

LabForum

*Roche Diagnostics
rozszerza ofertę
o pompy insulinowe*

ISSN 1644-8448

nakład: 1000 egz.

Nr
15





Informacje ze świata



Diagnostics

Szanowni Państwo,

Zachęcam do lektury 15 numeru naszego kwartalnika. W tym wydaniu znajdą Państwo artykuły poświęcone diagnostyce układu krążenia. Szczególnie polecam artykuł na temat apolipoprotein i lipidów oraz analizę roli diagnostycznej peptydu natriuretycznego. Rozpoczynamy również cykl prezentacji laboratoriów, które posługują się nowoczesnymi technologiami diagnostycznymi i których doświadczenia można wykorzystać we własnej pracy. Zachęcamy inne laboratoria do prezentacji swoich osiągnięć. Cykl ten poprzedzony jest wstępem prof. Dagny Bobilewicz, która analizuje stan obecny naszej diagnostyki oraz nakreśla cele polskim laboratoriom.

Jeżeli chodzi o wydarzenia na świecie mamy również kilka nowych informacji. Dobiegł końca proces wykupienia przez Roche udziałów większościowych w firmie Disetronic. Jest to jeden z wiodących producentów systemów infuzyjnych i iniekcyjnych w diabetologii, lider na rynku europejskim. Połączenie dwóch firm zaowocuje unikalną zintegrowaną ofertą, poczynając od glukometrów służących do samokontroli po skomplikowane programowalne pompy insulinowe, które umożliwiają pacjentom ciągłe podawanie insuliny, ściśle według ich indywidualnych potrzeb. Roche Diagnostics Polska zaprezentuje wzbogaconą ofertę z początkiem 2004 r.

W połowie marca firmy Roche i Epigenomics ogłosiły podpisanie wszechstronnej umowy o współpracy w zakresie badań nad rakiem. Trzyletnia kooperacja będzie koncentrować się na badaniach i opracowaniu szerokiej gamy produktów służących wczesnemu wykrywaniu raka, klasyfikacji i badaniu reakcji terapeutycznych. Prace skoncentrują się na przygotowaniu testów onkologicznych z zakresu diagnostyki molekularnej i farmakogenomiki, które wykorzystują technologię metylacji DNA opracowaną przez firmę Epigenomics.

Tematem z ostatniej chwili jest epidemia SARS. Firma Roche Diagnostics rozpoczęła już prace nad opracowaniem specjalnego testu do wykrywania SARS przy użyciu analizatora LightCycler. Planuje się, że test diagnostyczny powstanie już w połowie czerwca i będzie dostępny na rynku w końcu lipca, po przejściu przez wszystkie konieczne kontrole jakości. W zakresie farmakologii Roche posiada bogate doświadczenie w badaniach wirusologicznych. Z chwilą uzyskania większej ilości informacji na temat tej choroby, firma będzie mogła, w oparciu o własną wiedzę i technologie, podjąć decyzję o wniesieniu wkładu w tę batalię poprzez przygotowanie skutecznej terapii.

Życzę miłej lektury.


Andrzej Banaszkiewicz

Dyrektor Generalny
Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.

Spis treści:

Informacje ze świata	2
Korelacja apolipoprotein B, A-I i lipidów ze zmianami w tętnicach wieńcowych u mężczyzn z objawami choroby niedokrwiennej serca	3-6
Czy mózgowy peptyd natriuretyczny ma już ugruntowane miejsce w diagnostyce chorób układu krążenia?	6-8
Zastosowanie i znaczenie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w laboratoryjnej diagnostyce gruźlicy	9-10
Do czego zmierzają medyczne laboratoria diagnostyczne?	11
Nowoczesne laboratorium diagnostyczne EUROLAB	12

Nasz adres:

Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o.; Centrum Biurowe „Klif” ul. Okopowa 58/72, 01-042 Warszawa	serwis:	tel. 0-22/531 48 45 faks 0-22/531 48 53
	dział zamówień:	tel. 0-22/531 48 30-35 faks 0-22/531 48 37
centrala:	tel. 0-22/531 48 00 faks 0-22/531 48 22	internet: www.rochediagnostics.pl

Chemia kliniczna

Korelacja apolipoprotein B, A-I i lipidów ze zmianami w tętnicach wieńcowych u mężczyzn z objawami choroby niedokrwiennej serca

Prof. dr hab. med. Wiesław Piechota, dr Wiktor Piechota,
Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

Wstęp

Choroby układu krążenia nadal zajmują pierwsze miejsce w statystykach zachorowalności i śmiertelności pomimo profilaktyki pierwotnej i wtórnej. Ponad 200 zmienionych opisano w literaturze naukowej jako statystycznie istotne czynniki ryzyka choroby wieńcowej¹. Do najważniejszych należą hipercholesterolemia (lub dyslipidemia), nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie papierosów, wiek i płeć męska.

Mimo ustalonego znaczenia lipidów poszukuje się w zakresie gospodarki lipidowej lepszych niż dotychczas metod określania zagrożenia miażdżycą lub wręcz jej markerów. Potencjalnie lepszymi wydają się apolipoproteiny (apoB i apoA-I), które zdają się lepiej odzwierciedlać stężenie aterogennych i antyaterogennych frakcji lipoprotein w osoczu, a zatem powinny lepiej dyskryminować pomiędzy osobnikami bez zmian miażdżycowych i z takimi zmianami, a także lepiej przewidywać rozwój miażdżycy i jej powikłań.^{2,3}

Apolipoproteiny są białkami występującymi w lipoproteinach, warunkującymi m.in. ich rozpuszczalność w osoczu krwi. Pełnią one funkcje strukturalne, transportowe i metaboliczne, warunkując przemianę lipoprotein jako kofaktory enzymów lub jako ligandy dla określonych receptorów.

Apolipoproteina B-100 jest praktycznie jedynym białkiem cząstek LDL (lipoprotein o niskiej gęstości). Na każdą cząstkę LDL przypada jedna cząsteczka apoB. Jest produkowana w wątrobie i zawiera 4536 aminokwasów (jest największą apolipoproteiną – masa cząsteczkowa 549000 Daltonów). W surowicy krwi występuje w co najmniej 90% w LDL a pozostałość we frakcji VLDL

– lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości (Very Low Density Lipoproteins). Zatem oznaczenie stężenia apoB w surowicy krwi odzwierciedla praktycznie stężenie (liczbę cząstek) LDL. ApoB oprócz funkcji budulcowych spełnia bardzo ważną rolę w receptorowym katabolizmie LDL (poprzez LDL receptor).

Apolipoproteina A-I jest głównym składnikiem lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL). Jej zawartość w cząstce HDL wynosi około 30%. Masa cząsteczkowa apoA-I wynosi 28300 Daltonów. Zasadniczymi funkcjami fizjologicznymi tej apolipoproteiny jest aktywacja acylotransferazy lecytynowo-cholesterolowej (LCAT) oraz wychwytywanie wolnego cholesterolu komórek. LCAT odpowiedzialna jest za estryfikację wolnego cholesterolu. Obie funkcje apoA-I są istotne dla transportu cholesterolu z tkanek z powrotem do wątroby (tzw. odwrotny transport cholesterolu). ApoA-I syntetyzowana jest w wątrobie i w jelicie cienkim w przybliżeniu równych ilościach.

Na pytanie, czy apolipoproteiny są lepszymi markerami miażdżycy niż lipidy, postawionym już w 1979 roku przez Avogaro⁴ nadal nie ma definitywnej odpowiedzi. Wobec faktu standaryzacji apoB i apoA-I uzasadnione wydają się dalsze badania dokumentujące ich wartość oraz ich szersze wprowadzanie do rutynowej oceny zagrożenia miażdżycą.

2. Cel i założenia pracy

Celem podjętej pracy było zbadanie czy występują istotne korelacje stężeń apolipoprotein B, A-I i lipidów z rozległością zmian w naczyniach wieńcowych u chorych z objawami choroby niedo-

Tabela 1. Charakterystyka chorych

Charakterystyka	Chorzy zbadani koronarograficznie nie leczeni statynami N=52
Wiek	62 ± 12 (35–79)
BMI ¹	26,8 ± 3,1
Przebyty zawał serca ²	14
Nadciśnienie tętnicze	21
Cukrzyca	10
Palenie papierosów ³	11
Dodatni wywiad rodzinny ⁴	10
Liczba zmienionych naczyń	0: 18 1: 15 2: 10 3: 9

¹ Wskaźnik masy ciała (Body Mass Index).

² Zawał serca w historii choroby (przebyty co najmniej 2 miesiące przed badaniem).

³ Aktualne palenie papierosów.

⁴ Przedwczesna choroba wieńcowa, zawał lub/i nagła śmierć sercowa u krewnego 1-stopnia przed 55 rokiem życia u mężczyzn i 65 rokiem życia u kobiet.

krwiennej serca, a następnie określenie czy nasilenie tych zmian bardziej związane jest ze składnikami lipidowymi czy też białkowymi. Przyjęto założenie, że znaczenie określonego składnika jako czynnika ryzyka jest związane z siłą jego korelacji ze zmianami w tętnicach wieńcowych.

3. Materiał i metody

Badaniami objęto grupę 52 mężczyzn z Kliniki Chorób Wewnętrznych i Kardiologii Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie z objawami choroby niedokrwiennej serca, nie leczonych hipolipemicznie, u których wykonano koronarografię metodą Seldingera.

Dla potrzeb niniejszej pracy oceniano zmiany w tętnicach wieńcowych, wykorzystując kryterium liczby zajętych naczyń (number of vessel diseased, NVD). Szczegóły odpowiedniego algorytmu opisano w pracy Ringqvista i wsp.⁵

Metody analityczne

U wszystkich badanych wykonywano oznaczenia następujących składników: cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL (wg formuły Friedewalda), cholesterolu HDL (metodą bezpośrednią), triglicerydów, apoB i apoA-I w surowicy krwi pobranej od nich

na czczo. Wszystkie oznaczenia wykonano za pomocą automatycznego analizatora COBAS Integra 700 firmy Roche. Apolipoproteiny B i A-I oznaczano metodą immunoturbidymetryczną wykorzystując zestawy odczynnikowe tej samej firmy: Apolipoprotein B (nr katalogowy 2053098), Apolipoprotein A-I (nr katalogowy 2053080).

Metody statystyczne

Do określenia istotności różnic między wartościami średnich wykorzystano nieparametryczny test U Mann-Whitney'a. Współczynniki korelacji pomiędzy wskaźnikiem zmian w tętnicach wieńcowych i stężeniami poszczególnych biochemicznych czynników ryzyka obliczano według Spearmana.

Wyniki

Uzyskane wyniki przedstawiono w kolejnych tabelach 1. i 2.

Omówienie wyników

Najbardziej zaznaczone zmiany składników lipoprotein (w porównaniu z grupą chorych bez klinicznie istotnych zmian) wystąpiły u chorych z nasilonymi zmianami obejmującymi 2 i 3 tętnice wieńcowe. Istotność statystyczna tych zmian była największa dla apoB, a następ-

nie dla cholesterolu LDL, cholesterolu całkowitego i apoA-I. Wyraźna tendencja spadkowa cholesterolu HDL wraz z liczbą zajętych tętnic nie była statystycznie istotna przy niedużej liczebności chorych w poszczególnych grupach (tabela 1.).

Podobne spostrzeżenia dotyczą badań korelacyjnych: najsilniej skorelowane ze zmianami w tętnicach wieńcowych jest stężenie apoB, następnie cholesterolu LDL i w dalszej kolejności cholesterolu całkowitego oraz apoA-I (ujemnie). Ujemna korelacja stężenia cholesterolu HDL ze zmianami w tętnicach wieńcowych nie osiągnęła istotności statystycznej.

Najsilniej skorelowane ze zmianami w naczyniach wieńcowych były tzw. wskaźniki aterogenności tj. stosunek apoB/apoA-I oraz odpowiadające mu wskaźniki lipidowe: stosunek cholesterolu całkowitego do cholesterolu LDL i cholesterolu LDL do cholesterolu HDL. I znowu wskaźnik aterogenności oparty na apolipoproteinach lepiej przewiduje stopień zmian w naczyniach wieńcowych niż wskaźniki lipidowe. Triglicerydy nie wykazywały żadnej korelacji ze zmianami w naczyniach wieńcowych.

Liczba prac korelujących stężenia apolipoprotein ze zmianami dokumentowa-

Tabela 1. Lipidy i apolipoproteiny u mężczyzn ze zróżnicowanym stopniem zmian w tętnicach wieńcowych

Grupa	Składnik	n	ApoB (mg/dL)		ApoA-I (mg/dL)		Cholesterol (mg/dL)		Cholesterol LDL (mg/dL)		Cholesterol HDL (mg/dL)		Triglicerydy (mg/dL)	
			średnia	s	średnia	s	średnia	S	średnia	s	średnia	s	średnia	s
Wszyscy chorzy		52	1,12	0,25	1,47	0,19	203	37,9	128	31,0	47,4	10,0	140	78,8
Chorzy bez znaczących zmian (0 naczyń)		18	0,99	0,16	1,56	0,17	192	23,9	116	18,0	52,4	11,3	119	84,1
Chorzy ze zmianami w jednej tętnicy (1 naczynie)		15	1,10	0,25	1,42	0,23	196	40,7	118	28,3	44,2	8,9	171	93,0
Chorzy ze zmianami w 2 i 3 naczyniach		19	1,26***	0,24	1,43*	0,14	219*	42,0	146**	34,5	45,1	8,0	135	55,0

* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001 (istotność statystyczna w stosunku do chorych bez znaczących zmian w tętnicach)

Tabela 2. Zestawienie współczynników korelacji składników biochemicznych z nasileniem zmian w naczyniach wieńcowych u mężczyzn z objawami choroby wieńcowej (n = 52)

Zmiany naczyniowe	Składnik lipoprotein	ApoB	ApoA-I	ApoB/ApoA-I	Cholesterol	Cholesterol LDL	Cholesterol HDL	Cholesterol/Cholesterol HDL	Cholesterol LDL/HDL
Liczba zmienionych naczyń		0,493 ***	-0,297 *	0,543****	0,322 *	0,451 ***	-0,257	0,393**	0,476**

* p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001; **** p < 0,0001

nyymi angiograficznie jest znikoma. Tylko w jednej pracy⁶ apolipoproteina B była najsilniej skorelowana ze zmianami w tętnicach wieńcowych (silniej niż cholesterol całkowity i cholesterol LDL), czyli podobnie jak w naszych obserwacjach. Jednakże zaobserwowana w tej pracy korelacja zmian tętnic i apoB była znacznie słabsza. Może to wynikać z faktu, że we wcześniejszych pracach stosowano mniej precyzyjne metody oznaczania apolipoprotein.

W roku 1980 Sniderman zasugerował, że pomiary apoB lepiej odzwierciedlają liczbę cząstek LDL w surowicy niż pomiary cholesterolu całkowitego lub cholesterolu LDL.⁷ Dzieje się tak dlatego, że zawartość cholesterolu w cząstkach LDL jest zmienna, natomiast każda cząstka musi zawierać jedną cząsteczkę apoB. Istnieją osobniki, których LDL jest względnie ubogie w cholesterol, a jednocześnie liczba cząstek LDL jest podwyższona bez odzwierciedlenia tego faktu przez pomiary cholesterolu – staje się to oczywiste dopiero dzięki pomiarom apoB. Fakt ten może mieć pewne znaczenie, gdyż ubogie w cholesterol cząstki LDL, czasem zwane też małymi, gęstymi LDL są zwykle związane z chorobą wieńcową oraz występują często u osobników z hipertriglicydemią i zespołem oporności na insulinę lub w cukrzycy.⁸ Występowanie podwyższonych stężeń apoB (hiperapobetalipoproteinemia) bez towarzyszącej hipercholesterolemii może przyczyniać się u niektórych osobników do przedwczesnej choroby wieńcowej mimo braku tego klasycznego czynnika ryzyka. W większości laboratoriów nie oznacza się apoB i dlatego najczęściej nie wykrywa się izolowanej hiperapobetalipoproteinemii.

Skoro stężenie apolipoproteiny B lepiej koreluje z nasileniem zmian w tętnicach wieńcowych to nasuwa się przypuszczenie, że mógłby to być wartościowy marker skuteczności leczenia statynami i innymi lekami hipolipemizującymi. Przypuszczenie to potwierdza praca Grega Browna i wsp. którzy wykazali, że regresja zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych w toku intensywnego leczenia farmakologicznego jest najbardziej skorelowana z obniżeniem poziomu apoB, następnie cholesterolu LDL i cholesterolu całkowitego oraz wzrostem cholesterolu HDL i apolipoproteiny A-I.⁹ Zjawisko to jest

tym bardziej znamienne, że obniżenie cholesterolu LDL było większe (45%) niż obniżenie apoB (35%). Wskazuje to na możliwość większej miarodajności pomiarów apoB jako miernika realnej efektywności silnie działających leków hipolipemizujących, w tym oczywiście statyn.

W innej pracy wartości referencyjne dla apoB i apoA-I umożliwiały poprawną klasyfikację większego odsetka chorych z przebyłym zawałem niż odpowiednie wartości cholesterolu LDL i HDL.¹⁰ Niektóre inne prace również wskazują, że zwiększone stężenia apoB są dość ściśle związane ze zwiększonym ryzykiem choroby wieńcowej.^{11,12} W innej jeszcze pracy ApoB, wiek i apoA-I były najważniejszymi parametrami modelu predykcyjnego zmian tętnic wieńcowych.¹³

Metody oznaczeń apolipoprotein B i A-I zostały wystandaryzowane w oparciu o międzynarodowe standardy aprobowane przez Międzynarodową Federację Chemii Klinicznej (IFCC) i WHO.^{14,15} Standaryzacja oznaczeń apolipoprotein ułatwiła porównywalność i interpretację badań. Niedawno Sniderman zaproponował dwa punkty odcięcia dla apoB do interpretacji ryzyka choroby wieńcowej: 100 i 120 mg/dl, co odpowiadałoby w przybliżeniu punktom odcięcia dla cholesterolu LDL wynoszącym 130 i 160 mg/dL, które w przybliżeniu przypadają na 50-ty i 75-ty percentyl.¹⁶ Zasugerowano zatem aby wartości apoB powyżej 75-tego percentyla oznaczały wysokie ryzyko a wartości powyżej 50-tego percentyla ryzyko umiarkowane.

Ujemną korelację apoA-I i zmian w naczyniach wieńcowych stwierdził uprzednio Maciejko i wsp.¹⁷ Apolipoproteina A-I i cholesterol HDL są to składniki odpowiednio białkowy i lipidowy tej samej frakcji. Jednakże w naszym materiale apoA-I wykazywało pewną przewagę nad cholesterolem HDL przejawiającą się w nieco większej korelacji ze zmianami w tętnicach wieńcowych. W pracy Yano i wsp. apoA-I a nie cholesterol HDL okazała się znamienne skorelowana ze zmianami w tętnicach wieńcowych.¹⁸ Podobnie jak w przypadku apoB standaryzacja apoA-I umożliwia porównywanie wyników uzyskiwanych w różnych ośrodkach i stworzenie baz danych do właściwej interpretacji wyników oznaczeń apoA-I. Na podstawie

badan Snidermana sugeruje się, że poziomy apoA-I poniżej 120 mg/dL związane są ze zwiększonym ryzykiem choroby wieńcowej, a poziomy powyżej 160 mg/dL wywierają działanie ochronne.¹⁶

Przeprowadzone badania wykazują znaczną wartość apolipoprotein B i A-I jako markerów miażdżycy naczyń wieńcowych u chorych z objawami choroby niedokrwiennej. Na podstawie dostępnych danych wydaje się, że są one cennym uzupełnieniem rutynowych badań lipidowych w celu dokładniejszego szacowania ryzyka rozwoju lub progresji zmian miażdżycowych tętnic wieńcowych. Obiecującym zastosowaniem oznaczeń omawianych apolipoprotein, a szczególnie apoB, jest monitorowanie farmakologicznego leczenia zaburzeń lipidowych.

Piśmiennictwo

1. Hopkins P.N., Williams R.R.: A survey of 246 suggested coronary risk factors. *Atherosclerosis*, 1981, 40, 1–52.
2. Durrington P.N., Ishola M., Hunt K., Arrol S., Bhatnagar D.: Apolipoproteins (a), AI, and B and parental history in men with early onset ischaemic heart disease. *Lancet* 1988, 1, 1070–1073.
3. Alberts J.J., Brunzell J.D., Knopp R.H.: Apoprotein measurements and their clinical application. *Clin. Lab. Med.*, 1989, 9, 137–52.
4. Avogaro P., Cazzolato G., Bittolo B.G.: Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis? *Lancet*, 1979, 1, 901–903.
5. Ringqvist I., Fisher L.D., Mock M., Davis K.B., Wedel H., Chaitman B.R., Passamani E., Russel R.O.Jr., Alderman E.L., Kouchoukas N.T., Kaiser G.C., Ryan T.J., Killip T., Fray D.: Prognostic value of angiographic indices of coronary artery disease from the Coronary Artery Surgery Study (CASS). *J. Clin. Invest.*, 1983, 71, 1854–1866.
6. Sullivan D.R., Marwick T., H., Freedman S.B.: A new method of scoring coronary angiograms to reflect extent of coronary atherosclerosis and improve correlation with major risk factors. *Am. Heart J.*, 1990, 119, 1262–1267.
7. Sniderman A.D., Shapiro S., Marpole D., Skinner B., Teng B., Kwiterovich P.O. Jr.: Association of coronary atherosclerosis with hyperapobetalipoproteinemia (increased protein but normal cholesterol levels in

- human plasma low density (B) lipoproteins). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1980, 77, 604–608.
8. Sniderman A., Durrington P.: *Fast facts – Hyperlipidaemia*, Health Press, 2000, Oxford.
9. Brown G., Albers J.J., Gfischer L.D., Schaefer S.M., Lin J-T., Kaplan C., Zhao X-Q., Bisson B.D., Fitzpatrick V.F., Dodge H.T.: Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N. Engl. J. Med.*, 1990, 323, 1289–1298.
10. Graziani M.S., Zanolla L., Righetti G., Marchetti C., Mocarrelli P., Marcovina S.M.: Plasma apolipoproteins A-I and B in survivors of myocardial infarction and in a control group. *Clin. Chem.*, 1998, 44, 134–140.
11. Genset J., McNamara J.R., Orvaschel J.M., Jenner J.L., Silberman S.R., Anderson K. M., Wilson P.W.F., Salem D.N., Schaeffer E.J.: Lipoprotein cholesterol, apolipoprotein AI and B and lipoprotein (a) abnormalities in men with premature coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1992, 19, 792–802.
12. Kwiterovich P.O., Coresh J., Smith H.H., Bachorik S., Derby C.A., Pearson T.A.: Comparison of the plasma levels of apolipoprotein B and AI, and other risk factors in men and women with premature coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, 1992, 69, 1015–1021.
13. Piechota W.: Ocena korelacji biochemicznych czynników ryzyka miażdżycy i zmian w tętnicach wieńcowych u mężczyzn z objawami choroby niedokrwiennej serca. Praca doktorska, Wojskowy Instytut Medyczny, 2002.
14. Marcovna S.M., Alberts J.J., Henderson L.O., Hannon W.H.: International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. III. Comparability of apolipoprotein A-I values by use of international reference materials. *Clin. Chem.*, 1993, 39, 773–781.
15. Marcovna S.M., Alberts J.J., Kennedy H., Mei J.V., Henderson L.O., Hannon W.H.: International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-I and B. IV. Comparability of apolipoprotein B values by use of international reference materials. *Clin. Chem.*, 1994, 40, 586–592.
16. Sniderman A.D., Cianlone K.: Measurement of apoproteins: time to improve the diagnosis and treatment of atherogenic dyslipidemias. *Clin. Chem.*, 1996, 42, 489–491.
17. Maciejko J.J., Holme D.R., Kottke B.A., Zinsmeister A.R., Dinh D.M., Mao S.J.: Apolipoprotein A-I as a marker of angiographically assessed coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.*, 1983, 309, 385–389.
18. Yano T., Nakamura N., Uzawa H., Kobori S., Maruyama H., Takeda H., Kiyota S., Fukushima H., Ichinose K., Migiyama T.: Multiple regression analysis of sixteen risk factors including serum apolipoproteins in angiographically documented coronary artery disease. *Jpn. Circ. J.*, 1987, 51, 383–394.

Immunodiagnostyka

Czy mózgowy peptyd natriuretyczny ma już ugruntowane miejsce w diagnostyce chorób układu krążenia?

lek. Piotr Kübler, prof. Waldemar Banasiak, prof. Piotr Ponikowski,
Klinika Kardiologii 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu

Mózgowy peptyd natriuretyczny, w skrócie BNP (ang. *brain natriuretic peptide*), jest hormonem uwalnianym z kardiomiocytów, w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe lub objętościowe komór serca¹. Nazwa mózgowy pochodzi stąd, że został on zidentyfikowany po raz pierwszy w mózgu świni w roku 1988². Obecnie wiadomo, że jest uwalniany głównie z komórek mięśniowych komór serca. Inna nazwa to peptyd natriuretyczny typu B.

BNP należy do rodziny peptydów natriuretycznych, których innymi przedstawici-

cielami są: przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP) wytwarzany w przedsionkach serca – dobrze poznany, o ustalonej roli w fizjologii; pochodzący ze śródbłonka naczyniowego peptyd natriuretyczny typu C (CNP), oraz *dendroaspis natriuretic peptide* (DNP) wyizolowany z jadu węża³.

Fizjologicznie aktywny BNP składa się z 32 aminokwasów, zawiera pierścień składający się z 17 aminokwasów (charakterystyczny dla rodziny peptydów natriuretycznych), powstaje z rozpadu mającego większą masę cząsteczkową prekursora pro-

-BNP. Łączy się z receptorem peptydu natriuretycznego, aktywując produkcję cGMP⁴. Drugim produktem jest nieaktywny fizjologicznie N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B (Nt-proBNP) (ryc. 1.). Ponieważ wartości Nt-proBNP korelują z wartościami BNP, jest on również oznaczany w szpitalnych laboratoriach – cechuje się większą stabilnością i trwałością w surowicy, dłuższym okresem półtrwania oraz mniejszymi wahaniami okołodobowymi⁵.

Główną rolą mózgowego peptydu natriuretycznego w fizjologii jest nasilenie

diurezy i natriurezy poprzez zwiększenie filtracji kłębuszkowej, przeciwdziałanie efektom pobudzenia układu renina – angiotensyna – aldosteron, regulacja objętości łożyska naczyniowego i regulacja ciśnienia tętniczego oraz hamowanie współczulnego układu nerwowego⁶.

Oznaczanie stężenia peptydu natriuretycznego typu B znalazło zastosowanie przede wszystkim w diagnostyce, ustalaniu rokowania i monitorowaniu leczenia niewydolności serca. Ostatnio pojawiły się doniesienia o jego przydatności w chorobie niedokrwiennej serca – głównie w ustalaniu rokowania w ostrych zespołach wieńcowych. Stwierdzono podwyższony poziom BNP również w wielu innych stanach chorobowych: w przerście mięśnia sercowego, dysfunkcji prawej komory, w samoistnym nadciśnieniu tętniczym, u chorych dializowanych z powodu krańcowej niewydolności nerek, w krwotoku podpajęczynkowym. Wartości BNP rosną podczas obciążenia wysiłkiem i wraz z wiekiem⁴.

U osoby zdrowej peptydy natriuretyczne wydzielane są w znikomych ilościach, natomiast w wyniku upośledzenia funkcji lewej komory dochodzi do zwiększenia produkcji mózgowego peptydu natriuretycznego nawet kilkadziesiąt do kilkaset-krotnie powyżej normy. Podwyższone wartości BNP stwierdza się już w okresie bezobjawowej dysfunkcji skurczowej lewej komory, rosną one znacząco w pełnoobjawowej niewydolności serca⁷. Oznacza to, że podwyższony poziom BNP może pomóc w rozpoznawaniu rozpoczynającej się niewydolności serca jeszcze zanim wystąpią objawy kliniczne. Występuje istotna korelacja między stężeniem BNP i zaawansowaniem niewydolności serca wg klas NYHA – peptydy natriuretyczne mogą być wykorzystywane do oceny stadium niewydolności serca (ryc. 2.)⁸. Ponadto ich stężenia korelują odwrotnie z frakcją wyrzutową lewej komory – ocenianą echokardiograficznie lub radioizotopowo⁹.

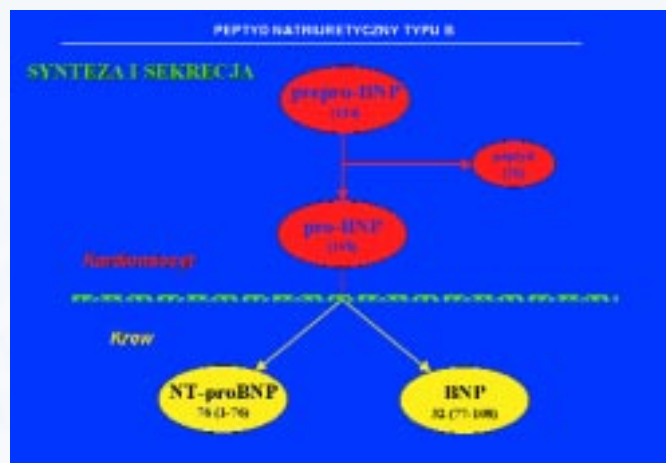
Na uwagę zasługuje bardzo duża ujemna wartość predykcyjna BNP – bliska 100%. Innymi słowy prawidłowy poziom BNP praktycznie wyklucza upośledzoną funkcję lewej komory i niewydolność serca¹⁰. Znalazło to odzwierciedlenie w standardach Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego, w których zaleca się kontro-

lę peptydów natriuretycznych przy badaniu wstępnym chorego z podejrzeniem niewydolności serca, obok takich badań jak EKG i zdjęcie klatki piersiowej. Przy jego prawidłowych wartościach, niewydolność serca jest mało prawdopodobna, przy podwyższonych zalecane jest dalsze poszerzenie diagnostyki. Ponieważ rozpoznawanie niewy-

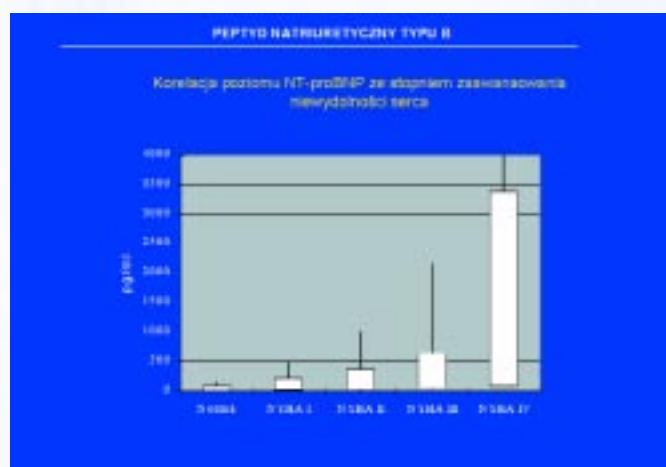
dolności serca leży w rękach lekarza pierwszego kontaktu, oznaczanie BNP będzie już wkrótce miało duże znaczenie praktyczne w podstawowej opiece zdrowotnej, jako badanie przesiewowe w grupach wysokiego ryzyka, czy też w warunkach izby przyjęć. W niedługim czasie pomiar BNP stanie się powszechnie stosowanym narzędziem do wykrywania lub wykluczania niewydolności serca, przede wszystkim przez lekarza pierwszego kontaktu.

Wykazano przydatność BNP także w wykrywaniu rozkurczowej niewydolności serca oraz korelację z badaniem echokardiograficznym. Podwyższone wartości BNP przy zachowanej funkcji skurczowej LK mogą sugerować lub potwierdzać wstępne rozpoznanie niewydolności rozkurczowej¹¹.

Kolejne zastosowanie BNP to diagnostyka różnicowa duszności. U chorych z dusznością z przyczyn niekardiologicznych (w tym z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc) nie stwierdzono istotnie podwyższonych wartości BNP, w przeciwieństwie do jego podwyższonych wartości u chorych z dusznością w przebiegu dysfunkcji lewej komory¹². Jest to kolejny obszar dla zastosowań peptydów natriuretycznych w gabinecie lekarza pierwszego kontaktu lub w izbie przyjęć – pozwala



Ryc. 1.



Ryc. 2.

w wielu przypadkach wyjaśnić etiologię duszności i podjąć dalsze decyzje.

Następnym zastosowaniem peptydu natriuretycznego typu B jest stratyfikacja ryzyka w niewydolności serca. Chorzy z niskimi poziomami BNP mają dobre rokowanie długookresowe, natomiast wysokie poziomy BNP niezależnie od parametrów klinicznych przemawiają za złym rokowaniem i pozwalają na bardziej precyzyjną kwalifikację do grupy wysokiego ryzyka¹³.

Ważnym praktycznie zastosowaniem BNP jest monitorowanie leczenia niewydolności serca. W jednym z badań, pacjentów z niewydolnością serca przydzielono do dwóch grup: w jednej intensyfikowano leczenie w zależności od stanu klinicznego, w drugiej w zależności od poziomu BNP i monitorowano przez 6 miesięcy. Stwierdzono istotnie mniejszą ilość incydentów sercowo-naczyniowych i zgonów w grupie leczonej w zależności od poziomu BNP.

Wniosek z badania jest taki, że w porównaniu z oceną klasyczną, monitorowanie leczenia przy pomocy mózgowego peptydu natriuretycznego jest strategią efektywniejszą i lepiej informuje lekarza o konieczności intensyfikacji leczenia¹⁴.

Oznaczanie BNP stosowano również w chorobie niedokrwiennej serca. Wykazano przede wszystkim jego wartość prognostyczną w ostrych zespołach wieńcowych, w tym po zawałach z uniesieniem, jak i bez uniesienia odc. ST¹⁵. Uważa się, że BNP uwalnia się z tkanki otaczającej obszar niedokrwienia w wyniku przeciążenia lewej komory serca. Podwyższone wartości BNP w próbkach pobranych przy przyjęciu chorego z ostrym zespołem wieńcowym korelują z częstszym występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych, takich jak zgony, zawały serca, jak i niewydolności serca w obserwacji krótko- i długoterminowej. W jednym z badań przy przyjęciu chorego z ostrym zespołem wieńcowym oznaczano 3 markery sercowe: troponiny, białko C-reaktywne oraz BNP. Każdy z nich odzwierciedlał inny proces fizjologiczny: troponiny jako wskaźniki martwicy mięśnia sercowego, białko C-reaktywne jako odzwierciedlenie komponenty zapalnej oraz BNP jako wskaźnik hemodynamiczny przeciążenia komór (ryc. 3.). Wykazano, że są one niezależnymi wskaźnikami rokowniczymi, oraz że z każdym kolejnym podwyższonym markerem ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych prawie podwaja się¹⁶. Wyniki te wskazują na praktyczną przydatność stosowania oceny wieloczynnikowej.

Poniżej podsumowanie zastosowań peptydu natriuretycznego typu B w chorobach układu krążenia:

- diagnostyka niewydolności lewokomorowej serca, nawet we wczesnej fazie
- wykluczenie osób z podejrzeniem rozwijającej się niewydolności serca (bardzo wysoka ujemna wartość predykcyjna)
- diagnostyka różnicowa duszności i niewydolności rozkurczowej serca



Ryc. 3.

- ocena prognostyczna w niewydolności serca oraz w ostrych zespołach wieńcowych
- monitorowanie leczenia niewydolności serca

Odpowiadając na pytanie zadane w tytule, BNP ma już dość ugruntowaną pozycję w diagnostyce, rokowaniu i monitorowaniu chorych z niewydolnością serca, natomiast czy znajdzie bardziej powszechne zastosowanie u chorych z ostrymi zespołami wieńcowymi, pokażą dalsze badania. Być może w przyszłości będziemy oznaczać BNP obok tak powszechnie stosowanych troponin czy zyskującego obecnie na popularności białka C-reaktywnego.

Piśmiennictwo

1. Yasue H., Yoshimura M., Sumida H. i wsp.: Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994, 90: 195–203.
2. Sudoh T., Kangawa K., Minamino N. i wsp.: A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988, 332: 78–81.
3. Stein B.C., Levin R.I.: Natriuretic peptides: Physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J* 1998, 135: 914–23.
4. Doggrel S.A.: Brain Natriuretic Peptide: Disease Marker or More in Cardiovascular Medicine? *Drugs of Today* 2001, 37: 463–476.
5. Mair J., Hammerer-Lercher A., Puschendorf B.: The impact of cardiac natriuretic hormones on the diagnosis and

management of heart failure. *Clin Chem Lab Med* 2001, 39, 571–588.

6. Holmes S.J., Espiner E.A., Richards A.M. i wsp.: Renal, endocrine and hemodynamic effects of human brain natriuretic peptide in normal man. *J Clin Endocr Metab* 1993, 76: 91–6.
7. McClure S.J., Caruana L., Davie A.P. i wsp.: Cohort study of plasma natriuretic peptide for identifying left ventricular systolic dysfunction in primary care. *BMJ* 1998, 317: 516–9.
8. Clerico A., Iervasi G., Chicca M. i wsp.: Circulating levels of cardiac natriuretic peptides (ANP and BNP) measured by highly sensitive and specific immunoradiometric assays in normal subjects and in patients with different degrees of heart failure. *J Endocrinol Invest* 1998, 21: 170–9.
9. McDonagh T.A., Robb S.D., Murdoch D.R. i wsp.: Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. *Lancet* 1998, 351, 9–13.
10. Cowie M.R., Struthers A.D., Wood i wsp.: Value of natriuretic peptides in assessment of patients with possible new heart failure in primary care. *Lancet* 1997, 350, 1347–51.
11. Lubien E., DeMaria A., Krishnaswamy P. i wsp.: Utility of B-natriuretic peptide in detecting diastolic dysfunction. Comparison with Doppler velocity recordings. *Circulation* 2002, 105, 595–601.
12. Morrison L.K., Harrison A., Krishnaswamy P. i wsp.: Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol* 2002, 39, 202–9.
13. Richards A.M., Nicholls M.G., Yandle M.G. i wsp.: Neuroendocrine prediction of left ventricular function and heart failure after acute myocardial infarction. *Heart* 1999, 81, 114–120.
14. Troughton R.W., Frampton C.M., Yandle T.G. i wsp.: Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000, 355, 1126–1130.
15. De Lemos J.A., Morrow D.A., Bentley J.H. i wsp.: The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001, 345: 1014–21.
16. Sabatine M.S., Morrow D.A., De Lemos J.A. i wsp.: Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes. *Circulation* 2002, 105: 1760–63.

Diagnostyka molekularna

Zastosowanie i znaczenie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w laboratoryjnej diagnostyce gruźlicy

Dr Aleksandra Safianowska, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii Akademii Medycznej w Warszawie

WSTĘP

Reakcja łańcuchowa polimerazy (Polymerase Chain Reaction – PCR), powielenia materiału genetycznego, zrobiła ogromną furorę w biologii molekularnej, od czasu przyznania Nagrody Nobla w 1993 roku jej twórcy – Kary Mullisowi. Jednym z zastosowań są testy diagnostyczne identyfikujące czynnik infekcyjny, np. wykrywanie prątków gruźlicy bezpośrednio w materiale od chorego. Obecnie jest dostępnych kilka testów komercyjnych, zarówno w wersji podstawowej PCR, tzn. w oparciu o matrycę DNA, jak i różne jej modyfikacje, np. TMA (Transcription Mediated Amplification), gdzie amplifikuje się rRNA. W artykule omówiono zastosowanie technik amplifikacyjnych w nowoczesnej, laboratoryjnej diagnostyce gruźlicy.

MECHANIZM KLASYCZNEJ PCR

PCR jest metodą *in vitro* naśladującą naturalną replikację, z tym że powieleniu



Mykobakterium tuberculosis (MTB) w obrazie z mikroskopu elektronowego.

ulega wybrany fragment DNA, zwany matrycą. Warunkiem powieleniażądanego fragmentu DNA jest znajomość sekwencji na jego końcach, gdyż w reakcji konieczne jest użycie komplementarnych do tych końców starterów, będących jednocześnie gwarancją specyficzności całego procesu. PCR jest procesem cyklicznym, gdzie każdy cykl składa się z trzech etapów: rozdzielenia matrycy DNA na pojedyncze nici, przyłączenia komplementarnych starterów do matrycy i syntezy DNA z udziałem polimerazy. Przebieg procesu sterowany jest zmianami temperatury. Syntetyzowane fragmenty DNA wchodzą w reakcję jako matryca do następnego cyklu. W efekcie ilość produktu – specyficznego fragmentu DNA, rośnie wykładniczo jak 2^n , gdzie n oznacza liczbę cykli.

WYKRYWANIE ZAKAŻEŃ

W diagnostyce klinicznej, PCR znalazła zastosowanie przede wszystkim w wykrywaniu czynników infekcyjnych. Warunkiem jest znajomość specyficznej sekwencji DNA. Wówczas, pozytywny wynik reakcji potwierdza obecność poszukiwanego czynnika infekcyjnego. Jednak brak amplifikacji może wynikać zarówno z nieobecności wyjściowej matrycy DNA czynnika infekcyjnego, jak też z zahamowania aktywności polimerazy przez inhibitory dodane w sposób niekontrolowany razem z materiałem klinicznym. Szczególnie, że polimeraza jest wrażliwa na tak powszechne substancje jak heparyna czy hemoglobina. W drugim przypadku mamy do czynienia z wynikiem fałszywie ujemnym. W celu wykluczenia wyników fałszywie ujemnych należy przeprowadzić taką kontrolę, która da odpowiedź na pytanie, czy poli-

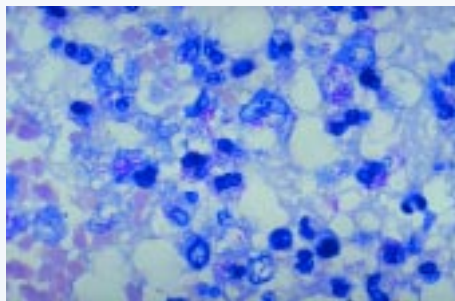
meraza nie została zahamowana. Można to zrobić dodając do mieszaniny reakcyjnej inną matrycę i przeprowadzając jednocześnie w tej samej probówce koamplifikację innego fragmentu DNA. Jest to tzw. kontrola wewnętrzna, która jest dodatnia, o ile tylko aktywna jest polimeraza. Negatywny wynik kontroli wewnętrznej pozwala na wykluczenie wyników fałszywie ujemnych. Kontrola wewnętrzna, szczególnie w diagnostyce zakażeń mikobakteryjnych, bywa nie do przecenienia i powinna być stosowana w każdej próbie badanej.

PCR W DIAGNOSTYCE GRUŻLICY

Amerykańska Food and Drug Administration (FDA) dopuściła na rynek kilka systemów amplifikacyjnych do wykrywania gruźlicy, w szczególności u chorych z dodatnimi wynikami bakterioskopii. W przypadku dodatniego wyniku testu, już po kilku godzinach wiadomo, że prątki widziane w mikroskopie należą do *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. microti* lub *M. africanum*). Jest to informacja niezwykle cenna dla klinicysty, lecz trzeba mieć świadomość, że amplifikacji może ulegać DNA nie tylko żywych prątków, a więc prątki wydzielane przez chorego mogą być martwe. Dlatego też nie należy stosować tej metody do sprawdzania odprątkowania w przypadku chorych leczonych. Niestety wszystkie komercyjne testy, wykrywają zarówno żywe jak i martwe prątki, również test z zastosowaniem odwrotnej transkrypcji, w którym materiałem wyjściowym jest rRNA. Należy zwrócić uwagę, że pogląd jakoby test na obecność rRNA wykrywał tylko żywe prątki jest błędny, gdyż rRNA jest cząsteczką w miarę trwałą wchodzącą

w skład rybosomów. Potwierdzają to badania Rajalahti i wsp., którzy stwierdzili, że żaden z badanych testów nie nadaje się do monitorowania leczenia (1).

Ujemny wynik testu przy dodatniej bakterioskopii (nie są to wyniki sprzeczne!), potwierdza przynależność prątków do NTM (Non Tuberculous Mycobacteria), o ile była wykonana kontrola wewnętrzna. W przypadku materiałów o ujemnej bakterioskopii, testy amplifikacji kwasów nukleinowych na ogół nie przewyższają czułości systemów hodowlanych (2), ale są od nich o wiele szybsze. Należy jednak podkreślić, że w żadnym wypadku nie wolno zaniechać izolacji szczepu ze względu na konieczność oznaczenia jego



Barwione prątki kwasooporne

lekowrażliwości. Tylko dla materiałów skąpoprątkowych, czułość metod amplifikacyjnych bywa obniżona, ale specyficzność pozostaje nadal bardzo wysoka.

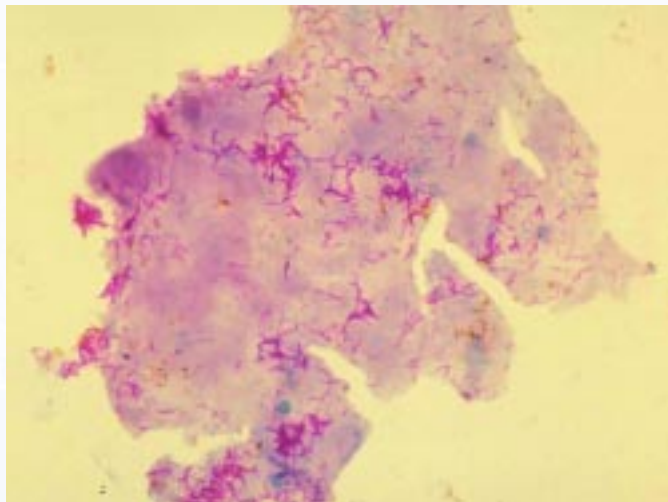
W przypadku wyizolowania szczepu szybko rosnącego, np. *M. fortuitum*, szczególnie przy płucnych zmianach klinicznych, zachodzi konieczność sprawdzenia, czy nie współwystępuje on z gruźlicą. Można to sprawdzić wyłącznie metodą PCR, przy czym wykonanie kontroli wewnętrznej jest w tym wypadku absolutnie konieczne.

UWAGI KOŃCOWE

W mikrobiologicznej diagnostyce gruźlicy, sprawą pierwszej wagi jest skrócenie czasu oczekiwania na wynik oraz zwiększenie czułości i swoistości metod diagnostycznych. Testy molekularne spełniają te warunki. Bezwzględnym wskazaniem do stosowania metod molekularnych są badania materiałów dodatnich w bakterioskopii (ze względu na konieczność różnicowania z mikobakteriozami) oraz materiałów skąpoprątkowych. Ponadto w praktyce klinicz-

nej, testy molekularne są niezastąpione, ponieważ z najwyższym prawdopodobieństwem pozwalają na wykluczenie gruźlicy w diagnostyce różnicowej z rakiem płuca.

Przy wprowadzaniu technik molekularnych w pracowniach mikrobiologicznej diagnostyki gruźlicy należy stosować komercyjne testy rekomendowane przez FDA i unikać metod tzw. „domowych”, które w niedoświadczonych rękach mogą dawać błędne wyniki jednocześnie generując niepotrzebne koszty. Spośród różnorodnych testów wybierać te, które posiadają kontrolę wewnętrzną i zabezpieczenie przed kontaminacją przez przeniesienie, czyli wcześniejszym produktem amplifikacji. W przypadku braku możliwości spełnienia tych zaleceń, ekonomicznie uzasadnione wydaje się przesyłanie materiałów diagnostycznych do laboratoriów mających doświadczenie w technikach molekularnych.



Prątki kwasooporne w popłuczynach oskrzelkowo-pęcherzykowych.
Autor: H. Grubek-Jaworska

Piśmiennictwo

1. Rajalahti I., Vuorinen P., Liippo K. i wsp. Evaluation of commercial DNA and rRNA amplification assays for assessment of treatment outcome in pulmonary tuberculosis patients. *Europ. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 746–750, 2001.
2. Mitarai S., Kurashima A., Tamura A. i wsp. Clinical evaluation of Amplicor *Mycobacterium* detection system for the diagnosis of pulmonary mycobacterial infection using sputum. *Tuberculosis* 81, 319–325, 2001.

AMPLICOR® *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) Test, Roche Diagnostics, USA

1. Matrycą dla PCR jest sekwencja DNA, specyficzna dla rodzaju *Mycobacterium*.
2. W produkcie amplifikacji wykrywa się sekwencję DNA specyficzną dla *M. tuberculosis complex* metodą hybrydyzacji.
3. Dzięki połączeniu obu technik molekularnych, test ma wysoką czułość (rzędu 70–90%, w zależności od rodzaju specymenu) i niemalże stuprocentową specyficzność.
4. Możliwe jest wykonanie kontroli wewnętrznej dla każdej próby badanej.
5. Test zaopatrzony jest w system zapobiegający kontaminacji przez przeniesienie.
6. Wynik można uzyskać w ciągu jednego dnia.
7. Test ma certyfikat FDA.

Do czego zmierzają medyczne laboratoria diagnostyczne?

Prof. Dagna Bobilewicz, Krajowy Konsultant ds. diagnostyki laboratoryjnej

Rolą diagnostyki laboratoryjnej jest zapewnienie wiarygodnego wyniku badania, który stanowiłby część procesu leczniczego, polegającego na postawieniu rozpoznania, monitorowaniu przebiegu leczenia oraz ocenie efektu końcowego postępowania medycznego z uwzględnieniem nie tylko stanu zdrowia chorego i jego dalszych możliwości funkcjonowania w społeczeństwie, ale również nakładów finansowych, jakie zostały poniesione (tzw. *patient's outcome*). Kompromis pomiędzy niewielkimi w odniesieniu do potrzeb nakładami finansowymi na służbę zdrowia, a staraniami, zmierzającymi do zapewnienia usług medycznych na odpowiednim poziomie dotyczy również diagnostyki laboratoryjnej i to nie tylko w Polsce. Jest to problemem ogólnosiwiatowym, o czym świadczą poniższe stwierdzenia zamieszczone w „Służbie Zdrowia” przed kilkoma miesiącami.

- „Najczęstszym grzechem lekarzy jest ignorowanie realiów ekonomicznych”,
- „nieubłaganą prawdą jest, że źródła finansowania leczenia są zawsze ograniczone”,
- „...żadnego społeczeństwa i żadnego szpitala nie stać nigdy na wykorzystanie wszelkich dostępnych możliwości diagnostyki i terapii”,
- „jeżeli podejmujemy decyzje o wprowadzeniu nowej metody diagnostycznej to nie powinniśmy się czuć zwolnieni od odpowiedzialności za stworzenie ekonomicznych podstaw realizacji tej decyzji”.

Postęp wiedzy, postęp techniczny, którym towarzyszą rosnące oczekiwania społeczeństw są jednak procesami, których nie da cofnąć, ani zatrzymać. Powstaje więc pytanie co zrobić, aby przetrwać, w jaki sposób ograniczyć koszty, lub je w sposób rozsądny przesunąć tam, gdzie

mogą być wykorzystane z większym pożytkiem dla chorego. W diagnostyce laboratoryjnej jest wiele do zrobienia, istnieją ciągle rezerwy, których uruchomienie często wymaga jedynie decyzji organizacyjnych. W przypadkach konieczności poniesienia wydatków finansowych, mogą się one zwrócić w krótkim czasie.

W Polsce jest około 1800 laboratoriów, z których część wykonuje tylko badania podstawowe, zatrudniając 1–2 osoby. Średnio 1 laboratorium (nie wchodząc w szczegóły jakiej klasy) przypada na około 23 tys. mieszkańców, wahając się w granicach od 15 tys. w województwie śląskim do 28 tys. w województwach podkarpackim i pomorskim. Nie ma wprowadzone norm, regulujących minimalną liczbę badań przypadających na jedno laboratorium, a tym bardziej na jednego pracownika fachowego, ale jest rachunek ekonomiczny, zgodnie z którym, jak również zgodnie ze zdrowym rozsądkiem rozpiętość pomiędzy 3-ma tysiącami i 35-oma tysiącami budzi szereg wątpliwości nie tylko co do opłacalności, ale również i jakości usług. Na całym świecie obserwuje się tendencje do:

- integracji laboratoriów,
- tworzenia laboratoriów centralnych z siecią laboratoriów satelitarnych, wykonujących w krótkim czasie wąski zakres badań, lub wręcz spełniających rolę punktów pobrania,
- organizacji czynnościowej polegającej na konsolidacji stanowisk roboczych i obszarów roboczych, co prowadzi do wykonywania możliwie największej liczby oznaczeń z jednej próbki na jednym analizatorze, lub na analizatorach pracujących w systemie (np. różne analizatory z jednym podajnikiem próbek)
- wprowadzania systemów informatycznych (LIS – *laboratory information system*), które w sposób zasadniczy

zmniejszają obciążenie związane z rejestracją danych pacjentów, a także umożliwiają przyspieszenie lub w ogóle wykonywanie innych procedur wpływających na jakość usług laboratoryjnych. LIS będąc standardem w krajach Unii Europejskiej, w Polsce jest na początku swojego rozwoju.

Czy w związku z tym człowiek prawie nie będzie potrzebny? Będzie, tylko jego rola musi ulegać zmianie. Z wytwórcy wyniku staje się twórcą informacji diagnostycznej, jest lub będzie ogniwem w zintegrowanym systemie ochrony zdrowia. Jego bezsprzeczną rolą będzie też umiejętny dobór zakresu badań, wprowadzanie nowych, tylko pod warunkiem ich rzeczywistej przydatności klinicznej (*stop starting* jeśli nie jesteś pewny, że ma to sens) i wycofywanie badań wykonywanych tylko w oparciu o tradycję, a nie wnoszących nowych informacji (*start stoping* jeśli jesteś pewna, że wartość badania jest niska). Czy zmiany restrukturyzacyjne przyniosą zwolnienia personelu laboratoryjnego? Sądzę, że jest to nieuniknione szczególnie w tych jednostkach, w których zatrudnienie od lat było zbyt duże. Żadne decyzje nie powinny być jednak podejmowane pochopnie, bowiem nie zawsze liczba badań jest jedynym czynnikiem warunkującym zatrudnienie. Musi być ona większa szczególnie w jednostkach pracujących z dużym obciążeniem przez całą dobę. Często nie można zmniejszyć personelu, natomiast ten sam personel może wykonać większą liczbę badań.

To tylko kilka problemów, związanych z przyszłością laboratoriów polskich, z których większość pomimo złej sytuacji finansowej służby zdrowia jest nienajgorzej wyposażona i ma coraz lepiej wykształcony personel. Należy więc wierzyć, że przetrwają.

Prezentacje

Nowoczesne laboratorium diagnostyczne EUROLAB

Firma ROCHE jest nie tylko w ścisłej światowej czołówce firm diagnostycznych, przedstawiając swoim klientom kompletną ofertę wyposażenia laboratorium, ale również jest znana z pomocy, jaką mogą otrzymać nasi użytkownicy przy organizacji, pełnym wyposażeniu i informatyzacji laboratorium. W następnych numerach przedstawimy kilka laboratoriów, z którymi współpracujemy. Zapraszamy do lektury i zachęcamy do brania przykładu!

Nasz cykl rozpoczynamy od prezentacji laboratorium diagnostycznego EUROLAB z Łodzi, które powstało 2 stycznia

matologia – XE 2100 i SF 3000, koagulologia – STA Compact, analiza moczu – Miditron Junior i równowaga kwasowo-zasadowa – Compact 2) (Zdj. 1.), takich samych, jakie stanowią wyposażenie najnowocześniejszych laboratoriów Europy Zachodniej czy Ameryki Północnej.

Instalacja systemu informatycznego LSI (produkt oferowany i wdrożony przez Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. w kilkudziesięciu innych laboratoriach w Polsce) pozwoliła na automatyczną rejestrację danych demograficznych pacjenta z bazy danych szpitala na podstawie nu-



Zdj. 1.

2002 r., jako wynik decyzji Dyrekcji Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego im. M. Kopernika o wyłączeniu ze struktur szpitala diagnostyki laboratoryjnej.

Nowa jednostka, jako Niepubliczny ZOZ, świadczy dla szpitala kompleksowe usługi laboratoryjne wykorzystując najnowocześniejsze technologie i metody analityczne.

Badania wykonuje się tu przy pomocy analizatorów firmy Roche Diagnostics (biochemia – COBAS Integra 700, immunodiagnostyka – Elecsys 2010, E 170, he-

meru PESEL (ryc. 1.), archiwizację wyników badań, kontrolę i monitorowanie wszystkich badanych parametrów u danego pacjenta w całym procesie diagnozowania i leczenia.

Wyniki wykonanych badań laboratoryjnych przedstawiane są w formie raportu zbiorczego, który zawiera niezbędne dane pacjenta, dane zleceńodawcy oraz uzyskane wyniki badań z podaniem wartości referencyjnych. Jeżeli pacjent miał w przeszłości wykonywane takie same badania, to na raporcie, obok aktualnych,



Ryc. 1.

Zespół Leczniczo Diagnostyczny - KOPERNIK			
Laboratorium Analityczne Eurolab			
Nazwisko i imię	Kopernik Tadeusz		
Imię i nazwisko	Kopernik Tadeusz		
Adres	ul. Kopernika 1, 00-000 Warszawa		
Telefon	00-000-0000		
Wzrost	170	cm	
Waga	70	kg	
Temperatura	36,6	°C	
Ciężar ciała	40,0	kg	
Wiek	40	lat	
Sex	M		
Grupa krwi	0		
Grupa krwi II	+		
Grupa krwi III	+		
Grupa krwi IV	+		
Grupa krwi V	+		
Grupa krwi VI	+		
Grupa krwi VII	+		
Grupa krwi VIII	+		
Grupa krwi IX	+		
Grupa krwi X	+		
Grupa krwi XI	+		
Grupa krwi XII	+		
Grupa krwi XIII	+		
Grupa krwi XIV	+		
Grupa krwi XV	+		
Grupa krwi XVI	+		
Grupa krwi XVII	+		
Grupa krwi XVIII	+		
Grupa krwi XIX	+		
Grupa krwi XX	+		
Grupa krwi XXI	+		
Grupa krwi XXII	+		
Grupa krwi XXIII	+		
Grupa krwi XXIV	+		
Grupa krwi XXV	+		
Grupa krwi XXVI	+		
Grupa krwi XXVII	+		
Grupa krwi XXVIII	+		
Grupa krwi XXIX	+		
Grupa krwi XXX	+		
Grupa krwi XXXI	+		
Grupa krwi XXXII	+		
Grupa krwi XXXIII	+		
Grupa krwi XXXIV	+		
Grupa krwi XXXV	+		
Grupa krwi XXXVI	+		
Grupa krwi XXXVII	+		
Grupa krwi XXXVIII	+		
Grupa krwi XXXIX	+		
Grupa krwi XL	+		
Grupa krwi XLI	+		
Grupa krwi XLII	+		
Grupa krwi XLIII	+		
Grupa krwi XLIV	+		
Grupa krwi XLV	+		
Grupa krwi XLVI	+		
Grupa krwi XLVII	+		
Grupa krwi XLVIII	+		
Grupa krwi XLIX	+		
Grupa krwi L	+		
Grupa krwi LI	+		
Grupa krwi LII	+		
Grupa krwi LIII	+		
Grupa krwi LIV	+		
Grupa krwi LV	+		
Grupa krwi LVI	+		
Grupa krwi LVII	+		
Grupa krwi LVIII	+		
Grupa krwi LVIX	+		
Grupa krwi LX	+		
Grupa krwi LXI	+		
Grupa krwi LXII	+		
Grupa krwi LXIII	+		
Grupa krwi LXIV	+		
Grupa krwi LXV	+		
Grupa krwi LXVI	+		
Grupa krwi LXVII	+		
Grupa krwi LXVIII	+		
Grupa krwi LXIX	+		
Grupa krwi LXX	+		
Grupa krwi LXXI	+		
Grupa krwi LXXII	+		
Grupa krwi LXXIII	+		
Grupa krwi LXXIV	+		
Grupa krwi LXXV	+		
Grupa krwi LXXVI	+		
Grupa krwi LXXVII	+		
Grupa krwi LXXVIII	+		
Grupa krwi LXXIX	+		
Grupa krwi LXXX	+		
Grupa krwi LXXXI	+		
Grupa krwi LXXXII	+		
Grupa krwi LXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXV	+		
Grupa krwi LXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXVIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXX	+		
Grupa krwi LXXXXXXXXI	+		
Grupa krwi LXXXXXXXII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIII	+		
Grupa krwi LXXXXXXXIV	+		
Grupa krwi LXXXXXXXV	+		
Grupa krwi			