

## **Streszczenie pracy doktorskiej mgr Agnieszki Polczak pt.: „Endotoksemia u pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu: związek z czynnikami ryzyka i rokowaniem”**

Endotoksyna (LPS) to unikalny, powierzchniowy glikolipid bakterii Gramujemnych, który jest jednym z najlepiej poznanych, immunostymulujących składników bakterii. Może ona indukować ogólnoustrojowe zapalenie oraz sepsę. Stymulacja komórek przez LPS następuje wskutek licznych interakcji z następującymi białkami: LBP (LPS binding protein), CD14 (cluster of differentiation 14), MD-2 oraz TLR-4 (Toll-like receptor 4).

W badaniach eksperymentalnych udaru niedokrwiennego mózgu, endotoksemia wpływa niekorzystnie na rokowanie funkcjonalne, śmiertelność oraz zmiany w zachowaniu (związane ze zmianą aktywności i rytmów biologicznych). Wyniki przeprowadzonych dotychczas badań doświadczalnych wskazują na kilka mechanizmów niekorzystnego oddziaływania endotoksyny na krótkoterminowe rokowanie funkcjonalne: indukcja ekspresji chemokin CXC, redukcja fosforylacji oksydacyjnej oraz hypotermia.

Celem niniejszego badania było określenie czy endotoksemia jest czynnikiem prognostycznym udaru niedokrwiennego mózgu. Sformułowano trzy hipotezy robocze: (1) pacjenci z zawałem mózgu mają zwiększoną aktywność endotoksyny we krwi w momencie przyjęcia do Kliniki; (2) aktywność LPS i stężenie białek regulujących tą aktywność wzrasta w trakcie udaru; (3) podwyższone stężenie LPS we krwi wiąże się z gorszym rokowaniem funkcjonalnym. Rekrutacja pacjentów do badania nastąpiła spośród chorych z udarem niedokrwiennym mózgu hospitalizowanych w Klinice Neurologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Uczestnicy grupy kontrolnej rekrutowani byli spośród rodzin pacjentów i pracowników szpitala. Kryteriami włączenia do badania były: (1) udar niedokrwienny mózgu; (2) czas od momentu zachorowania do momentu przyjęcia do szpitala <24 godzin; (3) ilość punktów w zmodyfikowanej skali Rankina (mRS) 0-2 (chorzy samodzielni w codziennych czynnościach przed udarem). Kryteria wyłączenia to: (1) brak świadomej zgody pacjenta; (2) choroby autoimmunologiczne lub przewlekłe choroby zapalne w wywiadzie. Stopień ciężkości udaru przy przyjęciu do szpitala został określony przy pomocy Skali Udarowej Narodowego Instytutu Zdrowia. Rokowanie funkcjonalne zostało ocenione 14 dnia od zachorowania za pomocą mRS. Niekorzystne rokowanie zostało zdefiniowane jako ilość punktów w mRS 3-6, natomiast korzystne rokowanie jako mRS 0-2. Pacjenci z udarem mieli wyższą aktywność LPS w surowicy mierzoną dnia 1 w porównaniu z grupą kontrolną (0,39 vs 0,32 EU/ml,  $p=0,03$ ). Stężenia LBP oraz sCD14 były wyższe dnia 1 u pacjentów z udarem w porównaniu grupą kontrolną (18,7 vs 11,5  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p<0,01$ ) dla LBP oraz (1330 vs 1070 ng/ml,  $p<0,01$ ) dla sCD14. Stężenia LBP i sCD14 w surowicy nie różniły się w dniu 1, podczas gdy mierzone dnia 3 i 6 były wyższe u pacjentów z infekcjami w porównaniu do pacjentów bez infekcji. Aktywność LPS w surowicy nie różniła się pomiędzy osobami z udarem z infekcjami i osobami z udarem bez infekcji. Zaobserwowano wzrost aktywności LPS w surowicy w trakcie udaru. Podobnie stężenia: LBP oraz sCD14 wzrastały w trakcie udaru. Aktywność LPS korelowała z niekorzystnym rokowaniem funkcjonalnym, a związek pomiędzy aktywnością LPS w surowicy a rokowaniem pozostawał znamieny statystycznie po uwzględnieniu w modelu ilości punktów w skali NIHSS, wieku oraz infekcji (OR=3,94; 95%CI: 1,03-15,02;  $p=0,04$ ). Reasumując, pacjenci z udarem niedokrwiennym mózgu mają podwyższoną aktywność LPS, która zwiększa się dodatkowo w kolejnych dniach udaru i koreluje z niekorzystnym, krótkoterminowym rokowaniem funkcjonalnym.

### **STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM**

Endotoxin (LPS) is a unique glycolipid located in the outer membrane of Gramnegative bacteria. LPS is one of the best studied immunostimulatory components of bacteria and can induce systemic inflammation and sepsis. LPS stimulation of mammalian cells occurs

through a series of interactions with several proteins including LBP (LPS binding protein), CD14 (cluster of differentiation 14), MD-2 and TLR-4 (Tolllike receptor 4). In experimental studies endotoxemia have an unfavourable impact on functional outcome, mortality and changes in behavior. Multiple experimental studies demonstrated that the mechanisms linking endotoxemia with unfavourable outcome include: CXC chemokines expression, reduction of oxidative phosphorylation and hypothermia. The aim of our study was to determine if serum endotoxin activity is increased in stroke patients and correlates with functional outcome. The participants for this study were recruited from stroke patients hospitalized in Department of Neurology, Jagiellonian University, Krakow, Poland. The inclusion criteria were: (1) ischemic stroke; (2) time from stroke symptoms onset to admission < 24 h; (3) prestroke modified Rankin Scale (mRS) 0-2. Exclusion criteria were: (1) a lack of patient's informed consent and (2) history of autoimmune or chronic inflammatory diseases. Serum endotoxin activity was higher in stroke patients compared to control at day 1 (0,39 vs 0,32 EU/ml,  $p=0.03$ ). Serum LBP and CD14 levels were higher in stroke patients compared to control at day 1: (18,7 vs 11,5  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p<0,01$ ) and (1330 vs 1070 ng/ml,  $p<0,01$ ). Serum LBP and CD14 levels did not differ between stroke patients with infection and patients without infection at day 1, but measured on day 3 and 6 were higher in patients with infection compared to patients without infection. Serum LPS activity as well as concentration of LBP and CD14 significantly rose during stroke. The higher LPS activity predicted worse functional outcome and the association between LPS activity and outcome remained significant after adjusting for NIHSS score on admission and age (OR=3,94; 95%CI: 1,03-15,02;  $p=0,04$ ) and remained essentially the same when model was adjusted for infections.