FARMAKOTERAPIA W PSYCHIATRII I NEUROLOGII, 2003, 4, 21–39

Beata Tarnacka[1], Grażyna Gromadzka[1,2], Anna Członkowska[1,2]

Podwyższony poziom kompleksów immunologicznych oraz obecność w nich antygenu *Chlamydii pneumoniae* i przeciwciał przeciwko cytomegalowirusowi u pacjentów ze świeżym udarem niedokrwiennym mózgu

Increased serum levels of immune complexes (IC) and the presence of antigens of Chlamydia pneumoniae and Cytomegalovirus in IC in patients with ischemic stroke

[1] II Klinika Neurologii Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie
[2] Zakład Farmakologii Klinicznej i Doświadczalnej Akademii Medycznej w Warszawie

Streszczenie

Mechanizm reakcji immunologicznych związanych z patogenezą oraz przebiegiem klinicznym „ostrych incydentów naczyniowych" nie został w pełni poznany. Celem pracy było zbadanie obecności krążących kompleksów immunologicznych, u pacjentów z potwierdzonym świeżym udarem niedokrwiennym mózgu w pierwszym miesiącu po zachorowaniu, oraz określenie obecności w KIK w wybranych przypadkach antygenu lipopolisacharydowego *Chlamydii pneumoniae* i przeciwciał przeciwko cytomegalowirusowi (CMV). Stężenie KIK badano w grupie: 179 pacjentów, 122 dobranych wiekowo oraz 112 „młodych" osób z grupy kontrolnej metodą precypitacji. Obecność antygenu polisacharydowego Chlamydii pneumoniae i przeciwciał przeciwko badano metodą ELISA, po wcześniejszej dysocjacji KIK metodą wysokiego pH. Średnie stężenie KIK było znacząco podwyższone u pacjentów z udarem, podwyższone stężenie KIK okazało się być niezależnym czynnikami ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu, związane było również ze statystycznie bardziej nasilonym deficytem neurologicznym oraz zwiększoną śmiertelnością 30-dniową. Zaobserwowano również znamiennie statystycznie częstsze występowanie antygenu chlamydiowego oraz przeciwciał klasy IgG przeciwko CMV w KIK u pacjentów z udarem w stosunku do grup kontrolnych. Praca stanowi pierwsze doniesienie o związku podwyższonego poziomu KIK w surowicy a przebiegiem klinicznym, u pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu, oraz wskazuje na ważne powiązanie obecności specyficznego antygenu chlamydiowego oraz przeciwciał anty-CMV w KIK z występowaniem udaru.

Summary

The mechanisms of immune reaction involved in the pathogenesis and clinical course of acute vascular incidents are still not completely understood. The aim of this study was to examine the presence of immune complexes (IC) in the acute stroke setting and the first month thereafter and to characterize IC by analyzing the contents of chlamydial lipopolysaccharide and anti-cytomegalovirus (CMV) antibodies in IC.

Serum concentration of IC was investigated in 179 stroke patients, 122 "old" controls and 112 "young" controls, by the precipitation method. The presence of chlamydial lipopolisaccharyde and anti-CMV antibodies was investigated in some IC preparations by the ELISA method after earlier dissociation of IC into components by high pH treatment.

Significantly increased serum IC concentration in stroke patients was noticed. Increased serum IC concentration was revealed as an independent strong stroke risk factor and was connected with significantly worse neurological status and increased 30-day mortality rate. A significantly larger proportion of stroke patients than controls had *Chlamydia pneumoniae* antigen and anti-CMV antibodies in IC.

This study provides the first evidence of an association between increased serum level of IC and the clinical course of cerebral ischemia and identifies a potentially important association of *C. pneumoniae* and CMV-specific IC with stroke incidence.

Słowa kluczowe: kompleksy immunologiczne, udar mózgu, antygen lipopolisacharydowy *Chlamydii pneumoniae*, przeciwciała przeciwko cytomegalowirusowi

Key words: *Chlamydia pneumoniae*, Cytomegalovirus, immune complex, ischemic stroke

Wprowadzenie

Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że przewlekła obecność krążących kompleksów immunologicznych (KIK) może wiązać się z przyśpieszeniem miażdżycogenezy przy braku obecności innych czynników miażdżycy (24, 32). Pierwsze wzmianki na temat KIK i miażdżycy pojawiły się w latach sześćdziesiątych ubiegłego wieku [2]. Rola KIK w patologii naczyniowej była już przedmiotem badań na zwierzętach. Odkładanie się KI w naczyniach w tym materiale związane było z: 1) aktywacją komplementu i degranulacją bazofilii, 2) zwiększoną proliferacją komórek mięśni gładkich oraz podwyższoną syntezą glikozaminoglikanów i włókien kolagenowych, 3) infiltracją ścian naczyń przez monocyty oraz limfocyty z krwi obwodowej (37). Kompleksy immunologiczne mogą być związane z patologią naczyń także i u ludzi, np. u pacjentów chorujących na SLE dochodzi do przewlekłego tworzenia KI. U chorych tych zaobserwowano wcześniejsze powstawanie zmian miażdżycowych i ich powikłań takich, jak zawał serca czy udar mózgu. Leflert i wsp. oraz Nityanand i wsp. w swoich badaniach zaobserwowali podwyższony poziom KI u młodych osób chorujących przed 45 rokiem życia na powikłania miażdżycy (zawał serca, czy chromanie przestankowe) (24, 32).

Czynnikiem spustowym (antygenem) do wytwarzania się KI w procesie miażdżycowym mogą być cząsteczki cholesterolu, głównie LDL (low-density lipoproteins), fosfolipidy, bądź bakterie czy wirusy. Beaumont i wsp. wykazali miażdżycogenne działanie KIK zawierających lipoproteiny na naczynia królików pozostających na diecie bogatej w tłuszcze (2). W ostatnim czasie pojawiło się bardzo wiele prac, ukazujących związek etiopatologiczny zakażeń bakteryjnych i wirusowych z procesem miażdżycowym (25, 4, 1, 29, 10, 42). Infekcyjna teoria miażdżycy znana jest już od 1908 r., kiedy to Wiliam Osler wysunął tę hipotezę, jednak została ona wkrótce zarzucona ze względu na fakt, że badania bakteriologiczne i serologiczne znajdowały się jeszcze w stadium początkowym (33). Dopiero w ostatnim piętnastoleciu dokonał się nawrót do teorii infekcyjnej.

Wśród czynników mogących wywierać długotrwały wpływ uszkadzający na śródbłonek naczyń wymienia się przewlekłe lub nawracające zakażenia: *Chlamydia*

pneumoniae (Chp), *Helicobacter pylori*, wirusami z grupy *Herpes* (1, 16, 24, 25, 48). Największe zainteresowanie *Chlamydią* w procesie miażdżycowym pojawiło się w 1988 r., kiedy to Saikku i wsp. opublikowali pracę, w której wykazali związek między dodatnimi mianami przeciwciał przeciwko omawianej bakterii a występowaniem zawału serca (14). W badaniach tych oznaczano występowanie przeciwciał przeciwko Chp oraz kompleksów immunologicznych zawierających antygen lipopolisacharydowy bakterii u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca i stwierdzono, że na około 6 miesięcy przed incydentem wieńcowym następował wzrost występowania KI w stosunku do grupy kontrolnej, u której poziom został niezmieniony.

Dotychczas nie badano jeszcze roli KI, u pacjentów z ostrym udarem niedokrwiennym, chociaż badano już rolę komórkowej odpowiedzi immunologicznej po wystąpieniu udaru oraz jej wpływu na prognozę w udarze (6, 46).

Celem pracy było zbadanie:

- poziomu kompleksów immunologicznych w pierwszej 1, 7 dobie oraz w okresie miesiąca po wystąpieniu objawów udaru niedokrwiennego mózgu,
- określenie ich specyficzności poprzez badanie obecności antygenów Chp i przeciwciał anty-CMV,
- stwierdzenie związku pomiędzy stężeniem KI a ryzykiem udaru oraz rokowaniem w tej chorobie.

Materiał

Badaniem objęto pacjentów hospitalizowanych z powodu świeżego udaru niedokrwiennego mózgu (UNM) w II Klinice Neurologicznej IPiN w Warszawie, w okresie od stycznia 1998 r. do maja 1999 r. Do badań zakwalifikowano 179 pacjentów, którzy przyjęci byli w czasie do 24 godzin po wystąpieniu objawów udaru.

Rozpoznanie udaru mózgu przyjęto zgodnie z definicją WHO; do badań kwalifikowano jedynie pacjentów z dokonanym udarem niedokrwiennym mózgu. Rozpoznania poszczególnych postaci udaru niedokrwiennego mózgu przeprowadzono w oparciu o wyniki badań neuroobrazujących oraz badań ultrasonograficznych, wyróżniając według zaleceń Stroke Data Bank (SDB): udary niedokrwienne spowodowane zmianami miażdżycowymi w: tt. zewnątrzmózgowych i wewnątrzmózgowych, udary zatokowate, zatory naczyń mózgowych pochodzenia sercowego, udary o nieznanej etiologii i innej etiologii.

Dane o chorych gromadzone zgodnie z SDB (11), obejmowały informacje odnośnie: danych demograficznych, jak: wiek i płeć, obciążenia czynnikami ryzyka, okoliczności wystąpienia objawów neurologicznych.

Badania pracowniane obejmowały: badania morfologiczne krwi, OB, badania biochemiczne krwi (cholesterol całkowity i jego frakcje LDL i HDL, trójglicerydy).

Stan neurologiczny przy przyjęciu do szpitala oraz w 7 i 30 dobie po wystąpieniu objawów udaru oceniano według skali Skandynawskiej, przyznając 58 punktów za stan prawidłowy, 0 zgon. Oceniano stan przytomności w skali: 0 punktów – śpiączka, 2 pkt – półśpiączka, 4 pkt. – senność patologiczna, 6 pkt. – pełna

przytomność. Motoryka gałek ocznych: 0 punktów – skojarzone zbaczanie gałek ocznych, 2 pkt. – niedowład spojrzenia do boku, 4 pkt. – prawidłowa motoryka gałek ocznych. Niedowład kończyn górnych i dolnych oceniano obustronnie (dotyczący ramienia, ręki, uda, podudzia, stopy), przyjmując: 6 punktów – zakres ruchu i siła prawidłowa, 5 pkt. – niewielki niedowład, 4 pkt. – niedowład uniemożliwiający pokonanie oporu, 2 pkt. – niedowład uniemożliwiający przezwyciężenie sił grawitacji (niemożność uniesienia kończyny, ruchy możliwe tylko w płaszczyźnie poziomej), 0 pkt. – brak ruchu.

Stan sprawności oceniano Skalą Barthel w 7 i 30 dniu po wystąpieniu objawów udaru. Pełna sprawność oceniana jest na 20 punktów, zaś 0 punktów oznacza całkowitą niesprawność. Skala dotyczy oceny oddawania stolca (0 pkt. – nietrzymanie, 1 pkt. – sporadyczne nietrzymanie, kontrolowanie), oddawania moczu (0 pkt. – nietrzymanie, 1 pkt. – sporadyczne zaburzenia, 3 pkt. – kontrolowany), pielęgnacji czyli: mycie, czesanie, golenie (0 pkt. – wymaga pomocy, 1 pkt. – nie wymaga pomocy), potrzeb fizjologicznych (0 pkt. – zależny, 1 pkt. – z pomocą, 2 pkt. – załatwia samodzielnie), karmienie (0 pkt. – karmiony, 1 pkt. – z pomocą, 2 pkt. – samodzielnie), przemieszczanie się łóżko–krzesło (0 pkt. – niezdolny, 1 pkt. – z dużą pomocą, 2 pkt. – z niewielką pomocą, niezależnie), chodzenie (0 pkt. – niezdolny, 1 pkt. – z pomocą wózka, 2 pkt. – z pomocą osoby, 3 pkt. – samodzielnie), ubieranie się (0 pkt. – niezdolny, 1 pkt. – z pomocą, 2 pkt. – samodzielnie), chodzenie po schodach (0 pkt. – niezdolny, 1 pkt. – z pomocą, 2 pkt. – samodzielnie), kąpanie (0 pkt. – z pomocą, 1 pkt. – samodzielnie).

Wszyscy pacjenci lub ich rodziny byli pytani o ewentualne objawy infekcji 4 tygodnie przed przyjęciem do szpitala (kaszel, bóle gardła, objawy zapalenia górnych i dolnych dróg oddechowych, zapalenia układu moczowo-płciwego) celem eliminacji ich z grupy badanej. Również pacjenci z klinicznymi objawami ww. infekcji oraz infekcją wewnątrzszpitalną byli wykluczeni z badania. Odnotowywano w badaniu występowanie odsetka zgonów.

Grupę kontrolną stanowiły:

- 122 osoby, obarczone czynnikami ryzyka UNM, dobrane pod względem wieku i płci. Była to grupa ludzi rekrutująca się spośród personelu szpitala, rodzin, rodzin pacjentów, pacjentów hospitalizowanych z powodu padaczki, choroby Parkinsona, zmian zwyrodnieniowych kręgosłupa. Do grupy tej kwalifikowano tylko osoby, które nie przebyły udaru mózgu i u których nie stwierdzono objawów infekcji w trakcie pobierania krwi oraz nie podawały one tych objawów w okresie miesiąca przed pobraniem.
- 112 osób uznanych za zdrowe, w średnim wieku 35 (19,5–41) lat, rekrutujących się z personelu szpitala, znajomych i zdrowych dawców krwi.

Wszystkich ochotników informowano o celu pobierania krwi.

Badanie obecności antygenów Chp w KI były wykonywane w grupie 44 pacjentów z udarem, 55 osób z grupy kontrolnej dobranej wiekowo oraz 56 osób z młodej grupy kontrolnej. Badanie przeciwciał anty-CMV w KI, były wykonywane w grupie 56 osób z udarem, 53 osób z dobranej wiekowo grupy kontrolnej oraz 57 z grupy młodej.

Metoda

Wykrywanie krążących kompleksów immunologicznych

Zasada metody:

Do wykrywania KIK zastosowano metodę precypitacji glikolem polietylenowym (PEG) wg Schutzera i wsp. (41).

Do 0,3 ml surowicy dodawano 2,7 ml buforu boranowego o pH 8,4 i 4,5 ml 5% PEGu, całość mieszano. Pozostawiano przez 18 godzin w temperaturze 4°C, następnie wirowano 20 minut w tej samej temperaturze (2500 obrotów). Zlewano odsącz jednym ruchem, probówki ustawiano na ligninie do góry dnem na okres 20 minut. Następnie dodawano 0,3 ml wody destylowanej i 2,7 ml zasady sodowej. Wynik odczytywano na spektofotometrze przy długości fali 280 n. Próbę ślepą stanowiło: 0,3 ml wody i 2,7 zasady sodowej.

Za wartości powyżej normy przyjmowano wyniki powyżej wartości mediany dla grupy kontrolnej w wieku zbliżonym do grupy badanej. Wartość mediany wynosiła: 0,098 (gęstość optyczna – OD).

Badanie obecności antygenu Chp i przeciwciał klasy IgG przeciwko CMV w kompleksach immunologicznych

Badanie wykonywano u pacjentów z udarem w pierwszym pobraniu tj. do 24 godzin po wystąpieniu udaru oraz u porównywalnej liczby osób z grup kontrolnych.

a) W pierwszej kolejności wytrącano KI. Do 0,3 ml surowicy badanej dodawano 2,7 ml buforu boranowego o pH 8,4 i 4,5 ml 5%PEGu, całość mieszano. Pozostawiano przez 18 godzin w temperaturze 4°C, następnie wirowano 20 minut w tej samej temperaturze (2500 obrotów). Zlewano odsącz jednym ruchem, probówki ustawiano na ligninie do góry dnem na okres 20 minut. W drugiej kolejności KIK, celem badania obecności antygenu Chp i przeciwciał klasy IgG przeciwko CMV dysocjacjowano poprzez dodanie 100 ml 0,1 mol/l boranu sodowego.
b) Następnie przystępowano do dalszych badań przy użyciu metody ELISA.
c) Badanie obecności antygenu Chp w KIK. Badanie wykonywano testem immunoenzymatycznym ELISA firmy DAKO-IDEIA Chlamydia.

Podstawą do oceny testu stanowiła reakcja barwna między enzymem związanym z monoklonalnym przeciwciałem skierowanym przeciwko antygenowi Chp a substratem dla tego enzymu. Wyniki były określane jako średnia absorpcja OD_{492} z dwu próbek po odjęciu tła, tj. średniego odczytu z szeregu zagłębień, do których pierwotnie dodano zamiast surowicy PBS. Pomiarów absorpcji optycznej dokonywano na spektrofotometrze przy długości fali 492nm przy pomocy spektrofotometru Stat Fax 2100 microplate reader, Awareness Technology Inc. Palm City USA.

Wyniki uznawano za pozytywne, gdy wartości absorpcji były większe o 0,05 od średniej absorpcji wyliczonej z kontroli negatywnej, wartość ta wynosiła 0,599 OD. Wartości absorpcji kontroli negatywnej były większe lub równe 0,3 OD.

Badanie przeciwciał klasy IgG przeciwko CMV w kompleksach immunologicznych

Badanie przeprowadzano przy użyciu zestawu Virostatika anti-CMV do badań metodą ELISA firmy ORGANON TEKNIKA.

Podstawą procedury badawczej była reakcja barwna między enzymem związanym z monoklonalnym przeciwciałem przeciwko CMV i antygenem CMV a substratem dla enzymu.

Wyniki były określane jako średnia absorpcja OD_{450} z dwu próbek po odjęciu tła, tj. średniego odczytu z szeregu zagłębień, do których pierwotnie dodano zamiast surowicy PBS. Pomiarów absorpcji optycznej dokonywano na spektrofotometrze przy długości fali 450 nm. Wartość cut-off obliczano wg wzoru: (COV = 0,5 (NCx + PCx) (NCx – średnia z 3 kontroli pozytywnych; PCx – średnia z 3 kontroli negatywnych). Wartość cut-off wynosiła 0,5 OD.

Metody statystyczne

Analiza statystyczna była wykonywana przy użyciu metod STATISTICA PL. Wyniki badań prezentowane są w tabelach. Dla zmiennych kategorycznych podano liczbę pacjentów z wyróżnioną cechą, procent i jego 95% przedział ufności. Dla zmiennych ciągłych podano liczbę wykonanych pomiarów, wartość średnią badanego parametru, oraz jej 95% przedział ufności.

Analizę zmiennych kategorycznych prowadzono przy zastosowaniu testów χ^2 lub Fishera – w zależności od liczby dostępnych przypadków. Średnie wartości parametrów ciągłych porównywano testem t-Studenta i Wilcoxona.

Wielowymiarową analizę czynników zwiększających prawdopodobieństwo powstania udaru jak: wiek, nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu, migotanie przedsionków, choroba niedokrwienna serca, przemijające niedokrwienie mózgu, poprzedni udar mózgu oraz stężenie KI we krwi przeprowadzono przy użyciu metody regresji logistycznej. Podobny model regresji logistycznej był wykorzystany do badania związku antygenu Chp oraz przeciwciał przeciwko CMV w KI a ryzykiem wystąpienia udaru.

W celu wyselekcjonowania zmiennych najsilniej związanych z ryzykiem powstania udaru przeprowadzono krokową eliminację zmiennych metodą wsteczną (*backward variable selection*).

W celu porównania średnich wielkości analizowanych parametrów w grupach pacjentów, wyznaczonych przez typ udaru, zastosowano jednowymiarową analizę wariancji. W pierwszym kroku wykonano test ogólny weryfikujący hipotezę o braku różnic. W przypadku zaobserwowania różnic znamiennych statystycznie do wyodrębnienia grup, które można uznać za istotnie różne stosowano test porównań wielokrotnych Tukeya.

Współzależności zmiennych ciągłych przedstawiano obliczając współczynnik korelacji Spearmana oraz obliczając test jego istotności.

Wyniki

Analizowana grupa pacjentów obejmowała 179 chorych, z udarem niedokrwiennym mózgu (pierwszym lub kolejnym), przyjętych do kliniki w czasie 24 godzin od zachorowania. Średni wiek chorych wynosił 73,6 ± 12,1 lat. W omawianej grupie pacjentów 88 osób stanowili mężczyźni, a 91 – kobiety. Średni wiek mężczyzn wynosił 69,5 ± 11,5, zaś średni wiek kobiet 77,5 ± 11,7.

Charakterystykę czynników ryzyka predysponujących do wystąpienia udaru w grupie pacjentów z udarem i grupie kontrolnej podano w tabeli 1.

Tabela 1. Częstość występowania (w %) czynników ryzyka udaru mózgu w grupie chorych i grupie kontrolnej

	Pacjenci z udarem n = 179			Grupa kontrolna n = 122		
	n	%	95% CI	n	%	95% CI
Nadciśnienie tętnicze	113	63,1**	55,1–70,2	51	41,8	33,1–50,6
Cukrzyca	24	13,5	8,5–18,5	15	12,3	6,5–18,1
Migotanie przedsionków	42	23,6***	17,4–29,8	5	4,1	0,6–7,6
Niewydolność krążenia	50	27,7***	21,1–34,3	4	3,3	0,1–6,4
Choroba wieńcowa	52	28,8**	22,1–35,5	16	13,1	7,1–19,1
Przebyty zawał serca	30	16,9*	11,4–22,5	7	5,7	1,6–9,9
Chromanie przestankowe	12	6,9	3,1–10,7	10	8,2	6,0–11
Nikotynizm	34	19,3	13,5–25,2	26	21,3	18–27,9
TIA w wywiadzie	23	13*	8–17,9	6	4,9	2,5–6,7

* $p<0,05$; ** $p<0,001$; *** $p<0,0001$ w porównaniu między dwiema grupami; CI – przedział ufności

Stężenie KI w surowicy u pacjentów z udarem

Średnia koncentracja KIK w pierwszym dniu udaru była statystycznie wyższa od mierzonej w 7 i 30 dniu udaru. Wszystkie wartości różniły się statystycznie od badanych grup kontrolnych i były od nich wyższe (tabela 2).

Tabela 2. Stężenie KIK w 1,7 i 30 dobie u pacjentów z udarem niedokrwiennym, w porównaniu z grupami kontrolnymi

	Pacjenci z udarem n = 179			Grupy kontrolne	
	1 dzień	7 dzień	30 dzień	Dobrana wiekowo n = 122	Młoda n = 112
KIK (OD)	0,191 (0,172–0,210)[a]	0,142 (0,127–0,167)[ab]	0,121 (0,119–0,159)[ab]	0,099 (0,090–0,107)	0,106 (0,095–0,117)

a – wartości wyższe statystycznie od dobranej wiekowo grupy kontrolnej ($p<0,001$) i młodej grupy kontrolnej ($p<0,01$)

b – wartości statystycznie wyższe od 1 dnia, $p<0,05$,

Stwierdzono, że w grupie chorych ze świeżym udarem niedokrwiennym znacznie częściej występowały podwyższone wartości stężenia KI, w porównaniu z grupą kontrolną (tabela 3). Stosując metody analizy wieloczynnikowej podjęto próbę oceny ryzyka wystąpienia udaru mózgu w zależności od stężenia KIK. W oparciu o metodę regresji logistycznej stwierdzono, że podwyższone stężenie KIK jest niezależnym czynnikiem ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu (tabela 4). Stwierdzono też tendencję do narastania ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu w miarę wzrostu stężenia KI (tabela 5). Nie stwierdzono różnicy w poziomie cholesterolu całkowitego oraz LDL w grupie pacjentów z podwyższonym, czy prawidłowym stężeniem KI (poziom cholesterolu w tych grupach odpowiednio wynosił: 5,59 ± 1,25 mmol/L, 6,45 ± 1.06 mmol/L; oraz LDL odpowiednio: 4,02 ± 1,59 mmol/L i 4,76 ± 0,91 mmol/L. Wśród chorych z udarem stwierdzono jednak pozytywną korelację między stężeniem KIK a cholesterolem całkowitym (r = 0,19; P = 0,030 oraz poziomem LDL (r = 0,22; P = 0,015).

Tabela 3. Liczba (procenty) pacjentów oraz osób z grup kontrolnych z podwyższonym stężeniem KI

	Liczba pozytywnych/całość	% (95% CI)
Pacjenci z udarem 1 dzień[a]	142 / 179	79,3 (73,4–85,3)
Pacjenci z udarem 7 dzień[b]	114 / 164	69,5 (62,5–76,6)
Stroke 30th day	93 / 150	62,0 (54,2–69,8)
Młoda kontrola	57 / 112	50,9 (41,6–60,2)
Starsza kontrola	65 / 112	58,0 (48,9–67,2)

a – p = 0,0000 w stosunku do młodej i starszej grupy kontrolnej;
p = 0,0369 w stosunku do 7 dnia;
p = 0,00005 w stosunku do 30 dnia
b – p = 0,005 w stosunku do starszej grupy kontrolnej;
p = 0.0018 w stosunku do młodej grupy kontrolnej

Tabela 4. Czynniki zwiększające ryzyko wystąpienia udaru niedokrwiennego mózgu oszacowane metodami regresji logistycznej

Czynnik ryzyka	Iloraz szans (95% CI)	p
KIK	2,35 (1,26–4,39)	0,0075
Niewydolność serca	7,90 (2,61–23,86)	0,0003
Nadciśnienie tętnicze	1,76 (1,02–3,05)	0,0423
Migotanie przedsionków	4,86 (1,73–13,65)	0,0028
Zawał serca	2,70 (1,02–7,16)	0,0450
Palenie tytoniu	2,12 (1,12–4,02)	0,0217

Stężenie KI we krwi, a stan neurologiczny i prognozowanie w tej chorobie

Pacjenci z podwyższonym stężeniem KIK, mieli statystycznie bardziej nasilony deficyt neurologiczny w skali Skandynawskiej w stosunku do osób z prawidłowym

Tabela 5. Iloraz szans (OR) oraz 95% przedziały ufności dla wystąpienia udaru niedokrwiennego w porównaniu do stężenia KIK

Stężenia KIK	Szansa wystąpienia udaru		
	OR	95% CI	p
Najniższe	1,000		
Następne –2	0,641	0,300–1,371	0,253
Następne – 3	2,754	1,335–5,680	0,006
Następne – 4	4,057	1,876–8,775	0,000
Najwyższe	30,037	8,686–103,684	0,000

OR = iloraz szans
CI = przedział ufności
Przedziały stężeń KIK: 0.000–0.014, 0.015–0.071, 0.072–0.101, 0.102–0.140, 0.141–0.208, 0.209–0.776 (OD_{280})

poziomem w 1 dobie (32 [95% CI, 30–39]; 41 [95% CI 37–46], P<0,05) oraz w 7 dniu (40,5 [95% CI, 38–43]; 46 [95% CI 42–50], P<0,05) po wystąpieniu udaru.

U pacjentów z podwyższonym stężeniem KIK śmiertelność 30-dniowa była statystycznie wyższa, niż u pacjentów, u których wartości te były w normie lub poniżej normy. W grupie 142 pacjentów z udarem z podwyższonym stężeniem KI 24 osób zmarło (16,9% [95% CI, 10,7–23,1]), a w grupie z prawidłowym stężeniem jedynie 1 z 37 osób (2,7% [95% CI, 2,5–7,9], P = 0,01)

Stężenie KI we krwi, a typ udaru

W grupie pacjentów z udarem:

- 31,3% (95% CI, 24,5–38,1) miało udar pochodzenia miażdżycowego,
- 21,2% (95% CI, 15,2–27,2) miało udar lakunarny,
- 20,1% (95 CI, 14,2–26) miało udar związany z zatorowością pochodzenia sercowego,
- 27,4% (95 CI, 20,8–34,9) nie została ustalona przyczyna udaru.

Nie stwierdzono różnic w poziomie KI w zależności od typu udaru, wyniki te podano w tabeli 6.

Częstość występowania antygenu Chp oraz przeciwciał klasy IgG przeciwko CMV w KIK

Częstość występowania antygenu Chp oraz przeciwciał klasy IgG przeciwko CMV w KIK, była statystycznie wyższa u pacjentów z udarem w stosunku do grup kontrolnych (tabela 7a, b).

U pacjentów z obecnym antygenem Chp w KIK, znamiennie częściej występowało migotanie przedsionków w wywiadzie, w stosunku do grupy pacjentów bez antygenu (odpowiednio 32% i 0%, P<0,01) oraz udar niedokrwienny (24% i 5,3%, P<0,05).

Tabela 6. Stężenie KIK w zależności od typu udaru

	Średnie stężenie OD_{280}
Typ udaru (pacjenci)	Pacjenci
Zmiany miażdżycowe tt. zewnątrz-czaszkowych n = 37	0,27 (0,05)
Zmiany miażdżycowe tt. wewnątrz-czaszkowych n = 19	0,28 (0,06)
Zator pochodzenia sercowego n = 36	0,28 (0,06)
Udar zatokowaty n = 38	0,25 (0,06)
Inna i nieokreślona n = 49	0,26 (0,07)
Młoda kontrola	0,22 (0,05)
Starsza kontrola	0,21 (0,05)

* – podano wartości średniej (OD)

Tabela 7a. Częstość występowania antygenu Chp u pacjentów z udarem i grupach kontrolnych

	Chp (+)	**Chp (–)**
	Procent oraz 95% CI	Procent oraz 95% CI
Pacjenci z udarem n = 44	56,8* (37,4; 76,2) n = 25	43,2 (23,8; 62,6) n = 19
Kontrola starsza n = 59	27,1 (5,3; 48,9) n = 16	72,9 (51,1; 94,7) n = 43
Kontrola młodsza n = 56	17,9 (–5,9; 41,6) n = 10	82,1 (58,4; 105,9) n = 46

* $p<0,05$ w porównaniu z grupami kontrolnymi

Tabela 7b. Częstość występowania przeciwciał przeciwko CMV w KIK u pacjentów z udarem i grupach kontrolnych

	CMV (+)	**CMV(–)**
	Procent oraz 95% CI	Procent oraz 95% CI
Pacjenci z udarem n = 56	75,0* (61,9; 88,1) n = 42	25,0 (11,9; 38,1) n = 14
Kontrola starsza n = 53	11,3 (–14,0; 36,7) n = 6	88,7 (63,3; 114,0) n = 47
Kontrola młodsza n = 57	22,8 (0,0; 45,6) n = 13	77,2 (54,4; 100,0) n = 44

* $p<0,05$ dla porównań z grupami kontrolnymi

Pacjenci z obecnymi przeciwciałami anty-CMV w KIK mieli zaś statystycznie częściej TIA w wywiadzie, w stosunku do grupy bez przeciwciał (9,3% i 0%, P<0,05).

Podwyższony poziom przeciwciał przeciwko CMV oraz obecność antygenu Chp w KI związane były ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia udaru mózgu [iloraz szans (OR) 6,0; 95% CI, 1,6–22,29; P = 0,007; OR 7,6; 95% CI, 3,21–17,96; P = 0,00001).

Omówienie

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono znamiennie wyższe stężenie kompleksów immunologicznych u pacjentów ze świeżym udarem niedokrwiennym mózgu.

Podwyższone stężenie KIK w badanych trzech punktach czasowych stwierdziliśmy u prawie 80% pacjentów z udarem; w dobranej wiekowo grupie kontrolnej – u 58%, a w młodej wiekowo grupie kontrolnej – u 51% osobników.

Podwyższone stężenie KIK obserwowano również u pacjentów z zawałem serca. Szondy i wsp. badał stężenie KIK u pacjentów ze świeżym zawałem serca i stwierdził ich obecność u 59% pacjentów w 1 dobie zawału, następnie w 3 dobie u 77%, zaś później obserwował tendencję spadkową do 21 dnia (63% pacjentów) (45). Podzielili oni pacjentów na trzy grupy: u jednych KIK występowały od początku zawału, potem miały tendencję wzrostową, by po okresie 21 dni wrócić do stężenia minimalnego. U drugiej grupy pacjentów stężenie KIK rosło w 2 i 3 tygodniu obserwacji, a w trzeciej grupie było wysokie od początku obserwacji aż do jej końca. Autorzy w pierwszym przypadku nie wykluczali pochodzenia kompleksów z martwicy ogniska zawałowego. W drugim przypadku wzrost stężenia KIK tłumaczyli zespołem Dresslera, zaś w trzecim przypadku rozważali sam proces miażdżycowy jako przyczynę stałego utrzymywania się KIK w krążeniu u pacjentów ze świeżym zawałem serca.

W przypadku naszych pacjentów stężenie KIK było najwyższe w 1 dobie udaru, potem osiągnęło poziom platau i utrzymywało się na stałym podwyższonym poziomie. Kompleksy immunologiczne po ekspozycji antygenowej pozostają w krwiobiegu około 24 dni. Ich powstawanie u pacjentów ze świeżym udarem można by tłumaczyć jako reakcję na martwicę w ognisku niedokrwiennym, w tym jednak przypadku dochodzić powinno do stopniowej eliminacji kompleksów aż do ich całkowitego zaniku we krwi. W naszych badaniach zaobserwowaliśmy spadek KIK w 7 dobie, jednak później stężenie ich pozostawało niezmienione. Nie możemy jednak wykluczyć tej hipotezy.

Inną możliwością, która mogła by indukować nadmierne tworzenie KI na początku ostrego incydentu udarowego mogłoby być nagłe uwolnienie się antygenu z uszkodzonych miejsc w mózgu do krwioobiegu. Obecność Chp w ścianie tętnic mózgowych została wykazana w różnych pracach . Virok i wsp. stwierdzili obecność DNA tego organizmu w 33% badanych tt. środkowych mózgu zmienionych

miażdżycowo, zaś Nadareishvili i wsp. w zmienionych miażdżycowo tt. szyjnych (30, 47). Nagłe uwolnienie Chp czy też innego antygenu z naczyń z okolicy objętej udarem może stanowić czynnik pobudzający do tworzenia KI.

Możemy też postawić hipotezę, że znamiennie podwyższony poziom KIK w pierwszej dobie udaru jest wynikiem uaktywnienia się przewlekłej infekcji wirusowej bądź bakteryjnej u pacjentów z udarem, ale nie dawała ona wyraźnych objawów klinicznych, bowiem wszyscy pacjenci z infekcją poprzedzającą udar zostali przez nas wykluczeni z naszych badań. Wiele jednak infekcji, np. Chp lub CMV jest bezobjawowych (13). Ponieważ nie mogliśmy wykluczyć, że wzrost KI wystąpił przed samym pojawieniem objawów udaru, wykonaliśmy analizę regresji logistycznej włączając do modelu wartości poziomu KI mierzone do 24 godzin po wystąpieniu udaru i stwierdziliśmy, że okazały się one niezależnym czynnikiem ryzyka udaru niedokrwiennego. Obecność antygenu Chp w KI oraz podwyższony poziom przeciwciał anty-CMV, również w modelu tym. były związane ze wzrostem ryzyka udaru niedokrwiennego. Nadareishvili i wsp, uważają, że obecność Chp w plakach miażdżycowych może być odpowiedzialna za jej destabilizację (47). Stwierdzili oni ścisły związek pomiędzy obecnością Chp, a gromadzeniem się limfocytów T u symptomatycznych pacjentów. Nie można też wykluczyć, że Chp powoduje destabilizację blaszki miażdżycowej poprzez indukcję odkładania KI w naczyniach. Kompleksy, mogły by odkładać się w ścianie naczyń, powodując w ten sposób lokalny proces zapalny i działać prozakrzepowo. Tezę, że znamiennie podwyższony poziom KIK w pierwszej dobie udaru jest wynikiem uaktywnienia się przewlekłej infekcji wirusowej, bądź bakteryjnej u pacjentów z udarem, mogą poprzeć też wyniki pracy Fursta i wsp., którzy udowodnili, że u 40–76% pacjentów można stwierdzić KIK przez okres 2–4 tygodni po wystąpieniu zawału serca, a następnie dochodzi do ich eliminacji (12). Jednak również i w tym przypadku KIK mogą pochodzić z martwiczych tkanek. W przypadku naszych pacjentów z udarem nie dochodziło do eliminacji kompleksów z krążenia w trakcie 30 dniowej obserwacji, stąd nasz wniosek, iż być może dochodzi w tym przypadku do zaostrzenia przewlekłego procesu zapalnego. Ponieważ nie badano w naszej pracy poziomu KI przed wystąpieniem udaru rozważanie te są czysto teoretyczne.

Stale utrzymujący się poziom KIK we krwi może być związany z samym procesem miażdżycowym. Mathew i wsp. sugerowali, że to właśnie KIK we krwi mogą być odpowiedzialne za powstawanie uszkodzeń w ścianie naczynia (27). Przedwczesne zmiany miażdżycowe obserwuje się u pacjentów cierpiących na choroby będące następstwem tworzenia się KI, jak SLE (3). W niniejszym opracowaniu nie badaliśmy stężenia KIK u pacjentów z udarem po 30 dniu choroby. Możemy jedynie spekulować, że podwyższone stężenie KIK mogłoby się utrzymywać w trakcie dalszych badań, bowiem nie zaobserwowaliśmy tendencji spadkowych do 30 dnia po wystąpieniu udaru. Nie możemy więc wykluczyć, że podwyższone stężenie KIK ma związek z samym procesem miażdżycowym.

Wśród naszych chorych z udarem stwierdziliśmy pozytywną korelację między stężeniem KIK a cholesterolem całkowitym. Qiao i wsp. badając materiał zwie-

rzęcy, udowodnili, że proces zapalny w naczyniach wywołany przez KIK wzmaga odkładanie się lipidów w naczyniach, co może prowadzić do rozwoju zmian miażdżycowych (36). U myszy z SLE na diecie hyperlipemicznej stwierdzono depozyty lipidowe w aorcie i naczyniach wieńcowych; histochemicznie stwierdzono również obecność KI, limfocytów T i B, granulocytów, makrofagów wraz z objawami zapalenia naczyń. Badania te udowodniły, iż uszkodzenie naczyń związane z obecnością KI powoduje zwiększenie depozytów lipidowych w naczyniach w przebiegu diety bogatej w tłuszcze. Akumulacja lipidów w przypadku uszkodzenia naczyń poprzez KI może być czynnikiem wpływającym na przedwczesne powstawanie zmian miażdżycowych w naczyniach wieńcowych i powstawanie zawałów serca u pacjentów z SLE. Wiele można stwierdzić podobieństw między procesem miażdżycowym a chorobami „kompleksów immunologicznych". Należy zaobserwować, że u człowieka, jak i zwierząt doświadczalnych występuje fazowość dynamiki koncentracji lipoprotein o niskiej gęstości i cholesterolu całkowitego we krwi. Jeżeli część lipoprotein we krwi znajduje się w składzie KIK, to tę fazowość z okresami wzrostu i spadku poziomu lipoprotein o małej gęstości można tłumaczyć pochłanianiem KIK przez fagocyty, jak i odkładaniem się w ścianach naczyń (40). Badania nad miażdżycą u zwierząt i ludzi wskazują na jednoczasowe odkładanie się lipoprotein i immunoglobulin w ścianie naczyń. Równoczesne zwiększenie zawartości IgG i miażdżycogennych lipoprotein może prowadzić do tworzenia KIK. Cały proces wyjaśniający powstawanie miażdżycy, od uszkodzenia fizjologicznej tkanki mezenchymalnej, poprzez obrzęk tkanki łącznej, migrację i proliferację monocytów w błonie wewnętrznej i fragmentację włókien elastycznych, towarzyszy również procesom immunopatologicznym związanymi z odkładaniem się kompleksów immunologicznych. Nie tylko zmiany miażdżycowe podobne są do chorób „kompleksów immunologicznych". Opisano również dwa przypadki pacjentów z zespołem CADASIL, w którym po wykonaniu biopsji stwierdzono zmiany o charakterze vasculopatii, z depozytami przypominającymi KI K (23).

Przeróżne antygeny mogą być czynnikiem powodującym powstawanie i utrzymywanie się KIK w krążeniu. Takie przewlekłe „stymulatory" do produkcji kompleksów można by podzielić na dwie grupy; wewnętrzne – pochodzące z organizmu i zewnętrzne. Do pierwszej grupy zaliczyć można fosfolipidy oraz oksydowane LDL. Wykazano już, że oksydowane LDL mogą znajdować się w kompleksach i są markerem miażdżycy w naczyniach wieńcowych (20). Również białka szoku cieplnego (HSP) mogą tworzyć kompleksy immunologiczne HSP-anti-HSP i odkładać się w obrębie uszkodzonego naczynia, co może powodować destabilizację blaszki miażdżycowej i powstawanie zatorów (28). W naszych poprzednich badaniach stwierdziliśmy podwyższony poziom HSP oraz przeciwciał antykardiolipinowych, u pacjentów z udarem w pierwszych 48 godzinach po jego wystąpieniu (17, 49). Stwierdzono również, że syntezę przeciwciał antyfosfolipidowych, np. przeciwciał antykardiolipinowych, czy antykoagulanta toczniowego może indukować zakażenie, i np. antygenem mogłyby być fosfolipidy z błon komórkowych bakterii Gram-dodatnich, czy endotoksyna z bakterii Gram-ujemnych (5, 7).

Macka i wsp. zaobserwowali, że u pacjentów z udarem, u których przed zachorowaniem występowała infekcja, stężenie przeciwciał antykardiolipinowych było odwrotnie proporcjonalne do stężenia aktywowanego białka (26).

Do drugiej grupy antygenów, prowadzących do powstawania KIK, można zaliczyć bakterie i wirusy. Jak już wspomniałam we wstępie, przewlekłe infekcje Chp i CMV i Helicobacter pylori są najczęściej wiązane z szybszym rozwojem miażdżycy oraz zwiększonym ryzykiem wystąpienia udaru mózgu. Nieznany jest dotąd mechanizm patogenetyczny, wyjaśniający ich udział w procesie miażdżycogenezy. Nie można tu wykluczyć formowania KI z ich udziałem, a następnie ich odkładania, co mogłoby zapoczątkować proces miażdżycowy, albo też ich odkładania się w obrębie uszkodzonego naczynia, co może powodować destabilizację blaszki miażdżycowej i powstawanie zakrzepów.

W ostatnich latach, począwszy od Saikku pojawiły się prace badające udział KIK, zawierających antygen Chp w chorobie niedokrwiennej serca, a głównie u pacjentów z zawałem serca (38). Pierwsze badania nad KIK zawierającymi antygen Chp (antygen lipopolisacharydowy – LPS) pochodzą z fińskiego ośrodka. Saikku i wsp. stwierdzili występowanie takich kompleksów u 60% pacjentów ze świeżym zawałem serca, a tylko u 12% osób z dobranej losowo grupy kontrolnej (39). Zaobserwowano również zmianę ich struktury. W ostrej fazie zawału nosiły one znamiona powstających w nadmiarze antygenu, a po 4 tygodniach, czyli w okresie rekonwalescencji – w nadmiarze przeciwciał. Można to interpretować, jako uwalnianie w okresie zawału dużych ilości antygenu, pobudzających powstawanie przeciwciał. Należy też dodać, że u pacjentów tych przeciwciała pozostawały w znacznej części w kompleksach, a w grupie kontrolnej występowały w postaci wolnej. W naszych badaniach u pacjentów z udarem również 60% miało obecny antygen Chp w KIK, oraz 27% w grupie kontrolnej dobranej wiekowo. Wimmer i wsp. badali u 39 pacjentów z udarem niedokrwiennym i 19 z TIA poziom przeciwciał klasy IgG i IgA przeciwko Chp oraz specyficznych zawierających przeciwciała IgG KIK (48). Stwierdzili oni, że poziom przeciwciał klasy IgA oraz specyficznych KIK był znacząco wyższy, niż w grupie kontrolnej (w przypadku KIK 24,1% pacjentów i 7,7% kontroli). Glader i wsp. zaś nie stwierdzili, by istnienie przeciwciał klasy IgG, czy IgA było czynnikiem ryzyka wystąpienia w przyszłości udaru niedokrwiennego mózgu (14). Wyniki badań budzą kontrowersje, nasza grupa pacjentów była liczniejsza i dotyczyła tylko pacjentów z udarem. Antygen Chp w KIK wykrywaliśmy metodą ELISA, nie zaś, jak poprzednicy, metodą mikroimmunofluorescencji (MIF). Metoda ELISA jest mniej czasochłonna i bardziej obiektywna, jednak specyfika rodzajowa chlamydiowego LPSu może powodować reakcje krzyżowe między różnymi rodzajami chlamydii, stąd nasze wyniki mogą być zawyżone. Należy też dodać, że stwierdza się dość duże rozbieżności w pomiarach serologicznych metodą MIF w zależności od laboratorium. Bez standaryzacji serologii, biorąc pod uwagę Chp, nie można porównywać badań z różnych źródeł. Ostatnio pojawia się też coraz więcej danych na temat braku korelacji między badaniami serologicznymi i wykrywaniem Chp przy użyciu metody PCR czy metody immunocytochemicznej (ICC).

Jednak w zmienionych miażdżycowo naczyniach wykrywa się Chp w 50% podczas, gdy w niezmienionych tkankach wskaźnik ten wynosił tylko 1% (22).

W analizowanej przeze mnie grupie pacjentów z udarem, częstość występowania przeciwciał przeciwko CMV w KIK była znamiennie statystycznie wyższa niż w grupach kontrolnych. Jak mi wiadomo, nie wykrywano jeszcze przeciwciał przeciw CMV w KIK. W ostatnich latach pojawiło się kilka prac badających poziom przeciwciał anty-CMV. Nieto i wsp. stwierdzili wyższe średnie miana przeciwciał przeciwko CMV u osób z pogrubieniem błony wewnętrznej i środkowej t. szyjnej, oraz rosnącą skokowo zależność między grubością błony wewnętrznej i środkowej a poziomem omawianych przeciwciał (31). Span i wsp. badali udział CMV w procesie miażdżycowym na modelu szczurzym. Stwierdzili, że zakażenie zwierząt wirusem powodowało zwiększoną adhezję leukocytów do śródbłonka (43). Istnieją też dowody, że CMV może zakażać komórki śródbłonka (18, 35). Wykazano też na materiale mysim, że infekcja wirusem CMV powoduje znaczny wzrost LDL, niezależnie od diety bogato-, czy ubogocholesterolowej. W badaniach na materiale ludzkim, powoduje też ona wzrost poziomu zestryfikowanego cholesterolu w komórkach mięśni gładkich (19).

Seropozytywność w stosunku do Chp i CMV rośnie z wiekiem. Fińscy badacze wykazali, że w ich populacji 61% pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, w stosunku do 53% w grupie kontrolnej, ma chlamydiowe przeciwciała klasy IgG w KIK (39). Biorąc pod uwagę ten fakt badaliśmy antygen Chp i przeciwciała anty-CMV w dwu grupach kontrolnych, a nasze wyniki w analizie statystycznej wykazały istotne różnice między badanymi a grupami kontrolnymi.

Przytoczone powyżej próby wyjaśnienia wpływu infekcji CMV i Chp na proces miażdżycowy wskazują na istnienie szeregu podobieństw. Infekcje tymi patogenami mogą trwać wiele lat z okresami zaostrzeń, mogą one namnażać się w komórkach biorących udział w procesie miażdżycowym, mogą wpływać na gospodarkę tłuszczową (wzrost poziomu Lp(a), działać prozakrzepowo. W moich badaniach stwierdziłam ich statystycznie częstsze występowanie w KIK w stosunku do kontroli. Należy również wspomnieć, że zwiększona produkcja KIK może powodować ich odkładanie się w naczyniach, co może prowadzić do stanu zapalnego in situ i działać prozakrzepowo. Kompleksy mogą aktywować układ dopełniacza; w przypadku Chp na drodze alternatywnej, zaś CMV – na drodze klasycznej. C3a, C4a, C5a należą do związków wazoaktywnych i przyczyniają się do uwalniania histaminy i serotoniny z mastocytów, co zwiększa przepuszczalność naczyń włosowatych i tworzy dogodne warunki do dalszego odkładania się kompleksów. W wyniku ataku MAC dochodzić może do uszkodzenia błony komórki naczyniowej lub innej, co powodować może stymulację syntezy prostaglandyn. Składniki komplementu (C5a), jak pisałam we wstępie, mają też właściwości chemotaktyczne, mogą aktywować leukocyty tkankowe i krążące, co powoduje wydzielanie enzymów lizosomalnych, kolagenaz, prostaglandyn oraz wolnych rodników. Aktywacja układu dopełniacza może doprowadzić także do wydzielania cytokin i czynników prozakrzepowych. Wykazano również, że Chp może aktywować układ dopełniacza i na tej właśnie drodze brać udział w procesie

miażdżycogenezy (39). Nie można także wykluczyć wspólnego synergistycznego działania omawianych patogenów w procesie miażdżycowym.

Wiele danych przemawia za udziałem Chp i CMV w etiologii i progresji miażdżycy. Istnieje jednak co do tego wiele wątpliwości. Chp i inne patogeny mogą tylko być „przypadkowymi znaleziskami" w obrębie blaszek miażdżycowych u ludzi, a nie rzeczywistymi czynnikami sprawczymi. Współistnienie zakażenia i miażdżycy nie dowodzi ich współzależności. Wyizolowanie mikroorganizmu z blaszki miażdżycowej, czy stwierdzenie korelacji między seropozytymnością, a wystąpieniem zawału serca, czy udaru, podobnie jak stwierdzenie obecności tych mikroorganizmów w KIK nie dowodzi, że są one czynnikami sprawczymi.

Jak wyżej wspomniałam pacjenci z udarem mieli podwyższone, zwłaszcza w pierwszej dobie udaru, stężenie KIK oraz statystycznie bardziej nasilony deficyt neurologiczny w skali SSS w 1 i 7 dobie udaru oraz znamiennie wyższą śmiertelność 30 dniową. Wysokie stężenie KIK we krwi może być czynnikiem aktywującym układ dopełniacza i ten sposób przyczyniać się do pobudzania odczynu zapalnego i poszerzania się martwicy w ognisku niedokrwiennym. W wyniku jego aktywacji może dochodzić do przyciągania i stymulacji komórek zapalnych do miejsca objętego niedokrwieniem (C3a, C5a). C3a i C5a reagują ze swoistymi receptorami na błonach komórkowych makrofagów, granulocytów, reakcja ta powoduje uwalnianie mediatorów zapalenia; histaminy i serotoniny, które powodują skurcz mięśni gładkich i wzrost przepuszczalności naczyń krwionośnych. C3a i C5a mogą kurczyć mięśnie gładkie bez pośrednictwa komórek zapalnych. W wyniku działania MAC może dojść do uszkodzenia błony komórkowej komórek śródbłonka z następowym pęcznieniem komórek i jej pęknięciem.

Innym mechanizmem w jakim KI mogłyby wpływać na zmiany na poziomie molekularnym w ognisku niedokrwienia, to uwalnianie IL-8 z monocytów. IL-8 jest interleukiną o właściwościach chemotaktycznych i wpływa na aktywację leukocytów. Wzrost ekspresji IL-8 mRNA stwierdza się w ciągu pierwszych dni po wystąpieniu udaru i utrzymuje się ona do około miesiąca (21, 34). Wykazano też, że KIK mogą indukować wydzielanie IL-8 mRNA przez komórki maziówki [21]. Wpływ KIK na prognozę w udarze u naszych pacjentów można też tłumaczyć zwiększoną tendencją prozakrzepową. KI, mogą działać też prozakrzepowo poprzez aktywację układu dopełniacza, KI aktywują układ krzepnięcia przez agregację płytek pokrytych składnikiem dopełniacza C3b, oraz uwalnianie płytkowych czynników wywołujących krzepnięcie. Wcześniej wspomniałam, iż IL-8 może aktywować leukocyty. Zaktywowane granulocyty, w czasie fagocytozy lub po zadziałaniu różnych bodźców wydzielają elastazę (jedną z ważniejszych proteaz lizosomalnych) (19). Wykazano, że elastaza może unieczynniać antytrombinę III, białko C i S i w ten sposób działać prozakrzepowo (8, 9).

W badaniu przedstawiono związek pomiędzy podwyższonym stężeniem KI, a świeżym udarem niedokrwiennym mózgu. Prezentowana praca jest badaniem przeprowadzonym na dość dużej populacji chorych oraz pierwszym doniesieniem badającym wpływ podwyższonego stężenia KI na przebieg kliniczny udaru. Praca była próbą charakteryzacji antygenowej KI i dowiodła o istnieniu patogenów

infekcyjnych w KI. Należy zachować ostrożność w ocenie wpływu Chp czy CMV jako czynników bezpośrednio związanych z procesem miażdżycogenezy, czy destabilizacji blaszki miażdżycowej; choć nie można go wykluczyć. Wydaje się, że należy jeszcze odpowiedzieć na szereg pytań nad rolą tych patogenów w miażdżycy, w szczególności zaś, czy progresja zmian miażdżycowych wiąże się właśnie z tymi zakażeniami, czy są one czynnikami sprawczymi w tej chorobie, w jaki sposób czynniki genetyczne wpływają na odpowiedź organizmu na infekcję tymi patogenami. Gdyby jednak infekcyjna teoria patogenezy miażdżycy okazała się prawdziwa, byłoby to osiągnięcie epokowe i dlatego warto dalej podejmować działania celem rozwiązania tych problemów. Mimo, że infekcyjna teoria miażdżycy znajduje się jeszcze w sferze badań, to niektórzy autorzy uważają, że należy już wprowadzać leczenie antybiotykami we wczesnych okresach miażdżycy (44).

Piśmiennictwo

1. Adam E, Melnik JL, Probtsfield JL, Petrie BL, Burek J, Bailey KR, McCollum CH et al. High level of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. Lancet 1987, 2: 291–293.
2. Beaumont J, Beaumont V, Antonucci M. Presence d'un autoanticorps anti-b-lipoproteine dans le serum d'un lapin ayant une hyperlipidemie par immunisation. C.R. Acad. Sci. 1969: 268, 1830–32.
3. Bonfiglio T, Botti R, Hangstrom J. Coronary arteritis, occlusion, and myocardial infarction due to lupus erythematosus. Am. Heart J. 1972, 83: 153–58.
4. Bruggeman K, Marjorie HJ, Nelissen-Vrancken G: Cytomegalovirus in atherosclerosis: Antivir. Res. 1999, 43: 135–144.
5. Członkowska A. Przeciwciała antyfosfolipidowe – znaczenie w chorobach neurologicznych. Neur. Neurochir. Pol, 2: 217–223.
6. Członkowska A, Cyrta B, Korlak J. Immunological observations on patients with acute cerebral vascular disease. J. Neurol. Sci. 1979, 43: 455–464.
7. Członkowska A, Meurer M, Palasik W, Barańska-Gieruszczak M, Mendel T, Wierchowska E. Anticardiolipin antibodies, a disease marker for ischemic cerebrovascular events in a younger patients population. Acta Neurol. Scand. 1992, 86: 304–7.
8. Eckle I, Seitz R, Egbring R, Kolb H, Havemann K. Protein C degradation in vitro by neutrofil elastase. Biol Chem Hoppe-Seyler 1991, 372: 1007–1013.
9. Eckle I, Seitz R, Egbring R, Kolb H, Havemann K. Protein S degradation in vitro by neutrofil elastase. Scan. J. Clin. Lab. Invest 1993, 53: 281–8.
10. Fabricant CG, Krook L, Gilespie JH. Virus-induced cholesterol crystals. Science1993, 181: 566–567.
11. Foulkes M, Wolf P, Price T. The Stroke Data Bank:design, methods, and baseline characreristics. Stroke 1988, 19: 133–9.
12. Furst G, Szondy E, Szekely J, Nanai I, Gero S: Studies on the occurrence of circulating immune complexes in vascular diseases. Atherosclerosis 1978, 29: 181–190.
13. Gabriel A, Gnarpe H, Hallander H, Nyquist O, Martisson A. The prevalence of chronic Chlamydia pneumoniae infection as detected by PCR in pharyngeal samples from patients with ischemic heart disease. Eur. Heart J. 1998, 19: 1321–27.
14. Glader C, Boman J, Saikku P, Stenlud H, Weinehall L, Hallmanns G, Dahlen G. The proatherogenic propreties of lipoprotein a may be induced through the formation of circulating immune complexes containing Chlamydia pneumoniae-specific IgG antibodies. Eur. Heart J. 2000, 21: 639–46.

15. Glader C, Stegmayr B, Boman J, Stenlund H, Weinehall L, Hallmans G, dahlen G. Chlamydia pneumoniae antibodies and high lipoprotein (a) levels do not predict ischemic cerebral infarctions. Stroke 1999, 30: 2013–8.
16. Glyn J. Helicobacter pylori and the heart. Lancet 1984, 334: 146–8.
17. Gromadzka G, Ryglewicz D, Fischer U, Zielińska J, Członkowska A. Immune response to hsp:the important mechanism leading to the ischemic stroke. Cerebrovas. Dis. 2001, 12: 235–9.
18. Hendrix M, Salimans M, Van Boven M, Bruggeman C. High prevalence of latently present cytomegalovirus in arterial walls of patients suffering from III grade atherosclerosis. Am. J. Patol. 1990, 136: 23–8.
19. Jochum M, Lander S, Heimburger N, Fritz H. Effect of the granulocytic elastase on isolated human antithrombin III. Hoppe-Seyler Physiol. Chem. 1981, 362: 103–112.
20. Kalenich O, Tertov V, Liakishev A, Ruda M, Orekhov A. The cholesterol content in immune complexes as a marker of coronary and peripheral atherosclerosis. Ter. Arkh. 1991, 63: 59–61.
21. Kostulas N, Pelidou S, Kivisak P, Kostulas V. Link H. Increased IL-1B, IL-8, and IL-17 mRNA expression in blood mononuclear cells observed in a prospective ischemic stroke study. Stroke 1999, 30: 2174–9.
22. Kuo C, Campbell L. Detection of Chlamydia pneumoniae in arterial tissues. J. Infect. Dis. 2000, 181 (Suppl 3): 432–6.
23. Lammie G, Rakshi J, Rossor M, Harding A, Scaravilli F. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy – confirmation by cerebral biopsy in 2 cases. Clin. Neropatol. 1995, 14: 201–6.
24. Levert AK, Hamsten A, Holm G. Association between circulating immune complexes, complement C4 null alleles, and myocardial infarction before age 45 years. Arterioscler Thromb. Vasc. Biol. 1995, 15: 665–668.
25. Linnanmaki E, Leinonen M, Mattila K, Markku SN, Valtonen V, Saikku P. Chlamydia pneumoniae-specific circulating immune complexes in patients with chronic myocardial infarction: Circulation 1993, 87: 1130–1143.
26. Macka R, Ameriso S, Gruber A, Grifin J, Fernandez J, Brandt R, Quismorio F, Weiner J, Fisher M. Impairments of the protein C system and fibrinolysis in infection associated stroke. Stroke 1996, 27: 2005–11.
27. Mathews J, Whittingam S, Mackay I. Autoimmune mechanisms in human vascular disease. Lancet 1974, 7: 1423–6.
28. Mayr M, Metzler B, Kiechl S, Willeit J, Schett G, Xu Q, Wick G. Endothelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock proteins of Escherichia coli and Chlamydia pneumoniae: immune reactions to heat shock proteins as a possible link between infection and atherosclerosis. Circulation 1999, 99: 1560–6.
29. Melnik JL, Adam E, DeBakey ME. Possible role of cytomegalovirus in atherogenesis. JAMA 1990, 263: 2204–2207.
30. Nadareishvili Z, Koziol D, Szekely b, Ruezler C, LaBiche R, McCaron R, DeGarba T. Increased CD8(+)T cells associated with Chlamydia pneumoniae in symptomatic carotid plaque. Stroke 2001, 32: 1966–1972.
31. Nieto FJ, Sorlie P, Comstock GW, Wu K, Adam E, Melnick JL, Szklo M. Cytomegalovirus infection, lipoprotein (a), and hypercoagulability:an atherogenic link. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1997, 17: 1780–1785.
32. Niyanand S, Truedsson L, Mustafa A, Bergmark C, Lefvert AK. Circulating immune complexes and complement C4 null alleles in patients operated on the premature atherosclerotic peripheral vascular disease. Clin. Immunol. 1999, 19: 406–413.
33. Osler W. Diseases of the arteries.Modern Med. Its practice and theory 1908;
34. Plow E. Lukocyte elastase release during blood coagulation. A potential mechanism for activation of the alternative fibrinolitic pathway. J. Clin. Invest. 1982, 23: 1367–9.
35. Presti R, Pollock J, Dal Conto A, Virgin H. Interferon gamma regulates acute and latentmurine cytomegalovirus infection and chronic disease of the great vessels. J. Exp. Med. 1998, 188: 577–588.

36. Qiao JH, Castellani W, Fishbein MC, Lusis AJ. Immune complex-mediated vasculitis increases coronary artery lipid accumulation. Arterioscler. Thromb. 1993, 13: 932–943.
37. Ross R, Glomset J. The patogenesis of atherosclerosis. N. Engl. J. Med. 1976, 295: 369–77.
38. Saikku P, Matilla K, Nieminen M, Huttunen J, Leinonen M, Ekman R, Makela R, Valtonen V. Serological evidence of an association of a novel chlamydia , TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. Lancet 1988, 2: 983–986.
39. Saikku P, Leininen M, Tenkanen L, Linnanmaki E, Ekman M, Maninnen V, Manttari M, Frick H, Huttunen J. Chromin Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. Ann. Inter. Med. 1992, 116: 273–8.
40. Samochowiec L, Wójcicki J. Odczynowość immunologiczna a miażdżyca z uwzględnieniem doświadczeń własnych. Czynniki ryzyka 1996, 4: 31.
41. Schutzer SE, Coyle PK, Belman A, Golighty MG, Drule J. Sequestration of antibody to Borelia burgdorferi in immune complexes in seronegative Lyme disease. Lancet 1990, 01: 312–315.
42. Span AHM, Van Boven CP, Bruggeman CA. The effect of cytomegalovirus on the adherence of polymorphonuclear leukocytes to andothelial cells. Eur. J. Clin. Invest. 1989, 19: 542–548.
43. Span AHM, Van Boven CP, Bruggeman CA. The effect of cytomegalovirus on the adherence of polymorphonuclear leukocytes to andothelial cells. Eur. J. Clin. Invest. 1989, 19: 542–548.
44. Stille W, Just-Nubling G. Argumente fur eine antibiotika-therapie der ateriosclerose. Chemoter. J. 1997, 3/4: 28–31.
45. Szondy E, Mezey Z, Furst G, Szekely J, Gero S. Serial measurement of circulating immune complexes in myocardial infarction. Br. Heart J. 1981, 46: 93–98.
46. Tarkowski E, Naver H, Wallin B, Blomstrand C, Tarkowski A. Lateralisation of T-lymphocyte response in patients with stroke, effect of sympathetic dysfunction. Stroke 1995, 28: 57.
47. Virok D, Kiz Z, Karai L, Intzedy L, Burian K, Szabo A, Ivanyi B, Gonczol B. Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic middle cerebral artery. Stroke 2001, 32: 1973–6.
48. Wimmer ML, Sandam-Strup R, Saikku P, Haberl RL. Association of Chlamydial Infection with cerebrovascular disease. Stroke 1996, 27: 2207–2210.
49. Zielińska J, Ryglewicz D, Wierzchowska E, Lechowicz W, Hier W, Członkowska A. Anticardiolipin antibodies are an independant risk factor for ischemic stroke. Neurol. Res. 1999, 21: 653–657.