytywna reakcji. Po wyborze markera informatywnego (jednego bądź kilku) w kolejnych badaniach należy używać tego samego, tak aby badania były powtarzalne i wiarygodne.

Obliczenie odsetka mieszanego chimerizmu możliwe jest dzięki automatycznej analizie wyników. Po rozdziale elektroforetycznym, zwizualizowanie produktów reakcji PCR przedstawiane jest w postaci pików, a pole powierzchni pod pikiem określa wielkość używaną w obliczeniach. Ze względu na różne układy genetyczne, do różnych sytuacji używa się różnych wzorów. Istotne jest, czy dawca i biorca mają jeden wspólny pik. Jest to sytuacja nieprzeszkadzająca w określeniu chimeryzmu poprzyszczepowego oraz pozwalająca jednocześnie stwierdzić, czy pod względem tej sekwencji nukleotydów są one homozygotami czy heterozygotami – obliczanie odsetka markerów charakterystycznych dla komórek dawcy pod względem par nieposiadających wspólnego pliku.

Real Time PCR – PCR w czasie rzeczywistym jest metodą, która w ostatnim czasie została zaadaptowana do badania chimeryzmu poprzyszczepowego. Opiera się na polimorfizmach białelicznych, do których zaliczyć można polimorfizm substytucyjny (ang. SNP – *single nucleotide polymorphism*) lub polimorfizm typu insercja/delecja oraz typu delecja. Metoda ta jest szybsza od STR-PCR i bardziej czuła. Składa się tylko z dwóch etapów – izolacji DNA, a następnie reakcji PCR, podczas gdy w STR-PCR konieczna jest jeszcze elektroforeza w żelu poliakrylamidowym. Wadą tej metody jest większa trudność w określaniu markera informatywnego dla danej pary dawca-biorca, ze względu na to, że dotyczyć może pojedynczego allelu.

Podsumowanie

Oznaczanie chimeryzmu poprzyszczepowego to jeden z elementów diagnostyki prowadzonej u pacjentów po allogeniczej transplantacji komórek krwiotwórczych. Jest to istotne oznaczenie, które mocno koreluje z sytuacją kliniczną. Od wyniku tego badania zależy dalsze działanie medyczne. Mnogość dostępnych metod pozwala zastosować metodę optymalną, w zależności od posiadanych zasobów aparaturowych czy kosztów analizy.

Piśmiennictwo dostępne u autorki.

Sprawdź swoją wiedzę

TEST - HEMATOLOGIA

- 1) U mężczyzny uzyskano następujące wyniki badań: Hb 9 g/dl, RBC 3,1 mln/ μ l, Ht 27%, Ret. 20%. Proszę obliczyć skorygowaną liczbę retikulocytów (SLR).
a) 3%
b) 6%
c) 12%
d) 24%
e) 48%
- 2) Podczas oceny rozmazu krwi obwodowej stwierdzono 15 erytroblastów na 100 komórek jądrazstych. Uzyskany wynik pomiaru liczby leukocytów, 11 500 / μ l, należy więc skorygować do wartości:
a) 15 000 / μ l
b) 12 000 / μ l
c) 10 000 / μ l
d) 8000 / μ l
e) 5000 / μ l
- 3) Podczas oceny rozmazu krwi obwodowej stwierdzono 25 erytroblastów na 100 komórek jądrazstych. Uzyskany wynik pomiaru liczby leukocytów, 20 000 / μ l, należy więc skorygować do wartości:
a) 25 000 / μ l
b) 16 000 / μ l
c) 12 000 / μ l
d) 10 000 / μ l
e) 5000 / μ l
- 4) Stężenie żelaza w surowicy wynosi 60 μ g/dl, a UIBC 240 μ g/dl. Proszę obliczyć saturację transferyny.
a) 40%
b) 35%
c) 30%
d) 25%
e) 20%
- 5) Stężenie żelaza w surowicy wynosi 60 μ g/dl, a UIBC 240 μ g/dl. Proszę oszacować stężenie transferyny.
a) 43 mg/dl
b) 170 mg/dl
c) 213 mg/dl
d) 300 mg/dl
e) 359 mg/dl
- 6) Optymalne warunki pobrania krwi żyłnej do badań hematologicznych (RBC, Ht, Hb, MCV) zapewnia użycie probówek zawierających:
a) Na2EDTA
b) K2EDTA
c) heparynę litową
d) heparynę sodową
e) cytrynian sodu
- 7) Stężenie wersenianu, spotykane w różnych systemach próżniowego pobierania krwi do badań hematologicznych, mieści się w zakresie od 1,2 do 2,0 mg/ml krwi. Za optymalne stężenie wersenianu potasu uważa się:
a) 1,0 mg/ml
b) 1,5 mg/ml
c) 2,0 mg/ml
d) 2,5 mg/ml
e) nie ma ustalonych wskazań
- 8) Różnice w stężeniu wersenianu, obserwowane przy różnych sposobach pobierania krwi do badań hematologicznych, zwiększają zmienność wyników pomiarów:
1. stężenia hemoglobiny
2. liczby erytrocytów
3. objętości erytrocytów
4. liczby leukocytów
5. objętości płytek krwi

Poprawna odpowiedź to:

- a) 1, 2 i 3
- b) 1 i 5
- c) 2 i 4
- d) 3 i 5
- e) wszystkie podane odpowiedzi są poprawne

- 9) Z powodu różnic istniejących między nowoczesnymi zautomatyzowanymi instrumentami, włącznie z odczynnikami, zaleca się, aby krew zawierająca EDTA jako antykoagulant była przebadana w ciągu:
a) 24 godzin od pobrania
b) 12 godzin od pobrania
c) 8 godzin od pobrania
d) 6 godzin od pobrania
e) 2 godzin od pobrania



TARGOCID[®] IM IV
[teikoplanina]

Ciężkie zakażenia o etiologii:
MRSA (*Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę)*¹
VRE (wankomycynooporne szczepy *Enterococcus* spp.)*¹

Zarejestrowane wskazania²:

Targocid[®] jest wskazany do stosowania w potencjalnie ciężkich zakażeniach wywołanych przez drobnoustroje Gram(+), w tym także w takich, które są odporne na inne antybiotyki, np. metycylinę i cefalosporyny.

Potwierdzono skuteczność teikoplaniny w leczeniu następujących zakażeń²:

- zakażenia dolnych dróg oddechowych
- zapalenie otrzewnej związane z ciągłą ambulatoryjną dializą otrzewnową
- posocznica
- zakażenia skóry i tkanek miękkich
- zapalenie wsierdzia
- zakażenia dróg moczowych
- zakażenia stawów i kości
- może być stosowany w zapobieganiu zakażeniom okołoperacyjnym

1. G. Ackermann. Antybiotyki i środki przeciwwgrzybicze, Med Pharm, 2009; 126-127. 2. Charakterystyka Produktu Leczniczego – Targocid[®], 27.04.2010.

* MRSA (ang. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), VRE (ang. Vancomycin-resistant *Enterococci*)

Targocid[®] (Teikoplaninum), 200 mg, proszek i rozpuszczalnik do sporządzania roztworu do wstrzykiwań i infuzji. Targocid[®], 400 mg, proszek i rozpuszczalnik do sporządzania roztworu do wstrzykiwań i infuzji. 1 fiolka zawiera 200 mg lub 400 teikoplaniny oraz substancje pomocnicze. **Wskazania do stosowania:** Targocid[®] jest wskazany do stosowania w potencjalnie ciężkich zakażeniach wywołanych przez drobnoustroje z rodzaju *Staphylococcus*, jeśli nie można podawać penicylin ani cefalosporyn lub gdy nie występowała reakcja na leczenie tymi antybiotykami albo gdy występują zakażenia wywołane przez drobnoustroje z rodzaju *Staphylococcus* odporne na inne antybiotyki. Potwierdzono skuteczność teikoplaniny w leczeniu następujących zakażeń: zakażenia skóry i tkanek miękkich, zakażenia dróg moczowych, zakażenia dolnych dróg oddechowych, zakażenia stawów i kości, posocznica, zapalenie wsierdzia, zapalenie otrzewnej związane z ciągłą ambulatoryjną dializą otrzewnową. Targocid[®] może być stosowany w zapobieganiu zakażeniom okołoperacyjnym przed operacjami ortopedycznymi, kiedy istnieje zagrożenie zakażeniem drobnoustrojami Gram-dodatnimi. **Dawkowanie i sposób podawania:** Dorosli: Leczenie większości zakażeń bakteriami Gram-dodatnimi: dawka nasycająca: 3 dawki po 400 mg podane dożylnie co 12 godzin, następnie dawka podtrzymująca 400 mg dożylnie lub domięśniowo raz na dobę. Standardowa dawka 400 mg jest równoważna około 6 mg/kg mc. u pacjentów o masie ciała powyżej 85 kg należy stosować dawkę 6 mg/kg mc. W niektórych klinicznych przypadkach mogą być konieczne wyższe dawki. Zapobieganie zakażeniem okołoperacyjnym przed operacjami: pojedyncza dawka 400 mg (lub 6 mg/kg mc., jeśli masa ciała powyżej 85 kg) podana dożylnie podczas wprowadzania do znieczulenia. Dzieci: W wieku powyżej 2 miesięcy do 16 lat: w leczeniu większości zakażeń bakteriami Gram-dodatnimi dawka nasycająca wynosi 10 mg/kg mc., podana dożylnie 3 razy, co 12 godzin, następnie dawka podtrzymująca 6 mg/kg mc., podawana dożylnie lub domięśniowo raz na dobę. Ciężkie zakażenia i zakażenia u pacjentów z neutropenią: dawka nasycająca wynosi 10 mg/kg mc., podana dożylnie 3 razy, co 12 godzin, następnie 10 mg/kg mc. dożylnie raz na dobę. Niemowlęta w 1. i 2. miesiącu życia: pojedyncza dawka nasycająca 16 mg/kg mc. podana dożylnie pierwszego dnia leczenia, następnie 8 mg/kg mc. dożylnie raz na dobę. Infuzja dożylna powinna trwać 30 minut. Pacjenci w podeszłym wieku: u pacjentów z prawidłową czynnością nerek nie ma konieczności modyfikacji dawki leku. Pacjenci z niewydolnością nerek: Do 4. doby leczenia: modyfikacja dawki nie jest konieczna. W 4. dobie leczenia: przerwy między kolejnymi dawkami należy dobrać w taki sposób, żeby stężenie leku w surowicy krwi wynosiło co najmniej 10 mg/l. Po 4. dobie leczenia: umiarkowana niewydolność nerek (klirens kreatyniny od 40 do 60 ml/min): dawkę podtrzymującą należy zmniejszyć o połowę, albo podając dawkę zwykle zalecaną co 2 dni, albo podając dawkę zmniejszoną o połowę raz na dobę; ciężka niewydolność nerek (klirens kreatyniny poniżej 40 ml/min) i pacjenci hemodializowani: podtrzymującą dawkę należy zmniejszyć do jednej trzeciej dawki zwykle zalecanej, albo podając dawki co 3 dni, albo podając jedną trzecią dawki raz na dobę. Teikoplanina nie jest usuwana z organizmu podczas hemodializy. Ciągła ambulatoryjna dializa otrzewnowa: po dożylnym podaniu pojedynczej podtrzymującej dawki 400 mg podaje się 20 mg/l w każdym worku w pierwszym tygodniu, 20 mg/l w co drugim worku w drugim tygodniu oraz 20 mg/l w worku pozostawianym na noc w okresie trzeciego tygodnia. Teikoplanina może być podawana dożylnie lub domięśniowo. Dożylnie można podać roztwór w szybkim wstrzyknięciu, trwającym od 3 do 5 minut, albo we wlewie, trwającym 30 minut. U noworodków należy podawać lek tylko w infuzji. Dobór dawki teikoplaniny należy rozważyć w zależności od ciężkości choroby i miejsca zakażenia.

Przeciwwskazania: wcześniej stwierdzona nadwrażliwość na teikoplaninę. **Specjalne ostrzeżenia i środki ostrożności dotyczące stosowania:** stosować ostrożnie u pacjentów z nadwrażliwością na wankomycynę, ponieważ może wystąpić nadwrażliwość krzyżowa. Niemniej jednak stwierdzono w wywiadzie wystąpienie „zespołu czerwonego karku” (ang. „Red Man Syndrome”) po podaniu wankomycyny nie jest przeciwwskazaniem do stosowania preparatu Targocid[®]. U pacjentów przyjmujących teikoplaninę opisywano zaburzenia słuchu, zaburzenia hematologiczne (małopłytkowość), zaburzenia czynności wątroby i nerek. Należy przeprowadzić badanie słuchu, morfologię krwi oraz testy czynności wątroby i nerek, zwłaszcza u pacjentów z niewydolnością nerek i pacjentów otrzymujących przedłużone leczenie teikoplaniną oraz u pacjentów stosujących jednocześnie leki działające ototoksycznie lub neurotoksycznie. U pacjentów z niewydolnością nerek należy skorygować dawkowanie. Nadkażenie: podobnie jak po zastosowaniu innych antybiotyków, podczas stosowania teikoplaniny, szczególnie długotrwałego, może wystąpić dodatkowe zakażenie drobnoustrojami niewrażliwymi. Podstawowe zakażenie ma okresowa kontrola stanu pacjenta. W razie wystąpienia nadkażenia w okresie leczenia należy zastosować odpowiednie środki.

Działania niepożądane: Targocid[®] jest na ogół dobrze tolerowany. Działania niepożądane rzadko powodują konieczność zaprzestania leczenia i są na ogół lekkie i przemijające. Ciężkie działania niepożądane występują rzadko. Opisywano występowanie następujących działań niepożądanych: Zaburzenia ogólne i stany w miejscu podania: rumień, ból w miejscu wstrzyknięcia, zakrzepowe zapalenie żył, ropień w miejscu wstrzyknięcia po podaniu domięśniowym. Reakcje nadwrażliwości: wysypka, świąd, gorączka, dreszcze, skurcz oskrzeli, reakcje anafilaktyczne, wstrząs anafilaktyczny, pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy, rzadkie przypadki złuszczonego zapalenia skóry, martwica toksyczno-rozplywna naskórki, rzadkie przypadki rumienia wielopostaciowego, w tym zespół Stevensa-Johnsona. Ponadto w rzadkich przypadkach opisywano zakażenia związane z wlewie, takie jak rumień lub zaczerwienienie górnej części ciała, bez przyjmowania teikoplaniny w wywiadzie, nienawracające po ponownym zastosowaniu preparatu, kiedy szybkość wlewu była mniejsza i (lub) stężenie leku było mniejsze. Zdarzenia te nie były swoiste dla określonego stężenia ani szybkości wlewu. Zaburzenia żołądkowo-jelitowe: nudności, wymioty, biegunka. Zaburzenia krwi i układu chłonnego: eozynofilia, leukopenia, trombocytopenia, neutropenia, rzadkie przypadki przemijającej agranulocytozy. Zaburzenia wątroby i dróg żółciowych: zwiększenie aktywności aminotransferaz i (lub) fosfatazy alkalicznej w surowicy krwi. Zaburzenia nerek i dróg moczowych: przemijające zwiększenie stężenia kreatyniny w surowicy krwi, niewydolność nerek. Zaburzenia układu nerwowego: zawroty głowy, ból głowy, drgawki po podaniu dokomorowym. Zaburzenia ucha i błędnika: upośledzenie słuchu, szumy uszne, zaburzenia ze strony narządu równowagi. Zaburzenia i infekcje: nadkażenie (wzrost drobnoustrojów niewrażliwych). L2 – produkt leczniczy stosowany wyłącznie w lecztwie zmiennym.

Podmiot odpowiedzialny: Aventis Pharma Ltd., Aventis House, 50 Kings Hill Avenue, Kings Hill, West Malling, Kent ME19 4AH, Wielka Brytania. Pozwolenie na dopuszczenie do obrotu wydane przez Ministra Zdrowia nr: R/3361 (Targocid[®], 200 mg), R/3362 (Targocid[®], 400 mg). Informacji w Polsce udziela: Sanofi-Aventis Sp. z o.o., ul. Bonifraterska 17, 00-203 Warszawa, tel. 22 280 00 00.

PL.TE.12.03.01

SANOFI

Rejestry Niespokrewnionych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej

ZADANIA I ZASADY FUNKCJONOWANIA

DR ANNA MARIA GRONKOWSKA

PRACOWNIA IMMUNOGENETYKI, KLINIKA HEMATOLOGII, ONKOLOGII I CHORÓB WEWNĘTRZNYCH, SP CSK WUM

Każdego roku w Polsce, na 100 tys. mieszkańców, od 6 do 10 osób zapada na choroby nowotworowe krwi. Dzięki postępowi w transplantologii, większość z tych chorych może zostać wyleczona, jeżeli znajdzie się dla nich dawca szpiku. Tylko ok. 30 proc. chorych posiada dawcę rodzinnego, a dla pozostałych darem życia może być transplantacja od niespokrewnionego dawcy krwiotwórczych komórek macierzystych. Krwiotwórcze komórki hematopoetyczne są zatem darem życia. Mają unikalną cechę samoodnowy i różnicowania się. W związku z tą unikalną zdolnością, w przypadku różnych chorób nowotworowych krwi (białaczki, chłoniaki i itd.), wrodzonych niedokrwistości, nabytych anemii aplastycznych, niedoborów immunologicznych lub niektórych chorób metabolicznych można nimi zastąpić chory szpik, i w ten sposób uratować choremu życie. Można je przeszczepić pod warunkiem identyczności antygenów zgodności tkankowej inaczej transplantacyjnych – HLA (*human leukocyte antigen*) dawcy i biorcy. Transplantacja komórek krwiotwórczych musi być elementem planowanego leczenia od momentu rozpoznania choroby. Zgodnie z prawami dziedziczenia, tylko co czwarty brat lub siostra dziedziczy te same geny HLA od obojga rodziców. Zależnie od wielkości rodzin, chory częściej lub rzadziej może otrzymać komórki krwiotwórcze od dawcy spokrewnionego. Pozostali muszą oczekiwać na znalezienie niespokrewnionego dawcy o identycznych antygenach HLA w rejestrach na świecie. Poszukiwania dawców przeprowadzane są wyłącznie po zakwalifikowaniu chorego przez krajowy lub zagraniczny ośrodek transplantacyjny.

Podstawowym zadaniem rejestrów na całym świecie jest systematyczne zbieranie danych dotyczących genotypów HLA zgłaszających się wolontariuszy – zdrowych ochotników deklarujących swoją dobrowolną wolę honorowego i anonimowego oddania komórek krwiotwórczych potrzebującym chorym. Głównym celem wszystkich banków krwi pępowinowej jest gromadzenie jak największej ilości opracowanych (przetestowanych pod względem tkankowym i infekcyjnym) i zamrożonych (przechowywanych w specjalnych kontenerach, w ciekłym azocie w temp. -196°C) jednostek krwi pępowinowej.

W czerwcu 1988 r. z inicjatywy *Immunology Working Party* działającej w ramach europejskiej grupy do spraw transplantacji szpiku (*European Group for Bone Marrow Transplantation*, EBMT) została powołana Międzynarodowa Organizacja Dawców Szpiku (*Bone Marrow Donor Worldwide*, BMDW) z biurem w Leiden (Holandia). Zarząd BMDW składa się z jednego przedstawiciela każdego rejestru żywych dawców krwiotwórczych komórek macierzystych albo banków krwi pępowinowej. Przedstawiciele ci mają obowiązek dwa razy w roku zorganizować spotkanie w celu omówienia bieżących osiągnięć i niezbędnych usprawnień oraz aktualnych kwestii organizacyjnych. BMDW to organizacja skupiająca wszystkie

osrodki – rejestry dawców oraz banki krwi pępowinowych na całym świecie. Stworzyła i prowadzi bazę danych immunogenetycznych (tj. określonych antygenów zgodności tkankowej technikami na poziomie DNA w co najmniej trzech loci tj. A, B i DR), która jest aktualizowana w systemie comiesięcznym. Za pośrednictwem internetu baza jest udostępniana wszystkim ośrodkom, które poszukują i dobierają najodpowiedniejszego pod względem HLA dawcę dla potrzebującego chorego, wymagającego przeszczepienia komórek krwiotwórczych we wszystkich ośrodkach transplantacyjnych na świecie.

Misją BMDW jest dobrowolny, wspólny wysiłek w celu zapewnienia scentralizowania informacji o genotypie HLA i innych odpowiednich danych dotyczących krwiotwórczych komórek macierzystych oraz łatwe udostępnianie tych informacji. Baza danych immunogenetycznych dotyczących zgromadzonych zasobów żywych dawców komórek hematopoetycznych oraz ich wieku i płci prowadzona jest przez poszczególne rejestry na świecie. Banki krwi pępowinowej prowadzą bazy danych immunogenetycznych zebranych, opracowanych (pod względem objętości i zawartości komórek CD3+ i CD34+, żywotności skontrolowanej w specjalnej hodowli oraz stanu bakteriologicznego) i przechowywanych jednostek krwi pępowinowych. Za pośrednictwem wyszukiwarki internetowej, dawcy macierzystych komórek krwiotwórczych są dostępni i widoczni dla wszystkich ośrodków zajmujących się doбором zgodnych

par dawca-biorca dla celów transplantacyjnych na całym świecie. Udostępnianie bazy danych BMDW odbywa się na zasadzie on-line po uzyskaniu kodu dostępu i hasła do bazy przez ośrodki rekrutujące kandydatów na dawców do rejestru oraz klinik transplantacyjnych. Uprawnieni użytkownicy korzystają z dostępnej na stronie wyszukiwarki pozwalającej na znalezienie wszystkich dostępnych na świecie kandydatów na dawców komórek krwiotwórczych dla potrzebującego chorego, pod warunkiem, że znane są HLA A, B i DR chorego. Usługa świadczona jest nieodpłatnie i funkcjonuje w zgodzie z zaleceniami ustalonymi przez Europejską Fundację Dawców (*Europdonor Foundation*). Pierwsza edycja internetowej bazy danych o dawcach komórek hematopoetycznych została opublikowana na stronie www.bmdw.org w lutym 1989 roku i zawierała dane 155 tys. dawców

Krew pępowinowa oraz bogato ukrwione łożysko są wciąż traktowane jako elementy odpadowe po urodzeniu dziecka, pomimo obecności w nich wyjątkowo dużej liczby komórek macierzystych. Unikalnością tych komórek jest ich zdolność do samoodnawiania się i różnicowania...

z 8 rejestrów. Co miesiąc, należące do BMDW rejestry przesyłają aktualizację zawartości swoich baz elektronicznych do centralnego serwera w Leiden. Obecnie baza BMDW liczy przeszło 19 mln kandydatów na dawców komórek krwiotwórczych. W tabeli 1. przedstawiona została struktura bazy na koniec stycznia 2012 roku.

Rolą BMDW jest maksymalizowanie szansy na znalezienie potencjalnych i dostępnych dawców komórek macierzystych albo jednostek krwi pępowinowej, przy równoczesnym zminimalizowaniu wysiłku włożonego w ten dobór w związku z koniecznością przeprowadzenia transplantacji. Dodatkowo też przeszukanie BMDW, umożliwia określenie szansy znalezienia potencjalnego dawcy materiału transplantacyjnego dla potrzebującego pacjenta. W tym celu, na stronie internetowej umieszczone są specjalne programy, które pozwalają na zidentyfikowanie źródła częściowo zgodnych pod względem HLA żywych dawców lub jednostek krwi pępowinowej. Programy te pozwalają również na ocenę statystycznej szansy dobrania dawcy, który mógłby być zaakceptowany przez ośrodek

wanie Rejestrów odbywa się na zasadach non profit, co oznacza pobieranie opłat, które obejmują tylko zwrot ponoszonych kosztów rzeczywistych i opiera się na kooperacji z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami dawców szpiku, ośrodkami pobierania szpiku, ośrodkami transplantacji szpiku i bankami krwi pępowinowej. Rejestry koordynują działania w systemie międzynarodowym, jednocześnie dbając o przestrzeganie standardów jakości i poufności procedur przez współpracujące z nimi ośrodki, zgodnie z międzynarodowymi wymaganiami WMDA (*World Marrow Donor Association*). WMDA jest organizacją, która powstała w 1989 roku, jako międzynarodowa sieć rejestrów dawców i banków krwi pępowinowej w celu ustanawiania standardów i wyznaczania tendencji rozwoju transplantacji poprzez rekrutację, testowanie, pobieranie, przechowywanie, dobieranie oraz transport komórek krwiotwórczych. Organizacja ta wspiera międzynarodową współpracę w celu ułatwienia wymiany wysokiej jakości komórek krwiotwórczych do zabiegów transplantacji na całym świecie oraz strzeże interesów wszystkich dawców w rejestrach międzynarodowych. Ponadto zajmuje się promowaniem dawstwa szpiku. WMDA ma siedzibę w Leiden w Holandii i utrzymuje się z dobrowolnych składek. Jest międzynarodowym przedsięwzięciem, w którym współpracują różne organizacje i osoby zaangażowane w transplantacje komórek krwiotwórczych. Inaczej określana jest, jako światowa organizacja dawców szpiku, popierająca międzynarodową współpracę umożliwiającą udostępnianie wysokiej jakości komórek krwiotwórczych wykorzystywanych w transplantacjach. Swoją misję WMDA wypełnia poprzez definiowanie szczegółowych wymogów zdrowotnych w stosunku do dawców, co pozwala utrzymać zachowanie wysokich standardów bezpieczeństwa zarówno biorcy, jak i dawcy. Na podstawie opracowanych i publikowanych wytycznych (*Accreditation Policies and Procedures, Number: ACC001 version 1.2, November 09, 2009* oraz *International Standards for Unrelated Hematopoietic Stem Cell Donor Registries, November, 2009*) przez WMDA akredytowanych jest 17 rejestrów dawców i banków krwi pępowinowej, do których należy 83 proc. wszystkich dawców komórek krwiotwórczych. Dążenia WMDA ukierunkowane są na ujednolicenie zasad etycznych, technicznych, medycznych i finansowych, stosowanych przez współpracujące ośrodki oraz w procesie rekrutacji potencjalnych dawców szpiku.

TABELA 1. Struktura BMDW (dane z 22.01.2012)

Uczestnicy:	65 Rejestrów Dawców z 47 krajów
	> 18 701 951 żywych kandydatów na dawców
	44 Banków Krwi Pępowinowej z 29 krajów
	509 420 jednostek krwi pępowinowych
Razem	19 211 371 dawców komórek krwiotwórczych
Użytkownicy:	785 odbiorców „on line” z 486 autoryzowanych ośrodków

przeszczepowy, co udoskonala strategię w poszukiwaniach dawców komórek hematopoetycznych. Ponadto baza BMDW co miesiąc dostarcza nowe dane o opisanych dawcach pod względem HLA i jednostkach krwi pępowinowych oraz udostępnia statystyki o wroście zasobów różnych rejestrów dawców i banków krwi pępowinowych. Od pierwszej (1989 r.) edycji bazy danych BMDW, co roku obserwuje się systematyczny wzrost zasobów, co obrazują zamieszczone wykresy.

Celem tworzenia i funkcjonowania rejestrów jest rekrutacja potencjalnych dawców krwiotwórczych komórek macierzystych, ale również szerzenie samej idei tzw. czynnego „dawstwa szpiku” oraz biernego uczestniczenia w pokrywaniu kosztów. Funkcjono-

BIBLIOTEKA DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO



IMMUNOFENOTYPOWANIE KOMÓREK BIAŁACZKOWYCH I CHŁONIAKOWYCH. ZASTOSOWANIE W DIAGNOSTYCE – PRZEWODNIK POD REDAKCJĄ JOANNY KOPEĆ-SZLĘZAK

Książka ta została przygotowana z myślą o diagnostach laboratoryjnych oraz klinicytach zajmujących się problematyką rozrostów nowotworowych układu krwiotwórczego. W poszczególnych rozdziałach omówiono immunofenotyp komórek linii mieloidalnej i limfoidalnej (poczynając od komórki macierzystej układu krwiotwórczego), warsztat analizy cytometrycznej, zwracając uwagę na rodzaj materiałów biologicznych możliwych do badania (postępowanie z danym materiałem, wykonanie testu, odczynniki, próby kontrolne wewnętrzne i zewnętrzne), a także oznaczanie komórek macierzystych CD34+, diagnostykę ostrych białaczek (szpikowych i limfoblastycznych), wykrywanie minimalnej choroby resztkowej. Autorki dokumentują tekst licznymi wydrukami badań w kolorze. Całość uzupełnia płyta CD ze słownikiem oznaczanych w procesie immunofenotypowania komórek białaczkowych. Cena: 47 zł



W listopadzie 2000 roku, na zlecenie Ministerstwa Zdrowia, przy Poltransplancie w Warszawie został utworzony Centralny Rejestr Niespokrewnionych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej (CRNDSiKP). Był to piąty polski rejestr stworzony z myślą o chorych wymagających transplantacji komórek krwiotwórczych. Oprócz rejestru CRNDSiKP funkcjonowały w Polsce dwa rejestry prywatne: Fundacji Przeciw Leukemii przy NZOZ MEDiGEN i Fundacji Urszuli Jaworskiej oraz dwa działające przy placówkach naukowo-medycznych: Krajowy Bank Dawców Szpiku (KCDS) przy Dolnośląskim Centrum Transplantacji Komórkowych we Wrocławiu i Rejestr Niespokrewnionych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej (RND-SiKP) przy Instytucie Hematologii i Transfuzjologii (IHIT) w Warszawie. W lutym 2009 r., rozpoczął działalność trzeci prywatny rejestr dawców. Fundacja DKMS Polska, która bazuje na doświadczeniu i wsparciu DKMS Niemcy rozpoczęła rekrutację dawców i stworzyła bazę danych. W ten sposób została wsparta, zawsze kulejąca w naszym kraju, rekrutacja ze względu na limity finansowe uniemożliwiające wykonanie badań wstępnego typowania HLA ABDR chętnych osób do niesienia pomocy chorym na całym świecie. W Polsce ośrodki dawców szpiku zorganizowane są w oparciu o ustawę z dn. 1.07.2005 o pobieraniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów (Dz.U. Nr 169, poz. 1411, tzw. ustawy transplantacyjnej) oraz z uwzględnieniem standardów jakości i poufności opracowanych przez WMDA. Aktualnie funkcjonują trzy rejestry, z których rejestr przy Poltransplancie (PL5) jest tzw. hubem, a dwa pozostałe są zarządzane przez instytucje prywatne, które posiadają pozwolenie MZ na prowadzenie działalności, jako ośrodki dawców szpiku (ODS) w rozumieniu polskiego systemu i obowiązujących od 2010 r. przepisów prawnych. Poltransplant, czyli hub – na wzór systemu obowiązującego w Niemczech (ZKRD) – stanowi instytucję centralną i ma za zadanie organizację i koordynację procedur w nowobudowanym systemie polskim. W związku z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia w sprawie ośrodków dawców szpiku (Dz. U. 2010, Nr 54, poz 330) na podstawie art. 16a ust. 10 ustawy transplantacyjnej znowelizowanej (Dz. U. 2009, Nr 141, poz 1149) do bazy CRNDSiKP przy Poltransplancie zostały włączone bazy danych o dawcach zrekrutowanych w ramach wcześniejszej działalności ośrodków państwowych: Dolnośląskiego Centrum

Transplantacji Komórkowych we Wrocławiu z KBDS i Rejestru Niespokrewnionych Dawców Szpiku i Krwi Pępowinowej przy IHIT oraz prywatnej – prowadzonej przez Fundację U. Jaworskiej. Zajmuje się sprawami dotyczącymi zarówno rekrutacji kandydatów na dawców komórek krwiotwórczych przez ODSy, jak i prowadzonymi procedurami poszukiwania i doboru par dawca-biorca przez ośrodki tzw. poszukujące. W ramach tych samych przepisów zostało utworzonych kilkanaście ośrodków dawców szpiku, których zadaniem jest promocja idei dawstwa, rekrutacja wolontariuszy oraz skoordynowanie procedur związanych z pobraniem i przygotowaniem na wniosek ośrodka transplantacyjnego materiału od dawcy dobranej przez ośrodek poszukujący. Ośrodki poszukujące wyłaniane są co roku w drodze konkursu ofert w ramach systemu rozdziału środków budżetowych przeznaczonych na te cele. Znalezienie odpowiedniego dawcy w celu

W ostatnich latach odnotowuje się coraz większe wykorzystywanie w transplantologii macierzystych komórek krwiotwórczych pozyskanych z krwi pępowinowej (*cord blood*, CB) i zdeponowanych w stanie głębokiego zamrożenia w tzw. bankach krwi pępowinowej. Krew pępowinowa oraz bogato ukrwione łożysko są wciąż jednak traktowane jako elementy odpadowe po urodzeniu dziecka, pomimo obecności w nich wyjątkowo dużej liczby komórek macierzystych. Unikalnością tych komórek jest ich zdolność do samoodnawiania się i różnicowania i z tego powodu stanowią niezwykle cenny materiał transplantacyjny, którego wykorzystanie podlega jednak pewnym ograniczeniom. W przypadku przeszczepiania komórek krwiotwórczych pochodzących z krwi pępowinowej znaczną przewagą jest mniejszy zakres zgodności pomiędzy dawcą a biorcą w HLA ze względu na pewną niedojrzałość tych komórek i wykształcenia na ich powierzchni markerów

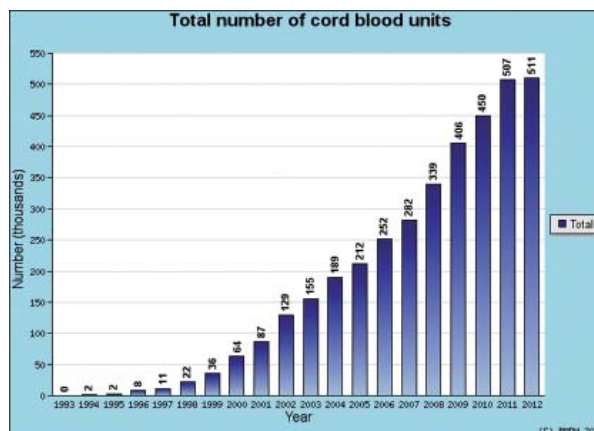
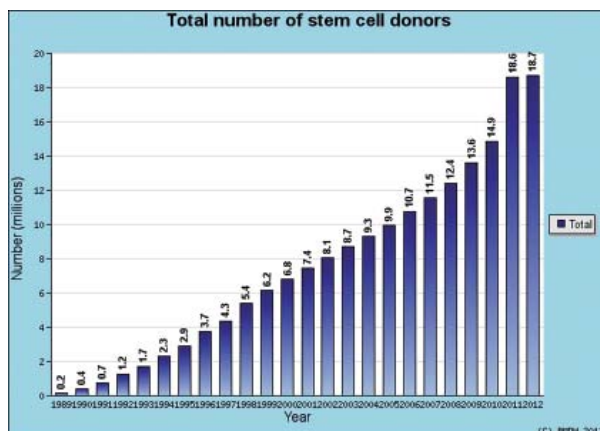
TABELA 2. Aktualne zasoby polskich rejestrów (dane 22.02.2012)

Nazwa Rejestru/Kod	Ilość dawców	HLA-ABDR DNA (%)	
Poland-ALF Medigen/PL 3	13 312	9 090	68,3 %
Poland-DKMS/PL6	162 784	162 153	99,9 %
Poland-POLTransplant/PL5	94 385	78 975	83,2 %
Poland-POLTransplant/W3CB	646	646	100,0 %
Razem	271 127	250 864	95,5 %

przeszczepiania allogenicznych komórek krwiotwórczych wymaga pełnej zgodności z biorcą w zakresie antygenów zgodności tkankowej HLA (*human leukocyte antigens*) zarówno klasy I – locus A, B i C oraz klasy II – locus DRB1 i DQB1 i coraz częściej także DPB1 na poziomie wysokiej rozdzielczości, co stanowi nadal realny problem dla transplantologów. Im więcej takich osób jest zarejestrowanych w rejestrach dawców, tym większe są szanse znalezienia identycznego dawcy niespokrewnionego. Na znalezienie odpowiedniego, tj. w pełni zgodnego pod względem HLA, dawcy niespokrewnionego wpływa częstość występowania podobnych antygenów HLA w określonej populacji. Wszystkie wymienione polskie rejestry żywych dawców i banki krwi pępowinowej należą do międzynarodowego stowarzyszenia rejestrów BMDW. Tabela 2. przedstawia zasoby polskich rejestrów reprezentowane w bazie BMDW oraz ich stopień wytypowania w zakresie oznaczenia antygenów HLA locus A, B i DRB1 technikami genetycznymi na poziomie niskiej rozdzielczości.

zgodności tkankowej. Dopuszczalna jest zgodność w zakresie 4 loci A, B, C i DRB1, a nie, jak w przypadku doboru żywego dawcy krwiotwórczych komórek ze szpiku lub z krwi obwodowej, co najwyżej jednej niezgodności. Przeszczepianiu komórek krwi pępowinowej z reguły towarzyszy słabszy przebieg choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (*graft versus host disease*, GVHD), a częściej efekt przeszczepu przeciw białaczce (*graft versus leukemia reaction*, GVLR) bardzo pożądanego u niektórych chorych. Oba te czynniki mają istotne znaczenie w podnoszeniu zainteresowania zbieraniem i „bankowaniem” jednostek krwi pępowinowej, co umożliwia łatwiejszą dostępność do takiego materiału transplantacyjnego, zwłaszcza, że jest to materiał już opracowany pod względem laboratoryjnym. Oznacza to, że macierzyste komórki krwiotwórcze są przebadane pod względem bakteriologicznym i wirusologicznym, policzone oraz sprawdzony został ich potencjał biologiczny. Badania naukowe wykazały, że komórki z krwi pępowinowej posiadają większy odsetek komórek macierzystych niż uorganizowanych w hierarchii

Wzrost zasobów rejestrów dawców i banków krwi pępowinowej (źródło: <https://www.bmdw.org/scripts/runisa.dll>)



krwiotworzenia oraz wykazują większy potencjał do ekspansji i proliferacji w porównaniu z komórkami szpiku lub krwi obwodowej. Zatem mniejsza ilość komórek jest w stanie zrekonstruować chory szpik u biorcy, co do niedawna stanowiło istotny limit, jeśli chodzi o zastosowanie jednostek gromadzonych w bankach krwi pępowinowej na świecie. Pierwsza transplantacja macierzystych komórek krwiotwórczych pochodzących z krwi pępowinowej została przeprowadzona przez zespół profesor Elien Gluckman w 1997 roku w Klinice w Paryżu u chłopca z anemią Fanconiego, dla którego dawczynią była identyczna w HLA siostra. Od tego momentu datuje się początek tworzenia i organizacji banków krwi pępowinowej. Pierwszego zabiegu przeszczepienia krwi pępowinowej w Polsce wykonali w 1994 r., u chłopca z ostrą białaczką szpikową, prof. A. Lange we współpracy z prof. W. Jędrzejczakiem. W marcu 2007 r. pierwszy raz do transplantacji użyto krwi pępowinowej, która wcześniej została pobrana, przetworzona i przechowywana w prywatnym banku od 2004 r. Przeszczepienie wykonano w Klinice Hematologii Dziecięcej we Wrocławiu u 8-letniej dziewczynki chorej na neuroblastomę.

Istnieje opinia, że objętość jednej jednostki krwi pępowinowej, wahająca się na ogół od kilkudziesięciu mililitrów do co najwyżej 100 ml, zawierająca niewiele ponad miliard komórek, wystarczać może do bezpiecznego przeszczepienia tylko u dziecka o masie ciała do 30 kg. Jest to zdecydowanie za mało komórek, aby efektywnie zabezpieczyć dorosłego pacjenta po mieloablacji, to znaczy wyeliminowaniu chemioterapią chorych własnych komórek krwiotwórczych. A jak dotąd wszystkie próby *in vitro* tzw. ekspansji, prowadzone intensywnie w latach 90. końca XX wieku, czyli

namnożenia krwiotwórczych komórek macierzystych krwi pępowinowej i uzyskiwania w ten sposób większej liczby komórek w materiale transplantacyjnym nie powiodły się i aktualnie nie stanowią już zainteresowania naukowców.

Około 10 lat wstecz pojawiło się natomiast przypuszczenie, że sposobem ominięcia kwestii związanej z małą ilością komórek krwiotwórczych w pozyskiwanych przez banki jednostkach krwi pępowinowej (*cord blood unit*, CBU), może być jednoczesne przeszczepienie kilku jednostek i w ten sposób powielenie ilości multipotencjalnych komórek krwiotwórczych w materiale transplantacyjnym. Zastosowanie więcej niż jednej CBU wykazały, że prowadzi do szybszej odnowy układu krwiotworzenia u biorcy przeszczepu, pomimo że wszczepieniu ulega zawsze tylko jedna z jednostek, co udowodniono wykonując badanie chimeryzmu potransplantacyjnego. Badanie chimeryzmu obrazuje na poziomie genetyki, które komórki rekonstruują zniszczone komórki biorcy i zawsze okazywało się, że markery charakterystyczne dla każdej wszczepianej CBU, u pacjenta po transplantacji, wykrywane są tylko charakterystyczne dla jednej z nich. Mechanizmy leżące u podstaw tej obserwacji nie są znane. Badania własne z 2005 roku wykazały, że komórki CBU, która nie uległa wszczepieniu, spełniają rolę pomocniczą dla komórek wszczepiających się. Prawdopodobnie przeszczepienie CBU, w której są również i komórki mezenchymalne wspomagają wszczepienie komórek macierzystych jednej z podawanych CBU i to tej, która zawiera większą ilość limfocytów T CD3+. Zawarte w zamrożonych jednostkach CB komórki mezenchymalne mogą wykazywać działanie supresyjne na limfocyty T CD3+. Pobraną krew pępowinową, która

po poddaniu preparatyce jest następnie zamrażana, przechowuje się na całym już świecie w prywatnych lub państwowych tzw. bankach krwi pępowinowej. Jest to gotowy materiał transplantacyjny. Przeszczepienie odbywa się bezpośrednio po rozmrożeniu materiału przy tóżku chorego. Prywatne banki krwi pępowinowej gromadzą ją w celu ewentualnego wykorzystania w przypadku konieczności zastosowania leczenia autologicznymi komórkami macierzystymi krwiotwórczymi. Za pobranie i przechowywanie takiej jednostki płacą rodzice dziecka, zachowując w ten sposób pełne prawa do jej własności. Państwowe banki krwi pępowinowej zbierają, wyselekcjonowane pod względem liczby komórek krwiotwórczych i stanu infekcyjnego, jednostki krwi pępowinowej do wykorzystania w allogenicznym transplantacjach szpiku. Z reguły, choć nie wyłącznie, państwowe banki tworzą swoje bazy danych o zgromadzonych jednostkach wspólnie z rejestrami niespokrewnionych dawców szpiku. Swoje bazy danych o zgromadzonych jednostkach tworzą na ogół wspólnie z rejestrami niespokrewnionych dawców szpiku. Dane zgromadzone są w centralnej bazie BMDW. Obecne standardy działania banków krwi pępowinowej zostały opracowane przez NetCord, organizację zrzeszającą banki z USA, Europy, Japonii i Australii, która we współpracy z FACT (*Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy*) opracowuje normy w celu stworzenia spójnego systemu akredytacji na całym świecie.

Wszystkie inicjatywy, wynikające z wdrażania nowego systemu organizacyjnego, łączącego kooperujące i uzupełniające się w swojej działalności ośrodki mają w założeniu zwiększać liczbę wykonywanych w naszym kraju transplantacji.

Poszukiwanie i dobór dawcy komórek krwiotwórczych do zabiegu allotransplantacji

**MGR INŻ. PATRYCJA
RYBARCZYK**

PRACOWNIA IMMUNOGENETYKI
KLINIKA HEMATOLOGII,
ONKOLOGII I CHORÓB WEW-
NĘTRZNYCH SP CSK WUM

Allogeniczne przeszczepienie komórek krwiotwórczych (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*, allo-HSCT) jest obecnie uznana metodą leczenia nowotworów, zwłaszcza chorób rozrostowych układu krwiotwórczego, a także niektórych wrodzonych i nabytych chorób nierozrostowych. Kwalifikację pacjenta do zabiegu allotransplantacji przeprowadza ośrodek transplantacyjny, uwzględniając wskazania do allo-HSCT według EBMT (*The European Group for Blood and Marrow Transplantation*). Kluczowe jest, aby przeszczepienie allogenicznych komórek krwiotwórczych było elementem planowanego leczenia.

Najistotniejszym czynnikiem, decydującym o powodzeniu transplantacji, jest wybór najlepszego możliwego dawcy komórek hematopoetycznych. Nadrzędnym kryterium wyboru dawcy komórek krwiotwórczych jest zgodność w układzie HLA (*human leukocyte antigen*) warunkująca przyjęcie i prawidłowe funkcjonowanie przeszczepu. Im wyższy stopień zgodności w HLA, tym mniejsze prawdopodobieństwo rozwoju choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (*graft versus host disease* – GVHD).

HLA, czyli układ ludzkich antygenów leukocytarnych, stanowi główny kompleks zgodności tkankowej człowieka (*major histocompatibility complex*, MHC). Jest zlokalizowany na krótszym ramieniu chromosomu 6 (6p21.1-21.3) i obejmuje grupę ściśle sprzężonych genów, co daje sekwencje ponad 3,5 miliona par zasad. Charakterystyczna dla struktury genetycznej HLA jest możliwość występowania wielu wersji genowych tego samego locus, czyli alleli różniących się sekwencją nukleotydową. Duża różnorodność alleliczna w obrębie genów sprawia, że HLA jest dziś uważany za najbardziej polimorficzny układ genetyczny. Wybitny polimorfizm genów HLA implikuje podobny stopień zróżnicowania białek kodowanych w MHC. Układ HLA stanowi zatem kompleks białek, które poprzez prezentację limfocytom T własnych białek i peptydów pochodzenia endogen-

nego i egzogenego, inicjują tolerancję własnych tkanek oraz adaptacyjną odpowiedź odpornościową przeciwko obcym antygenom. Ponadto, ze względu na fakt, że antygeny HLA klasy I są naturalnymi ligandami dla receptorów KIR (*killer immunoglobulin-like receptor*), występującymi na naturalnych komórkach cytotoksycznych (*natural killers*, NK), istotną funkcją HLA jest udział w hamowaniu naturalnej cytotoksyczności zależnej od NK.

Uwzględniając różnice w strukturze biologicznej i chemicznej, odmienny metabolizm i funkcje biologiczne cząsteczek HLA, produkty genów MHC podzielono na cząsteczki klasy I, II i III, kodowane przez region MHC. Do regionu HLA klasy I należą m.in., istotne z punktu widzenia transplantologii, geny klasyczne HLA – A, B, C – wykazujące ekspresję na prawie wszystkich jądrzastych komórkach organizmu. Region HLA klasy II uporządkowany w trzech podregionach HLA – DR, DQ, DP – charakteryzuje się ekspresją ograniczoną do komórek prezentujących antygen (*antigen presenting cell*, APC), do których należą limfocyty B, makrofagi, monocyty, komórki dendrytyczne oraz komórki nabłonka kory grasicy. Z kolei region klasy III, leżący pomiędzy regionami I i II, obejmuje wiele genów kodujących, m.in.: składowe C2, C4 dopełniacza, geny cytochromu, geny czynnika martwicy nowotworu TNF (*tumor necrosis factor*) czy geny białek szoku termicznego Hsp70 (*heat shock protein*), których produkty pełnią różnorodne funkcje odpornościowe, niezwiązane z prezentacją antygenów.

Najważniejszym kryterium wyboru loci HLA, objętych doбором zgodnego dawcy komórek krwiotwórczych, jest ich wpływ na przeżycie chorego i przeszczepu, warunkowany przez stopień polimorficzności genów HLA. W związku z tym, zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Immunogenetycznego (PTI), na wzór EFI (*European Federation of Immunogenetics*), w ramach doboru dawcy przeszczepu wykonuje się typowanie HLA w zakresie pięciu loci: A, B, C, DRB1 oraz DQB1. Wiarygodne typowa-

nie tkankowe stanowi zasadnicze uwarunkowanie prawidłowego doboru.

Za dawcę klasycznego uznaje się zgodnego w HLA brata lub siostrę chorego. Osobliwym przypadkiem jest tutaj przeszczep syngeniczny, dostępny wyłącznie dla bliźniąt jednojajowych. Alternatywę stanowią zgodni bądź częściowo niezgodni: inni dawcy rodzeni, dawcy niespokrewnieni i krew pępowinowa.

Pierwszym krokiem po zakwalifikowaniu pacjenta do allotransplantacji komórek hematopoetycznych jest wykonanie wstępnego typowania HLA, które obejmuje – zgodnie z wymaganiami PTI za EFI – obowiązkowo typowanie HLA loci A, B i DRB1 metodą genetyczną na poziomie niskiej rozdzielczości u chorego, rodzeństwa i rodziców. Akceptowane jest również wykonanie badania HLA klasy I, tj. loci A i B, opcjonalnie C, metodą serologiczną. Prawidłowo wykonane, wstępne typowanie HLA uwzględnia segregację haplotypów w rodzinie. Potwierdzeniem jego poprawności jest wykazanie obecności czterech haplotypów. W protokole wyniku zalecany jest komentarz wskazujący zgodnego dawcę rodzinnego lub stwierdzający jego brak. Gdy pierwotne badanie wykaże obecność zgodnego rodzeństwa, wymagane jest typowanie potwierdzające HLA u zgodnej pary biorca-dawca z nowo pobranych próbek krwi. Jego celem jest potwierdzenie pierwszego wyniku, wykluczenie błędów laboratoryjnych i administracyjnych oraz rozszerzenie badań o genotypowanie loci C i DQB1 na poziomie niskiej rozdzielczości. Jeżeli pacjent posiada więcej niż jednego dawcę rodzinnego, decyzję o wyborze jednego z nich podejmuje ośrodek transplantacyjny, uwzględniając wiele różnych aspektów, spośród których za najważniejsze uznaje się: wiek, płeć, grupa krwi, status serologiczny CMV, przebyte ciężkie, transfuzje krwi oraz ogólny stan zdrowia.

Dziedziczenie haplotypów HLA w rodzinie przebiega z reguły zgodnie z pierwszym

prawem Mendla. W związku z powyższym, istnieje 25-procentowe prawdopodobieństwo na zgodność w zakresie HLA pomiędzy dwojgiem rodzeństwa tej samej pary rodzicielskiej. Szansa znalezienia zgodnego brata lub siostry rośnie wprost proporcjonalnie do liczebności rodzeństwa pacjenta. Wyłonienie zgodnego dawcy rodzinnego zasadniczo utrudnia stwierdzenie w badaniu rodzinnym odstępstw od mendlowskiego modelu dziedziczenia HLA. Najczęściej wykrywanym wyjątkiem od klasycznego przekazywania haplotypów HLA jest zjawisko *crossing-over*, czyli wymiana fragmentów chromosomów homologicznych przy podziałach meiotycznych komórki zarodkowej. W przypadku jego wystąpienia segregacja haplotypów w rodzinie wykaże obecność nowego, piątego haplotypu HLA. Stwierdzenie u pacjenta neohaplotypu uniemożliwia znalezienie w pełni zgodnego dawcy rodzinnego.

Prawdopodobieństwo znalezienia zgodnego dawcy wśród pozostałych członków rodziny jest znacznie mniejsze niż w przypadku rodzeństwa. Szacuje się, że istnieje około 2-3-procentowa szansa na zgodność w zakresie HLA pomiędzy chorym a jednym z jego rodziców i – analogicznie – między chorym a jego dzieckiem. Oba haplotypy HLA są zgodne, przy czym jeden jest wspólny, co wynika z prawa czystości gamet Mendla, a drugi – identyczny incydentalnie. Pewien rodzaj dawców alternatywnych stanowią dawcy haploidentyczni, posiadający jeden haplotyp zgodny genetycznie, a drugi dobrany z jak największą liczbą zgodnych loci, czyli podobny fenotypowo. Poszukiwanie dawcy rodzinnego w dalszej rodzinie chorego jest zasadne, gdy wywiad rodzinny wskazuje na istnienie pokrewieństwa małżeństwa lub gdy typowanie tkankowe wykaże współistnienie jednego popularnego w populacji haplotypu HLA z rzadkim, szczególnym dla danej rodziny. W przypadku, gdy dawcą jest krewny pierwszego stopnia lub osoba z dalszej rodziny, obowiązuje typowanie potwierdzające HLA pięciu loci na poziomie wysokiej rozdzielczości. W praktyce, przydatność rodzica jako dawcy weryfikowana jest przy okazji wstępnego typowania HLA. Z kolei poszukiwanie dawcy w dalszej rodzinie chorego jest celowe przy braku klasycznego dawcy rodzinnego i dawcy niespokrewnionego.

Ze względu na haplotypowy schemat dziedziczenia HLA oraz niewielką zmienność polskich rodzin, dawcę rodzinnego udaje się wyłonić w przypadku mniej więcej jednej

trzeciej chorych. W przypadku pozostałych pacjentów wymagających przeszczepienia komórek hematopoetycznych, konieczne staje się znalezienie dawcy niespokrewnionego. Po przeprowadzeniu kwalifikacji pacjenta do zabiegu allotransplantacji i stwierdzeniu braku dawcy rodzinnego, ośrodek transplantacyjny wnioskuje do Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnego Do Spraw Transplantacji „Poltransplant” o wszczęcie poszukiwania niespokrewnionego dawcy komórek krwiotwórczych. „Poltransplant”, zgodnie z corocznie zawieraną umową na realizację tego świadczenia, zleca procedurę poszukiwania i doboru niespokrewnionego dawcy szpiku jednemu z ośrodków poszukujących. Ośrodki poszukujące mają obowiązek złożenia merytorycznego i finansowego sprawozdania z każdego pojedynczego zlecenia doborowego. Koszty związane z realizacją każdej procedury doborowej są refundowane przez „Poltransplant”. Istotne jest, by z uwagi na czas i szczególne wskazania uwarunkowane chorobą, procedura doborowa była prowadzona w porozumieniu z ośrodkiem transplantacyjnym pacjenta.

Priorytetowym obowiązkiem ośrodka poszukującego jest znalezienie możliwie najodpowiedniejszego, niespokrewnionego dawcy przeszczepu dla chorego wymagającego transplantacji komórek krwiotwórczych. Zasadą jest postępowanie zgodnie z algorytmem poszukiwania dawcy niespokrewnionego. Baza BMDW (*Bone Marrow Donors Worldwide*), czyli światowy rejestr dawców szpiku, dostarcza informacji o liczbie dawców w poszczególnych rejestrach polskich i zagranicznych. Na podstawie tego zbioru danych immunogenetycznych można ocenić szansę znalezienia zgodnego dawcy niespokrewnionego dla konkretnego pacjenta i oszacować przewidywany czas doboru. Zdobyte w ten sposób wiadomości umożliwiają szczegółowe przeszukanie konkretnych rejestrów polskich i zagranicznych, które dostarczają praktycznych informacji na temat dawców potencjalnie zgodnych z pacjentem, takich jak: niepowtarzalny numer nadany dawcy (który będzie identyfikować go przez całą procedurę doborową i ewentualnie na dalszym etapie pobrania komórek krwiotwórczych), płeć i wiek, opcjonalnie grupa krwi i status serologiczny CMV, oraz jego dane immunogenetyczne. Istotne jest jak najszybsze przeprowadzenie typowania HLA biorcy w zakresie pięciu wymaganych loci (A, B, C, DRB1, DQB1) na poziomie wysokiej rozdzielczości z nowo pobranej próbki krwi.

BIBLIOTEKA DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO



ETIOLOGIA, OBRAZ KLINICZNY I DIAGNOSTYKA OSTRYCH ZAKAŻEN I ZARAŻEN PRZEWODU POKARMOWEGO ORAZ ZATRUC POKARMOWYCH POD REDAKCJĄ MARKA JAGIELSKIEGO

Autorzy tej książki omawiają ostre zakażenia, zarażenia i zatrucia pokarmowe wywołane różnymi czynnikami etiologicznymi – bakteriami, wirusami, pasożytami. To pozycja dla diagnostów laboratoryjnych, specjalistów z zakresu mikrobiologii lekarskiej oraz dla wszystkich lekarzy i studentów uniwersytetów medycznych, którzy chcieliby poszerzyć swoją wiedzę z dziedziny ostrych zakażeń i zarażeń oraz zatruc pokarmowych i ich diagnostyki. Do książki dołączona jest płyta CD, zawierająca schematy biochemicznej identyfikacji pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, skrócony diagnostyczny schemat antygenowej budowy pałeczek *Salmonella* wg White'a-Kauffmanna-Le Minora oraz dokumentację fotograficzną dotyczącą wzrostu wybranych bakterii i testów różnicujących stosowanych w ich diagnostyce.
Cena: 42 zł

➔ Takie postępowanie znacznie ułatwia prowadzenie analiz i pozwala na szybki i celny wybór dawcy, co skraca czas oczekiwania na pozytywne efekty doboru. Opracowanie wyników typowania HLA pacjenta na poziomie wysokiej rozdzielczości jest kluczowe, zwłaszcza w przypadku występowania polimorfizmu allelicznego w jednym z loci HLA objętych doбором.

Decyzja o wyborze dawcy podejmowana jest po precyzyjnej analizie wszystkich dostępnych informacji na temat pacjenta i potencjalnych dawców, z uwzględnieniem wszelkich uwag i wniosków ośrodka transplantacyjnego. Za najkorzystniejszy uważa się przeszczep pochodzący od młodego dawcy płci męskiej. Zalecana jest zgodność pomiędzy biorcą i dawcą w zakresie: grup krwi w układzie ABO, statusu serologicznego CMV i pochodzenia etnicznego. Znacząca jest również różnica masy ciała dawcy i biorcy. Ostatecznym wynikiem doboru jest typowanie potwierdzające HLA biorcy i dawcy w zakresie pięciu wymaganych loci na poziomie wysokiej rozdzielczości z nowo pobranych próbek krwi. Jednocześnie rejestr zobowiązany jest do przeprowadzenia u dawcy szczegółowej ankiety zdrowotnej, badań obejmujących markery wirusologiczne (*Infectious Disease Markers*, DM), i oznaczenia grupy krwi. W ten sposób wyselekcjonowany dawca jest przedstawiany ośrodkowi transplantacyjnemu. Jeżeli ten go zaakceptuje, zostaje on zarezerwowany, a procedurę poszukiwania uznaje się za zakończoną. W gestii ośrodka transplantacyjnego chorego leży ustalenie terminu allo-HSCT oraz koordynacja dostarczenia preparatu komórek krwiotwórczych dawcy do zabiegu allotransplantacji. Brak akceptacji dawcy lub stwierdzenie niezgodności w zakresie HLA uprawnia ośrodek poszukujący do wyboru kolejnego dawcy.

Mimo prawie 19 milionów dawców zarejestrowanych w bazie BMDW, istnieje grupa chorych, dla których dobór dawcy niespokrewnionego w pełni zgodnego w zakresie pięciu loci HLA wciąż jest niemożliwy. W takiej sytuacji, jeśli zezwala na to protokół terapeutyczny, ośrodek transplantacyjny powinien rozważyć allo-HSCT od dawcy częściowo zgodnego. Zadaniem ośrodka poszukującego staje się wówczas wybór dawcy z taką niezgodnością, która nie zwiększy znacznie ryzyka GVHD czy odrzucenia przeszczepu.

Aby zminimalizować niekorzystne implikacje niezgodności HLA na wynik allo-HSCT, konieczna jest wieloaspektowa analiza sytuacji. Szkodliwość niezgodności w zakresie HLA może dotyczyć liczby i poziomu niezgodnego locus, liczby substytucji aminokwasów, lokalizacji każdej pojedynczej substytucji w cząsteczce HLA czy niezgodności ligandów KIR. Preferowana jest pojedyncza niezgodność alleliczna nad niezgodnością antygenową. Zaleca się unikanie niezgodności w części centralnej HLA obejmującej loci C, B i DRB1. Ponadto uważa się, że znaczące jest położenie substytucji aminokwasu w cząsteczce HLA. Za niesprzyjające uznawane są te substytucje, które zmieniają strukturę obszaru kontaktu z receptorem limfocytów T (*T-cell receptor*, TCR) i wpływają w ten sposób na zmianę spektrum peptydów prezentowanych przez MHC. Mniejsze znaczenie przypisuje się substytucjom w obszarze przybłonowym cząsteczki MHC. Sugeruje się, że wyjątkowo negatywny wpływ na rozwój GVHD i przeżycie pacjentów po allo-HSCT ma substytucja aminokwasu w pozycji 116 cząsteczki HLA klasy I, decydująca o głą-

czyną występowania silnej nierównowagi sprzężeń jest najprawdopodobniej selekcja uwarunkowana dostosowywaniem się układu odpornościowego do ewoluujących warunków środowiska mikrobiologicznego. W związku z tym stwierdza się istnienie haplotypów konserwatywnych, dziedziczonych z pokolenia na pokolenie. Konsekwencją nierównowagi sprzężeń przy doborze dawcy z niezgodnością może być generowanie dodatkowych niezgodności w obrębie problematycznego haplotypu HLA.

Wartą uwagi alternatywę transplantacyjną stanowi dobór krwi pępowinowej. Informacje na temat danych immunogenetycznych jednostek krwi pępowinowej, ilości i pochodzenia zmagazynowanych komórek są dostępne w bazie BMDW. Problem wynikający z małej objętości preparatu i niewielkiej liczby komórek hematopoetycznych zawartych w jednej jednostce koryguje się przeszczepieniem dwóch jednostek. Odtworzenie czynności krwiotwórczej szpiku u chorego odbywa się dzięki komórkom pochodzącym z jednej z nich. Uznaje się, że komórki krwiotwórcze po-

Wartą uwagi alternatywę transplantacyjną stanowi dobór krwi pępowinowej. Informacje na temat danych immunogenetycznych jednostek krwi pępowinowej, ilości i pochodzenia zmagazynowanych komórek są dostępne w bazie BMDW.

bokości kieszonki F i długości łańcucha bocznego aminokwasu kotwiczonego. Istnieje prawdopodobieństwo, że znamienna dla efektów allogenicznego przeszczepu może być również liczba substytucji aminokwasów w cząsteczce HLA. Jednakże w tej kwestii istnieją znaczne rozbieżności. Odrębne zagadnienie stanowi niezgodność ligandów KIR pary biorca-dawca. Istnieją doniesienia sugerujące korzystny wpływ niezgodności ligandów KIR na całkowite przeżycie (*overall survival*, OS) pacjentów po allo-HSCT oraz przeżycie wolne od choroby (*disease free survival*, DFS). Jednakże istnieją obserwacje kliniczne, które nie potwierdzają tych doniesień.

Prowadząc dobór dawcy z niezgodnością HLA, należy również pamiętać o szczególnym dla MHC zjawisku nierównowagi sprzężeń (ang. *linkage disequilibrium*), czyli częstszym lub rzadszym występowaniu alleli sąsiadujących loci w ramach wspólnego haplotypu niż to wynika z niezależnego dziedziczenia. Przy-

chodzące z drugiego preparatu wspomagają przyjęcie przeszczepu. Wyjątkowe korzyści wynikające z tego rodzaju przeszczepienia to natychmiastowa dostępność materiału przeszczepowego i akceptacja większej liczby niezgodności w HLA bez ujemnego wpływu na wynik allo-HSCT.

Sukces allogenicznego przeszczepienia komórek krwiotwórczych jest uwarunkowany doбором optymalnego dawcy przeszczepu. Dla zwiększenia precyzjności doboru pary biorca-dawca, zasadne wydaje się rozstrzygnięcie w najbliższej przyszłości kwestii rozszerzenia doboru o locus DPB1 oraz wdrożenia badań polimorfizmów genów spoza układu HLA, zwłaszcza genów KIR. Ponadto, dla bezpieczeństwa przeszczepów od dawców z niezgodnością w zakresie HLA istotne są zagadnienia wpływu liczby i lokalizacji substytucji aminokwasów w cząsteczce MHC, a także oszacowanie wpływu niezgodności ligandów KIR na efekty allotransplantacji.

Piśmiennictwo dostępne u autorki.

Zespół hemofagocytny – hemofagocytrana limfohistiocytoza (HLH)

– PATOGENEZA I ROZPOZNANIE METODAMI DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ

Hemofagocytrana limfohistiocytoza (HLH) to rzadko występujący, złożony zespół zaburzeń objawiający się nadmiernie rozwiniętym, niekontrolowanym stanem zapalnym, stanowiącym zagrożenie życia. Spotykane w piśmiennictwie synonimy HLH to: zespół aktywacji makrofagów i zespół hemofagocytny. Jego wystąpienie może być spowodowane defektem genetycznym (zespół wrodzony, pierwotny) bądź towarzyszyć zakażeniom, chorobie nowotworowej, chemioterapii (zespół wtórny, nabyty). HLH może pojawić się również u osób obciążonych wrodzonym niedoborem odporności (Tab. 1).

Zarówno objawy kliniczne, jak i podstawowe wyniki badań laboratoryjnych są mało charakterystyczne i przypominają sepsę. Dominujące są: długotrwała gorączka niereagująca na antybiotykoterapię, hepatosplenomegalia i cytopenia (Tab. 2).

Pierwsza, opublikowana przez Farguhar i wsp., informacja o objawach rozpoznawanych obecnie jako HLH pochodzi z 1952 r. Dotyczy dziecka z rodzinną formą choroby Abta-Letterera-Siwego, u którego zauważono nasilone zjawisko fagocytowania krwinek czerwonych i związane z tym znaczne podwyższenie liczby retikulocytów. Opisany zespół nazwano retikulocytozą hemofagocytną. Dwa następne doniesienia pochodzą z 1962 oraz 1963 roku i koncentrują się głównie na obecności zjawiska erytrofagocytosis.

Częstotliwość występowania tego zespołu jest stosunkowo niska, wynosi 0,12/100 000/rok. U 70-80 proc. chorych dzieci, objawy rozwijają się już w pierwszym roku życia. Znane są jednak przypadki wystąpienia pierwszych objawów u dzieci starszych, a nawet u ludzi dorosłych. Zmiany występujące w wyniku rozwoju tego zespołu stanowią zagrożenie życia. Mediana przeżycia od wystąpienia pierwszych objawów jeszcze do niedawna wynosiła dwa miesiące.

W przypadku wrodzonego zespołu HLH wywiad rodzinny jest często negatywny, ponieważ defekt genetyczny jest dziedzicznie recesywnie. Główną charakterystyczną

cechą tego zespołu są nacieki limfocytów T i histiocytów w wątrobie, śledzionie, węzłach chłonnych, szpiku kostnym oraz w centralnym układzie nerwowym. Badania cytologiczne nie wykazują cech transformacji nowotworowej. Fagocytoza może, ale nie musi być obecna we wszystkich tkankach. Jej obecność w wątrobie stwierdza się w 50 proc. badanych przypadków. Objawy kliniczne zespołu wrodzonego i nabytego są podobne (Tab. 1) i mało charakterystyczne, ponieważ występują również w przebiegu białaczek, chłoniaków, nowotworów litych, gośca, a także przy zakażeniach wirusowych (szczególnie EBV), bakteryjnych i pasożytniczych. Powoduje to często błędne rozpoznanie i wprowadzenie mało skutecznej terapii. Rozpoczęcie jej bez uwzględnienia prawdopodobieństwa rozwoju zespołu HLH u pacjenta, często kończy się jego zgonem.

Ukierunkowanie rozpoznania może w pewnym stopniu ułatwić wyniki badań laboratoryjnych rutynowo wykonywanych we wszystkich laboratoriach diagnostycznych. U pacjentów z zespołem HLH występują zmiany wielu parametrów wyników laboratoryjnych. Dotyczą nie tylko wyników badań krwi i układu krwiotwórczego, lecz także układu krzepnięcia oraz tych z zakresu chemii klinicznej. Największą wartość diagnostyczną mają jednak badania układu odpornościowego (Tab. 3).

Jednym z badań o znaczeniu diagnostycznym, stosunkowo prostym do wykonania, jest ocena stężenia w surowicy rozpuszczalnej formy CD25 – łańcucha alfa receptora interleukiny 2. CD25 jest markerem zwiększonej aktywacji limfocytów T. Jednym z markerów aktywacji makrofagów i monocytów jest marker CD163, swoisty receptor dla kompleksu hemoglobina-haptoglobina. Jest on uwalniany z błony komórkowej makrofagów stymulowanych wieloma mediatorami reakcji zapalnej. Przenosi kompleks hemoglobina-haptoglobina do wątroby. Stężenie sCD163, podobnie jak sCD25, można oznaczyć w surowicy metodą ELISA lub metodą cytometryczną. Do obu metod niezbędne są swoiste przeciwciała monoklonalne anti-CD163 i anti-CD25. Udo- wodniono, że wzrost stężenia sCD163 jest

**PROF. DR HAB. MARIA WĄSIK,
DR INŻ. KATARZYNA POPKO**
ZAKŁAD DIAGNOSTYKI
LABORATORYJNEJ I IMMUNO-
LOGII KLINICZNEJ WIEKU
ROZWOJOWEGO WUM

dobrym markerem świadczącym o aktywacji makrofagów. Badania przeprowadzone w grupie 18 pacjentów z zespołem hemofagocytnym wykazało, że stężenie sCD163 było u nich 10-krotnie, a w kilku przypadkach nawet 40-krotnie wyższe, niż u ludzi zdrowych. Było również wyższe niż u pacjentów z sepsą bez cech zespołu hemofagocytnego. Ponadto, w śledzionie i szpiku badanych osób stwierdzono intensywne nacieki makrofagów CD163+ z cechami hemofagocytosis. Stężenie sCD163 korelowało istotnie z innymi, wymienianymi jako charakterystyczne, markerami HLH, takimi jak wysokie stężenie ferrytyny i sCD25.

W jednej z ostatnich publikacji (z 2011 r.) dotyczących diagnostyki różnicowej zespołu HLH wykazano, że w stężeniach zarówno cytokin Th1, jak i Th2, w tym INF, TNF α , IL-6, IL-4, IL-2, IL-10, uzyskanych w grupie 1113 gorączkujących pacjentów (w tym 24 osób z zespołem HLH oraz 87 osób zdrowych) i poddanych analizie statystycznej testem porównującym krzywe ROC, największą przydatność ma oznaczenie INF, IL-10 i IL-6. Analiza ta wykazała, że wyniki stężeń INF γ > 100pg/ml, IL-10 > 60pg/ml przy stężeniu IL-6 > INF z 90-procentową czułością i 99,7-procentową swoistością pozwalają na rozpoznanie zespołu HLH.

Mechanizm rozwoju HLH wyjaśnia droga rozwoju odpowiedzi na antygeny. Odpowiedź rozpoczynają komórki mające zdolność fagocytowania i prezentowania antygeny (APC – *antygen presenting cells*). Po wewnątrzkomórkowym przekształceniu antygeny i wbudowaniu fragmentów (epitopów) do struktur własnych antygenów zgodności tkankowej (MHC klasy I i II) antygeny są pokazywane na zewnętrznej stronie błony komórkowej. W skojarzeniu z MHC są one rozpoznawane przez limfocyty T i NK.



TABELA 1. Choroby i czynniki, które mogą wywołać rozwój zespołu HLH

HLH pierwotny – wrodzony

zespół limfoproliferacyjny (XLP) sprzężony z chromosomem X
zespół Chediak-Higashi
zespół Griscelli'ego typ II
nietolerancja lizyny w białku
ostra złożona niedobór odporności
zespół Di George'a
zespół Omenna

HLH wtórny – nabyty

czynniki egzogenne: zakażenie wirusowe, toksyny bakteryjne
czynniki endogenne: produkty metabolizmu, związki uwolnione z uszkodzonych tkanek i komórek
choroba reumatyczna
zespół aktywacji makrofagów
choroby nowotworowe

TABELA 2. Objawy kliniczne HLH

gorączka niereagująca na antybiotykoterapię
splenomegalia lub hepatosplenomegalia
anoreksja i problemy hormonalne z dojrzewaniem
zmiany w węzłach chłonnych (limfadenopatia)
wybroczyny krwiste na skórze
zmiany w centralnym układzie nerwowym

W wyniku rozpoznania obcego antygeny, limfocyty rozpoczynają syntezę cytokin, zarówno prozapalnych, jak i supresyjnych. Jednocześnie limfocyty T po kontakcie z antygenem wykształcają swoje dla niego receptory błonowe oraz wewnątrzcytoplazmatyczne ziarnistości zawierające enzymy lityczne. Limfocyt przekształca się w cytotoksyczny limfocyt T (CTL). Limfocyty NK są zdolne do cytolyzy bez konieczności wstępnego rozpoznawania antygeny, ponieważ mają gotowe, odpowiednie receptory błonowe i ziarnistości z enzymami cytolytycznymi. Obie populacje komórek niszczą antygeny.

Syntetyzowane cytokiny angażują wciąż nowe APC i limfocyty efektorowe, aż stężenie cząsteczek antygeny, ulegnie obniżeniu i będzie stopniowo zanikać. Równolegle do ubytku antygeny reakcja aktywacji odpowiedni immunologicznej powinna ulegać wygaszaniu. Objawy zespołu HLH wywołuje źle kontrolowana przez układ odpornościowy aktywacja makrofagów. Za brak kontroli odpowiadają cytotoksyczne limfocyty NK i CTL, które wykazują silnie obniżoną aktywność bójczą lub jej całkowity brak.

Zespół HLH rozwija się w wyniku mutacji określonych genów regulujących tworzenie prawidłowych cytotoksycznych ziarnistości lub zaburzających wewnątrzkomórkowy szlak prowadzący te ziarnistości przez błony

cytoplazmatyczne do wewnętrznej strony błony komórkowej. Muszą się tam zakotwić, by mogły przekazać swoją zawartość (perforyny i granzymy) przez synapsę utworzoną pomiędzy komórką efektorową a komórką antygeny. CTL i NK mogą prawidłowo odbierać sygnał o antygenie i syntetyzować cytokiny, ale w wyniku mutacji nie mają mocy bójczej z powodu braku ziarnistości, perforyn lub białek umożliwiających zakotwienie w błonie (Ryc. 1).

Brak możliwości eliminowania antygenów, przy zachowaniu aktywności do syntezy cytokin prozapalnych, prowadzi do długotrwałej aktywacji komórek żernych zdolnych do syntezy cytokin aktywujących układ odpornościowy. W konsekwencji rozwija się zespół HLH z całą gamą zmian charakterystycznych dla reakcji zapalnej. Zdolność do efektu cytotoksycznego przeciwko komórce docelowej można ocenić *in vitro* w odpowiednich testach.

Najłatwiej ocenić można cytotoksyczny efekt limfocytów NK, ponieważ komórki te nie wymagają wcześniejszego kontaktu z antygenem. Efekt zależny od przeciwciał (ADCC – *antibody dependent cellular cytotoxicity*) wymaga obecności swoistego przeciwciała przeciwko komórce docelowej, a swoisty efekt cytotoksyczny (CTL) – kilkudniowej hodowli limfocytów T z antygenem, przeciwko któremu chcemy zyskać uczulone limfocyty CTL.

Zdolność bójczą komórek NK można oszacować *in vitro* przy zastosowaniu komórek linii ludzkiej erytroleukii K562 jako docelowych. Pierwszą wprowadzoną metodą oznaczenia aktywności limfocytów NK była metoda z użyciem izotopu Na²²Cr⁵¹, który nieodwracalnie wiąże się z białkami cytoplazmy komórek K562. Jeśli do zawiesiny wyznakowanych izotopem komórek K562 zostaną dodane limfocyty NK, to po kilkugodzinnej inkubacji w 37°C znaczna liczba K562 będzie martwa. Aktywność bójczą NK określa radioaktywność supernatantu z nad reagujących komórek. Poprzez odpowiednie kontrole można ten efekt ocenić ilościowo i wyliczyć, ile komórek K562 zabiła jedna komórka NK. Metoda ta jest znana już od lat 60. ubiegłego wieku, i do dziś jest stosowana przez wiele laboratoriów. Uznaje się ją za metodę referencyjną. Jej mankamentem jest konieczność zastosowania związku radioaktywnego, co wymusza zapewnienie odpowiednich warunków pracy dla diagnostów laboratoryjnych, pomimo że stosowana radioaktywność Na²²Cr⁵¹ jest bardzo niska. W ostatnich latach opracowano metody, dzięki którym izotop można zastąpić inny-

TABELA 3. Zmiany w wynikach badań laboratoryjnych obserwowane przy zespole HLH

krew obwodowa i szpik

cechy anemii hemoglobina < 90 g/l
cytopenia 2-3 linii komórek we krwi obwodowej
liczba płytek < 100x10⁹/l
liczba granulocytów < 1x10⁹/l
prawidłowe dojrzewanie komórek w szpiku
podwyższona cytoza w szpiku
nacieki makrofagów i histiocytów w szpiku
hemofagocytoza
podwyższona erytropoeza przy cechach anemii
dysplastyczne prekursor erytrocytów

układ krzepnięcia

hypofibrynogenemia 1,5 g/l
przedłużony PT i PTT

chemia kliniczna

hyperferritynemia 500 ug/l
hypertrójglicerydemia na czczo > 265 mg/dl
podwyższona bilirubina, głównie sprzężona
wysokie stężenie dehydrogenazy kwasu mlekowego
podwyższone enzymy wątrobowe SGOT i SGPT

układ odpornościowy

wysokie stężenie prozapalnych cytokin IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, INFγ, TNFα, MIPα
prawidłowe stężenie IL-1β
wysokie stężenie receptora IL-2 (sCD25) ≥ 2400 U/ml
wysokie stężenie sCD95L
wysokie stężenie β-2-mikroglobuliny
bardzo niska aktywność bójczą NK, CTL i ADCC lub jej brak
wysokie stężenie sCD163

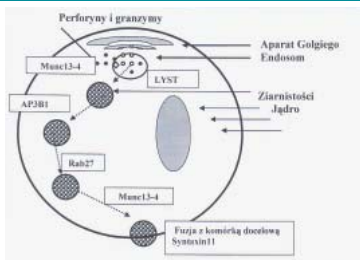
mi związkami, np. barwnymi, wiążącymi się z białkami cytoplazmy i odpowiednim odczytem uwolnionego barwnika. Wprowadzane są również cytometryczne metody oceny liczby martwych komórek K562 po inkubacji z zawiesiną limfocytów NK. Przykład cytometrycznej oceny efektu cytotoksycznego NK pochodzących od osoby zdrowej i z zespołem HLH przedstawia ryc. 2. Metoda cytometryczna pozwala również na sprawdzenie ilości uwalnianych z NK perforyn (Ryc. 3). Dzięki niej można również śledzić pojawianie się na zewnętrznej błonie NK ekspresji antygeny 107. Marker ten pojawia się dopiero, gdy utworzona jest synapsa pomiędzy komórką NK a docelową komórką K562 (Ryc. 4).

Wszystkie opisane metody pozwalają na ocenę zdolności komórek cytotoksycznych do niszczenia komórek antygeny wywołującego stan zapalny. Jak widać na przedstawionych ryc. 2 i 3, u pacjenta z HLH, efekt cytotoksyczny NK był śladowy, a ilość uwolnionych perforyn – istotnie obniżona (poni-

TABELA 4. Zespół hemofagocytny i towarzyszące mu rozpoznane mutacje

Zespół HLH	Gen (chromosom)	Białko	Czynność regulowana przez gen
wrodzony	PRF1 10 (q21-22)	perforyna	cytoliza komórki docelowej
wrodzony	UNC13D 17(q25)	munc13-4	wewnątrzkomórkowa organizacja ziarnistości
wrodzony	STX11 6(q24)	syntaksin 11	fuzja błonowa
zespół Griscelli'ego typu II	RAB27A 15(q15-21.1)	RAB27A	kotwiczenie błonowe
zespół Chediak-Higashi	LYST 1 (q42.1-42.2)	regulatorowe lyst	przemieszczanie do lisosomu
zespół limfoproliferacyjny sprzężony z X	SH2D1A	SLAM białko sygnałowe aktywacji limfocytów	przekazanie sygnału w NK i CTL do przemieszczenia ziarnistości

RYCINA 1. Schemat regulacji tworzenia ziarnistości z perforynami i granzymami z zaznaczeniem istotnych miejsc dla białek, których mutacja genów powoduje syntezę niesprawnego czynnościowo białka. Konsekwencją tych defektów genetycznych jest rozwój zespołu HLH. Schemat (wg Tang Y-M i wsp. The Scientific World Journal 2011, 11, 697-708) zmodyfikowany.



żę 50 proc. w stosunku do badanej osoby zdrowej). Wyniki testów cytotoksycznych udowodniły, że u podłoża rozwoju zespołu HLH leży defekt aktywności cytotoksycznej NK i CTL.

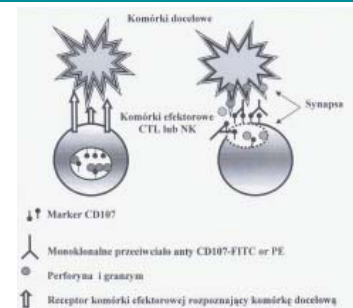
Mutację genu regulującego syntezę perforyn opisano w 1999 r. jako pierwszą znaną przyczynę rozwoju zespołu HLH. Występuje ona u 5-50 proc. pacjentów z HLH. Obecnie, jak podaje Tang i wsp., rozpoznano ponad 70 różnych recesywnych mutacji wywołujących niezdolność limfocytów do wywierania efektu cytotoksycznego. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa w tab. 4. zamieszczono niektóre mutacje genów, rozpoznane u chorych z zespołem HLH. W artykule tym nie sposób jednak

opisać szczegółowo wszystkich genów odpowiedzialnych za efektywny, prawidłowo przebiegający proces cytotoksyczny.

Odkryty w ostatnich latach mechanizm rozwoju zespołu HLH wyjaśnia, dlaczego u chorych występują tak szeroki zakres objawów i zmiany wielu parametrów badań laboratoryjnych. U ich podłoża leży zakłócona komunikacja pomiędzy limfocytami i makrofagami, która nastąpiła w wyniku mutacji genów kontrolujących białka „porozumienia”. Odkrycie tych mechanizmów pozwoliło na wyjaśnienie wszystkich objawów towarzyszących zespołowi HLH, do niedawna zupełnie niezrozumiałych. Jakikolwiek czynnik wywołujący reakcję zapalną aktywuje makrofagi, które nieselektywnie fagocytyują również erytrocyty i ich prekursorzy, co wywołuje zaburzenia w układzie krwiotwórczym i objawy anemii we krwi obwodowej. Jest to również przyczyną zwiększonego stężenia sCD163, ponieważ w wyniku erytrofagocytozy wzrasta stężenie uwolnionej hemoglobiny. Defektywne geny regulujące dojrzewanie 50 proc. cytotoksycznych ziarnistości nie mają wpływu na zahamowanie zdolności limfocytów T, makrofagów i NK oraz syntezy cytokin prozapalnych. Niezakłócona „burza cytokinowa” powoduje długotrwałe stany gorączkowe. Z kolei wysokie stężenie TNF α – obniżenie czynności genu syntezy lipazy, a następnie wzrost stężenia trójglicerydów. Hyperfibrinogemia jest wynikiem zwiększonej ekspresji aktywatora plazminogenu w aktywowanych makrofagach i plazminy we krwi. Aktywowane makrofagi zwiększają również syntezę ferrytyny. Wzrost stężenia sCD25 i β -2-mikroglobuliny jest dowodem na wzmożone procesy błonowe aktywowanych limfocytów T.

Podsumowując, diagnostykę zespołu HLH można uznać za wyjątkowo trudną, ale i ciekawą z punktu widzenia naukowego. Wymaga ścisłej kooperacji diagnostów wyspecjalizowanych w różnych dziedzinach medycyny laboratoryjnej. Prawidłowe rozpoznanie będzie możliwe tylko wtedy, gdy będziemy dysponować zarówno wynikami badań chemii klinicznej, układu krwiotwórczego, jak i układu odpornościowego, a także zidentyfikujemy – technikami molekularnymi – typ mutacji uniemożliwiający prawidłową kontrolę odpowiedzi zapalnej. Sensowne wydaje się utworzenie w Polsce jednego ośrodka prowadzącego pełną diagnostykę lub koordynującego badania wykonywane przez 2-3 laboratoria, które posiadają uprawnienia do wykonywania określonych specjalistycznych badań. Nie wszystkie laboratoria diagnostyczne są bowiem w stanie wykonać stu procentowy zakres badań.

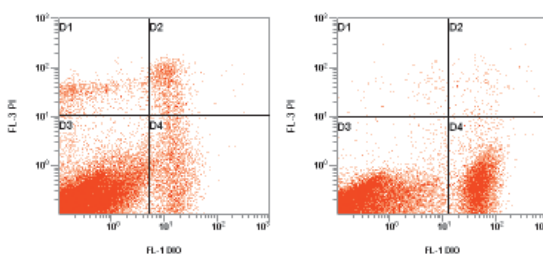
RYCINA 4. Stymulacja receptora komórki efektorowej powoduje zakotwiczenie ziarnistości w błonie komórkowej i utworzenie synapsy immunologicznej, przez którą zawartość ziarnistości (perforyny i granzymy) jest przekazywana do komórki docelowej. Marker CD107 znajdujący się po wewnętrznej stronie otoczki białkowej ziaren jest uwalniany na zewnątrz komórki. Modifikacja własna (wg E. A. Mittendorf i wsp. Breast Cancer Research and Treatment 2005, 92, 85-93).



RYCINA 2. Cytogramy testu cytotoksycznego oceniającego aktywność bójczą limfocytów NK u osoby zdrowej [A] i pacjenta z HLH [B] (w obszarach D2 martwe komórki K562). Cytogramy ze zbiorów dr n. med. K. Popko.

Cytogram A

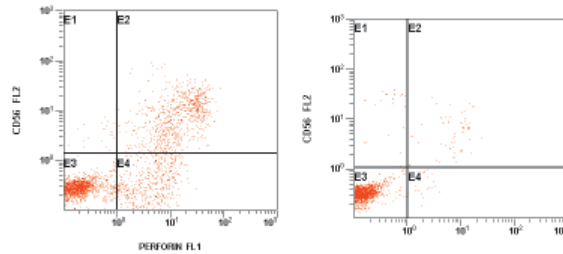
Cytogram B



RYCINA 3. Cytogramy odsetka limfocytów NK u osób zdrowych [A] i pacjenta z HLH (w obszarach E2 limfocyty NK z ekspresją perforyny). Cytogramy ze zbiorów dr n. med. K. Popko.

Cytogram A

Cytogram B



Bankowanie materiału komórkowego wykorzystywanego do przeszczepów szpiku

Banki materiału komórkowego to odrębne instytucje albo ich wydzielone jednostki, zajmujące się pozyskiwaniem, testowaniem, preparowaniem, przechowywaniem i udostępnianiem materiału komórkowego wykorzystywanego do celów leczniczych, tj. do przeszczepień autologicznych oraz allogenicznych od dawców spokrewnionych i niespokrewnionych.

Wykonywanie powyższych czynności regulują dyrektywy Unii Europejskiej (Dz. Urz. WE L 102 z 7.04.2004, str. 48, Dz. Urz. UE polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 8, str. 291, Dz. Urz. UE L 38 z 9.02.2006, str. 40, Dz. Urz. UE L 294 z 25.10.2006, str. 32) oraz krajowa ustawa o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów (Dz. U. Nr 169, poz. 1411, Dz. U. z 2009 r., Nr 141, poz. 1149) wraz z aktami wykonawczymi.

Do realizacji wyżej wymienionych celów utworzono banki komórek, które muszą spełniać wymogi określone przez akty prawne i podlegać nadzorowi i kontroli uprawnionej instytucji. W Polsce jest nią Krajowe Centrum Bankowania Tkanek i Komórek (KCBTiK) (Dz. Urz. 06.01.02). Do jego zadań należy m.in. przeprowadzanie okresowych audytów banków tkanek. Mają one na celu ocenę kwalifikacji osób w nich zatrudnionych, stosowanych procedur, sposobu prowadzenia obowiązującej dokumentacji oraz stanu pomieszczeń, aparatury i sprzętu. Za pośrednictwem KCBTiK, po sprawdzeniu i weryfikacji przedłożonej dokumentacji oraz ocenie sformułowanej na podstawie kontroli przeprowadzonej w banku, uzyskiwane jest pozwolenie ministra właściwego do spraw zdrowia na wykonywanie czynności polegających na gromadzeniu, przetwarzaniu, sterylizacji, przechowywaniu i dystrybucji komórek przeznaczonych do przeszczepienia (Dz. U. 06.237.1722). Pozwolenie jest ważne przez pięć lat, a niespełnianie wymogów stanowi jedną z przesłanek do jego cofnięcia. W zakresie czynności dotyczących przeszczepiania szpiku pozwolenie posiadają następujące banki (strona www.kcbtik.pl): Bank Komórek Krwiotwórczych i Krwi Pępowinowej Katedry i Kliniki Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (wydano 28.12.2007 r.), Zakład Hematologii Doświadczalnej i Bank Krwi Pępowinowej Centrum Onkologii Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie (wydano 28.12.2007 r.), Pracownia Transfuzjologii Laboratorium z Bankiem Komórek Krwiotwórczych Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie (wydano 23.04.2008 r.), Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie (wydano 14.03.2011 r.), Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. Andrzeja Mielęckiego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (wydano 31.10.2011 r.), Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa Bydgoszczy (wydano 31.10.2011 r.), Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Łodzi (wydano 03.11.2011 r.), Centrum Onkologii Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach (wydano 23.12.2009 r.), Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie (wydano 10.02.2012 r.).

Aby wystąpić o pozwolenie na rozpoczęcie działalności banku, należy przedstawić informacje o liczbie, kwalifikacjach (wykształcenie medyczne, biologiczne lub biotechnologiczne, uzyskane specjalizacje itp.) i zakresach obowiązków zatrudnionych osób, w tym tzw. „osoby odpowiedzialnej” (Dz. U. 07.81.553). Funkcja „osoby odpowiedzialnej” została wprowadzona przez zapisy dyrektywy unijnej. Jest to pracownik pełniący obowiązki odmienne od kierownika banku i odpowiedzialny za stałe przestrzeganie zgodności pracy banku z przepisami ustawy oraz z zasadami systemu zapewnienia jakości. Szczegółowe zadania „osoby odpowiedzialnej” są podane zarówno w dyrektywie, jak i w ustawie. Kolejnym niezbędnym dokumentem jest informacja o dysponowaniu odpowiednim wyposażeniem oraz pomieszczeniami. Spełnienie wymagań sanitarnych musi być potwierdzone przez właściwego inspektora sanitarnego (Dz. U. 06.218.1598). Należy także okre-



DR ELŻBIETA URBANOWSKA
BANK KOMÓREK KRWIOTWÓRCZYCH I KRWI PĘPOWINOWEJ
KATEDRY I KLINIKI HEMATOLOGII, ONKOLOGII I CHOROBY WEWNĘTRZNYCH WUM

ślić zakres działalności banku, a także czynności, których nie będzie wykonywał we własnym zakresie i przedłożyć kopie umów na ich wykonanie przez jednostki zewnętrzne, których działalność wpłynie na jakość i bezpieczeństwo przetwarzanych komórek. Dotyczy to jednostek wykonujących badania laboratoryjne wymagane w odniesieniu do dawców – do poświadczonych kopii umów muszą być dołączone poświadczane kopie zaświadczeń o wpisie medycznych laboratoriów diagnostycznych do ewidencji laboratoriów prowadzonej przez Krajową Izbę Diagnostów Laboratoryjnych. Bank również jest zobowiązany do posiadania wpisu w ewidencji KIDL.

Projekt systemu zapewniania jakości musi się bezpośrednio odnosić do zakresu działalności banku i obejmować standardowe procedury operacyjne (SOP-y) dla wszystkich czynności z tego zakresu. Dodatkowo także wytyczne, instrukcje postępowania, formularze sprawozdawcze, karty dawców i biorców, informacje o odbiorcach, czyli miejscu przeznaczenia komórek (ośrodek transplantacyjny), oraz formularze do zgłaszania zdarzeń/reakcji niepożądanych (Dz. U. 08.190.1169). Każda istotna zmiana, zwłaszcza na stanowisku kierownika banku lub „osoby odpowiedzialnej”, musi być każdorazowo zgłaszana do Krajowego Centrum Bankowania Komórek i Tkanek. Tworzenie banku komórek jest więc bardzo poważnym przedsięwzięciem obciążonym wieloma wymogami formalnymi.

Proces opracowywania zaczyna się od dostarczenia odpowiednich komórek krwiotwórczych do banku. Powinny one być dostarczane w sposób zapewniający ich dalsze wykorzystanie, a więc z zachowaniem wymogów jednoznacznej identyfikacji oraz

jałowości. Bardzo ważne jest również zapewnienie odpowiedniej temperatury transportu. Jeśli trwa on od kilku do kilkunastu godzin, najlepsza jest temperatura około 4°C. Krótkotrwały transport (poniżej godziny) jest możliwy w temperaturze pokojowej, tj. około 20°C. Zarówno zamrożenie materiału komórkowego, jak i jego przegrzanie powoduje śmierć komórek, co uniemożliwia ich wykorzystanie do przeszczepienia.

Osoba przyjmująca w banku materiał transplantacyjny powinna założyć „metrykę materiału”, tj. nadać mu unikalny numer identyfikacyjny, który będzie mu towarzyszył podczas wykonywania wszystkich procedur w obrębie banku (Dz. U. Nr 75 poz. 486). Metryka powinna zawierać dane dawcy, a także informacje o pobraniu i warunkach transportu, które umożliwią identyfikację miejsca wystąpienia nieprawidłowości, stwierdzonej w trakcie analizy materiału (np. jego zakażenia). Następnie materiał poddawany jest preparatyce, stosownie do jego rodzaju. Obejmuje ona wykonanie odpowiednich badań diagnostycznych, ewentualną preparatykę *in vitro*, przygotowanie do zamrożenia, zamrożenie i dokonanie zapisu dotyczącego lokalizacji w banku (tj. np. numer zamrażarki lub zbiornika na ciekły azot, numer miejsca w zamrażarce/zbiorniku).

Krótkoterminowe przechowywanie (kilka-kilkanaście miesięcy) ludzkich komórek możliwe jest w zamrażarkach w temperaturze -80°C, natomiast dłuższe (kilka-kilkanaście lat) musi odbywać się w zbiornikach z ciekłym azotem. Urządzenia kriogeniczne muszą być wyposażone w system zabezpieczający przed skutkami braku dopływu prądu (posiadać tzw. *back-up*), a także w monitorujący system alarmowy połączony ze stanowiskiem z ciągłym dyżurem, aby w razie awarii natychmiast można było rozpocząć działania zabezpieczające przed skutkami podwyższenia temperatury przechowywanego materiału. Konieczne jest też posiadanie dodatkowych, pustych urządzeń, aby w razie awarii możliwe było przeniesienie do nich materiału na czas dokonywania wszelkich napraw. Rozmrożenie materiału jest równoznaczne ze spadkiem żywotności komórek i ich śmiercią. Największe niebezpieczeństwo pojawia się jednak wtedy, gdy rozmrożenie i ponowne zamrożenie nastąpią w sposób niezauważony. Wówczas materiał komórkowy wizualnie się nie zmienia, ale po przeszczepieniu nie podejmie czynności.

Typowy zestaw badań diagnostycznych, oceniających jakość materiału komór-

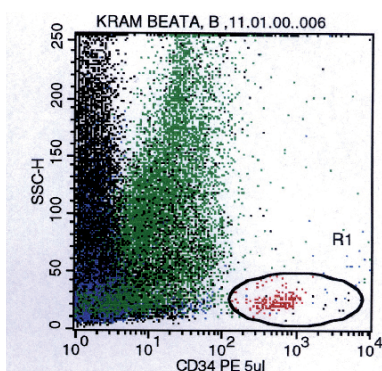
kowego, obejmuje określenie liczby komórek jądrowych na mililitr, ich żywotności, ewentualnie składu komórkowego, analizę mikrobiologiczną (wykonanie posiewu w kierunku bakterii tlenowych, beztlenowych i grzybów) i inne badania standardowe dla danego rodzaju materiału (np. odsetek komórek CD34+ w przypadku komórek pobranych metodą aferezy z krwi obwodowej, szpiku pobranego na sali operacyjnej lub komórek krwi pępowinowej).

Zamrożony lub niepodlegający zamrożeniu, ale poddany preparatyce materiał komórkowy jest udostępniany ośrodkom transplantacyjnym w kraju lub za granicą (np. krew pępowinowa) w miarę potrzeb.

Zbiorniki z ciekłym azotem do przechowywania materiału transplantacyjnego



Ocena odsetka komórek krwiotwórczych posiadających na powierzchni cząsteczkę CD34+ (czerwony obłoczek). Histogram badania komórki CD34+ dodatnich wykonanego metodą cytometrii przepływowej



Na wywóz/przywóz komórek z/na terytorium Polski wymagana jest zgoda dyrektora Centrum Organizacyjno-Koordinacyjnego ds. Transplantacji – „Poltransplant”, a wydawany materiał komórkowy podlega monitorowaniu w drodze pomiędzy dawcą a biorcą (Dz. U. Nr 75 poz. 485).

Bankowanie materiału komórkowego wymaga wykonywania wielu czynności, dlatego na każdym etapie procedury może dojść do wystąpienia błędów (np. niewła-

ściwa identyfikacja – błędne odczytanie numeru, zakażenie wirusowe, całkowita bądź częściowa utrata materiału, pomyłka w procedurze diagnostycznej). Stwarzają one zagrożenie dla życia biorcy przeszczepu, które może stanowić podstawę do skargi medycznej. W każdym takim przypadku personel banku musi dokonać analizy popełnionego błędu oraz przedstawić sposoby zapobiegania jego wystąpieniu w przyszłości. Konsekwencją błędu personelu medycznego banku opracowującego materiał komórkowy może być wystąpienie istotnej reakcji niepożądanego, która musi być zgłoszona dyrektorowi Krajowego Centrum Bankowania Tkanek i Komórek. Błędy na etapie pobierania komórek krwiotwórczych (ze szpiku, metodą aferezy z krwi obwodowej) muszą być zgłaszane Centrum Organizacyjno-Koordinacyjnemu ds. Transplantacji – „Poltransplant” (Dz. U. z dn. 6 grudnia 2009, Nr 213, poz. 1656).

Zakres zgłaszanych danych obejmuje: nazwę i dane identyfikacyjne podmiotu dokonującego powiadomienia (zgłoszenia), datę powiadomienia (zgłoszenia), dane biorcy lub dawcy, których dotyczy istotna niepożądana reakcja lub istotne zdarzenie niepożądane, datę i miejsce pobrania lub zastosowania materiału, niepowtarzalne oznakowanie dawcy, datę wystąpienia istotnej niepożądanego reakcji lub istotnego zdarzenia niepożądanego, rodzaj komórek lub tkanek, których dotyczy wystąpienie istotnej niepożądanego reakcji lub istotnego zdarzenia niepożądanego, rodzaj istotnej niepożądanego reakcji lub istotnego zdarzenia niepożądanego, przyczyny i analizę źródłową wystąpienia istotnej niepożądanego reakcji lub istotnego zdarzenia niepożądanego, podjęte działania naprawcze i zapobiegawcze oraz wyciągnięte z nich wnioski. Zgłoszenia dokonuje się na następujących formularzach sprawozdawczych: szybkie powiadamianie o podejrzeniach wystąpienia istotnych niepożądanych reakcji, wnioski z badania istotnych niepożądanych reakcji, szybkie powiadamianie o podejrzeniu wystąpienia istotnych zdarzeń niepożądanych, wnioski z badań istotnych zdarzeń niepożądanych, roczne powiadamianie o istotnych niepożądanych reakcjach, roczne powiadamianie o istotnych zdarzeniach niepożądanych.

Podsumowując, bankowanie materiału komórkowego – wykonywane przez specjalnie przygotowane placówki – podlega obecnie ścisłym zasadom kontroli jakości. Działania nadzorcze i kontrolne mają na celu zapewnienie biorcom możliwie najwyższego bezpieczeństwa.

Konflikt matczyno-płodowy

Rzadko rozpoznawany w Polsce konflikt matczyno-płodowy w zakresie antygenów płytek krwi prowadzący do alloimmunologicznej małopłytkowości płodów/norowodków.

Wprzeciwieństwie do konfliktów matczyno-płodowych w zakresie antygenów krwinek czerwonych, z których najczęstszy i najczęściej spotykany konflikt Rh rozpoznawany jest już od połowy ubiegłego wieku, konflikt w zakresie antygenów krwinek płytkowych zaczął być rozpoznawany 20 lat później. Wynika to w dużej mierze z faktu, że dopiero pod koniec lat 80. opracowano metody umożliwiające identyfikację swoistych antygenów płytkowych (HPA – ang. *human platelet antigens*) oraz wykrywanie przeciwciał do nich skierowanych. Następstwem konfliktu matczyno-płodowego w zakresie antygenów płytek krwi jest alloimmunologiczna małopłytkowość płodowo/norowodkowa (AIMP/N), której występowanie oceniane jest w 1 na 1000-2500 ciąż.

W około 85 proc. przypadków AIMP/N jest spowodowana immunizacją matki antygenem HPA-1a. Kobiety, które nie posiadają tego antygeny na płytkach krwi (około 2 proc.), a więc HPA-1a jest ujemne (HPA1b/b) mogą wytwarzać przeciwciała anty-HPA-1a, jeżeli płód odziedziczy antygen HPA-1a od ojca. Rzadziej, AIMP/N jest spowodowana przeciwciałami anty-HPA-5b (około 5 proc.), a sporadycznie przeciwciałami anty-HPA1b, -HPA3a, -HPA3b, -HPA5a, -HPA15a, -HPA15b czy przeciwciałami do innych unikalnych antygenów płytek krwi lub nawet tzw. „antygenów prywatnych”.

Skaza krwotoczna u noworodków występuje na ogół już w pierwszej dobie życia, najczęściej pod postacią skórnej lub śluzówkowej skazy krwotocznej. Najgroźniejszym powikłaniem jest krwawienie śródczaszkowe (10-25 proc.), które może prowadzić do śmierci płodu/norowodka. Leczenie AIMP/N musi więc przede wszystkim uwzględniać zapobieganie takim krwawieniom.

Rozpoznanie serologiczne AIMP/N stawia się na podstawie wykrycia w surowicy matki przeciwciał reagujących z płytkami ojca. Czasami przeciwciała zostają wykryte dopiero w następnej ciąży, dlatego ważne jest, by równolegle z badaniem przeciwciał, wykonywać badania antygenów HPA u matki i ojca (oraz jeżeli to możliwe u dziecka), tak aby przy stwierdzeniu niezgodności między matką i ojcem odpowiednio wcześniej zacząć monitorować następną ciążę.

Przeciwciała przeciwpłytkowe w surowicy matki wykrywane są na zasadzie testu antyglobulinowego. Początkowo wykrywano je tylko przy użyciu techniki immunofluorescencyjnej (PIFT – ang. *platelet immunofluorescence test*), a od 1987 r. głównie przy użyciu testu enzymatycznego z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych anty-GPIIb/IIIa, -Ib, -Ia/IIa (MAIPA

Obecnie można mówić o dwóch zasadniczych metodach leczenia AIMP/N, które mogą być stosowane oddzielnie bądź w połączeniu. Pierwsza polega na podawaniu dożylnie dużych dawek immunoglobuliny G (IVIG), druga na przetaczaniu płytek krwi.

– ang. *monoclonal antibody immobilized platelet antigens*). Test MAIPA stanowi obecnie tzw. „złoty standard” wykrywania przeciwciał przeciwpłytkowych. Antygeny płytek krwi u matki i ojca/dziecka określa się głównie na poziomie DNA, przy pomocy technik biologii molekularnej, co pozwala także na potwierdzenia swoistości wykrytych w surowicy matki przeciwciał przeciwpłytkowych.

Pierwszym etapem diagnostyki jest zawsze wykrycie lub wykluczenie konfliktu w układzie HPA-1, bo jak już wcześniej wspomniano jest on najczęstszą przyczyną AIMP/N. Przy braku niezgodności w zakresie tego układu antygenowego, należy oznaczyć antygeny z innych układów HPA. Oznaczenie swoistości przeciwciał jest nie-

zwykle istotne w przypadku konieczności leczenia płodu/norowodka przetaczaniem „dobrych” płytek krwi, tzn. takich, które nie zawierają antygeny, do którego są skierowane wykryte u matki przeciwciała przeciwpłytkowe. Do roku 1980, AIMP/N nie była diagnozowana w Polsce. Od tego czasu, kompleksowa diagnostyka AIMP/N jest prowadzona tylko w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Do chwili obecnej zdiagnozowaliśmy około 150 przypadków AIMP/N, głównie spo-

wodowanej przeciwciałami anty-HPA-1a. Na uwagę zasługuje unikalny przypadek AIMP/N spowodowanej przeciwciałami anty-HPA-1b.

Obecnie można mówić o dwóch zasadniczych metodach leczenia AIMP/N, które mogą być stosowane oddzielnie bądź w połączeniu. Pierwsza polega na podawaniu dużych dawek immunoglobuliny G dożylnie (IVIG), druga na przetaczaniu płytek krwi. Do przetoczeń dopłodowych lub u noworodka najlepiej stosować płytki pobrane od matki, napromienione i pozbawione osocza, w którym są przeciwciała przeciwpłytkowe. Od dawców można przetaczać jedynie płytki, które nie zawierają antygeny, do którego są skierowane przeciwciała wykryte w surowicy matki.

**PROF. DR HAB.
KRYSZYNA MAŚLANKA**
KIEROWNIK PRACOWNI
IMMUNOLOGII LEUKOCYTÓW
I PŁYTEK KRWI W ZAKŁADZIE
IMMUNOLOGII HEMATOLOGICZ-
NEJ I TRANSFUZJOLOGICZNEJ
INSTYTUTU HEMATOLOGII
I TRANSFUZJOLOGII
W WARSZAWIE

Postępem w tej dziedzinie jest posiadanie w niektórych RCKiK rejestru dawców z oznaczonymi antygenami HPA, co ułatwia szybkie i skuteczne leczenie AIMP/N przetaczaniami płytek krwi. Nieinwazyjnym dla płodu sposobem leczenia AIMP/N jest podawanie matce w czasie ciąży IVIG lub doustnych glikokortykosteroidów albo obu tych leków łącznie.

W Polsce, a także w innych krajach, AIMP/N jest niedodiagnozowana. Postępem w tym zakresie mogłoby być obowiązek powszechnego oznaczania u kobiet w ciąży antygenu HPA-1a, w celu selekcjonowania kobiet HPA-1a ujemnych, najczęściej narażonych na immunizację. Jest to tym bardziej wskazane, że AIMP/N występuje także u noworodków urodzonych z pierwszej ciąży. Oznaczanie antygenu HPA-1a można wykonać z tej samej próbki krwi, którą pobiera się do badania antygenu Rh D, zarówno metodami biologii molekularnej, jak i przy użyciu dostępnych w Polsce prostych testów enzymatycznych. U wszystkich kobiet HPA-1a ujemnych powinno się badać przeciwciała przeciwpłytkowe, a ich wykrycie jest wskazówką dla lekarza ginekologa/położnika, aby podjąć monitorowanie ciąży i ewentualne leczenie małopłytkowości u płodu/norodka oraz zaplanowanie porodu. W procedurze tej istotne jest ustalenie, czy płód ma antygen, do którego skierowane są przeciwciała wykryte u matki, które mogą pochodzić również z poprzedniej ciąży. Obecnie można to ustalić badając krew pochodzącą z kordocentezy metodami serologicznymi i molekularnymi lub z amniopunkcji metodami molekularnymi. Trwają prace nad nieinwazyjnymi metodami badania antygenów HPA, w znajdującym się w osoczu ciężarnej płodowym DNA. Metody takiej nieinwazyjnej diagnostyki opracowano i wdrożono w Instytucie Hematologii dla antygenów krwinek czerwonych (RhD, Rhc i RhE). Należy zaznaczyć, że monitorowanie i leczenie AIMP/N powinno być prowadzone przez ośrodek kliniczny mający odpowiednie doświadczenie.

Postęp w rozpoznawaniu AIMP/N będzie możliwy wtedy, jeżeli zostanie wprowadzony powszechny obowiązek oznaczania antygenu HPA-1a u kobiet ciężarnych oraz gdy zostaną wprowadzone modyfikacje testów służących do wykrywania i identyfikacji nowych przeciwciał przeciwpłytkowych, a co za tym idzie rzadkich swoistych antygenów z układu HPA.

Informator o uchwałach organów Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych

Informujemy, iż Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych na V posiedzeniu, w dniu 13 stycznia 2012 roku podjęła następujące uchwały:

1.

Uchwała Nr 42/III/2012 w sprawie przyjęcia planu dochodów i wydatków Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych na rok 2012.

2.

Uchwała Nr 43/III/2012 w sprawie sfinansowania prac Zespołu Ekspertów do opracowania opisu technologicznego badań laboratoryjnych wykonywanych w medycznym laboratorium diagnostycznym.

3.

Uchwała Nr 44/III/2012 w sprawie upoważnienia Prezesa Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych do podjęcia działań związanych z organizacją uroczystości 10-lecia istnienia samorządu zawodowego diagnostów laboratoryjnych i I Ogólnopolskiego Dnia Diagnosty oraz wydatkowania środków finansowych z przeznaczeniem na powyższy cel.

4.

Uchwała Nr 45/III/2012 w sprawie przyjęcia Regulaminu zakresu i zasad działania wizytatorów Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych.

5.

Uchwała Nr 46/III/2012 w sprawie przyjęcia planu wizytacji na rok 2012.

6.

Uchwała Nr 47/III/2012 w sprawie zmiany załącznika do uchwały Nr 27/III/2011 KRDL z dnia 9 września 2011 roku – Regulaminu przyznawania nagród i odznaczeń Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych oraz przyjęcia tekstu jednolitego.

7.

Uchwała Nr 48/III/2012 w sprawie wprowadzenia do § 9 oraz do § 12 Regulaminu działania Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych, stanowiącego załącznik nr 1 do Uchwały nr 1/2003 z dnia 13 stycznia 2003 roku, zmian dotyczących podejmowania uchwał przez Krajową Radę Diagnostów Laboratoryjnych oraz Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych przy wykorzystaniu środków bezpośredniego porozumiewania na odległość.

8.

Uchwała Nr 49/III/2012 w sprawie refundowania kosztów związanych z zadaniami członków organów Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych, wizytatorów Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych, a także innych osób wykonujących czynności zlecone przez organy Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych.

9.

Uchwała Nr 50/III/2012 w sprawie ustalenia zwrotu kosztów eksploatacji za użyczenie pod tytułem darmym miejsca noclegowego w budynku KIDL w Warszawie, przy ul. Konopackiej 4.

10.

Uchwała Nr 51/III/2012 w sprawie przyjęcia Regulaminu prowadzenia ewidencji laboratoriów.

11.

Uchwała Nr 52/III/2012 w sprawie zmiany załącznika do uchwały nr 77/III/2009 z dnia 27 maja 2009 roku – Porozumienie z zakładem pracy zatrudniającym diagnostę laboratoryjnego, który wykonując zadania ustalone ustawą o diagnostyce laboratoryjnej występuje do zakładu pracy o zwolnienie na ten czas od pracy i ustalenie zasad wynagradzania za ten czas oraz przyjęcia tekstu jednolitego Porozumienia.

12.

Uchwała Nr 53/III/2012 w sprawie zawieszenia obowiązku płatności składki członkowskiej na rzecz KIDL, zmniejszenia jej wysokości oraz umorzenia.

13.

Uchwała Nr 54/III/2012 w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych.

14.

Uchwała Nr 55/III/2012 w sprawie skreślenia z listy diagnostów laboratoryjnych.

Informujemy, iż Prezydium Krajowej Rady Diagnostów Laboratoryjnych na X posiedzeniu, w dniu 13 lutego 2012 roku podjęło następujące uchwały:

1.

Uchwała Nr 14-P/III/2012 w sprawie określenia charakteru i formy „Biuletynu Informacyjnego” oraz sposobu kolportażu.

2.

Uchwała Nr 15-P/III/2012 w sprawie stwierdzenia Prawa Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego i wpisu na listę diagnostów laboratoryjnych.

Pełne teksty uchwał znajdują się na stronie: www.kidl.org.pl w zakładce Akty prawne.

Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych informuje, iż przesyła diagnostom żądane przez nich uchwały w formie papierowej na wniosek złożony w formie pisemnej na adres: Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych, ul. Konopacka 4, 03-428 Warszawa lub na adres e-mail: biuro@kidl.org.pl.

Odmowa wykonania badania przez diagnostę laboratoryjnego

AGNIESZKA GÓRECKA
PRAWNIK KIDL

Diaagnosta laboratoryjny to zawód uprawniający do wykonywania czynności diagnostyki laboratoryjnej. Czynności te wskazane zostały w art. 2 ustawy z dnia 27 lipca 2001 roku o diagnostyce laboratoryjnej (Dz. U. nr 144, poz. 1529 z późn. zm.). Diagnosta laboratoryjny jest zatem zobowiązany do wykonywania czynności diagnostycznych, w tym do realizacji zlecenia badania diagnostycznego, a następnie wydania jego wyniku pacjentowi lub lekarzowi. Jest to powszechnie znana i przyjmowana zasada, która przerodziła się w powszechną praktykę i stanowi istotę wykonywania tego zawodu. Powstaje jednak pytanie: czy diagnosta laboratoryjny ma prawo do odmowy wykonania badania diagnostycznego, a jeżeli tak, to w jakich okolicznościach i na jakich warunkach?

Odmowa wykonania badania laboratoryjnego niewątpliwie powinna mieć miejsce tylko w wyjątkowych sytuacjach. Ustawodawca uregulował powyższą kwestię w:

- 1) ustawie z dnia 27 lipca 2001 roku o diagnostyce laboratoryjnej (Dz. U. Nr 144, poz. 1529 z późn. zm.), zwanej dalej „ustawą”,
- 2) rozporządzeniu ministra zdrowia z dnia 23 marca 2006 roku w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych (Dz. U. Nr 61, poz. 435 z późn. zm.), zwanym dalej rozporządzeniem.

Art. 28 ustawy uprawnia diagnostę laboratoryjnego do odmowy wykonania zlecenia lekarskiego, a w konsekwencji – badania diagnostycznego. Może on skorzystać z tego prawa wyłącznie ze względu na dobro pacjenta, czyli wówczas, gdy wykonanie zlecenia lekarskiego zagraża życiu i zdrowiu pacjenta. Odmowa wykonania zlecenia lekarskiego musi spełniać również wymogi formalne. Diagnosta uzasadnia ją na piśmie i niezwłocznie powiadamia bezpośredniego przełożonego, zazwyczaj kierownika laboratorium, w którym wykonuje czynności diagnostyki laboratoryjnej. Jeżeli

osobą, która odmawia wykonania zlecenia lekarskiego, jest kierownik laboratorium, o powyższym fakcie powiadamia on swojego bezpośredniego przełożonego. Decyduje o tym podległość służbowa, zgodna ze strukturą organizacyjną jednostki.

Określając przesłankę, którą kieruje się diagnosta, odmawiając wykonania badania laboratoryjnego, ustawodawca wskazał na „zagrożenie życia lub zdrowia pacjenta”. Jest to pojęcie szerokie i niejednoznaczne. Interpretację pozostawia się wyłącznie diagnoście, który samodzielnie podejmuje decyzję o odmowie realizacji zlecenia. Ocenia przy tym stan zdrowia pacjenta i badanie, które ma zostać wykonane, a także jego wpływ na pacjenta i ryzyko z tym związane. Wymaga to gruntownej wiedzy medycznej i diagnostycznej oraz pełnej informacji o stanie klinicznym pacjenta. Jeżeli – pomimo odmowy wykonania badania – lekarz ponowi zlecenie na piśmie, diagnosta ma obowiązek jego wykonania. To lekarz odpowiada bowiem za ciągłość procesu leczenia, którego częścią jest badanie diagnostyczne.

Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 23 marca 2006 roku w sprawie standardów jakości w medycznych laboratoriach diagnostycznych i mikrobiologicznych (Dz. U. Nr 61, poz. 435 z późn. zm.) w załącznikach Nr 1, 2, 4, i 5 stanowi, że: w przypadku stwierdzenia przez laboratorium niezgodności otrzymanego materiału do badań z wymaganiami dotyczącymi pobierania i transportu lub jakiegokolwiek innego rodzaju nieprawidłowości powodującej, że materiał nie może być wykorzystany do badania, pracownik zgłasza to kierownikowi laboratorium lub osobie przez niego upoważnionej, którzy w razie potwierdzenia niezgodności mogą zakwalifikować materiał jako niezdatny do badania lub odmówić wykonania badania. Odmowę wykonania badania odnotowuje się w dokumentacji i zawiadamia się o tym fakcie zleceniodawcę. Dalsze postępowanie z materiałem laboratorium uzgadnia ze zleceniodawcą. Jest to praktyczne wskazanie przez ustawodawcę konkretnej sytuacji, która może stanowić podstawę do odmowy wyko-

niania zlecenia lekarskiego dotyczącego badania diagnostycznego. Jest to sytuacja, gdy – zdaniem diagnosty – dostarczona próbka nie posiada żadnej wartości diagnostycznej i wykaże wynik nieodzwierciedlający rzeczywistego stanu zdrowia pacjenta, co może prowadzić do wypaczenia całego procesu diagnostycznego. Wskazuje to, jak ważna jest faza przedanalizyczna, poprzedzająca samo badanie, czyli przygotowanie pacjenta do badania, pobranie materiału i dostarczenie go do medycznego laboratorium diagnostycznego (transport). Zaniedbania na tym etapie stwarzają realną możliwość skażenia materiału biologicznego lub pozbawienia go naturalnych właściwości. Stanowi to podstawę do odmowy wykonania zlecenia lekarskiego na realizację badania laboratoryjnego. Ważne jest jednak to, że odmowa ta nie może doprowadzić pacjenta do stanu krytycznego. Z tego powodu diagnosta laboratoryjny, pomimo odmowy realizacji zlecenia, powinien dążyć do uzgodnienia dalszego postępowania ze zleceniodawcą, czyli lekarzem. Jest to szczególnie ważne w trybach ratunkowych. W tej sytuacji istnieje konieczność obserwacji przez laboratorium fazy przedanalizycznej w zakresie transportu próbki, sposobu przygotowania pacjenta i pobrania materiału oraz odnotowania wszelkich niezgodności w tym zakresie jako podstawy odmowy wykonania badania. Z tych względów jest to przestrzeń koniecznej bezpośredniej współpracy pomiędzy diagnostą laboratoryjnym a zleceniodawcą badania. Dlatego też outsourcing badań laboratoryjnych i wykonywanie ich poza jednostką zlecającą nie jest wskazane.

Reasumując, należy stwierdzić, że przepisy pozwalają na odmowę wykonania badania diagnostycznego. Jest to suwerenna, samodzielna decyzja diagnosty laboratoryjnego, podejmowana z uwzględnieniem konieczności zapewnienia wykonania badania diagnostycznego w sposób, który nie stwarza realnego, bezpośredniego niebezpieczeństwa dla życia i zdrowia pacjenta. Z uwagi na dobro pacjenta ważne jest jednak dalsze monitorowanie sytuacji i stała współpraca z osobą zlecającą w zakresie dalszego postępowania.

Biobanki są niezbędne do rozwoju nauk biomedycznych

Przygotowania do otwarcia Biobanku we Wrocławskim Centrum Badań EIT+ weszły w ostatnią fazę. Tego typu ośrodki bardzo ułatwiają instytutom naukowym działalność badawczą.

O charakterystyce i niektórych aspektach pracy biobanku opowiada dr Łukasz Kozera, kierownik projektu biobanku we Wrocławskim Centrum Badań EIT+

Czym właściwie jest biobank? Czy może Pan podać krótką definicję tej instytucji?

Właściwie to jest dość trudne pytanie, ponieważ definicji jest dużo i często są one różnie rozumiane. W moim pojęciu, biobank jest miejscem, w którym zarówno pacjenci szpitali cierpiący na konkretne jednostki chorobowe, jak i osoby zdrowe zamieszkujące na danym terenie, mogą oddać materiał biologiczny do badań naukowych. Najczęściej są to próbki krwi, z których następnie izoluje się DNA, RNA, surowicę i osocze czy też komórki jednojądrzaste. Wszystko po to, aby zgromadzić jak największą pulę materiału biologicznego, która w przyszłości będzie wykorzystana przez naukowców prowadzących badania nad nowymi biomarkerami rzadkich schorzeń bądź też chorób cywilizacyjnych. Im większa ilość zgromadzonego w biobanku materiału biologicznego, tym lepsza jakość prowadzonych badań naukowych.

Dlaczego biobanki są potrzebne?

W dzisiejszych czasach istnienie biobanków jest niezbędne do rozwoju nauk biomedycznych. Zrekrutowanie populacji kilkuset pacjentów cierpiących na tę samą chorobę zajmuje na ogół kilka lat. Gdy grupa badawcza startuje z nowym projektem, brakuje czasu i środków finansowych na rekrutację tak dużej liczby osób. Wtedy właśnie można zwrócić się do biobanku, który użyczy potrzebnego do badań materiału biologicznego.

Do kogo konkretnie skierowana jest oferta biobanków? Jakie instytucje będą korzystać z materiału biologicznego zgromadzonego w Biobanku w EIT+?

Przede wszystkim, jako Biobank EIT+ mamy na celu wejście do europejskiej organizacji biobanków BBMRI (*Biobanking and Biomo-*

lecular Resources Research Infrastructure – przyp. red.). Chcemy współpracować z innymi biobankami, uniwersytetami czy też instytutami naukowymi z całej Europy, które również uczestniczą w inicjatywie BBMRI. Otwieramy się również na współpracę z działami badawczymi firm farmaceutycznych i diagnostycznych. Posiadają one bardzo duże fundusze na prowadzenie badań naukowych, ale mają ograniczony dostęp do placówek klinicznych, a co za tym idzie – do materiału biologicznego. Biobanki pełnią więc, z ich punktu widzenia, funkcję swego rodzaju łącznika. Istnieje szereg projektów naukowych finansowanych przez firmy farmaceutyczne, również prowadzonych we współpracy z uniwersytetami czy też instytutami badawczymi, w przypadku których podstawowym kryterium jest dostęp do dużej puli materiału biologicznego.

Można zatem powiedzieć, że im więcej biobanków, tym lepiej. Czy powstanie Biobanku w EIT+ zwiększy konkurencyjność w tej branży?

Biobank, który gromadzi materiał biologiczny populacji Dolnego Śląska, nie jest raczej konkurencyjny dla biobanku, który gromadzi materiał biologiczny pacjentów z hrabstwa Yorkshire w Wielkiej Brytanii. Pula genetyczna i zachorowalność na dane jednostki chorobowe są charakterystyczne dla danej populacji. Dlatego trudno mówić tu o konkurencyjności. Natomiast warto pamiętać, że biobanki często łączą swoje siły. Nawet duże placówki, które są potentatami biobankowania w danym regionie, mogą mieć problemy ze zgromadzeniem wystarczającej ilości materiału biologicznego do konkretnego projektu badawczego, szczególnie jeżeli koncentruje się on na bardzo rzadkich chorobach.



DR ŁUKASZ KOZERA,

jest absolwentem wydziału biotechnologii i analityki medycznej Uniwersytetu Wrocławskiego.

W latach 2005-2008 odbywał studia doktoranckie w Instytucie Badań Sercowo-Naczyniowych, na Wydziale Medycyny Uniwersytetu w Leeds. Po ich ukończeniu pracował w Klinice Reumatologii Instytutu Medycyny Molekularnej w Leeds, gdzie kierował bankiem tkanek oraz programem wykrywania nowoczesnych biomarkerów schorzeń reumatoidalnych. Od września 2011 roku pracuje nad projektem biobanku we Wrocławskim Centrum Badań EIT+.

Jak Polska wypada na tle Europy pod względem ilości biobanków? Nie są to raczej powszechnie spotykane instytucje.

W Polsce rzeczywiście mamy niewiele takich struktur. Niedawno powstał biobank świętokrzyski, mamy też biobanki na uniwersytecie w Gdańsku oraz w Szczecinie. Istnieje natomiast bardzo dużo placówek, które nazywają się biobankami, ale tak naprawdę pełnią tylko funkcję repozytoriów materiału biologicznego. Często nie wprowadzają podstawowych zasad funkcjonowania, niezbędnych, aby placówkę gromadzącą materiał biologiczny można było nazwać biobankiem. Chciałbym, aby każdy nauko-

wiec czy też klinicysta miał świadomość, że aby utworzyć biobank, nie wystarczy kupić kilku zamrażarek i umieścić je na korytarzu instytutu. Niezbędne są przede wszystkim: wiedza o tym, jak przechowywać tkanki, aby były użyteczne za kilka lub kilkanaście lat, nieustanny monitoring warunków przechowywania próbek biologicznych oraz zapewnienie bezpiecznego przechowywania danych osobowo-medycznych.

Czy wszystkie biobanki pracują na tych samych zasadach? Czy są jakieś instytucje określające standardy ich działalności?

Biobanki muszą stosować się do lokalnych przepisów prawa obowiązujących w danym kraju, a w przypadku Unii Europejskiej także do przepisów europejskich. Podstawą do tworzenia stosownych przepisów w krajach unijnych są wytyczne OECD (Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju – przyp. red.), które mówią o tym, co należy zrobić, aby utworzyć biobank czy bazę danych genetycznych. Wyraźnie określają, jakie pozwolenia należy uzyskać, aby prowadzić tego typu infrastrukturę.

Ważne jest ponadto zapewnienie bezpieczeństwa przechowywania zarówno próbek biologicznych, jak i informacji medycznych. Są to bardzo poufne dane, gdyż mówią o stanie zdrowia pacjentów czy też o historii chorobowej ich rodzin. Tego typu informacje należy chronić jak najlepiej, ponieważ ich zdobycie może np. stać się celem choćby dla towarzystw ubezpieczeniowych i trafić w niepowołane ręce. Dlatego musimy szczególnie dbać o zabezpieczenie ich w odpowiedni sposób.

Jak wygląda gromadzenie materiału biologicznego? Czy biobank powstający w EIT+ pozyskał już partnerów do współpracy przy pobieraniu próbek? Czy wiadomo już, skąd będą pochodziли pacjenci-dawcy, czyli – mówiąc w przenośni – źródło materiału biologicznego?

Prace nad pozyskiwaniem partnerów rozpoczęliśmy już kilka miesięcy temu i trwają one nadal. Od początku koncentrowaliśmy naszą uwagę wokół klinik Akademii Medycznej we Wrocławiu. 28 grudnia 2011 roku odbyło się spotkanie z prorektorem ds. nauki, prof. dr. hab. Zygmuntem Grzebiniakiem, który oficjalnie objął patronat nad projektem biobanku, tak więc władze uczelni wspierają naszą inicjatywę. Obecnie jesteśmy też po rozmowach z kierownikiem Katedry i Kliniki

Probówka do przechowywania materiału biologicznego z kodem typu 1D i 2D



Reumatologii i Chorób Wewnętrznych wrocławskiej AM. Jednostka jest zainteresowana współpracą i chciałaby gromadzić u nas materiał biologiczny pozyskiwany od swoich pacjentów. Wychodzimy również poza region Wrocławia. Obecnie prowadzimy rozmowy z Instytutem Reumatologii w Warszawie oraz z Oddziałem Reumatologii i Chorób Wewnętrznych w Górnośląskim Centrum Medycznym w Katowicach. Obydwie instytucje są zainteresowane współpracą z nami. Pozyskaliśmy już więc w zasadzie trzy jednostki chętne do przechowywania u nas materiału biologicznego. Ponadto chcemy podjąć rozmowy z klinikami kardiologicznymi z Akademickiego Szpitala Klinicznego oraz Wojskowego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu.

Czy Biobank w EIT+ będzie specjalizował się w przechowywaniu materiału biologicznego pomocnego w badaniach nad konkretnymi schorzeniami?

Naszym celem jest przede wszystkim gromadzenie materiału biologicznego populacji pacjentów cierpiących na schorzenia sercowo-naczyniowe, ponieważ zapadalność na tego typu choroby w Europie Wschodniej jest większa niż na Zachodzie. Tu pojawia się pytanie: czy są jakieś określone czynniki, które warunkują zwiększoną zapadalność na te choroby? Miejmy nadzieję, że z naszą pomocą uda się na nie odpowiedzieć.

Druga grupa chorób, którym chcemy się poświęcić, to choroby autoimmunologiczne, czyli bardzo rzadkie, ale interesujące ze względu na etiologię powstawania. Należą do nich między innymi: reumatoidalne zapalenie stawów, tarczycowe zapalenie stawów, twardzina, zespół Takayasu, czyli jednostki chorobowe stosunkowo słabo poznane. Chcielibyśmy prowadzić kolekcję materiału biologicznego, by w przyszłości móc zagwarantować dostęp do niej osobom zainteresowanym badaniami nad tego typu schorzeniami. W Europie jest to bowiem szalenie problematyczne.

Ponadto, do uczestnictwa w naszej

inicjatywie chcielibyśmy zaprosić również zdrowe osoby z Dolnego Śląska. Stanowią one część lokalnej populacji, a do badań nad konkretnymi jednostkami chorobowymi potrzebna jest kontrola populacyjna. Jeśli będziemy dysponować materiałem biologicznym zdrowych mieszkańców Dolnego Śląska, będziemy mogli zidentyfikować geny czy jakiegokolwiek inne czynniki mające wpływ na rozwijanie się konkretnych jednostek chorobowych w ich późniejszym życiu. Chcemy wkrótce przeprowadzić akcję medialną, w której uświadomimy wszystkim pacjentów, że każdy może przyjść i bezpłatnie oddać próbkę materiału biologicznego do naszego biobanku. Próbkę ta zostanie zaś w przyszłości wykorzystana przez zespoły naukowe w badaniach, które przyczynią się do polepszenia stanu opieki zdrowotnej nad pacjentami bądź do opracowania lepszych, czulszych i bardziej specyficznych metod diagnostycznych.

Jak powinien być przechowywany materiał biologiczny pobrany od pacjenta?

Są różne metody przechowywania materiału biologicznego w zależności od jego rodzaju. Jeżeli przechowujemy DNA, to warunki nie muszą być bardzo restrykcyjne. Wystarczy, że próbkę krwi zamrozimy do momentu, w którym będzie z niej izolowany kwas DNA. Natomiast w przypadku dłuższego, kilkunastoletniego przechowywania zaleca się stosowanie procedur polegających na konserwowaniu próbek w oparach ciekłego azotu. Istnieją więc dwa systemy przechowywania materiału biologicznego. Pierwszy to krótkoterminowe przechowywanie w temperaturze -80°C, zaś drugi – długoterminowe przechowywanie próbek osocza, surowicy czy RNA w temperaturze -190°C w celu zachowania ich jak najlepszej jakości. Z kolei komórki jednojądrzaste, które także będziemy gromadzić w biobanku, od samego początku wymagają przechowywania w oparach ciekłego azotu.

Na co dokładnie zgadza się pacjent przy podpisywaniu zgody na wykorzystanie jego materiału biologicznego do celów naukowych?

To zależy przede wszystkim od tego, jakiego typu materiał biologiczny pobieramy. W przypadku materiału do izolacji DNA pacjent winien wyrazić zgodę na określone badania genetyczne, a w przypadku krwi przeznaczonej wyłącznie do izolacji surowicy – na badania proteomiczne nad

nowoczesnymi biomarkerami. O wszystkich tych aspektach informujemy pacjenta przed pobraniem próbki biologicznej i staramy się wyjaśnić wszelkie wątpliwości.

Czy pacjent może zastrzec, jakie badania naukowe mogą być prowadzone z wykorzystaniem jego materiału biologicznego, a jakie nie?

Mamy określony plan pobierania materiału biologicznego i od początku staramy się, aby kolekcja próbek miała wartość naukową także w przyszłości. Myślimy o tym, co może być atrakcyjne dla zespołów naukowych za – powiedzmy – pięć lat. To, co wzbudza zainteresowanie teraz, na pewno ulegnie zmianie za pięć-dziesięć lat. Dlatego staramy się wybiegać w przyszłość w planowaniu, jakie badania moglibyśmy wykonać na danych próbkach. Nie chodzi tu o dokładne sprecyzowanie wszystkich eksperymentów, ale o określenie grupy badań, dla której dziś pobrana próbka może być istotna. Informujemy pacjenta, jakiego typu badania mogą zostać wykonane, a on ma pełne prawo, aby się zgodzić bądź odmówić zgody na wykorzystanie w nich jego materiału biologicznego.

Kto ma dostęp do danych pacjenta? Czy osoba, która zdeponowała swój materiał biologiczny w biobanku, może być spokojna o swoją anonimowość?

W biobankach stosuje się systemy pojedynczego bądź podwójnego kodowania danych. Do danych osobowych pacjenta nie ma dostępu nikt poza wybranymi osobami. Dane kliniczne są potrzebne do przyszłej analizy wyników badań laboratoryjnych w połączeniu z obserwacjami klinicznymi. Próbkę od samego początku, w zasadzie od momentu pobrania, są kodowane i nawet personel laboratoryjny, który rozpoczyna z nimi pracę, nie ma pojęcia, od kogo pochodzą. Staramy się zachować maksymalną anonimowość naszych pacjentów, aby mogli czuć się w pełni bezpiecznie. Biobanki pracują na specjalnych programach komputerowych, które zapewniają bezpieczeństwo przechowywania informacji osobowo-medycznych.

Jak na co dzień wygląda praca w biobanku?

Jest uzależniona od rytmu pracy współpracujących klinik i sposobu, w jaki przyjmują pacjentów. Na ogół o poranku prowadzi się podstawowe prace konserwacyjne związane z utrzymaniem sprzętu. W międzyczasie w klinikach przyjmowani są pacjenci.

Kontrast pomiędzy ilością biobanków w Polsce i w Europie (wg. BBMRI)



Pierwsze próbki przychodzą w godzinach przedpołudniowych, gdy po sporządzeniu charakterystyki klinicznej, pacjenci kierowani są na pobranie materiału biologicznego do analizy i wyrażają zgodę, aby jego część została zdeponowana w biobanku. Rozpoczyna się wtedy kodowanie próbek, wprowadzanie odpowiednich danych do systemu informatycznego oraz izolacja próbek istotnych dla danej populacji pacjentów.

Na jakim etapie powstawania jest biobank przy Wrocławskim Centrum Badań EIT+?

W tej chwili finalizujemy sprawy związane z infrastrukturą, czyli ulokowaniem biobanku na terenie bądź w pobliżu szpitala, z którego będziemy pobierać materiał biologiczny. Jesteśmy w trakcie organizacji przetargów na sprzęt laboratoryjny niezbędny do pracy biobanku. Jak już wspominałem, odbyliśmy rozmowy z władzami Akademii Medycznej we Wrocławiu, które wyraziły chęć objęcia naszej inicjatywy patronatem. Doszliśmy do porozumienia z różnymi klinikami zainteresowanymi przechowywaniem materiału biologicznego w naszym biobanku. Czeką nas jeszcze prace nad wnioskiem do Komisji Bioetycznej o przyznanie zgody na pobieranie materiału biologicznego od poszczególnych populacji pacjentów. Myślę, że w przeciągu następnych kilku miesięcy laboratorium biobanku zostanie otwarte i rozpocznie się już czynna kolekcja materiału biologicznego.

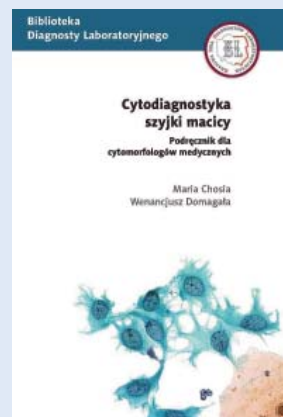
Oby tak się stało i wszystko poszło zgodnie z planem.

Dziękuję bardzo.

Rozmawiał red. Tomasz Szerch z portalu *Biotechnologia.pl*

Niniejszy wywiad jest przedrukiem. Został udzielony portalowi *Biotechnologia.pl* i tam też ukazał się pierwotnie.

BIBLIOTEKA DIAGNOSTY LABORATORYJNEGO



CYTODIAGNOSTYKA SZYJKI MACICY. PODRĘCZNIK DLA CYTOMORFOLOGÓW MEDYCZNYCH

MARIA CHOSIA,
WENANCJUSZ DOMAGAŁA

Tematem książki jest cytodiagnostyka szyjki macicy. Porusza takie zagadnienia, jak zmiany nienowotworowe, neoplazja wewnątrzłonkowa, nowotwory szyjki macicy i różnicowa diagnostyka cytologiczna. Liczne kolorowe i dokładnie opisane zdjęcia preparatów cytologicznych i histologicznych, obrazujące kolejne etapy zmian chorobowych, ułatwiają przyswojenie tej trudnej tematyki. Książka przeznaczona jest przede wszystkim dla cytomorfologów medycznych, patomorfologów i studentów rozpoczynających te specjalizacje.

Więcej informacji: na stronie Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych www.kidl.org.pl oraz na stronie Fundacji Pro Pharmacia Futura www.propharmacia.pl

Kontakt i zamówienia: e-mail wydawnictwo@propharmacia.pl; pl; faks 22 398 39 48.

Uwaga: składki

Informujemy i przypominamy, iż zgodnie z treścią § 5 uchwały nr 28/2010 trzeciego Krajowego Zjazdu Diagnostów Laboratoryjnych z dnia 10 grudnia 2010 r. w sprawie podstawowych zasad gospodarki finansowej:

1. Obowiązkiem finansowym każdego członka samorządu zawodowego diagnostów laboratoryjnych jest rzetelne i terminowe regulowanie należności wobec Izby.
2. Członkowie samorządu są zobowiązani do wpłacania składek członkowskich na rachunek bankowy Izby lub w kasie Izby do 30. dnia każdego miesiąca, za dany miesiąc. Do opłat wnoszonych nieterminowo członkowie samorządu mają obowiązek samodzielnie doliczać odsetki ustawowe i regulować należności wraz z odsetkami.
3. Krajowa Rada Diagnostów Laboratoryjnych, w sposób przez siebie ustalony, ma obowiązek, w przypadkach uporczywego uchylania się od obowiązku uiszczania składek członkowskich, podejmować wszelkie kroki prawne, z egzekucją komorniczą włącznie,
4. Warunkiem korzystania przez członków samorządu z wszelkich świadczeń finansowych i rzeczowych (współfinansowania szkoleń, udziału w konferencjach, korzystania z miejsc noclegowych Izby, otrzymywania gazety samorządowej itp.) realizowanych przez Izbę, jest rzetelne i terminowe regulowanie należności wobec Izby. Zasady korzystania ze świadczeń finansowych i rzeczowych określa Krajowa Rada.

Prosimy o kontrolę, czy składki są rzeczywiście opłacane przez pracodawcę, ponieważ zdarzają się sytuacje pominięcia wpłat. W Państwa interesie jest również przesyłanie do KIDL informacji o przejściu na emeryturę, rentę lub przebywaniu na urlopie wychowawczym, zgodnie z Uchwałą nr 62/2004 KRDL z dnia 17 grudnia 2004 r. i Uchwałą nr 65/II/2009 KRDL z dnia 4 lutego 2009 r. Informacje przesłane nieterminowo skutkują pobieraniem pełnej składki i brakiem możliwości podjęcia stosownych decyzji wstecz przez KRDL.

Przypominamy, że składka miesięczna wynosi 20 zł + ubezpieczenie OC 3 zł. Prosimy o terminowe regulowanie swoich należności wobec samorządu zawodowego. W przypadku jakichkolwiek wątpliwości pracownicy Biura KIDL są do Państwa dyspozycji.

Niedokrwistość/ Anaemia

O niedokrwistości mówimy wtedy, gdy poziom hemoglobiny znajdującej się w erytrocytach spada poniżej normy. Do najczęstszych rodzajów niedokrwistości należą:

Niedobór żelaza

- w wyniku utraty krwi
- w wyniku obfitych miesiączek
- w wyniku choroby jelit u osób w podeszłym wieku

Niedokrwistość złośliwa

organizm nie wytwarza substancji nazywanej czynnikiem zewnętrznym, która jest niezbędna do wchłaniania witaminy B₁₂ z pokarmów. Niedobór witaminy B₁₂ uniemożliwia prawidłowe dojrzewanie i podziały czerwonych krwinek, a w efekcie do zmniejszenia ich liczby.

Niedokrwistość plastyczna

niewydolności szpiku kostnego prowadzi do zmniejszenia ilości wytwarzanych czerwonych krwinek

Niedokrwistość hemolityczna

w wyniku zaburzeń powodujących przedwczesny rozpad krwinek czerwonych, długość ich życia skraca się z 4 miesięcy do nawet kilku dni.

Anaemia occurs when the number of red blood cells (RBCs) and the level of haemoglobin falls below normal. The most common types of anemia are:

Iron Deficiency

- as a result of blood loss
- as a result of profuse menstruation
- as a result of intestinal disease (mainly among elderly people)

Pernicious Anaemia and B Vitamin Deficiency

body stops producing substance called intrinsic factor which enables absorption of vitamin B₁₂ from food. Lack of vitamin B₁₂ hinders proper growth and division of RBCs ending up with decreased number of them.

Aplastic Anaemia

insufficiency of bone marrow leads to the decrease in the number of RBCs produced.

Haemolytic Anaemia

premature collapse of RBCs shortens their life-time from about 4 months to even a few days.

RBCs - Red Blood Cells – krwinki czerwone
Anaemia - niedokrwistość, anemia
Common - zwyczajowy, powszechny
Deficiency - brak, niedobór

to hinder - utrudniać
insufficiency - niewystarczalność, niewydolność
bone marrow - szpik kostny

Humor



PRAWIDŁOWE ODPOWIEDZI DO TESTU

1	2	3	4	5	6	7	8	9
C	C	B	E	C	B	B	d	d



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt jest współfinansowany przez Unię Europejską w ramach środków Europejskiego Funduszu Społecznego.

Biotechnologia

Szkolenia dla MŚP z zakresu metod biotechnologicznych

Czy wiesz że:

- ✓ nowoczesne metody badań biotechnologicznych pomogą Ci **zaoszczędzić czas i pieniądze?**
- ✓ dzięki wsparciu Unii Europejskiej możesz poznać je **bezpłatnie?**
- ✓ oferowane przez nas szkolenia są **profesjonalnie przygotowane** i prowadzone przez **najlepszych specjalistów**, z użyciem **najnowocześniejszego sprzętu?**

Opinie dotychczasowych uczestników naszych szkoleń:

„Poznałam możliwości programów, które mogłyby mi pomóc w pracy i **zaoszczędzić czas.**”

„Szkolenie to kompendium wiedzy (...) i **cenne porady praktyczne.**”

„Wiedza prowadzących zajęcia jest naprawdę imponująca. Wykłady prowadzone **w jasny sposób**”

Dlaczego warto:

- diagności laboratoryjni i farmaceuci otrzymują **punkty edukacyjne** za udział w wybranych szkoleniach,
- każdemu uczestnikowi zapewniamy: nocleg (w razie potrzeby także na dzień przed szkoleniem), wyżywienie, materiały szkoleniowe, certyfikat uczestnictwa, bezpłatne konsultacje,
- jedna osoba może uczestniczyć w maksymalnie dwóch szkoleniach. **Nie ma natomiast limitów jeśli chodzi o udział pracowników jednej firmy,**
- szkolenia są **bezpłatne** (stanowią pomoc de minimis dla firmy).

Nasze szkolenia:

- Metoda PCR do diagnostyki patogenów w produktach biotechnologicznych,
- Metoda Real-time PCR do diagnostyki patogenów,
- Analiza substancji z wykorzystaniem metody HPLC. Walidacja metody,
- HPLC – komputerowa optymalizacja metody oraz analiza danych statystycznych,
- Badania biorównoważności z wykorzystaniem metody HPLC,
- Spektrometryczne metody analityczne – kontrola jakości,
- Toksykologia In vitro,
- Biosensory jako metody wrywania akrylamidów w produktach spożywczych.



Kontakt i zgłoszenia:

tel.: +48 58 751 40 16, 58 751 40 02 tel. kom.: 508 856 058

dorota.g@swp.gda.pl

www.biotechnologia-szkolenia.pl

Zgłoś się już dziś!

Szkolenia skierowane są do pracowników i właścicieli mikro-, małych i średnich firm oraz osób samozatrudnionych.
Serdecznie zapraszamy!

Człowiek – najlepsza inwestycja

BIOTECHNOLOGIA-SZKOLENIA.PL



MPW MED. INSTRUMENTS tel. 22 610 56 67, 22 740 20 25
ul. Boremlowska 46 fax 22 610 81 01
04-347 Warszawa mpw@mpw.pl, www.mpw.pl



• Certified Management System
• DIN EN ISO 9001
• DIN EN ISO 13485



Jedyny krajowy producent oferuje w szerokim asortymencie nowoczesne mikrowirówki i wirówki medyczno-laboratoryjne o pojemności do 1,6 litra:

uniwersalne, walno- i szybkoobrotowe, specjalistyczne:

- cytologiczne, hematokrytowe, do testów kolumnowych, do płytek titracyjnych,
- chłodzone, grzane, wentylowane,
- sterowane mikroprocesorowo.

W ofercie znajdują się nowe i zmodernizowane wirówki, bogato wyposażone, uwzględniające aktualne wymagania klientów, funkcjonalne, trwałe i niezawodne, przyjazne użytkownikowi.

Wszystkie wirówki MPW:

- posiadają znak CE,
- posiadają świadectwa wolnej sprzedaży,
- wykonane są zgodnie z normami PN-EN 61010-1 i PN-EN 61010-2-020,
- mają 24-miesięczną gwarancję,
- znajdują się w rejestrze wyrobów medycznych,
- objęte są 8-procentowym podatkiem VAT.

Proponujemy również vortexy, wyrzaskarki i rotatory firmy Biosan (Łódź).

Chcesz się podzielić z innymi czymś ważnym?



Masz pytania istotne dla diagnosty:

Napisz do nas:
redakcja@kidl.org.pl