

Barbara Adamik
Katedra i Klinika Anestezjologii i
Intensywnej Terapii
Uniwersytet Medyczny imienia Piastów
Śląskich we Wrocławiu

AUTOREFERAT

Wrocław, 2017

SPIS TREŚCI		strona
1.	Imię i nazwisko	3
2.	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	3
3.	Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4.	Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art.16 ust.2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 ze zm.)	4
5.	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	27
a.	Zainteresowania badawcze	27
b.	Działalność dydaktyczna	34
	Opieka naukowa nad doktorantami	34
	Wykłady na zaproszenie	34
	Wykłady na kursach podyplomowych	35
	Prezentacje komunikatów zjazdowych podczas konferencji	36
c.	Działalność organizacyjna	36
d.	Udział w komitetach redakcyjnych oraz recenzowanie publikacji w czasopismach medycznych	37
e.	Popularyzacja nauki w społeczeństwie	37
f.	Udział w projektach badawczych	37
	Kierowanie projektami badawczymi	37
	Wykonawca w projektach badawczych	38
	Udział w projektach kontrybutorskich	39
g.	Staże w zagranicznych ośrodkach naukowych	40

1. Imię i nazwisko: Barbara Adamik

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

1991	Dyplom magistra analityki medycznej uzyskany na Oddziale Analityki Medycznej, Wydział Farmacji Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.
1997	Stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej uzyskany na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na podstawie dysertacji pt. "Odpowiedź immunologiczna pacjentów na wstrząs septyczny i pourazowy" wykonanej pod kierunkiem Prof. dr habil. Michała Zimeckiego.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu (w tym w jednostkach naukowych)

1993 - 2001	Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Stanowisko naukowo-techniczne
2000 i 2001	Karolinska Institute and Uppsala University Hospital, Thoracic Center, Uppsala, Szwecja Wykonawca programu badawczego Czas trwania: 2 miesiące w roku 2000 oraz 1 miesiąc w roku 2001
2001 - 2006	National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA National Heart, Lung, and Blood Institute, Pulmonary - Critical Care Medicine Branch Stypendium naukowe Czas trwania: 5 lat
2006 - obecnie	Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Pracownia badania patofizjologii niewydolności wielonarządowej Stanowisko naukowo – techniczne
2014-obecnie	Stowarzyszenie Na Rzecz Badania I Leczenia Sepsy „Pokonać Sepsę” Sekretarz naukowy Stowarzyszenia

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a. tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Zgodnie z treścią w/w ustawy, osiągnięciem naukowym, dołączonym do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego, jest cykl pięciu prac powiązanych tematycznie, objętych wspólnym tytułem:

„Diagnostyka endotoksemii i pozaustrojowa eliminacja endotoksyn u pacjentów leczonych na oddziale intensywnej terapii.”

Cykl obejmuje pięć prac oryginalnych, we wszystkich jestem pierwszym autorem oraz autorem do korespondencji. Wszystkie publikacje stanowią cykl z IF, sumaryczny IF wynosi 10.244, 125.000 punktów MniSW.

b. (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

1. **Adamik B**, Smiechowicz J, Jakubczyk D, Kübler A. Elevated Serum PCT in Septic Shock With Endotoxemia Is Associated With a Higher Mortality Rate. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Jul; 94(27):e1085. doi: 10.1097/MD.0000000000001085. PMID: 26166090

IF₂₀₁₅: 2.133, Pkt. MNiSW/KBN: 40.000

Mój udział w pracy polegał na zaplanowaniu projektu badawczego, wykonaniu oznaczeń aktywności endotoksyn, utworzeniu bazy danych uzyskanych wyników oraz danych demograficznych i klinicznych pacjentów, analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników, napisaniu manuskryptu, dyskusji z recenzentami i edycji wersji ostatecznej. Mój indywidualny wkład w autorstwo szacuję na 75%.

2. **Adamik B**, Zielinski S, Smiechowicz J, Kübler A. Endotoxin Elimination in Patients with Septic Shock: An Observation Study. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015 Dec;63(6):475-83. doi: 10.1007/s00005-015-0348-8. Epub 2015 Jun 21. PMID: 26093653

IF₂₀₁₅: 2.464, Pkt. MNiSW/KBN: 25.000

Mój udział w pracy polegał na zaplanowaniu projektu badawczego i koordynacji zaplanowanych zadań, wykonaniu oznaczeń aktywności endotoksyn, utworzeniu bazy danych i udziale w gromadzeniu danych demograficznych i klinicznych pacjentów, analizie

statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników oraz w napisaniu manuskryptu, a następnie dyskusji z recenzentami i edycji wersji ostatecznej do druku. Mój indywidualny wkład w autorstwo szacuję na 70%.

3. **Adamik B**, Smiechowicz J, Kübler A. The importance of early detection of endotoxemia. *Innate Immun.* 2016 Oct;22(7):503-9. doi: 10.1177/1753425916660177. Epub 2016 Jul 20. PMID: 27440859

IF₂₀₁₆: 2.830, Pkt. MNiSW/KBN: 25.000

Mój udział w pracy polegał na zaplanowaniu projektu badawczego, wykonaniu doświadczeń; utworzeniu bazy danych i udziale w gromadzeniu danych demograficznych i klinicznych pacjentów, analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników oraz w napisaniu manuskryptu, a następnie edycji i dyskusji z recenzentami. Mój indywidualny wkład w autorstwo szacuję na 85%.

4. **Adamik B**, Kübler A, Gozdzik A, Gozdzik W. Prolonged cardiopulmonary bypass is a risk factor for intestinal ischemic damage and endotoxemia. *Heart Lung Circ.* 2016 Nov 24. pii: S1443-9506(16)31671-7. doi: 10.1016/j.hlc.2016.10.012. PMID: 27956161

IF₂₀₁₅: 1.575, Pkt. MNiSW/KBN: 20.000

Mój udział w pracy polegał na zaplanowaniu projektu, wykonaniu doświadczeń; utworzeniu bazy danych i udziale w gromadzeniu danych demograficznych i klinicznych pacjentów, analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników oraz w przygotowaniu manuskryptu do druku, edycji i dyskusji z recenzentami. Mój indywidualny wkład w autorstwo szacuję na 75%.

5. **Adamik B**, Gozdzik W, Jakubczyk D, Welna M, Kübler A. Coagulation abnormalities identified by thromboelastometry in patients with severe sepsis: the relationship to endotoxemia and mortality. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2016 Jun 2. DOI:10.1097/MBC.0000000000000572. [Epub ahead of print] PMID: 27254441

IF₂₀₁₃: 1.242, Pkt. MNiSW/KBN: 15.000

Mój udział w pracy polegał na zaplanowaniu projektu badawczego, wykonaniu doświadczeń; utworzeniu bazy danych i udziale w gromadzeniu danych demograficznych i klinicznych pacjentów, analizie statystycznej i interpretacji otrzymanych wyników oraz w przygotowaniu manuskryptu, dyskusji z recenzentami i edycji ostatecznej wersji do druku. Mój indywidualny wkład w autorstwo szacuję na 75%.

c. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/pracach i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

CEL

Celem badań w prezentowanym cyklu prac było

- I. przedstawienie wpływu endotoksemii na indukcję reakcji zapalnej i syntezę mediatorów zapalenia u pacjentów leczonych na oddziale intensywnej terapii,
- II. przedstawienie potencjalnych źródeł endotoksyn w organizmie człowieka,
- III. ocena częstości występowania endotoksemii i wpływu na śmiertelność u pacjentów oddziału intensywnej terapii,
- IV. analiza wpływu endotoksemii na wystąpienie zaburzeń hemostazy u pacjentów septycznych,
- V. ocena przydatności nowej metody diagnostycznej rozpoznania endotoksemii w codziennej praktyce na oddziale intensywnej terapii oraz
- VI. ocena wpływu pozaustrojowej eliminacji endotoksyn za pomocą filtrów adsorpcyjnych na poprawę funkcjonowania narządów u chorych we wstrząsie septycznym.

WSTĘP

Endotoksyna, składnik ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych jest uważana za kluczowy związek indukujący ogólnoustrojową reakcję zapalną w sepsie i wstrząsie septycznym. U pacjentów leczonych na oddziale intensywnej terapii poziom endotoksyn w dniu przyjęcia jest podwyższony w ponad połowie przypadków. Wysoka aktywność endotoksyn koreluje ze stanem klinicznym pacjenta i istotnie zwiększa ryzyko zgonu [1, 2]. Chemicznie endotoksyna jest lipopolisacharydem (LPS), składa się z trzech części: lipidu A, oligosacharydowego rdzenia i łańcucha polisacharydowego. W praktyce terminy endotoksyna i lipopolisacharyd są stosowane zamiennie, a określenie „endotoksemia” oznacza obecność cząsteczek lipopolisacharydu we krwi. W organizmie człowieka endotoksyny nie działają bezpośrednio na komórki, lecz za pomocą receptora TLR-4 obecnego w błonie komórkowej wielu typów komórek biorących udział w aktywacji reakcji zapalnej, w tym w leukocytach, komórkach śródbłonna naczyń i komórkach dendrytycznych. Organizm posiada naturalne mechanizmy neutralizujące endotoksyny,

uniemożliwiając tym samym indukcję receptorów TLR4 i aktywację reakcji zapalnej. Do mechanizmów obronnych zalicza się wiązanie LPS z przeciwciałami, wychwyt powstałych kompleksów w wątrobie przez komórki Kupffera, a następnie rozkład LPS w hepatocytach. Część LPS jest też metabolizowana w śledzionie, płucach, nerkach i nadnerczach. Inne mechanizmy neutralizacji LPS to wiązanie przez lipoproteiny osocza oraz enzymatyczna degradacja polegająca na deacylacji i defosforylacji cząsteczki. Produkty rozkładu LPS są wydalane głównie z kałem, niewielkie ilości z moczem.

Endotoksyny, które nie zostały zneutralizowane w organizmie w wyniku działania naturalnych mechanizmów obronnych indukują reakcję zapalną. W jej przebiegu białko osocza LBP (*Lipid Binding Protein*) wiąże lipopolisacharydy i transportuje cząsteczki do receptora CD14 na powierzchni komórki. Przekaz informacji do wnętrza komórki odbywa się po przyłączeniu do powstałego kompleksu LPS–LBP–CD14 białka MD-2 i aktywacji przezbłonowego receptora TLR-4 (*Toll-Like Receptor-4*) [3]. Tą drogą endotoksyny indukują cały szereg zmian we wnętrzu komórek prowadzących do aktywacji jądrowego czynnika transkrypcji NF-κB (*Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer*), zmiany ekspresji genów i w konsekwencji produkcji i uwalniania mediatorów reakcji zapalnej. Lipopolisacharydy to jedne z najsilniejszych i najczęściej wykorzystywanych toksyn bakteryjnych w badaniach naukowych. Dla człowieka dawka dożylna tak niska jak 2 ng/kg wywołuje ogólnoustrojową reakcję zapalną będącą efektem zmiany ekspresji prawie 4000 genów oraz zmian na poziomie translacji [4]. Na skutek zaburzeń funkcji mitochondriów obserwuje się zmiany stanu bioenergetycznego komórek. Wysokie dawki endotoksyn indukują sepsę i wstrząs septyczny ze śmiertelnością wynoszącą ponad 50% [5].

CEL I

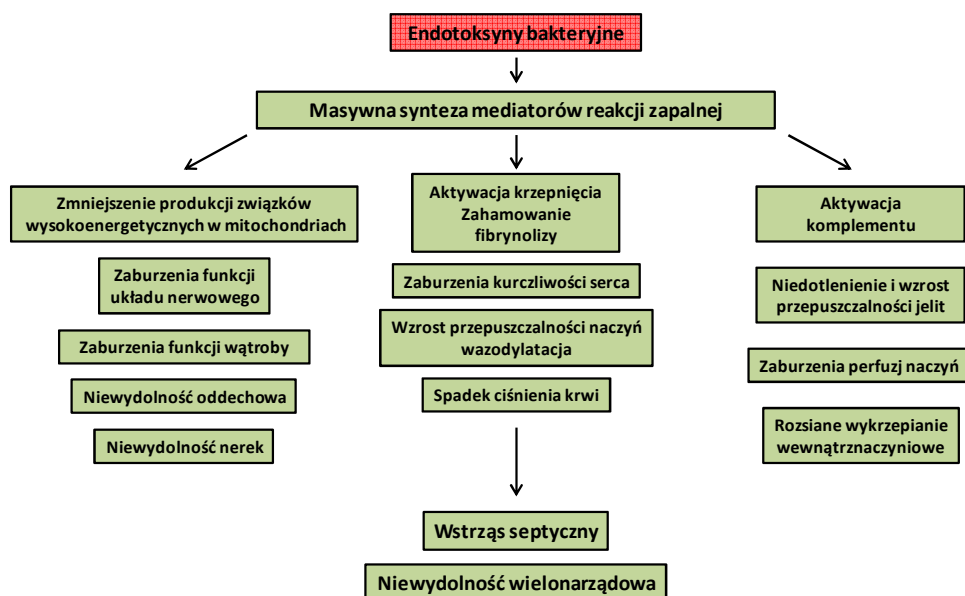
Wpływ endotoksemii na indukcję reakcji zapalnej i syntezę mediatorów zapalenia u pacjentów leczonych na oddziale intensywnej terapii

W ciężkich zakażeniach nadmierna i niekontrolowana aktywacja reakcji zapalnej może prowadzić do rozwoju sepsy, wstrząsu septycznego i niewydolności wielonarządowej. Na rycinie 1 przedstawiony został schemat działania endotoksyn w organizmie człowieka prowadzący do rozwoju wstrząsu septycznego i niewydolności wielonarządowej. Uwalniane przez patogeny toksyny (np. endotoksyny, peptydoglikany, kwas lipotejchojowy, lipoproteiny) aktywują komórki śródbłonna naczyń krwionośnych, leukocyty oraz makrofagi do produkcji i uwalniania

ogromnych ilości mediatorów zapalenia takich jak cytokiny, tlenek azotu, wolne rodniki, prostaglandyny i leukotrieny. W ludzkim modelu endotoksemii już w pierwszych 2 godzinach obserwuje się uwalnianie cytokin prozapalnych IL-1beta, IL-6, IL-8, TNF-alfa, a cytokiny przeciwzapalne IL-10, IL1ra, TNFR1, TNFR2 pojawiają się po 3-4 godzinach [6]. Aktywowane mediatory działają toksycznie na komórki, a ich przedłużone działanie upośledza odporność organizmu. Zaburzenie funkcjonowania mitochondriów w komórkach prowadzi do zmniejszenia produkcji związków wysokoenergetycznych i zmian metabolicznych w komórkach. W efekcie obserwuje się zaburzenia kurczliwości mięśnia serca, spadek napięcia mięśniówki naczyń, spadek ciśnienia krwi i w konsekwencji rozwój wstrząsu septycznego. Działanie mediatorów reakcji zapalnej i spadek ciśnienia krwi we wstrząsie septycznym może powodować zaburzenia funkcji nabłonka jelit, zwiększenie przepuszczalności ściany jelita i w rezultacie przenikanie jeszcze większej ilości endotoksyn i całych komórek bakterii z jelita do krwi. Aktywacja czynnika tkankowego przez TNF-alfa i jednoczesne blokowanie inhibitora aktywatora plazminogenu stymuluje procesy krzepnięcia i hamuje fibrylizę. Prowadzi to do powstawania zakrzepów w mikrokrążeniu, zaburzenia perfuzji krwi i niedotlenienia narządów, a w efekcie do rozwoju niewydolności wielonarządowej.

Rycina 1

Schemat działania endotoksyn bakteryjnych



W publikacji numer 1 z cyklu prac (*Adamik B, Smiechowicz J, Jakubczyk D, Kübler A. Elevated Serum PCT in Septic Shock With Endotoxemia Is Associated With a Higher Mortality Rate. Medicine (Baltimore). 2015 Jul;94(27):e1085.*) badano wpływ endotoksemii na wzrost stężenia prokalcytoniny (PCT) i śmiertelność pacjentów we wstrząsie septycznym. Prokalcytonina jest prekursorem hormonu kalcytoniny, u osób zdrowych jest syntezowana w komórkach tarczycy. Stężenie prokalcytoniny we krwi w warunkach fizjologicznych jest niskie, a wzrost obserwowany jest w przebiegu ciężkich ogólnoustrojowych zakażeń bakteryjnych. W zwierzęcym modelu sepsy indukowanej zakażeniem *Escherichia coli* zaobserwowano wzrost ekspresji mRNA dla prekursorów kalcytoniny, w tym dla prokalcytoniny, w niemal wszystkich narządach organizmu, oraz wzrost stężenia PCT we krwi [7]. Prokalcytonina jest obecnie najczęściej stosowanym markerem zakażenia bakteryjnego w oddziałach intensywnej terapii, pomocnym w rozpoznaniu i monitorowaniu leczenia sepsy i wstrząsu septycznego. W prezentowanym manuskrypcie porównywano stężenie prokalcytoniny u pacjentów we wstrząsie septycznym z endotoksemią lub bez endotoksemii w dniu przyjęcia na oddział intensywnej terapii. Endotoksemia była identyfikowana za pomocą testu mierzącego aktywność endotoksyn we krwi (*EAA, Endotoxin Activity Assay*). W badaniu stężenie prokalcytoniny w dniu rozpoznania wstrząsu septycznego było podwyższone u większości pacjentów (95%). Dodatkowo wykazano, iż u pacjentów z endotoksemią stężenie prokalcytoniny było aż sześciokrotnie wyższe (19.6 ng/mL), w porównaniu do wartości mierzonych u chorych bez endotoksemii (3.1 ng/mL, $p < 0.001$). Endotoksemię, definiowaną jako aktywność endotoksyn ≥ 0.4 EAU, zidentyfikowano u 60% pacjentów. Obecność endotoksemii wiązała się z istotnie częstszym występowaniem zaburzenia funkcji nerek i koniecznością zastosowania terapii nerkozastępczej ($p = 0.03$). W grupie chorych z endotoksemią i wysoką prokalcytoniną śmiertelność była znacznie wyższa i wynosiła 52%, w porównaniu do pacjentów bez endotoksemii (25%, $p = 0.004$).

We wcześniejszych badaniach na modelu zwierzęcym wykazano, że prokalcytonina jest mediatorem wtórnym, a podanie samej rekombinowanej prokalcytoniny nie indukuje produkcji mediatorów zapalenia [8]. Dopiero aktywacja reakcji zapalnej po podaniu endotoksyn lub cytokin prozapalnych, jak TNF-alfa wiąże się z nasiloną syntezą i uwalnianiem do krwi znacznych ilości prokalcytoniny [9]. Zatem wysoki poziom prokalcytoniny obserwowany w naszym badaniu jest konsekwencją wcześniejszej indukcji reakcji zapalnej przez endotoksyny i uwalniania mediatorów prozapalnych.

Endotoksemia i związana z tym aktywacja reakcji zapalnej może się także pojawiać u chorych bez cech zakażenia, poddanych rozległym zabiegom operacyjnym. W publikacji numer 4 z cyklu prac (*Adamik B, Kübler A, Goździk A, Goździk W. Prolonged cardiopulmonary bypass is a risk factor for intestinal ischemic damage and endotoxemia. Heart Lung Circ. 2016 Nov 24. pii: S1443-9506(16)31671-7*) opisano przejściową endotoksemię u pacjentów poddanych zabiegom kardiochirurgicznym z użyciem krążenia pozaustrojowego. Aktywność endotoksyn była istotnie podwyższona po 6 i 24 godzinach od zakończenia zabiegu i korelowała z czasem trwania krążenia pozaustrojowego i czasem zakleszczenia aorty. Jednocześnie obserwowano aktywację systemowej reakcji zapalnej – stężenie cytokin IL-6, IL-8 i TNF-alfa było również podwyższone po 6 i 24 godzinach od zabiegu. U pacjentów, pomimo podwyższonego poziomu endotoksyn nie zaobserwowano zaburzeń czynności narządów w okresie pooperacyjnym, większość chorych (88%) została ekstubowana w dniu zabiegu, 2 pacjentów ekstubowano w 1 dniu po zabiegu, a przeżywalność wyniosła 100%. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż przejściowa endotoksemia i aktywacja reakcji zapalnej może wystąpić w efekcie dużego urazu operacyjnego, szczególnie, gdy zabieg jest przedłużony. Jednakże, zjawisko to ma charakter przejściowy i samoograniczający, jeżeli przebieg pooperacyjny jest niepowikłany.

CEL II

Potencjale źródła endotoksyn w organizmie

Źródłem endotoksyn u pacjenta z sepsą i wstrząsem septycznym jest miejsce zakażenia patogenem Gram-ujemnym. LPS jest uwalniany po rozpadzie komórek bakterii pod wpływem naturalnych mechanizmów obronnych uszkodzających komórki bakterii lub działania antybiotyku, jak również podczas proliferacji komórek bakterii. Innym źródłem endotoksyn może być naturalna flora jelitowa pacjenta. Niedokrwienie ściany jelita w przebiegu sepsy i wstrząsu septycznego może prowadzić do wzrostu przepuszczalności nabłonka jelita. Fragmenty ściany komórkowej bakterii zawierających endotoksyny oraz całe komórki bakterii mogą przenikać z jelita do sterylnych kompartmentów organizmu, tam aktywować receptory TLR4 na powierzchni komórek i w konsekwencji dodatkowo stymulować syntezę czynników zapalnych.

W publikacji numer 3 z cyklu prac (*Adamik B, Smiechowicz J, Kübler A. The importance of early detection of endotoxemia. Innate Immun. 2016 Oct;22(7):503-9.*) przedstawione zostały wyniki badań częstości występowania zjawiska endotoksēmii i potencjalnych źródeł endotoksyn u pacjentów z diagnozą wstrząsu septycznego. Aktywność endotoksyn była mierzona w dniu

przyjęcia na oddział intensywnej terapii. Jednocześnie pobierany był materiał do badań mikrobiologicznych, zgodnie z zaleceniami *Surviving Sepsis Campaign* [10]. Obecność patogenów Gram-ujemnych istotnie zwiększyła ryzyko wystąpienia endotoksemii (OR 3.1, $p=0.001$). W grupie chorych, u których jako pierwotne źródło zakażenia we wstrząsie septycznym został zidentyfikowany patogen Gram-ujemny, występowanie endotoksemii zostało potwierdzone u większości pacjentów (70%). W pozostałych grupach chorych, z zakażeniami wywołanym przez patogeny inne niż Gram-ujemne, prawdopodobną przyczyną endotoksemii była translokacja endotoksyn z jelita. U chorych z zakażeniami o etiologii Gram –ujemnej endotoksemia została potwierdzona w 48%, a w zakażeniach grzybiczych w 44% przypadków.

Należy podkreślić, że zjawisko translokacji bakterii z jelita do krwioobiegu jest dobrze udokumentowane na zwierzęcym modelu wstrząsu septycznego [11], podobne eksperymenty, z przyczyn metodologicznych, są niemożliwe do przeprowadzenia u ludzi. Możliwe jest natomiast przeprowadzenie badań pozwalających na rozpoznanie niedotlenienia jelita i wzrost przepuszczalności nabłonka jelita. Tego typu testy zwykle wiążą się z koniecznością doustnego podawania substancji badanych, np. związków cukrowych lub związków znakowanych radioizotopem, a następnie z oceną ich stężenia w wydalonym moczu [12].

Inną metodę oceny przepuszczalności jelita zastosowano w publikacji numer 4 z cyklu prac (*Adamik B, Kübler A, Goździk A, Goździk W. Prolonged cardiopulmonary bypass is a risk factor for intestinal ischemic damage and endotoxemia. Heart Lung Circ. 2016 Nov 24. pii: S1443-9506(16)31671-7*). Metoda jest możliwa do zastosowania u pacjentów septycznych i polega na pomiarze stężenia białka I-FABP (*Intestinal Fatty Acid-Binding Protein*) jako biomarkera uszkodzenia i wzrostu przepuszczalności nabłonka jelita. I-FABP jest obecny w dojrzałych enterocytach jelita cienkiego i grubego, a podwyższone stężenie biomarkera we krwi może wskazywać na uszkodzenie jelita. Celem w prezentowanej pracy było wykazanie związku pomiędzy podwyższonym stężeniem biomarkera I-FABP we krwi i prawdopodobną translokacją endotoksyn oraz aktywacją systemowej reakcji zapalnej podczas zabiegu kardiochirurgicznego z użyciem krążenia pozaustrojowego (*CPB, cardiopulmonary bypass*). Hipoteza badawcza zakładała, iż wystąpienie przejściowego niedotlenienia jelita podczas krążenia pozaustrojowego może powodować wzrost przepuszczalności ściany jelita, translokację endotoksyn do krwi i w konsekwencji aktywację systemowej reakcji zapalnej. Badanie przeprowadzono w grupie pacjentów bez cech infekcji, poddanych planowym zabiegom przeszłowania aortalno-

wieńcowego. Zaobserwowano wzrost stężenia biomarkera przepuszczalności jelita I-FABP w surowicy wszystkich pacjentów w szóstej godzinie od zakończenia zabiegu. W tym samym punkcie czasowym endotoksemię potwierdzono u większości chorych (73%), u których czas krążenia pozaustrojowego był wydłużony (CPB ≥ 90 minut) oraz u części chorych (32%) z czasem krążenia < 90 minut. Jednocześnie u wszystkich pacjentów doszło do aktywacji reakcji zapalnej, potwierdzonej wzrostem stężenia interleukin IL-6, IL-8 i TNF-alfa.

Po 24 godzinach od zakończenia zabiegu stężenie biomarkera przepuszczalności jelita I-FABP było wciąż podwyższone u chorych z wydłużonym czasem CPB, a spadło do wartości wyjściowej u chorych z CPB poniżej 90 minut. W tym samym punkcie czasowym aktywność endotoksyn była istotnie wyższa u chorych z wydłużonym czasem CPB. Jednocześnie u wszystkich pacjentów obserwowano normalizację reakcji zapalnej, potwierdzoną spadkiem stężenia interleukin IL-6, IL-8 i TNF-alfa.

Rezultaty badania wskazują na wzrost przepuszczalności ściany jelita, translokację endotoksyn do krwi i w konsekwencji aktywację systemowej reakcji zapalnej u większości pacjentów poddanych rozległym zabiegom kardiochirurgicznym z krążeniem pozaustrojowym. Można przypuszczać, iż naturalne mechanizmy neutralizacji endotoksyn pozwoliły na ograniczenie reakcji zapalnej, na co wskazuje spadek stężenia mediatorów IL-6, IL-8 i TNF-alfa w pierwszej dobie po zabiegu. U pacjentów nie zaobserwowano zaburzeń czynności narządów w okresie pooperacyjnym, większość chorych (88%) została ekstubowana w dniu zabiegu, 2 pacjentów ekstubowano w 1 dniu po zabiegu, a przeżywalność wyniosła 100%. Długość trwania krążenia pozaustrojowego korelowała ze zwiększonym uwalnianiem biomarkera przepuszczalności jelita I-FABP i aktywnością endotoksyn. Uzyskane wyniki wskazują, że pomiar zmian stężenia I-FABP w surowicy może stać się użytecznym narzędziem diagnostycznym do wczesnej identyfikacji zaburzeń przepuszczalności jelita u pacjentów septycznych, obarczonych ryzykiem translokacji bakterii i rozwojem endotoksemii.

CEL III

Ocena częstości występowania endotoksemii i wpływu na śmiertelność u pacjentów oddziału intensywnej terapii

Endotoksyny w organizmie podlegają złożonym procesom neutralizującym ich toksyczne działanie na komórki. Tworzenie kompleksów z lipoproteinami, wiązanie z białkiem BPI

(*Bactericidal/Permeability-Increasing Protein*), rozkład przez fosfatazę alkaliczną to przykłady reakcji antagonizujących działanie endotoksyn. Naturalne mechanizmy obronne mogą skutecznie przeciwdziałać rozwojowi endotoksemii, także we wstrząsie septycznym o potwierdzonej etiologii Gram-ujemnej, np. u chorych z zapaleniem otrzewnej.

W publikacji numer 3 z cyklu prac (*Adamik B, Smiechowicz J, Kübler A. The importance of early detection of endotoxemia. Innate Immun. 2016 Oct;22(7):503-9.*) analizowano częstość występowania endotoksemii w zależności od diagnozy przy przyjęciu na oddział intensywnej terapii oraz od rodzaju patogenu będącego przyczyną zakażenia. Endotoksemię rozpoznawano przy użyciu szybkiego testu chemiluminescencyjnego do pomiaru aktywności endotoksyn w krwi (*EAA, Endotoxin Activity Assay*). W badaniu wykazano, iż endotoksemia jest identyfikowana u 60% pacjentów we wstrząsie septycznym w dniu przyjęcia na oddział. Obecność endotoksemii u tych chorych wiązała się ze zwiększonym ryzykiem zgonu (OR 3.1, 95%CI 1.6-6.1, p=0.0008). Grupa z endotoksemią to potencjalni pacjenci, u których zastosowanie terapii pozaustrojowej eliminacji endotoksyn mogłoby przynieść poprawę stanu klinicznego. Obecnie w badaniach klinicznych nad nowymi terapiami eliminacji endotoksyn stosuje się różne kryteria włączenia pacjentów do grupy badanej, np.: diagnoza wstrząsu septycznego, rozpoznanie zapalenia otrzewnej, potwierdzone zakażenie o etiologii Gram-ujemnej, diagnostycznie potwierdzona endotoksemia. Wśród badaczy nie ma konsensusu, które z kryteriów powinny być uwzględnione. Wyniki badań prezentowane przeze mnie w manuskrypcie numer 3 wskazują, iż endotoksemię identyfikowano tylko u 60% pacjentów we wstrząsie septycznym, zatem rozpoznanie wstrząsu nie jest równoznaczne z rozpoznaniem endotoksemii i nie może być jedynym kryterium dla rozpoczęcia procedury pozaustrojowej eliminacji endotoksyn.

Często w badaniach klinicznych stosuje się dwa kryteria włączenia – rozpoznanie wstrząsu septycznego oraz rozpoznanie zapalenia otrzewnej. W prezentowanym badaniu wśród pacjentów we wstrząsie septycznym zapalenie otrzewnej przy przyjęciu zdiagnozowano u 53% pacjentów, zapalenie płuc u 26%, zakażenia tkanek miękkich i skóry u 12%, zapalenie układu moczowego u 8% i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych u 2%. Ryzyko wystąpienia endotoksemii przy rozpoznaniu zapalenia otrzewnej było niskie (OR=1.03, p=0.90), a odsetek endotoksemii w tej grupie wynosił 57%. U pozostałych 43% pacjentów, pomimo wystąpienia klinicznych objawów zarówno wstrząsu septycznego jak i zapalenia otrzewnej, aktywność endotoksyn była niska. Zatem wdrożenie terapii eliminacji endotoksyn w oparciu o kryteria wystąpienia wstrząsu

septycznego i zapalenia otrzewnej mogłoby skutkować niepotrzebnym zastosowaniem procedury w 43% przypadków. U tych pacjentów wykonanie pomiaru aktywności endotoksyn prawdopodobnie pozwoliłoby na uniknięcie wdrożenia inwazyjnej i kosztownej procedury.

W prezentowanym badaniu najczęściej identyfikowano zakażenia wywołane patogenami Gram-ujemnymi (61%) i endotoksemię potwierdzono w 70% tych przypadków. Rozpoznanie patogenu Gram-ujemnego w materiale pobranym przy przyjęciu na oddział intensywnej terapii istotnie zwiększyło ryzyko wystąpienia endotoksemii (OR 3.1, $p=0.001$). Podobnie rozpoznanie przy przyjęciu bakteriemii, niezależnie od etiologii Gram-ujemnej lub Gram-dodatniej, zwiększało istotnie ryzyko endotoksemii (OR 3.8, $p=0.020$). Niestety, wadą kryterium wystąpienia potwierdzonego mikrobiologicznie zakażenia patogenem Gram-ujemnym jest długi czas oczekiwania na wynik. Warto również podkreślić wysoki odsetek występowania endotoksemii u pacjentów we wstrząsie septycznym o etiologii Gram-dodatniej (48%) lub grzybiczej (44%), co sugeruje, że flora jelitowa jest prawdopodobnym źródłem endotoksyn u tych chorych. Przepuszczalność jelita w przebiegu wstrząsu septycznego, co mogło prowadzić do zwiększenia przepuszczalności jelita dla bakterii i endotoksyn. U tych pacjentów pomiar aktywności endotoksyn we krwi stosując test EAA byłby pomocne w podjęciu decyzji o rozpoczęciu terapii pozaustrojowej eliminacji endotoksyn.

W oparciu o uzyskane wyniki badań można stwierdzić, że częstość występowania endotoksemii u pacjentów we wstrząsie septycznym jest wysoka i wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zgonu. Zarówno wstrząs septyczny o etiologii Gram-ujemnej jak i bakteriemia istotnie zwiększają ryzyko wystąpienia endotoksemii. Diagnoza zapalenia otrzewnej przy przyjęciu nie jest jednoznaczna z występowaniem endotoksemii. Aktywności endotoksyn w krwi pacjenta można zmierzyć za pomocą testu EAA. Wyniki badań sugerują, że decyzja o wdrożeniu terapii eliminacji endotoksyn z krwiobiegu powinna być oparta zarówno na ocenie stanu klinicznego pacjenta jak i pomiarze aktywności endotoksyn.

CEL IV

Analiza wpływu endotoksemii na wystąpienie zaburzeń hemostazy u pacjentów septycznych

Aktywacja procesów krzepnięcia indukowana w przebiegu ciężkich zakażeń jest ważnym elementem naturalnej obrony organizmu. Jednakże nadmierna aktywacja krzepnięcia, jaką czasem obserwuje się w sepsie i wstrząsie septycznym, może skutkować tworzeniem się

zakrzepów w mikrokrążeniu, zaburzeniami przepływu krwi, niedotlenieniem narządów i w konsekwencji rozwojem niewydolności narządowej [13]. Silna aktywacja procesów krzepnięcia prowadzi do wyczerpania osoczowych czynników krzepnięcia i w konsekwencji do krwawień. Endotoksyny przyczyniają się do zmian w hemostazie poprzez indukcję syntezy mediatorów reakcji zapalnej TNF-alfa, IL-1 i IL-6. Mediatorzy te mają silne działanie aktywujące czynnik tkankowy w komórkach śródbłonna naczyń i leukocytach i tym samym stymulują proces krzepnięcia w przebiegu sepsy [14]. Rutynowe testy dla oceny układu krzepnięcia nie odzwierciedlają w pełni potencjalnych zaburzeń krzepnięcia w sepsie, ponieważ są wykonywane w osoczu, a nie w krwi pełnej, zatem wpływ morfotycznych elementów krwi na krzepnięcie nie jest w teście uwzględniony. Dlatego też, tromboelastometria, jako przyłóżkowa metoda oceny zaburzeń hemostazy, może dostarczyć dodatkowych danych. Ponieważ badanie jest wykonywane w krwi pełnej, możliwe jest badanie wpływu zarówno czynników osoczowych jak i płytek na wszystkie etapy krzepnięcia: indukcję krzepnięcia, narastanie skrzepu aż do osiągnięcia maksymalnego przyrostu, a następnie rozkład skrzepu w procesie fibrynolizy. Tromboelastometria jest narzędziem diagnostycznym często stosowanym do monitorowania hemostazy na sali operacyjnej podczas zabiegów kardiochirurgicznych, jak również przy przeszczepieniu wątroby. Zastosowanie tromboelastometrii, jako rutynowej metody do monitorowania krzepnięcia u pacjentów septycznych, jest rzadko spotykane zarówno w rutynowej praktyce.

W publikacji numer 5 z cyklu prac (*Adamik B, Gozdzik W, Jakubczyk D, Welna M, Kübler A. Coagulation abnormalities identified by thromboelastometry in patients with severe sepsis: the relationship to endotoxemia and mortality. Blood Coagul Fibrinolysis. 2016 Jun 2. DOI:10.1097/MBC.0000000000000572. [Epub ahead of print] PMID: 27254441*) analizowano występowanie zaburzeń hemostazy u pacjentów septycznych rozpoznawane za pomocą tromboelastometrii oraz wpływ tych zaburzeń na śmiertelność. Hipoteza badawcza zakładała, że zmiany w aktywacji procesu krzepnięcia w sepsie mogą być związane z występowaniem endotoksemii. Pacjenci mieli wykonywane badanie tromboelastometryczne czterokrotnie: przy przyjęciu na oddział, a następnie w 2, 3 i 4 dniu leczenia. W tych samych punktach czasowych oznaczano aktywność endotoksyn stosując test EAA.

Zaburzenia krzepnięcia były obecne u większości pacjentów septycznych (69%). W oparciu o wyniki badań tromboelastometrii możliwe było wyróżnienie trzech grup chorych septycznych:

bez zaburzeń krzepnięcia, z zaburzeniami o charakterze nadkrzepliwości oraz grupę ze skłonnością do krwawień. Rutynowe testy krzepnięcia jak czas protrombinowy lub aPTT są testami przydatnymi do monitorowania leczenia heparyną, natomiast mają niewielką wartość kliniczną w identyfikowaniu zaburzeń krzepnięcia o charakterze nadkrzepliwości. Przydatność tromboelastometrii do identyfikacji nadkrzepliwości została wykazana w naszych badaniach. U pacjentów o takiej charakterystyce zaburzeń krzepnięcia obserwowano znaczne skrócenie czasu tworzenia się skrzepu (*CFT, Clot Formation Time*) i zwiększony maksymalny przyrost skrzepu (*MCF, Maximum Clot Firmness*). Analiza ROC (*Receiver Operating Characteristic*) wykazała, że w teście EXTEM i INTEM wyniki pomiarów parametrów CFT oraz MCF mają wysoką wartość dla szybkiego rozpoznania nadkrzepliwości w sepsie ($AUC > 0.9$). Skrócone CFT i duża wartość MCF u tych pacjentów wskazywała na podwyższone stężenie fibrynogenu i nasilenie procesów polimeryzacji fibryny. W grupie pacjentów ze skłonnością do krwawień obserwowano znaczne wydłużenie czasu tworzenia się skrzepu oraz niską wartość maksymalnego przyrostu skrzepu zarówno w teście EXTEM jak i INTEM. W analizie ROC obydwie parametry miały wysoką wartość predykcyjną dla rozpoznania skłonności do krwawień ($AUC > 0.9$). Wydłużone CFT u tych pacjentów świadczyło o zaburzeniach krzepnięcia spowodowanych np. niedoborem osoczowych czynników krzepnięcia lub zaburzeniami agregacji płytek krwi.

Endotoksemię rozpoznano tylko w grupach pacjentów z zaburzeniami krzepnięcia, a wysoka aktywność endotoksyn utrzymywała się przez cały okres badania. Obecność endotoksemii u tych chorych wiązała się z ponad dwukrotnie wyższą śmiertelnością, w porównaniu do śmiertelności obserwowanej u chorych bez endotoksemii i zaburzeń hemostazy. Obserwacja ta potwierdza znaczenie szybkiej diagnostyki endotoksemii u pacjentów leczonych na oddziale intensywnej terapii, obarczonych ryzykiem zaburzeń hemostazy.

Podsumowując, badanie krzepnięcia metodą tromboelastometrii pozwoliło na identyfikację populacji pacjentów septycznych obarczonych wysokim ryzykiem zgonu. Analiza przeżywalności 28-dniowej wykazała, że obecność zaburzeń krzepnięcia, w postaci nadkrzepliwości, bądź jako skłonności do krwawień, wiązała się z endotoksemią i ponad dwukrotnie wyższą śmiertelnością. Uzyskane w prezentowanej pracy wyniki badań wskazują na użyteczność tromboelastometrii jako szybkiej, przyłóżkowej metody diagnostyki zaburzeń krzepnięcia u chorych z objawami sepsy, leczonymi na oddziale intensywnej terapii.

CEL V

Ocena przydatności nowej metody diagnostycznej rozpoznania endotoksemii w codziennej praktyce na oddziale intensywnej terapii

Do oznaczanie poziomu endotoksyn najczęściej stosowany jest test LAL (*Limulus Amebocyte Lysate*) oraz test pomiaru aktywności endotoksyn – EAA (*Endotoxin Activity Assay*). Test LAL został wykorzystany do oznaczenia stężenia endotoksyn w publikacji numer 4 z cyklu prac, w publikacjach 1, 2, 3 oraz 5 z cyklu prac wykorzystałam metodę EAA.

Test LAL

W metodzie stosowany jest wyciąg z komórek krwi kraba *Limulus polyphemus*. We krwi kraba znajdują się komórki zwane amebocytami, które zawierają ziarnistości z czynnikiem krzepnięcia, tzw. koagulogenem. Czynniki te reaguje z endotoksyną bakteryjną tworząc widoczny gołym okiem galaretowaty skrzep. Pobieranie krwi od kraba przeprowadzane jest z zachowaniem etyki badań i nie prowadzi do ich uśmiercenia; po pobraniu krwi karby są wypuszczane do swojego naturalnego środowiska.

Test LAL od lat siedemdziesiątych jest stosowany w przemyśle do wykrywania ewentualnych zanieczyszczeń w lekach, płynach i sprzęcie mającym kontakt z krwią. Test LAL jest również najczęściej stosowaną metodą do oznaczania stężenia endotoksyn w badaniach naukowych. Dostępne są różne wersje testu, różniące się sposobem odczytu.

Test LAL został wykorzystany do oznaczenia stężenia endotoksyn w publikacji numer 4 z cyklu prac (Adamik B, Kübler A, Goździk A, Goździk W. *Prolonged cardiopulmonary bypass is a risk factor for intestinal ischemic damage and endotoxemia. Heart Lung Circ. 2016 Nov 24. pii: S1443-9506(16)31671-7*). Do badań pobierano krew z wcześniej założonego wkłucia donaczyniowego przed rozpoczęciem zabiegu kardiochirurgicznego, w 6 i 24 godzinie po zabiegu. Próbkę krwi po 30 minutach od pobrania wirowano, a uzyskaną surowicę przechowywano w -70°C celem późniejszego wykonania oznaczeń. Stężenie endotoksyn zmierzono stosując metodę chromogenną i komercyjnie dostępny zestaw (Pierce LAL *Chromogenic Endotoxin Quantitation Kit*, Rockford, USA). Substratem chromogennym w metodzie jest nitroanilina. Stężenie endotoksyn jest odczytywane z krzywej standardowej w jednostkach EU/mL.

Oznaczenia stężenia endotoksyn wykonano w materiale pobranym od pacjentów bez cech zakażenia przed zabiegiem. Wystąpienie ischemii-reperfuzji indukowanej wydłużonym krążeniem pozaustrojowym może spowodować wzrost przepuszczalności jelita, translokację endotoksyn do krwi i w konsekwencji endotoksemię i indukcję reakcji zapalnej.

W badaniu zaobserwowano, że niskie przed zabiegiem stężenie endotoksyn znacznie wzrosło w 6 godzinie po zabiegu ($p=0.009$) i utrzymywało się podwyższone w 24 godzinie po zabiegu ($p=0.03$). Stężenie endotoksyn oznaczone testem LAL korelowało z czasem trwania krążenia pozaustrojowego i czasem zakleszczenia aorty.

Zastosowana metoda pomiaru stężenia endotoksyn jest czuła, dokładna i pomimo, że wymaga dużego nakładu pracy, jak najbardziej nadaje się do oznaczeń w badaniach naukowych. Należy jednak podkreślić, że test LAL nie jest certyfikowany do diagnostyki i monitorowania endotoksemii w badaniach klinicznych. Do tego celu służy test aktywności endotoksyn – EAA (*Endotoxin Activity Assay*).

Test Aktywności Endotoksyn

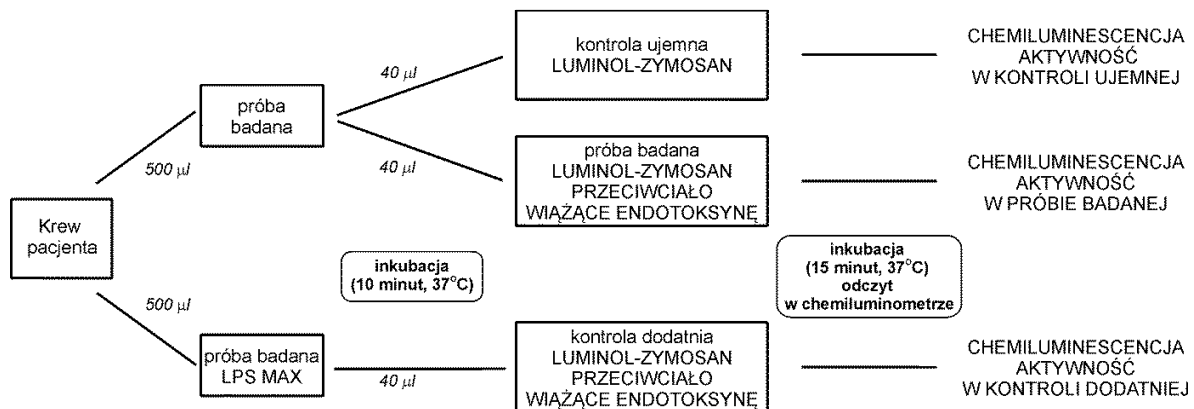
Test przeznaczony jest do oznaczania endotoksyn we krwi pacjenta. Został zaakceptowany jako test diagnostyczny do stosowania w materiale klinicznym zarówno w krajach Unii Europejskiej jak i w USA. EAA (Spectral Diagnostics INC, Toronto, Canada) jest szybkim, 30 minutowym badaniem pozwalającym na pomiar aktywności endotoksyn w próbce krwi pełnej (1 mililitr) pobranej do probówki z EDTA jako antykoagulantem. Jest to obecnie jedyna metoda diagnostyki endotoksemii dopuszczona do stosowania w próbach klinicznych.

Metoda oparta jest na pomiarze aktywacji neutrofilów przez endotoksyny. Krew pacjenta jest inkubowana z egzogennymi przeciwciałami IgM (przeciwciała są skierowane przeciwko lipidowemu fragmentowi endotoksyny pozyskanej z *E. coli J5*). Powstały kompleks jest opsonizowany przez obecne we krwi składniki dopełniacza. Opsonizowany kompleks w obecności zymosanu pobudza neutrofile do syntezy i uwalniania na zewnątrz komórki wolnych rodników. Wolne rodniki łączą się z luminolem, a emitowany po połączeniu sygnał jest odczytywany w chemiluminometrze. Ilość uwalnianych wolnych rodników jest proporcjonalna do stężenia endotoksyn w badanej próbce krwi. Każdemu pomiarowi towarzyszy kontrola ujemna zawierająca krew pacjenta, zymosan i luminol oraz kontrola dodatnia zawierająca krew, przeciwciała IgM, zymosan, luminol i endotoksynę dodaną w nadmiarze celem wywołania

maksymalnego pobudzenia neutrofilów. Procedura postępowania w teście została przedstawiona na Rycinie 2.

Rycina 2

Procedura postępowania w teście pomiaru aktywności endotoksyn EAA (*Endotoxin Activity Assay*)



Aktywność endotoksyn w próbie badanej była wyliczana w stosunku do aktywności uzyskanej po maksymalnej stymulacji komórek przez LPS, a obydwie wartości były korygowane o wartość odczytaną w kontroli ujemnej, zgodnie ze wzorem:

$$\text{aktywność endotoksyn} = \frac{\text{próba badana} - \text{kontrola ujemna}}{\text{kontrola dodatnia} - \text{kontrola ujemna}}$$

Uzyskane wyniki badań są wyrażone w jednostkach aktywności endotoksyn (*EAU, endotoxin activity units*) na skali od 0,00 – 1,00 i reprezentują średnią wartość z pomiarów wykonanych w duplikacie dla każdej próbki krwi pacjenta. Aktywność endotoksyn ≥ 0.4 EAU wskazuje na endotoksemię, przy czym wynik ≥ 0.4 EAU i < 0.6 EAU świadczy o umiarkowanej endotoksemii, a wynik ≥ 0.6 EAU świadczy o nasilonej endotoksemii. U osób zdrowych stężenie endotoksyn jest niskie i wynosi średnio 0.26 EAU [1]. Przejściowy niewielki wzrost aktywności endotoksyn może być obserwowany u osób zdrowych po intensywnych ćwiczeniach fizycznych.

Pomiar aktywności endotoksyn ma ogromne znaczenie przede wszystkim u krytycznie chorych leczonych na oddziale intensywnej terapii. Rozpoznanie endotoksemii ma kluczowe znaczenie dla szybkiej i właściwej identyfikacji chorych, u których można zastosować nową metodę oczyszczania krwi polegającą na pozaustrojowej eliminacji endotoksyn. Z pewnością test EAA jest użytecznym narzędziem diagnostycznym wspomagającym obserwacje kliniczne i może służyć pomocą zarówno do diagnostyki endotoksemii jak i do monitorowania postępów terapii eliminacji endotoksyn. Zaprezentowana chemiluminescencyjna metoda oznaczania aktywności endotoksyn została wykorzystana w omówionych wcześniej publikacjach 1, 2, 3 i 5 z cyklu prac, a zastosowanie praktyczne w intensywnej terapii dla wdrożenia i monitorowania procedury pozaustrojowej eliminacji endotoksyn zostało szczegółowo przedstawione w kolejnym rozdziale.

CEL VI

Wpływ pozaustrojowej eliminacji endotoksyn za pomocą filtrów adsorpcyjnych na poprawę funkcjonowania narządów u chorych we wstrząsie septycznym

Liczne dowody kliniczne potwierdzające znaczenie endotoksyn w indukowaniu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej w sepsie i wstrząsie septycznym od dawna skłaniają badaczy i klinicystów do poszukiwania metod neutralizacji lub eliminacji endotoksyn u pacjenta. Podejmowano próby kliniczne polegające na dożylnym podawaniu przeciwciał wiążących endotoksyny celem ograniczenia reakcji zapalnej w sepsie [15, 16]. Aby poprawić funkcję nerek u pacjentów septycznych z ostrym uszkodzeniem nerek podawano fosfatazę alkaliczną, enzym neutralizujący endotoksynę poprzez defosforylację reszt fosforanowych lipidu A [17]. Próbowano ograniczyć działanie endotoksyn na komórki poprzez blokowanie funkcji receptora TLR4 odpowiedzialnego za przesyłanie sygnału do wnętrza komórki i syntezę mediatorów reakcji zapalnej [18]. Niestety, próby te, okazały się nieskuteczne, a leki o potwierdzonej w kontrolowanych badaniach klinicznych skuteczności wiązania endotoksyn bakteryjnych są wciąż niedostępne w praktyce klinicznej. Przyczyny tych niepowodzeń mogły być bardzo różne. Substancje badane mogły być nieskuteczne dla niektórych typów lipopolisacharydu uwalnianego przez patogeny, podawane w nieodpowiednich ilościach lub zbyt późno w trakcie rozwoju sepsy, gdy doszło już do rozwoju niewydolności narządów. Wybór pacjentów mógł być niewłaściwy, ponieważ brak odpowiednich narzędzi diagnostycznych uniemożliwił rozpoznanie endotoksemii. Przyczyną niepowodzeń mogła być duża heterogenność grupy, jaką obserwujemy

wśród pacjentów septycznych – czynniki takie jak wiek, przebyte choroby, rozwój niewydolności narządów w przebiegu sepsy mają wpływ na odpowiedź organizmu na zakażenie.

Rozwiązaniem pozwalającym na usunięcie endotoksyn bakteryjnych u pacjentów we wstrząsie septycznym jest pozaustrojowe oczyszczanie krwi za pomocą filtrów adsorpcyjnych. Proces adsorpcji polega na wiązaniu związków do powierzchni adsorbenta. Wiązanie zachodzi w wyniku interakcji fizyko-chemicznej (np. wiązania hydrofobowe, jonowe) lub biologicznej (np. wiązanie antygen-przeciwciała). Kolumny adsorpcyjne stosowane w medycynie są najczęściej wypełniane związkami syntetycznymi w postaci ziaren lub włókien lub węglem aktywowanym. Całkowita powierzchnia wiązania w kolumnie adsorpcyjnej jest bardzo duża, co powoduje, że skuteczność eliminacji związków przez jest wysoka przez cały czas trwania hemoperfuzji.

Obecnie dostępne są dwa rodzaje adsorberów wiążących endotoksyny bakteryjne: adsorber zawierający antybiotyk polimiksynę B (*Polymyxin-B Adsorber*, Toraymyxin®, Toray Medical Co., Chiba, Japan) oraz adsorber zawierający białko swoiście wiążące endotoksyny (*Alteco® LPS Adsorber*, Alteco Medical AB, Lund, Szwecja). Oprócz typowych kolumn adsorpcyjnych pewne możliwości wiązania endotoksyn mają niektóre filtry przeznaczone do terapii nerkozastępczej (np. Oxiris, Baxter Gambro, USA). Filtry te oczyszczają krew przede wszystkim w oparciu o zjawiska konwekcji i dyfuzji, a eliminacja przez adsorpcję jest dużo mniej efektywna z uwagi na niewielką powierzchnię adsorpcyjną, w porównaniu do powierzchni w typowych kolumnach adsorpcyjnych.

W publikacji numer 2 z cyklu prac (**Adamik B, Zielinski S, Smiechowicz J, Kübler A. Endotoxin Elimination in Patients with Septic Shock: An Observation Study. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2015 Dec;63(6):475-83. doi: 10.1007/s00005-015-0348-8. Epub 2015 Jun 21. PMID: 26093653**) oceniano skuteczność pozaustrojowej eliminacji endotoksyn za pomocą hemoperfuzji u pacjentów we wstrząsie septycznym. Celem badania była 1.) poprawa funkcjonowania czynności narządów oraz 2.) ocena przydatności nowej metody oznaczania aktywności endotoksyn (*EAA, Endotoxin Activity Assay*) do szybkiej, przyłóżkowej diagnostyki endotoksemii i monitorowania skuteczności terapii eliminacji endotoksyn. Do badania włączeni zostali pacjenci leczeni na oddziale intensywnej terapii z rozpoznaniem wstrząsu septycznego i endotoksemii oraz z udokumentowanym lub podejrzeniem zakażenia Gram-ujemnego. Grupę kontrolną stanowili chorzy we wstrząsie septycznym bez endotoksemii. Wszyscy pacjenci byli leczeni zgodnie z obowiązującymi standardami *Surviving Sepsis Campaign* [19]. Eliminację endotoksyn

prowadzono za pomocą kolumny Alteco LPS Adsorber (Alteco Medical AB, Lund, Sweden). Kolumna zawiera porowate polietylenowe dyski opłaszczane białkiem wiążącym endotoksyny. Podczas przepływu krwi przez adsorber białko wiąże cząsteczki endotoksyn. Pozaustrojową eliminację endotoksyn rozpoczęto w pierwszej dobie od rozpoznania wstrząsu septycznego przez 120 minut. U pacjentów, u których aktywność endotoksyn utrzymywała się na wysokim poziomie po 24 godzinach od pierwszej eliminacji, wykonywano drugą 120 minutową hemoperfuzję. Stężenie endotoksyn w grupie badanej przed rozpoczęciem eliminacji wynosiło 0.70 EAU i było istotnie statystycznie wyższe niż w grupie kontrolnej (0.38 EAU) ($p < 0.0001$). Po pierwszej sesji eliminacji endotoksyn aktywność endotoksyn spadła z 0.70 EAU do 0.56 EAU ($p = 0.005$). W tym samym czasie średnie ciśnienie tętnicze wzrosło z 69 mm Hg do 80 mm Hg ($p = 0.002$) przy jednoczesnym spadku zapotrzebowania na noradrenalinę z 0.28 $\mu\text{g/kg/min}$ do 0.1 $\mu\text{g/kg/min}$ ($p = 0.04$). Obserwowano również znaczący spadek stężenia mleczanów z 3.03 mmol/L do 2.29 mmol/L ($p = 0.04$). Ogólny stan kliniczny pacjentów oceniany w skali SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) poprawił się, liczba punktów w skali spadła z 11 do 9 po 24 godzinach od eliminacji endotoksyn ($p = 0.01$). W tym samym czasie nie zaobserwowano poprawy stanu klinicznego w grupie kontrolnej. Uzyskane wyniki wskazują, iż jedną z istotnych przyczyn skuteczności pozaustrojowej eliminacji endotoksyn we wstrząsie septycznym jest podwyższenie średniego ciśnienia tętniczego.

Bakterie Gram-ujemne były najczęściej izolowanymi patogenami w obydwu grupach, badanej i kontrolnej. U pacjentów z endotoksemią w 78% przypadków zakażenie patogenem Gram-ujemnym było przyczyną wstrząsu septycznego, a w 17% przypadków był to patogen Gram-dodatni. Zatem endotoksemia może także wystąpić w sepsie o etiologii Gram-dodatniej, na skutek translokacji bakterii Gram-ujemnych z jelita do krwioobiegu.

Liczba płytek krwi spadła znacząco w grupie chorych, u których stosowano adsorber, lecz nie obserwowano powikłań krwotocznych w trakcie lub po zakończeniu procedury. Nie stwierdzono także istotnych zmian w aPTT, PT lub poziomie d-dimerów. Zmniejszenie liczby płytek krwi dotyczyło głównie pacjentów z uszkodzeniem nerek, u których terapię eliminacji endotoksyn wykonywano równolegle z terapią nerkozastępczą. Przyczyną zmniejszenia liczby płytek mogła być, zatem hemodilucja, jednak nie można wykluczyć interakcji absorbera z płytkami. W prezentowanym badaniu nie obserwowano krwawień związanych z hemoperfuzją, jednak należy

zwrócić szczególną uwagę na ewentualne zaburzenia krzepnięcia w trakcie i podczas procedury u pacjentów z wyjściowo niską liczbą płytek krwi.

W prezentowanym badaniu śmiertelność w obydwu grupach była podobna. Wcześniej, w wielu badaniach klinicznych wykazano, iż u pacjentów z endotoksemią ryzyko zgonu jest wyższe [1, 20]. W publikacji numer 1 z cyklu prac (*Adamik B, Smiechowicz J, Jakubczyk D, Kübler A. Elevated Serum PCT in Septic Shock With Endotoxemia Is Associated With a Higher Mortality Rate. Medicine (Baltimore). 2015 Jul;94(27):e1085. doi: 10.1097/MD.0000000000001085. PMID: 26166090*) w grupie pacjentów we wstrząsie septycznym z endotoksemią śmiertelność była dwukrotnie wyższa w porównaniu do grupy pacjentów bez endotoksemii (52 vs. 25%, $p=0.004$). Zatem, rozpoznanie endotoksemii pozwala na identyfikację grupy chorych obarczonych zwiększonym ryzykiem zgonu, a zbliżony współczynnik śmiertelności w prezentowanym badaniu w grupach badanej i kontrolnej może wskazywać na korzystny efekt działania terapii eliminacji endotoksyn. Uzyskane wyniki badań wskazują, iż 1.) pozaustrojowa eliminacja endotoksyn stosowana jako terapia dodatkowa do standardowego postępowania we wstrząsie septycznym poprawia funkcjonowanie układu krążenia, 2.) zastosowanie kolumny adsorbcyjnej pozwoliło na skuteczną eliminację endotoksyn z krwiobiegu, 3.) badanie wykazało użyteczność testu do pomiaru aktywności endotoksyn dla szybkiej i właściwej kwalifikacji chorych do pozaustrojowej eliminacji endotoksyn. Zastosowanie pomiarów endotoksemii pozwoliło na identyfikację chorych we wstrząsie septycznym, u których terapia eliminacji endotoksyn może przyczynić się do poprawy stanu klinicznego.

WNIOSKI

- I. Endotoksemia jest często obecna u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym i wiąże się z nasileniem ogólnoustrojowej reakcji zapalnej.
- II. Źródłem endotoksyn w sepsie jest miejsce zakażenia patogenem Gram-ujemnym lub naturalna flora jelitowa. Wskaźnikiem uszkodzenia komórek nabłonka jelit może być wzrost stężenia I-FABP (*Intestinal fatty acid-binding protein*) we krwi.
- III. Pacjenci z endotoksemią obarczeni są wyższym ryzykiem zgonu.
- IV. Przejściowa endotoksemia może wystąpić u pacjentów bez objawów zakażenia, poddanych zabiegom kardiochirurgicznym z użyciem krążenia pozaustrojowego.

- V. Endotoksemia we wstrząsie septycznym indukuje zaburzenia hemostazy.
- VI. Obecnie dużym wyzwaniem klinicznym jest prawidłowa i szybka identyfikacja pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym, u których zastosowanie pozaustrojowych metod eliminacji endotoksyn miałyby korzystny wpływ na stan kliniczny i przeżywalność. Zastosowana w prezentowanym cyklu prac nowa metoda diagnostyczna pomiaru aktywności endotoksyn pozwala na szybkie rozpoznanie endotoksemii i może być użytecznym narzędziem do wczesnej identyfikacji pacjentów septycznych, dla których pozaustrojowa eliminacja endotoksyn będzie miała istotny wpływ na ograniczenie reakcji zapalnej, poprawę funkcjonowania narządów i zwiększenie przeżywalności.
- VII. Eliminacja endotoksyn z krążenia z zastosowaniem kolumny adsorbcyjnej, zastosowana jako procedura dodatkowa do standardowego leczenia wstrząsu septycznego poprawia czynność narządów, na co wskazuje wzrost średniego ciśnienia tętniczego przy jednoczesnym spadku zapotrzebowania na noradrenalinę.

ZASTOSOWANIE UZYSKANYCH WYNIKÓW BADAŃ W PRAKTYCE

- I. W Klinice Anestezjologii i Intensywnej Terapii aktywność endotoksyn u pacjentów septycznych jest mierzona przyłożkowo, stanowiąc nową metodę monitorowania funkcji immunologicznej organizmu. Szybkie rozpoznanie endotoksemii (30 minut) pozwala na bardziej precyzyjną ocenę stanu odporności chorych septycznych, a ponadto umożliwia właściwy dobór metod leczenia sepsy.
- II. U pacjentów septycznych wymagających terapii nerkozastępczej, u których rozpoznano endotoksemię, stosowany jest filtr do hemofiltracji posiadający dodatkową właściwość adsorbcji endotoksyn z krwi. Stosowanie tego filtra pod kontrolą endotoksemii pozwala na przyczynowe leczenie sepsy i wstrząsu septycznego poprzez eliminację endotoksyn.
- III. Rozpoczęto również wdrażanie programu polegającego na zastosowaniu kolumn adsorbcyjnych opłaszczonych polimiksyną, służących do pozaustrojowej eliminacji endotoksyn u chorych we wstrząsie septycznym, u których rozpoznano endotoksemię.
- IV. Do badania zaburzeń hemostazy u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym wdrożono tromboelastometrię. Metoda dostarcza dodatkowych danych pozwalających

na szybkie rozpoznanie przyczyn zaburzeń krzepnięcia, wdrożenie odpowiedniego leczenia oraz monitorowanie leczenia.

PIŚMIENNICTWO

- 1 Marshall JC, Foster D, Vincent JL, Cook DJ, Cohen J, Dellinger RP, Opal S, Abraham E, Brett SJ, Smith T, Mehta S, Derzko A, Romaschin A; MEDIC study. Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study. *J Infect Dis*. 2004 Aug 1;190(3):527-34. PMID: 15243928, DOI: 10.1086/422254.
- 2 Hurley JC, Guidet B, Offenstadt G, Maury E. Endotoxemia and mortality prediction in ICU and other settings: underlying risk and co-detection of gram negative bacteremia are confounders. *Crit Care*. 2012 Aug 7;16(4):R148. PMID:22871090, DOI:10.1186/cc11462
- 3 Godowski PJ. A smooth operator for LPS responses. *Nat Immunol*. 2005 Jun;6(6):544-6. PMID:15908933, DOI:10.1038/ni0605-544
- 4 Calvano SE, Xiao W, Richards DR, Felciano RM, Baker HV, Cho RJ, Chen RO, Brownstein BH, Cobb JP, Tschoeke SK, Miller-Graziano C, Moldawer LL, Mindrinos MN, Davis RW, Tompkins RG, Lowry SF; Inflamm and Host Response to Injury Large Scale Collab. Res. Program. A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature*. 2005 Oct 13;437(7061):1032-7. PMID:16136080, DOI:10.1038/nature03985
- 5 Kübler A, Adamik B, Durek G, Mayzner-Zawadzka E, Gaszyński W, Karpel E, Duszyńska W. Results of the severe sepsis registry in intensive care units in Poland from 2003-2009. *Anaesthesiol Intensive Ther*.2015;47(1):7-13.PMID:25751289, DOI:10.5603/AIT.2015.0002
- 6 Andreasen AS, Krabbe KS, Krogh-Madsen R, Taudorf S, Pedersen BK, Møller K. Human endotoxemia as a model of systemic inflammation. *Curr Med Chem*. 2008;15(17):1697-705. Review. PMID:18673219
- 7 Müller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Jan;86(1):396-404. PMID:11232031, DOI:10.1210/jcem.86.1.7089
- 8 Tavares E, Maldonado R, Ojeda ML, Miñano FJ. Circulating inflammatory mediators during start of fever in differential diagnosis of gram-negative and gram-positive infections in leukopenic rats. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005 Sep;12(9):1085-93. PMID:16148175, DOI:10.1128/CDLI.12.9.1085-1093.2005
- 9 Japelj B, Pristovsek P, Majerle A, Jerala R. Structural origin of endotoxin neutralization and antimicrobial activity of a lactoferrin-based peptide. *J Biol Chem*. 2005 Apr 29;280(17):16955-61. PMID:15687491, DOI:10.1074/jbc.M500266200
- 10 Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R; Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012.*Intensive Care Med*. 2013 Feb;39(2):165-228. PMID: 23361625, DOI: 10.1007/s00134-012-2769-8
- 11 Yue C, Ma B, Zhao Y, Li Q, Li J. Lipopolysaccharide-induced bacterial translocation is intestine site-specific and associates with intestinal mucosal inflammation. *Inflammation*. 2012 Dec ;35(6):1880-8. PMID: 22821406, DOI:10.1007/s10753-012-9510-1
- 12 Owczuk R, Dylczyk-Sommer A, Wojciechowski J, Paszkiewicz M, Wujtewicz M, Stepnowski P, Twardowski P, Sawicka W, Domżałski M, Wujtewicz MA. The influence of epidural blockade on gut permeability in patients undergoing open surgical repair of abdominal aortic aneurysm. *Anaesthesiol Intensive Ther*. 2016;48(2):122-7.PMID: 26965722, DOI:10.5603/AIT.a2016.0014
- 13 Daudel F, Kessler U, Folly H, Lienert JS, Takala J, Jakob SM. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. *Crit Care*. 2009;13(2):R42. PMID:19331653, DOI:10.1186/cc7765

- 14 Velik-Salchner C, Streif W, Innerhofer P, Maier S, Knotzer H, Pajk W, Klingler A, Mittermayr M, Haas T. Endotoxemia-induced changes in coagulation as measured by rotation thrombelastometry technique and conventional laboratory tests: results of a pilot study on pigs. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2009 Jan;20(1):41-6. PMID:19129727, DOI: 10.1097/MBC.0b013e32831be9ad
- 15 Baumgartner JD, Glauser MP, McCutchan JA, Ziegler EJ, van Melle G, Klauber MR, Vogt M, Muehlen E, Luethy R, Chioloro R, Geroulanos S. Prevention of gram-negative shock and death in surgical patients by antibody to endotoxin core glycolipid. *Lancet* 1985; 2(8446):59–63. PMID:2861523
- 16 The National Committee for the Evaluation of Centoxin. The French national registry of HA-1A (Centoxin) in septic shock: a cohort study of 600 patients. *Arch Intern Med* 1994; 154:2484–91. PMID:7979845
- 17 Pickkers P, Heemskerk S, Schouten J, Laterre PF, Vincent JL, Beishuizen A, Jorens PG, Spapen H, Bulitta M, Peters WH, van der Hoeven JG. Alkaline phosphatase for treatment of sepsis-induced acute kidney injury: a prospective randomized double-blind placebo-controlled trial. *Crit Care*. 2012 Jan 23;16(1):R14. PMID:22269279, DOI: 10.1186/cc11159.
- 18 Opal SM, Laterre PF, Francois B, LaRosa SP, Angus DC, Mira JP, Wittebole X, Dugernier T, Perrotin D, Tidswell M, Jauregui L, Krell K, Pachel J, Takahashi T, Peckelsen C, Cordasco E, Chang CS, Oeyen S, Aikawa N, Maruyama T, Schein R, Kalil AC, Van Nuffelen M, Lynn M, Rossignol DP, Gogate J, Roberts MB, Wheeler JL, Vincent JL; ACCESS Study Group. Effect of eritoran, an antagonist of MD2-TLR4, on mortality in patients with severe sepsis: the ACCESS randomized trial. *JAMA*. 2013 Mar 20;309(11):1154-62. PMID:23512062, DOI: 10.1001/jama.2013.2194.
- 19 Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med*. 2008 Jan;34(1):17-60. PMID:18058085, DOI:10.1007/s00134-007-0934-2
- 20 Yaguchi A, Yuzawa J, Klein DJ, Takeda M, Harada T. Combining intermediate levels of the Endotoxin Activity Assay (EAA) with other biomarkers in the assessment of patients with sepsis: results of an observational study. *Crit Care*. 2012 May 18;16(3):R88. PMID:22607642, DOI:10.1186/cc11350

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO - BADAWCZYCH (ARTYSTYCZNYCH).

Mój dorobek naukowy to 59 prac pełnotekstowych.

Wśród prac pełnotekstowych znajdują się:

- 43 prace oryginalne
- 2 opisy przypadków
- 5 prac poglądowych
- 1 rozdział w monografii
- 1 pełnotekstowy referat w materiałach zjazdowych
- 3 prace popularno-naukowe
- 2 prace w suplementach czasopism
- 2 prace kontrybutorskie

Oprócz prac pełno tekstowych, mój dorobek naukowy obejmuje 53 komunikaty zjazdowe.

Pełne prace IF = 42.156; MNISW/KBN = 509

Prace kontrybutorskie IF =11,445

Liczba cytowań bez autocytowań: 259

H -indeks: 10

(Raport cytowań według bazy *ISI Web of Science* (z dnia 30.01.2017))

a.) Zainteresowania badawcze

Moje zainteresowania badawcze poza tematyką związaną z prezentowanym cyklem prac obejmują pięć podstawowych zagadnień:

- 1. Regulacja aktywności TNF (*Tumor Necrosis Factor*)**
- 2. Rejestr sepsy**
- 3. Indukcja reakcji zapalnej w zabiegach kardiochirurgicznych**
- 4. Mediatory reakcji zapalnej w sepsie**
- 5. Zaburzenia hemostazy**

ad. 1) Regulacja aktywności TNF(*Tumor Necrosis Factor*)

W latach 2001-2006 pracowałam w jednostce badawczej National Institutes of Health (Bethesda, USA). Podczas mojego 5-letniego pobytu zajmowałam się badaniami mechanizmów

regulacji aktywności TNF. Jest to cytokina o właściwościach pro-zapalnych, która w przebiegu reakcji zapalnej pojawia się, jako jeden z pierwszych mediatorów. TNF aktywuje syntezę cytokin, tlenku azotu i innych mediatorów reakcji zapalnej oraz stymuluje proces krzepnięcia. Aktywność TNF jest regulowana przez specyficzne receptory wiążące TNF. Typ I receptora dla TNF (TNFR1) to 55-kDa białko uwalniane z komórek dwoma drogami. Pierwsza polega na proteolizie cząsteczki TNFR1, w wyniku czego powstaje rozpuszczalna postać receptora o masie 27-34 kDa. Druga droga polega na swobodnym uwalnianiu z komórki całej cząsteczki TNFR1 w błonie pęcherzyków egzosomalnych. Białko ARTS-1 (*Aminopeptidase Regulator of TNFR1 Shedding*) to białko występujące w retikulum endoplazmatycznym, które wiąże TNFR1 i również reguluje uwalnianie receptora [1, 4]. Stosując spektroskopię masową wykazałam po raz pierwszy, że RBMX (*RNA Binding Motif Protein, X-Linked*), 43-kDa białko wiążące RNA (*Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein (hnRNP) G*), łączy się z ARTS-1 i reguluje obydwie drogi uwalniania TNFR1- po proteolitycznym rozkładzie cząsteczki jak i swobodne uwalnianie [5].

Wyniki badań nad regulacją aktywności TNF zostały opublikowane w pięciu pracach oryginalnych:

1. Jing Zhang, Feras I. Hawari, Robert D. Shamburek, **Barbara Adamik**, Maryann Kaler, Aminul Islam, Da-Wei Liao, Farshid N. Rouhani, Matthew Ingham, Stewart J. Levine.: *Circulating TNFR1 exosome-like vesicles partition with the LDL fraction of human plasma. Biochem.Biophys.Res.Commun. 2008 Vol.366 no.2; s.579-584*
2. Aminul Islam, **Barbara Adamik**, Feras I. Hawari, Ge Ma, Farshid N. Rouhani, Jing Zhang, Stewart J. Levine.: *Extracellular TNFR1 release requires the calcium-dependent formation of a nucleobindin 2-ARTS-1 complex. J.Biol.Chem. 2006 Vol.281 no.10; s.6860-6873*
3. Caitriona A. Buckley, Farshid N. Rouhani, Maryann Kaler, **Barbara Adamik**, Feras I. Hawari, Stewart J. Levine.: *Amino-terminal TACE prodomain attenuates TNFR2 cleavage independently of the cysteine switch. Am.J.Physiol.Lung Cell.Mol.Physiol. 2005 Vol.288 no.6; s.L1132-L1138*
4. Stewart J. Levine, **Barbara Adamik**, Feras I. Hawari, Aminul Islam, Zu-Xi Yu, Da-Wei Liao, Jing Zhang, Xinle Cui, Farshid N. Rouhani.: *Proteasome inhibition induces TNFR1 shedding from human airway epithelial (NCI-H292) cells. Am.J.Physiol.Lung Cell.Mol.Physiol. 2005 Vol.289 no.2; s.L233-L243*
5. **Barbara Adamik**, Aminul Islam, Farshid N. Rouhani, Feras I. Hawari, Jing Zhang, Stewart J. Levine.: *An association between RBMX, a heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, and ARTS-1 regulates extracellular TNFR1 release. Biochem.Biophys.Res.Commun. 2008 Vol.371 no.3; s.505-509*

ad. 2) Rejestr sepsy

Od 2006 roku uczestniczę w realizacji jedno- i wielośrodkowych projektów kierowanych przez Prof. Andrzeja Küblera, mających na celu gromadzenie danych o przypadkach sepsy. Moje zaangażowanie w rejestry sepsy polega na udziale w tworzeniu baz danych, w analizie uzyskanych wyników i ich interpretacji. Tworzenie rejestrów sepsy pozwala na pozyskanie informacji niezbędnych do oceny częstości występowania sepsy, epidemiologii,

stosowanych metod leczenia i przeżywalności. W jednym z badań wielośrodkowych, prowadzonym w latach 2003–2009 zarejestrowano 5080 przypadków ciężkiej sepsy leczonych na oddziałach intensywnej terapii w Polsce. Przypadki ciężkiej sepsy były rejestrowane po zakończeniu leczenia na oddziale intensywnej terapii. Analizowano dane takie jak: dane demograficzne, przyczyny przyjęcia na intensywną terapię, identyfikację ciężkiej sepsy zgodnie z obowiązującą definicją, informacje mikrobiologiczne i kliniczne, przebieg leczenia i jego wynik. Uzyskane rezultaty [1].

Do oceny epidemiologii sepsy stosowano również metodę badania chorobowości punktowej. W projekcie realizowanym w latach 2012 i 2013 łącznie zebrano dane o 2258 pacjentach z 244 oddziałów intensywnej terapii w Polsce. Analiza danych wykazała, że roczna zachorowalność na ciężką sepsę w Polsce jest duża i wynosi 65 na 100 000 osób, a wśród chorych z ciężką sepsą prawie połowa (44%) miała rozpoznany wstrząs septyczny [2].

Metodykę badania chorobowości punktowej została wykorzystana również w wielośrodkowym badaniu oceniającym epidemiologię i postępowanie terapeutyczne u pacjentów wentylowanych mechanicznie na oddziale intensywnej terapii [3]. W badaniu udział wzięły 73 oddziały intensywnej terapii. Wentylację mechaniczną w dniu badania stosowano u 73.6% pacjentów, przy czym prawie połowa pacjentów była wentylowana z przyczyn pozapłucnych.

W badaniach ankietowych dotyczących przypadków sepsy w Polsce analizowane były także zagadnienia etyczne związane z terapią daremną na oddziale intensywnej terapii [4, 6]. Wyniki dotychczas zakończonych projektów zostały przedstawione w sześciu pracach:

1. Andrzej Kübler, **Barbara Adamik**, Grażyna Durek, Ewa Mayzner-Zawadzka, Wojciech Gaszyński, Ewa Karpel, Wiesława Duszyńska.: *Results of the severe sepsis registry in intensive care units in Poland from 2003-2009.* *Anaesthesiol.Intens.Ther.* 2015 Vol.47 no.1; s.8-14
2. Andrzej Kübler, **Barbara Adamik**, Beata Ciszewicz-Adamiczka, Elżbieta Ostrowska.: *Severe sepsis in intensive care units in Poland - a point prevalence study in 2012 and 2013.* *Anaesthesiol.Intens.Ther.* 2015 Vol.47 no.4; s.315-319.
3. Andrzej Kübler, Dariusz Maciejewski, **Barbara Adamik**, Małgorzata Kaczorowska.: *Mechanical ventilation in ICUs in Poland: a multi-center point-prevalence study.* *Med.Sci.Monit.* 2013 Vol.19; s.424-429.
4. Andrzej Kübler, **Barbara Adamik**, Małgorzata Lipińska-Gediga, Jarosław Kędziora, Łukasz Stróżecki.: *Postawy lekarzy pracujących na oddziałach intensywnej terapii w Polsce wobec opieki nad umierającymi pacjentami - wyniki krajowego badania ankietowego w: Dylematy medyczne i prawne. Intensywna terapia bezpieczna dla lekarza i pacjenta ; pod red. Andrzeja Küblera, Igora Chęcińskiego; Wrocław : Wrocławskie Wydawnictwo Naukowe Atla 2, 2013; s.19-27. ISBN 978-8360732-80-9.*
5. Teresa Kaiser, Andrzej Kübler, Wiesława Duszyńska, Małgorzata Burzyńska, Beata Adamiczka-Ciszewicz, Małgorzata Lipińska-Gediga, **Barbara Adamik**, Karola Lentka, Elżbieta Ostrowska.: *Trzy lata działalności Oddziału Intensywnej Terapii w Akademickim Szpitalu Klinicznym.* *Sepsis 2012 T.5 nr 2; s.81-82.*
6. Andrzej Kübler, **Barbara Adamik**, Małgorzata Lipińska-Gediga, Jarosław Kędziora, Łukasz Strożecki.: *End-of-life attitudes of intensive care physicians in Poland: results of a national survey.* *Intens.Care Med.* 2011 Vol.37 no.8; s.1290-1296

ad. 3) Indukcja reakcji zapalnej w zabiegach kardiochirurgicznych

Od lat uczestniczę w projektach badawczych, w których oceniany jest wpływ rozległego urazu związanego z zabiegiem kardiochirurgicznym na indukcję ogólnoustrojowej reakcji zapalnej. W projektach tych współpracuję z Kliniką Chirurgii Serca Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz z Zakładem Terapii Doświadczalnej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej we Wrocławiu.

Podczas zabiegu chirurgicznego komórki krwi i śródbłonna naczyń są stymulowane do syntezy mediatorów zapalenia pod wpływem czynników takich jak: spadek ciśnienia krwi, zjawisko ischemii/reperfuzji, zwiększenie przepuszczalności nabłonka w jelicie i translokacja endotoksyn z jelita do krwi, kontakt krwi ze sztuczną powierzchnią, uraz chirurgiczny, zmiany temperatury. Aktywacja reakcji zapalnej obserwowana podczas zabiegu kardiochirurgicznego ma charakter przejściowy i samoograniczający się. Jeżeli dochodzi do powikłań w postaci pogorszenia funkcji narządów, zaburzeń krzepnięcia i krwawień, lub powikłań infekcyjnych, mediatory reakcji zapalnej utrzymują się na wysokim poziomie we krwi i mogą być pomocne we wczesnym rozpoznaniu powikłań i monitorowaniu leczenia [1, 2, 4-12].

W badaniach nad wpływem tlenu azotu na aktywację leukocytów podczas symulowanego krążenia pozaustrojowego realizowanych w ramach grantu przyznanego przez Karolinska Institutet współpracowałam z Kliniką Kardiochirurgii Szpitala Uniwersyteckiego w Upsali [3]. W badaniu wykazano wpływ tlenu azotu na produkcję mieloperoksydazy, lipokaliny i laktoferyny podczas krążenia pozaustrojowego.

Zmiany stężenia mediatorów zapalenia u pacjentów poddanych zabiegom kardiochirurgicznym w krążeniu pozaustrojowym są tematem 12 prac oryginalnych:

1. **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler, Anna Goździk, Waldemar Goździk. *Prolonged Cardiopulmonary Bypass is a Risk Factor for Intestinal Ischaemic Damage and Endotoxaemia. Heart Lung Circ. 2016 Nov 24. pii: S1443-9506(16)31671-7. doi: 10.1016/j.hlc.2016.10.012*
2. Waldemar Goździk, **Barbara Adamik**, Anna Goździk, Maciej Rachwalik, Wojciech Kustrzycki, Andrzej Kübler: *Unchanged plasma levels of the soluble urokinase plasminogen activator receptor in elective coronary artery bypass graft surgery patients and cardiopulmonary bypass use. PLoS One 2014 Vol.9 no.6; art.e98923 [7 s.]; doi:10.1371/journal.pone.0098923.*
3. M. Lahtinen, V. Melki, **Barbara Adamik**, H. Khamis, J.W. Borowiec.: *Nitric oxide and inflammatory response in simulated extracorporeal circulation. Thorac.Cardiovasc.Surg. 2003 Vol.51 no 3; s.130-137.*
4. Waldemar Goździk, Grażyna Durek, Piotr Maślanka, **Barbara Adamik**, Krzysztof Namięta, Andrzej Kübler, Wojciech Kustrzycki.: *Hormonalna odpowiedź na stres okołoperacyjny przy znieczuleniu całkowicie dożylnym z zastosowaniem ciągłego wlewu remifentanilu i propofolu TCI do zabiegów chirurgicznej rewaskularyzacji wieńcowej z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego. Anestezjol.Intens.Ter. 2003 T.35 nr 3; s.157-164.*
5. Waldemar Goździk, Wojciech Kustrzycki, Grażyna Durek, Zdzisław Falkiewicz, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler, Krzysztof Namięta.: *Ocena porównawcza stężenia białka S-100 B w surowicy chorych poddawanych*

- chirurgicznej rewaskularyzacji wieńcowej z zastosowaniem różnych technik krążenia pozaustrojowego. *Anestezjol.Intens.Ter.* 2002 T.34 nr 2; s.91-96.
6. Wojciech Kustrzycki, **Barbara Adamik**, Dariusz Rosiński, Maciej Rachwałik.: Ocena zmian stężenia elastazy granulocytów u chorych poddanych zabiegom kardiochirurgicznym z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego. *Med.Intens.Ratunk.* 2001 T.4 nr 1; s.5-9.
 7. Dariusz Rosiński, Waldemar Goździk, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler.: Ocena czynności układu krzepnięcia podczas zabiegów operacyjnych z zastosowaniem krążenia pozaustrojowego. *Med.Intens.Ratunk.* 2001 T.4 nr 4; s.205-213.
 8. Waldemar Goździk, Wojciech Kustrzycki, Grażyna Durek, Zdzisław Falkiewicz, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler.: The central nervous system injury during coronary artery by-pass grafting in hypothermia or normothermia. Evaluation based on the serum levels of protein S-100B. *Kardiol.Pol.*2000 T.53 nr 8; s.87-3.
 9. **Barbara Adamik**, Joanna Kübler-Kiełb, Bożena Gołębiowska, Andrzej Gamian, Andrzej Kübler: Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites, neopterin, and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications. *Intens.Care Med.* 2000 Vol.26 no.9; s.1259-1267.
 10. Bogusława Płaskowska, **Barbara Adamik**, Paweł S. Berezowicz, Andrzej Kübler.: Endothelium response to prolonged extracorporeal circulation. *Med.Sci.Monit.* 1999 Vol.5 no.3; s.452-455.
 11. Andrzej Własczyk, Michał Zimecki, **Barbara Adamik**, Grażyna Durek, Andrzej Kübler.: Immunological status of patients subjected to cardiac surgery: effect of lactoferrin on proliferation and production of interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha by peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 1997 Vol.45 no.2-3; s.201-212.
 12. Andrzej Własczyk, **Barbara Adamik**, Grażyna Durek, Andrzej Kübler, Michał Zimecki.: Immunological status of patients subjected to cardiac surgery: serum levels of interleukin 6 and tumor necrosis factor α and the ability of peripheral blood mononuclear cells to proliferate and produce these cytokines in vitro. *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 1996 Vol.44 no.2-3; s.225-234

ad. 4) Mediatorzy reakcji zapalnej w sepsie

Aktywacja reakcji zapalnej i uwalnianie mediatorów zapalenia u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym to zagadnienia będące od wielu lat przedmiotem moich badań.

Obserwacja zmian stężenia mediatorów w sepsie umożliwia zrozumienie kaskadowej aktywacji procesów zapalnych indukowanych przez patogeny. Zagadnienia te były przedmiotem mojej pracy doktorskiej w 1996 roku („Odpowiedź immunologiczna pacjentów na wstrząs septyczny i pourazowy” promotor Prof. dr hab. Michał Zimecki; Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Akademii Medycznej we Wrocławiu: / Wrocław, 1996; 101 k., [42] k., il., bibliogr. 170 poz.) oraz wielu późniejszych badań [12, 13, 16, 17]. Spośród tych prac, publikacja pt. *Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites, neopterin, and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications. Intens.Care Med.* 2000 [12] była dotychczas cytowana 50 razy.

Mediatorem często badanym i wielokrotnie opisywanym w moich pracach jest laktoferyna, białko o właściwościach immunomodulujących, występujące m. in. w ziarnistościach granulocytów. W przeprowadzonych badaniach obserwowano znaczny wzrost stężenia laktoferyny w sepsie i wstrząsie septycznym, z jednoczesną aktywacją fagocytozy i procesów

regeneracji tkanek oraz hamowaniem syntezy interleukiny 6 [1, 16, 17, 18]. Prace, w których badano immunomodulujące działanie laktoferyny w sepsie były realizowane we współpracy z Zakładem Terapii Doświadczalnej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej we Wrocławiu.

Mediatory reakcji zapalnej, których stężenie wzrasta w początkowym etapie sepsy, mogłyby być użytecznym narzędziem diagnostycznym uzupełniającym diagnozę kliniczną. W wiele projektach badawczych, w których brałam udział poszukiwano takich mediatorów zapalenia, które mogłyby służyć jako specyficzne biomarkery sepsy. Oceniana była przydatność pomiarów prokalcytoniny [10, 12, 15] interleukiny 6 i 8 [14], antyoksydantów [13], neopteryny i metabolitów tlenu azotu [11]. Obecnie w intensywnej terapii, spośród wielu poznanych mediatorów, powszechnie stosuje się pomiar prokalcytoniny 1.) jako markera infekcji bakteryjnej, 2.) do różnicowania pomiędzy wstrząsem septycznym, a wstrząsem kardiogenym, 3.) do różnicowania pomiędzy infekcją o etiologii bakteryjnej i innej, 4.) do monitorowania postępów leczenia pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym, 5.) do monitorowania stanu pacjenta w okresie pooperacyjnym celem wczesnego rozpoznania ewentualnych powikłań infekcyjnych.

Aktywacja mediatorów zapalenia u pacjentów z sepsą i wstrząsem septycznym jest tematem mojej rozprawy doktorskiej, 16 prac oryginalnych, 2 prac poglądowych i 2 opisów przypadków:

1. Jolanta Artym, Maja Kocięba, Ewa Zaczyńska, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler, Michał Zimecki, Marian Kruzel: *Immunomodulatory properties of human recombinant lactoferrin in mice and their implications for therapeutic use in humans*. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2017, in press.
2. **Barbara Adamik**, Jakub Śmiechowicz, Andrzej Kübler.: *The importance of early detection of endotoxemia*. *Immune Imun.* 2016 Vol.22 no.7; s.503-509.
3. **Barbara Adamik**, Jakub Śmiechowicz, Dominika Jakubczyk, Andrzej Kübler.: *Elevated serum PCT in septic shock with endotoxemia is associated with a higher mortality rate*. *Medicine (Baltimore)* 2015 Vol.94 no.27; art.e1085 [5 s.].
4. **Barbara Adamik**, Stanisław Zieliński, Jakub Śmiechowicz, Andrzej Kübler.: *Endotoxin elimination in patients with septic shock: an observation study*. *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 2015 Vol.63 no.6; s.475-483.
5. Anna Kupiec, Maciej Guziński, Agata Chalasiewicz, **Barbara Adamik**, Wiesława Duszyńska.: *Zapalenie płuc o etiologii Legionella pneumophila leczone w oddziale intensywnej terapii z zastosowaniem pozaustrojowej eliminacji endotoksyn*. *Forum Zakaż.* 2014 T.5 nr 6; s.401-405.
6. Wiesława Duszyńska, Jakub Śmiechowicz, **Barbara Adamik**, Stanisław Zieliński, Andrzej Kübler.: *Advanced therapeutic methods for the treatment of meningococcal septic shock - case report*. *Anaesthesiol.Intens.Ther.* 2012 Vol.44 no.4; s.212-216.
7. Teresa Kaiser, Andrzej Kübler, Wiesława Duszyńska, Małgorzata Burzyńska, Beata Adamiczka-Ciszewicz, Małgorzata Lipińska-Gediga, **Barbara Adamik**, Karola Lentka, Elżbieta Ostrowska.: *Trzy lata działalności Oddziału Intensywnej Terapii w Akademickim Szpitalu Klinicznym*. *Sepsis* 2012 T.5 nr 2; s.81-82.
8. Marzena Zielińska, Agnieszka Kaminiarz, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler, Andrzej Gamian, Stanisław Zieliński.: *Wpływ znieczulenia ogólnego i przewodowego oraz zabiegu operacyjnego na poziom interleukin pro- i antyzapalnych u dzieci*. *Pediatr.Pol.* 2003 T.78 nr 5; s.391-396.
9. Andrzej Kübler, **Barbara Adamik**, Paweł S. Berezowicz.: *Dostępność badań laboratoryjnych na szpitalnych oddziałach intensywnej terapii (ocena ankietowa)*. *Med.Intens.Ratunk.* 2001 T.4 nr 4; s.223-226.

10. Joanna Kübler-Kiełb, **Barbara Adamik**.: Wskaźniki prognostyczne posocznicy i wstrząsu septycznego. *Post.Hig.Med.Dośw.* 2000 T.54 z.2; s.119-132.
11. Bożena Gołębiowska, Joanna Kübler-Kiełb, **Barbara Adamik**, Teresa Kaiser, Andrzej Gamian, Andrzej Kübler.: Przydatność diagnostyczna pomiarów neopteryny u pacjentów z posocznicą i wstrząsem septycznym. *Med.Intens.Ratunk.* 2000 T.3 nr 3; s.131-135.
12. **Barbara Adamik**, Joanna Kübler-Kiełb, Bożena Gołębiowska, Andrzej Gamian, Andrzej Kübler.: Effect of sepsis and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass on plasma level of nitric oxide metabolites, neopterin, and procalcitonin: correlation with mortality and postoperative complications. *Intens.Care Med.* 2000 Vol.26 no.9; s.1259-1267.
13. **Barbara Adamik**, Joanna Kübler-Kiełb, Bożena Gołębiowska, Andrzej Gamian, Andrzej Kübler.: Aktywność antyoksydacyjna krwi pacjentów we wstrząsie septycznym. *Med.Intens.Ratunk.* 1999 T.2 nr 4; s.291-295.
14. Paweł S. Berezowicz, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler.: Eliminacja interleukiny-6 i interleukiny-8 podczas ciągłej hemofiltracji żylna-żylna u chorych w oddziale intensywnej terapii. *Anestezjol.Intens.Ter.* 1999 T.31 nr 3; s.155-159.
15. Małgorzata Lipińska-Gediga, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler.: Zastosowanie pomiarów prokalcytoniny na oddziale intensywnej terapii. *Med.Intens.Ratunk.* 1998 T.1 nr 1; s.27-30.
16. **Barbara Adamik**, Michał Zimecki, Andrzej Właszczyk, Paweł S. Berezowicz, Andrzej Kübler.: Lactoferrin effects on the in vitro immune response in critically ill patients. *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 1998 vol.46 no.3.; s.169-176.
17. **Barbara Adamik**, Michał Zimecki, Andrzej Właszczyk, Andrzej Kübler.: Immunological status of septic and trauma patients. II. Proliferative response and production of interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha by peripheral blood mononuclear cells from septic survivor, nonsurvivor and trauma patients : a correlation with the survival rate. *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 1997 Vol.45 no.4; s.277-284.
18. **Barbara Adamik**, Michał Zimecki, Andrzej Właszczyk, Andrzej Kübler.: Immunological status of septic and trauma patients. I. High tumor necrosis factor alpha serum levels in septic and trauma patients are not responsible for increased mortality; a prognostic value of serum interleukin 6. *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 1997 Vol.45 no.2-3; s.169-175.
19. **Barbara Adamik**, Andrzej Właszczyk.: Laktoferyna - rola w obronie ustroju przed infekcją i właściwości immunotropowe. *Post.Hig.Med.Dośw.* 1996 T.50 nr 1; s.33-41.
20. Joanna Ciepichał, **Barbara Adamik**, Andrzej Kübler.: Przydatność badań czynności granulocytów obojętnochłonnych w oddziale intensywnej terapii. *Anestezjol.Intens.Ter.* 1995 T.27 nr 3; s.183-187.

ad. 5) Zaburzenia hemostazy

Zaburzenia hemostazy w sepsie i wstrząsie septycznym są często obserwowane zarówno w postaci nadkrzepliwości jak i krwawień. Mediatory reakcji zapalnej takie jak TNF-alfa indukują krzepnięcie poprzez aktywację czynnika tkankowego na komórkach śródbłonna naczyń, osoczowych czynników krzepnięcia i płytek krwi. Do badań zaburzeń hemostazy stosuję metodę tromboelastometryczną, a do badań zaburzeń aktywacji receptorów płytkowych – agregometrię. Badania są prowadzone w grupach pacjentów septycznych, pacjentów poddanych zabiegom kardiochirurgicznym oraz u chorych z krwawieniem podpajęczynówkowym z pękniętego tętniaka. Zmiany w hemostazie były dotychczas tematem 1 pracy oryginalnej, 3 prac poglądowych oraz rozprawy doktorskiej, w której byłam promotorem pomocniczym:

1. **Barbara Adamik**, Waldemar Goździk, Dominika Jakubczyk, Marek Welna, Andrzej Kübler.: Coagulation abnormalities identified by thromboelastometry in patients with severe sepsis: the relationship to endotoxemia and mortality. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2016 Jun 2. [Epub ahead of print]. PMID:27254441. DOI:10.1097/MBC.0000000000000572

2. *Rozprawa Doktorska „Zmiany czynności układu krzepnięcia u chorych z ciężką sepsą/wstrząsem septycznym”, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu 2014, Promotor Prof. dr hab. Andrzej Kübler, promotor pomocniczy dr **Barbara Adamik***
3. *Dominika Woźniak, **Barbara Adamik.**: Czynniki tkankowe i jego znaczenie w stanach patologicznych. Sepsis 2012 T.5 nr 3; s.83-86.*
4. *Dominika Woźniak, **Barbara Adamik.**: Tromboelastografia, metoda szybkiej diagnostyki zaburzeń układu krzepnięcia. Anestezjol.Intens.Ter. 2011 T.43 nr 4; s.244-247.*
5. ***Barbara Adamik.**: Diagnostyka zaburzeń krzepnięcia krwi na oddziale intensywnej terapii. Med.Intens.Ratunk. 2001 T.4 nr 4; s.215-218.*

b.) Działalność dydaktyczna

Moja działalność dydaktyczna obejmuje

1. sprawowanie opieki naukowej nad doktorantami w charakterze promotora pomocniczego,
2. wykłady na zaproszenie podczas konferencji,
3. wykłady na kursach podyplomowych,
4. prezentacje komunikatów zjazdowych podczas konferencji.

ad. 1) Opieka naukowa nad doktorantami

- a.) Promotor pomocniczy (2012-2014) w przewodzie doktorskim dr. n. med. Dominiki Jakubczyk „Zmiany czynności układu krzepnięcia u chorych z ciężką sepsą/wstrząsem septycznym”, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, promotor Prof. dr hab. Andrzej Kübler. Przewód doktorski zakończony w roku 2014.
- b.) Promotor pomocniczy (2015-obecnie) w przewodzie doktorskim lek. Marka Wełny „Ocena użyteczności skali Sepsis Severity Score w rejestrze przypadków sepsy i wstrząsu septycznego na Oddziale Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu”. Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, promotor Prof. dr hab. Andrzej Kübler. Przewód doktorski otwarty.

ad. 2) Wykłady na zaproszenie

Markery ARDS	IV Kongres Wentylacji Mechanicznej i Terapii Oddechowej	Wista, marzec, 2016
Monitorowanie prokalcytoniny u pacjentów oddziału intensywnej terapii	Zamkowe Spotkania z Anestezjologią	Krasiczyn październik 2016
Elevated serum PCT in septic shock with	Intensywna Terapia –wyzwania i	Kraków

endotoxemia is associated with a higher mortality rate.	możliwości w leczeniu chorych w stanach krytycznych, III Międzynarodowa Konferencja PTITI	Kwiecień 2015
Pozaustrajowa eliminacja cytokin i LPS w ciężkiej sepsie i wstrząsie septycznym. Czy są dowody na skuteczność terapii? Adsorption-based extracorporeal blood purification: available options	I Międzynarodowa Konferencja PTAIIT - Pułapki w Anestezjologii i Intensywnej Terapii,	Zakopane grudzień 2015
Prokalcytonina w sepsie - aktualny stan wiedzy	I Polski Kongresie „Pokonać Sepsę”,	Wrocław, wrzesień 2015
Krytyczna ocena przydatności oznaczania parametrów zapalnych	XIX Sympozjum Naukowe „Postępy w Medycynie Zakażeń”	Warszawa grudzień, 2015
Advances in rapid diagnosis of infections	V Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Medycyny Ratunkowej	Gdańsk czerwiec, 2015
Prokalcytonina - marker zakażeń bakteryjnych na oddziale intensywnej terapii.	XVIII Sympozjum „Postępy w medycynie zakażeń”	Warszawa grudzień, 2014
Biomarkery Sepsy	XVIII Międzynarodowy Zjazd PTAIIT	Wisła wrzesień 2014
Znaczenie badań diagnostyki molekularnej w OIT. Przydatność pilnego oznaczania endotoksyny (LPS) w ciężkiej sepsie.	Pilna diagnostyka w środowisku stanów nagłych – POCT w intensywnej terapii	Jachranka listopad, 2014
Septyczna ostra niewydolność nerek: rola endotoksyn	Międzynarodowa Konferencja „Postępy w anestezjologii i intensywnej terapii”	Książ czerwiec 2013
Wyniki nowego rejestru sepsy. Endotoksyna – znaczenie w patofizjologii sepsy.	Terapia nerkozastępcza w sepsie Konferencja naukowo-szkoleniowa	Łódź wrzesień 2013
Znaczenie diagnostyki endotoksemii w leczeniu pacjentów we wstrząsie septycznym	XVII sympozjum naukowe “Postępy w medycynie Zakażeń”	Warszawa grudzień, 2013
Szybka diagnostyka zakażeń krwi metodą molekularną	XXI zimowe Sympozjum medycyny ratunkowej i intensywnej terapii	Karpacz luty/marzec, 2012
Septyczna ostra niewydolność nerek: rola endotoksyn	Międzynarodowa Konferencja „Postępy w anestezjologii i intensywnej terapii”	Książ, maj, 2012
Wczesna diagnostyka molekularna zakażeń w oddziałach intensywnej terapii	XIV sympozjum naukowe “Postępy w medycynie Zakażeń”	Warszawa grudzień, 2010
Endotoksyny - metody detekcji i eliminacji z krwi	Konferencja naukowo – szkoleniowa „terapia nerkozastępcza w sepsie”	Warszawa listopad 2009

ad. 3) Wykłady na kursach:

Cykl wykładów na temat diagnostyki endotoksemii i metod eliminacji endotoksyn z krwi	Szkoła ECCT - Terapie Pozaustrajowe w Stanach Krytycznych	2-3 wykłady rocznie w latach 2014, 2015, 2016, 2017
Tromboelastometria „zrób to sam”	Szkolenie dla lekarzy Kliniki Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu	Wrocław, listopad 2016
Septic shock: the role of endotoxin	Aleco Medical User Meeting,	Berlin, październik, 2015
Patofizjologia AKI w sepsie	CRRT w codziennej praktyce	Katowice, maj 2015

ad. 4) Prezentacje komunikatów zjazdowych podczas konferencji.

Jestem autorem w 53 komunikatach zjazdowych:

pierwszy autor i autorem prezentujący w 17 komunikatach zjazdowych

współautor w 36 komunikatach zjazdowych

c.) Działalność organizacyjna

1. Sekretarz naukowy w Stowarzyszeniu Pokonać Sepsę 2015- obecnie
2. Sekretarz w czasopiśmie SEPSIS- 2008-2012
3. Członek *International Society for Clinical Biostatistics*-2015- obecnie
4. Organizator konferencji „Postępy w Anestezjologii i Intensywnej Terapii” i symposium „Sepsa w Zamku Książ” – członek Komitetu Organizacyjnego w latach 2007- 2014, 2016
5. Organizator I i II Polskiego Kongresu „Pokonać Sepsę” we Wrocławiu – sekretarz naukowy Kongresu w latach 2015 i 2017
6. Uczestnictwo w pracach nad wytycznymi do stosowania w Oddziałach Intensywnej Terapii (organizacja spotkań, współudział w edytowaniu tekstu do druku):
 1. Andrzej Kübler, Leon Drobnik, Wojciech Gaszyński, Krzysztof Kusza, Dariusz Maciejewski, Ewa Karpel, Romuald Lango, Joanna Matuszkiewicz-Rowińska, Ewa Mayzner-Zawadzka, Zbigniew Rybicki, **Barbara Adamik.**: Wytyczne stosowania terapii nerkozastępczej w sepsie. Protokół uzgodnieniowy. *Sepsis 2011 T.4 nr 4*; s.315-316.
 2. Andrzej Kübler, Grażyna Durek, Dariusz Maciejewski, **Barbara Adamik.**: Wytyczne leczenia chorych z ciężką sepsą: żywienie, sedacja, postępowanie profilaktyczne, ogólne warunki leczenia. *Sepsis 2011 T.4 nr 3*; s.263-264.
 3. Andrzej Kübler, Romuald Bohatyrewicz, Leon Drobnik, Grażyna Durek, Wojciech Gaszyński, Tomasz Łazowski, Lidia Łysenko, Dariusz Maciejewski, Ewa Mayzner-Zawadzka, Agnieszka Misiewska-Kaczur, Maria Wujtewicz, **Barbara Adamik.**: Wytyczne leczenia chorych w ciężkiej sepsie: kortykosteroidy, glikemia, rekombinowane aktywne białko c. Protokół uzgodnieniowy. *Sepsis 2011 T.4 nr 4*; s.319-320.
 4. Andrzej Kübler, Anna Przondo-Mordarska, Grażyna Durek, Wiesława Duszyńska, Stefania Giedrys-Kalemba, Eugenia Gospodarek, Grażyna Gościniak, Beata Mączyńska, Alfred Samet, Marzena Zielińska, Monika Biernat, **Barbara Adamik.**: Wytyczne diagnostyki mikrobiologicznej u pacjentów z sepsą, ciężką sepsą i wstrząsem septycznym. Protokół uzgodnieniowy. *Sepsis 2011 T.4 nr 4*; s.317-318.
 5. Andrzej Kübler, Leon Drobnik, Grażyna Durek, Wojciech Gaszyński, Waleria Hryniewicz, Krzysztof Kusza, Tomasz Łazowski, Dariusz Maciejewski, Ewa Mayzner-Zawadzka, Ryszard Marciniak, Beata Mączyńska, Agnieszka Misiewska-Kaczur, Anna Przondo-Mordarska, Zbigniew Rybicki, Maria Wujtewicz, **Barbara Adamik.**: Wytyczne leczenia antybiotykami w ciężkiej sepsie i wstrząsie septycznym. *Sepsis 2010 T.3 nr 3*; s.153-154.
 6. Andrzej Kübler, Janusz Andres, Leon Drobnik, Grażyna Durek, Wojciech Gaszyński, Krzysztof Kusza, Tomasz Łazowski, Lidia Łysenko, Dariusz Maciejewski, Maria Wujtewicz, **Barbara Adamik.**: Ciężka sepsa - wstępna stabilizacja czynności krążenia (przetaczanie płynów, leki krążeniowe). *Sepsis 2010 T.3 nr 5*; s.319-321.
 7. Andrzej Kübler, Krzysztof Kusza, Dariusz Maciejewski, Ewa Karpel, Ewa Mayzner-Zawadzka, Zbigniew Rybicki, **Barbara Adamik.**: Definicje dysfunkcji narządowych w przebiegu sepsy. Protokół uzgodnieniowy. *Sepsis 2009 T.2 nr 4*; s.253-255.

d.) Udział w Komitetach Redakcyjnych oraz recenzowanie publikacji w czasopismach medycznych

1. Członek Komitetu Redakcyjnego w czasopiśmie *Medicine* (Wolters Kluwer Health, Inc.) 2015-obecnie
2. Recenzent w czasopismach: *British Medical Journal*, *Anestezjologia Intensywna Terapia*, *Zakażenia*, *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, *Thrombosis Research*, *Surgical Infections*, *Scandinavian Journal of Anaesthesiology*

e.) Popularyzacja nauki w społeczeństwie

- 1 Popularyzacja wiedzy o sepsie poprzez organizację *World Sepsis Day* w Polsce wrzesień 2013, 2014 i 2015
- 2 Popularyzacja wiedzy o sepsie na portalu internetowym <http://pokonacsepsę.pl/>
- 3 Popularyzacja wiedzy o mediatorach reakcji zapalnej – wykład "*Identification of RBMX, a RNA Binding Motif Protein, as an ARTS-1-Associated Protein that Mediates Soluble TNFR1 Release.*" - Polish American Health Association, Inc. grudzień 2005, Ambasada RP w Waszyngtonie

f.) Udział w projektach badawczych

Kierowanie projektami badawczymi

1	Badanie zaburzeń czynności narządów w ciężkiej sepsie i wstrząsie septycznym.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2015-2017
2	Zmiany stężenia antyoksydantów we krwi pacjentów z posocznicą i wstrząsem septycznym.(numer projektu 1389/P05/2000/19).	Komitet Badań Naukowych 2000 –2002
3	Ocena aktywności immunologicznej u pacjentów na podstawie monitorowania metabolitów tlenu azotu.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1998-1999
4	Monitorowanie całkowitego poziomu antyoksydantów oraz enzymów antyoksydacyjnych we krwi pacjentów z posocznicą, wstrząsem septycznym oraz zespołem dysfunkcji wielonarządowej.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1998-1999

Wykonawca w projektach badawczych

1	Znaczenie stanu autoregulacji mózgowej, układu krążenia i stopnia uszkodzenia mózgu po krwawieniu podopajęczynówkowym z pękniętego tętniaka.	Narodowe Centrum Nauki 2013/09/B/NZ4/01343 2014-2018
---	--	--

2	A randomized, open-label study to compare propofol anaesthesia with sevoflurane anaesthesia in terms of overall survival in patients with surgical intervention for either breast-, colon- or rectal cancer. (study name: can). Can / ckf-11115.	Centre of Clinical Research Västerås and Uppsala Clinical Research Center 2015 - obecnie
3	Extrapulmonary effects of inhaled nitric oxide. Animal model intensive care unit research project.	Stockholm County Council, the Swedish Research Council, Swedish Heart- Lung Foundation. 2015 - obecnie
4	Ocena statusu fibronektyny w osoczach pacjentów z sepsą.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2015-2017
5	Analiza czynników wpływających na bezpieczeństwo pacjenta w okresie okołoperacyjnym.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2014-2016
6	Ocena skuteczności dekontaminacji jamy ustnej w zapobieganiu zapaleniom płuc u pacjentów leczonych na oddziale intensywnej terapii.	Grant badawczy fundowany przez Stowarzyszenie „Pokonać sepsę” - 2016-2017
7	Ocena stanu układu immunologicznego w oparciu o wybrane parametry elementów układu białokrwinkowego - granulocytów, monocytów i limfocytów u chorych z ciężką sepsą/wstrząsem septycznym leczonych na oddziale intensywnej terapii.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2014-2016
8	Ocena skuteczności ogólnej dekolonizacji chlorheksydyną w zapobieganiu zakażeniom szpitalnym na oddziale intensywnej terapii.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2014-2016
9	Epidemiologia pacjentów oddziału Intensywnej Terapii szpitala Uniwersyteckiego we Wrocławiu, czyli „gdzie jesteśmy dzisiaj?”	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2014-2016
10	Fluid Challenges in Intensive Care (FENICE) -2013- Wieloośrodkowe badanie kliniczne NCT01787071.	European Society of Intensive Care Medicine, 2013
11	An international single day point prevalence study for severe sepsis and / or septic shock.	St. George’s University of London 2013
12	Diagnostyka zaburzeń czynności narządów w zespole niewydolności wielonarządowej.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2012 do 2014
13	Molekularne metody badawcze w diagnostyce ciężkiej sepsy.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2011 do 2013
14	Blood Glucose Control in Intensive Care Patients Using the Space GlucoseControl System - Wieloośrodkowe badanie kliniczne NCT01523665 2011-2013.	Grant badawczy fundowany przez B. Braun Melsungen AG 2011-2013
15	The effectiveness of endotoxin elimination from bloodstream in patients with Gram-negative severe sepsis using Alteco LPS Adsorber.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2009-2015
16	Severe sepsis registry in intensive care units in Poland.	Wroclaw Medical University 2003-2009
17	Patofizjologia i leczenie ciężkich zakażeń systemowych .	Wroclaw Medical University 2010-2012
18	The Influence of Sevoflurane on selective organ function and inflammatory mediator activation in patients undergoing CABG surgery with CPB.	Grant badawczy fundowany przez Abbott 2008-2010
19	Ocena czynności organizmu u chorych z sepsą i wstrząsem septycznym	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2007 - 2009
20	Diagnostyka zaburzeń odporności u chorych poddawanych zabiegom operacyjnym i leczonych na Oddziale Intensywnej Terapii.	Wroclaw Medical University 2011-2013
21	Institutional cooperation between Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden and Wrocław Medical University, Wrocław, Poland - experimental research on sepsis.	Karolinska Institutet Wrocław Medical University 2006 - 2012
22	Wpływ czasu przechowywania koncentratów krwinek czerwonych na uwalnianie się w nich kwasu arachidonowego oraz ocena jego oddziaływania na funkcje granulocytów wielojądrowych <i>in vitro</i> .	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2000- 2003
23	Zmiany aktywności antyoksydacyjnej we krwi pacjentów z ciężką niewydolnością oddechową inhalowanych tlenkiem azotu.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2000-2002

24	Uwalnianie cytokin pro- i antyzapalnych po stymulacji endotoksyną bakteryjną pełnej krwi pacjentów z posocznicą i we wstrząsie septycznym.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 2000-2002
25	Ocena przydatności monitorowania poziomu cząsteczek adhezyjnych ze szczególnym uwzględnieniem ICAM jako czynnika prognostycznego występowania dolegliwości wieńcowych u chorych po operacji przeszłownienia naczyń wieńcowych.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1999-.2001
26	Ocena wpływu wybranych metod znieczulenia ogólnego i przewodowego na zmiany stężeń oraz wzajemnej równowagi cytokin pro- i antyzapalnych u dzieci poddanych rozległym zabiegom operacyjnym.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1999-2001
27	Hormonalna odpowiedź na stres operacyjny u chorych po zabiegach kardiologicznych wykonywanych w krążeniu pozaustrojowym – wpływ techniki znieczulenia.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1999-2001
28	Zintegrowany system zbierania i redystrybucji danych analitycznych wykorzystywanych w intensywnej terapii.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1999-.2001
29	Próba wykorzystania wybranych parametrów czynnościowych leukocytów we wczesnej diagnostyce zakażeń u chorych oddziałów intensywnej terapii.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1999-2001
30	Uogólniona aktywacja endotelium w zespole niewydolności wielonarządowej.	Komitet Badań Naukowych KBN/1997 Nr 4P05B 018 12 1997-1998
31	Ocena odpowiedzi zapalnej organizmu w czasie zabiegów kardiologicznych z użyciem krążenia pozaustrojowego ze szczególnym uwzględnieniem roli adresyn naczyń, neopteryny oraz tlenu azotu.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1998 - 1999
32	Double-blind, placebo-controlled, multicenter phase 3 clinical trial in patients with severe sepsis (the KyberSept Trial).	Projekt fundowany Aventis Behring LLC (USA) 1997-2000
33	Subpopulacje limfocytów T u chorych z zespołem niewydolności wielonarządowej (MODS).	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1996-1997
34	Cytokiny o aktywności prozapalnej (TNF, interleukina-1,6 i 8) jako przejaw aktywności układu immunologicznego u chorych z zespołem niewydolności wielonarządowej (MODS).	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1996-1997
35	„Ocena układu immunologicznego i prognozowania powikłań u chorych na oddziale intensywnej terapii za pomocą monitorowania neopteryny.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1996-1997
36	Ocena ekspresji molekuł adhezyjnych na granulocytach obojętnochłonnych u chorych wysokiego ryzyka leczonych na oddziale intensywnej terapii.	Uniwersytet Medyczny, Wrocław 1996-.1997

Udział w projektach kontrybutorskich

Posiadam certyfikat „*Good Clinical Practice*” wydany przez *National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health*. Biorę udział w wielośrodkowych próbach klinicznych jako badacz.

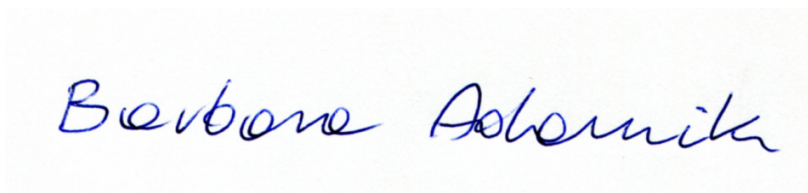
Wyniki dwóch ostatnich badań zostały opublikowane w pracach oryginalnych:

1. Jan Blaha, Barbara Barteczko-Grajek, Paweł Berezowicz [et al.]; participating investigators [Andrzej Kübler, Barbara Dragan, **Barbara Adamik** et al.]: Space GlucoseControl system for blood glucose control in intensive care patients - a European multicentre observational study. *BMC Anesthesiol.* 2016 Vol.16; art.8 [10 s.]
IF: 1.320
2. Maurizio Cecconi, Christoph Hofer, Jean-Louis Teboul [et al.] ; the FENICE Investigators and the ESICM Trial Group [**Barbara Adamik** et al.]: Fluid challenges in intensive care: the FENICE study : a global inception cohort study. *Intens.Care Med.* 2015 Vol.41 no.9; s.1529-1537;
IF: 10.125

Odbyłam 3 kursy dotyczące statystycznej analizy danych- statystyka w medycynie, metody analizy wariancji i analizy regresji, metody wizualizacji danych, zastosowanie programu Statistica (StatSoft, USA) do analizy danych medycznych. Zdobyte na kursach umiejętności wykorzystuję do analizy danych w projektach badawczych.

g) Staże odbyte w zagranicznych ośrodkach naukowych

1. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA
National Heart, Lung, and Blood Institute, Pulmonary - Critical Care Medicine Branch
Stypendium naukowe po doktoracie, opiekun naukowy Stewart Levine, MD, Ph.D
Czas trwania: 5 lat
2. Karolinska Institute and Uppsala University Hospital, Thoracic Center, Uppsala, Sweden
Wykonawca programu badawczego, opiekun naukowy: Jan Borowiec, MD, Ph.D
Czas trwania: 2 miesiące w roku 2000 oraz 1 miesiąc w roku 2001



Barbara Adornik