

Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Bernadeta Maria Chyrchel
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe - z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:
 - 2005 – dyplom lekarza medycyny
Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
 - 2012 – stopień doktora nauk medycznych
Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum.
Tytuł rozprawy doktorskiej: *Optymalizacja lekarza przeciwniedokrwinnego u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST*
(obrona z wyróżnieniem)
 - 2015 – dyplom specjalisty kardiologii
Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi
 - 2022 – dyplom specjalisty radiologii i diagnostyki obrazowej
Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.
 - 2006 – nadal: O/K II Kliniki Kardiologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie
(od 2013 O/K Kardiologii oraz Interwencji Sercowo-Naczyniowych)
- asystent (etat szpitalny)
 - 2014 – nadal: II Klinika Kardiologii Instytutu Kardiologii, Wydział Lekarski,
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
- adiunkt (etat naukowo-dydaktyczny [obecnie badawczo-dydaktyczny])
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

Osiągnięcie stanowi cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych pt. „*Nowe mechanizmy działania antagonistów płytkowego receptora P2Y₁₂ – badania obserwacyjne u chorych leczonych podwójną terapią przeciwplateletową*”, obejmujący 4 prace oryginalne:

– **Chyrchel B**, Drożdż A, Długosz D, Stępień EŁ, Surdacki A. *Platelet Reactivity And Circulating Platelet-Derived Microvesicles Are Differently Affected By P2Y₁₂ Receptor Antagonists. International Journal of Medical Sciences* **2019**; 16: 264–275. (Praca Nr 1)
IF: 2,523; kwartyl IF: Q2 (percentyl: 70,0)

Mój wkład w powstanie pracy obejmował koncepcję badań, sprecyzowanie hipotezy roboczej i celu badań, wiodący udział w zaplanowaniu badań, nawiązanie współpracy naukowej z Zakładem Fizyki Medycznej Instytutu Fizyki UJ, przeprowadzenie badań (w tym rekrutację chorych do badania i samodzielne oznaczenie reaktywności płytek u osób objętych projektem), analizę i interpretację uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu. Mój udział procentowy w powstanie pracy szacuję na 90%.

– **Chyrchel B**, Kruszelnicka O, Surdacki A. Endothelial biomarkers and platelet reactivity on ticagrelor versus clopidogrel in patients after acute coronary syndrome with and without concomitant type 2 diabetes: a preliminary observational study.
Cardiovascular Diabetology **2022**; 21: 249. (Praca Nr 2)
IF: 9,3; kwartyl IF: Q1 (percentyl: 93,4)

Mój wkład w powstanie pracy obejmował koncepcję badań, sprecyzowanie hipotezy roboczej i celu badań, wiodący udział w zaplanowaniu badań, przeprowadzenie badań (w tym rekrutację chorych do badania i samodzielne oznaczenie reaktywności płytek u osób objętych projektem), analizę i interpretację uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu. Mój udział procentowy w powstanie pracy szacuję na 90%.

– **Chyrchel B**, Kruszelnicka O, Wieczorek-Surdacka E, Surdacki A. Association of ADP-induced whole-blood platelet Aggregation with Serum Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients with Coronary Artery Disease When Receiving Maintenance Ticagrelor-Based Dual Antiplatelet Therapy.
Journal of Clinical Medicine **2023**; 12: 4530. (Praca Nr 3)
IF: 3,9; kwartyl IF: Q2 (percentyl: 65,6)

Mój wkład w powstanie pracy obejmował koncepcję badań, sprecyzowanie hipotezy roboczej i celu badań, wiodący udział w zaplanowaniu badań, przeprowadzenie badań (w tym rekrutację chorych do badania i samodzielne oznaczenie reaktywności płytek u osób objętych projektem), analizę i interpretację uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu. Mój udział procentowy w powstanie pracy szacuję na 90%.

– Chyrchel B, Totoń-Żurańska J, Kruszelnicka O, Chyrchel M, Mielecki W, Kołton-Wróż M, Wołkow P, Surdacki A. Association of plasma miR-223 and platelet reactivity in patients with coronary artery disease on dual antiplatelet therapy: A preliminary report.

Platelets 2015; 26: 593–597. (Praca Nr 4)

IF: 3,213; kwartyl IF: Q2 (percentyl: 63,57)

Mój wkład w powstanie pracy obejmował koncepcję badań, sprecyzowanie hipotezy roboczej i celu badań, wiodący udział w zaplanowaniu badań, nawiązanie współpracy naukowej z Ośrodkiem Genomiki Medycznej Omicron WL UJ CM, przeprowadzenie badań (w tym rekrutację chorych do badania i samodzielne oznaczenie reaktywności płytek u osób objętych projektem), analizę i interpretację uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu. Mój udział procentowy w powstanie pracy szacuję na 85%.

Powyższe publikacje stanowią wynik wieloletniej pracy klinicznej z chorymi hospitalizowanymi w naszej jednostce. Badania miały charakter obserwacyjny, wszyscy chorzy objęci projektem badawczym byli leczeni zgodnie z aktualnymi wytycznymi postępowania, zaś na badania uzyskano zgody Komisji Bioetycznej UJ (KBET/277/B/2013 z dnia 28.11.2013 oraz 1072.6120.143.2019 z dnia 30.05.2019)

Przesłanki podjęcia badań (Prace Nr 1-4)

Podwójna terapia przeciwplateletowa (DAPT, *dual antiplatelet therapy*), jest standardem postępowania u chorych z ostrymi zespołami wieńcowym (OZW) i/lub po implantacji stentu do tętnicy wieńcowej. Silni antagoniści płytkowego receptora P2Y₁₂ (tikagrelor i prasugrel) są lekami preferowanymi względem kłopidogrelu u chorych z OZW, podczas gdy kłopidogrel zaleca się w sytuacjach, gdy tikagrelor i prasugrel są niedostępne, nietolerowane bądź przeciwwskazane, np. przy wysokim ryzyku powikłań krwotocznych.

Sugeruje się, że korzystne efekty kliniczne tikagreloru (antagonisty receptora P2Y₁₂ nie będącego pochodną tienopirydyny) wynikają nie tylko z szybkiej, silnej i ciągłej blokady płytkowych receptorów P2Y₁₂, ale także z możliwych efektów plejotropowych (*Nylander i wsp. Br J Pharmacol. 2016;173:1163*).

Do roku 2014 nie opublikowano prac na temat stężenia krążącego mikroRNA-223 (miR-223) u chorych leczonych DAPT z silnymi antagonistami receptora P2Y₁₂, prasugrelem lub tikagrelorem. miR-223 – jedna z postaci niekodującego jednoniciowego RNA – występuje głównie w płytkach krwi, gdzie hamuje ekspresję receptora P2Y₁₂ oraz jest uwalniany przy ich aktywacji.

Do roku 2019 nie opublikowano prac na temat liczebności krążących w osoczu mikropęcherzyków zewnątrzkomórkowych pochodzenia płytkowego (PMVs, *platelet-derived microvesicles*) u wyodrębnionych podgrup chorych leczonych DAPT z tikagrelorem lub prasugrelem. PMVs stanowią większość krążących mikropęcherzyków zewnątrzkomórkowych, są uwalniane w procesie fragmentacji błony komórkowej płytek krwi oraz przypisuje się im nie tylko efekt prozakrzepowy, ale także prozapalny i pro-miażdżycowy w obszarach odległych od lokalnej aktywacji płytek.

Do roku 2022 nie opublikowano prac ukierunkowanych na porównanie biomarkerów dysfunkcji/aktywacji śródbłonna naczyniowego u chorych leczonych DAPT z tikagrelorom i kłopidogrelem w zależności od współistnienia cukrzycy. Jakkolwiek poprawa czynności śródbłonna naczyniowego jest wymieniana jako jeden z możliwych efektów plejotropowych tikagreloru, badania porównujące wpływ tikagreloru i kłopidogrelu na parametry funkcji śródbłonna przyniosły niejednoznaczne wyniki (*Guan i wsp. Front Cardiovasc Med. 2021;8:820604*).

W ostatnich latach coraz mocniej podkreśla się konieczność indywidualizacji intensywności i czasu stosowania DAPT celem minimalizacji całkowitego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych, z uwzględnieniem zarówno ryzyka zdarzeń niedokrwienych jak i krwotocznych. **W związku z powyższym istotne znaczenie praktyczne ma poszukiwanie parametrów klinicznych i biochemicznych powiązanych ze stopniem zahamowania czynności płytek w celu optymalizacji intensywności DAPT u chorych po OZW leczonych silnymi antagonistami receptorów P2Y₁₂.**

Cel badań (prace Nr 1-2): Poszukiwanie nowych plejotropowych efektów tikagreloru poprzez porównanie chorych leczonych DAPT z tikagrelorom z chorymi otrzymującymi blokery receptora P2Y₁₂ z grupy pochodnych tienopirydyny w odniesieniu do:

– liczebności krążących w osoczu PMVs (Chyrchel i wsp. *Int J Med Sci. 2019;16:264-275*)
(Praca Nr 1);

– stężenia krążących markerów biochemicznych dysfunkcji/aktywacji śródbłonna naczyniowego w zależności od współistnienia cukrzycy (Chyrchel i wsp. *Cardiovasc Diabetol. 2022;21:249*)
(Praca Nr 2).

Cel badań (Praca Nr 3): Poszukiwanie parametrów klinicznych i biochemicznych powiązanych z reaktywnością płytek krwi *ex vivo* oraz stopniem aktywacji płytek *in vivo* – porównanie DAPT z tikagrelorom i DAPT z kłopidogrelem (Chyrchel i wsp. *J Clin Med. 2023;12:4530*).

Cel badań (Praca Nr 4): Badanie charakteru zależności między reaktywnością płytek a stężeniem w osoczu krwi mikroRNA-223 u chorych leczonych DAPT z antagonistami receptora P2Y₁₂ o różnej sile działania przeciwpłytkowego (tikagrelor / prasugrel vs. kłopidogrel) (Chyrchel i wsp. *Platelets 2015;26:593-597*).

Przesłanki badania (Praca Nr 1):

PMVs, o wymiarach rzędu 0.1–1 μm, są uwalniane w procesie fragmentacji błony komórkowej płytek krwi i wykazują nie tylko aktywność prozakrzepową (50–100 razy wyższą w przeliczeniu na jednostkę powierzchni [*Tans i wsp. Blood 1991;77:2641; Sinauridze i wsp. Thromb Haemost. 2007;97:425*]), ale także działanie prozapalne i pro-miażdżycowe w obszarach odległych od lokalnej aktywacji płytek (*Barry i wsp. J Clin Invest. 1998;102:136; Badimon i wsp. Front Pharmacol. 2016;7:293*). Wykazano wyższą liczebność krążących PMVs u chorych z czynnikami ryzyka miażdżycy, co wiązano z

towarzyszącą tym stanom aktywacją płytek (*Nomura i wsp. Thromb Res. 2008;123:8; Badimon i wsp. Front Pharmacol. 2016;7:293; Zaldivia i wsp. Front Cardiovasc Med. 2017;4:74*).

U chorych z OZW liczebność PMVs jest wielokrotnie zwiększona i szybko spada po włączeniu DAPT (*Skeppholm i wsp. Thromb Res. 2008;123:8; Stępień i wsp. Arch Med Res. 2012;43:31*).

Wcześniejsze prace wykazały związek wyższej liczebności PMVs ze zwiększoną reaktywnością płytek u chorych z OZW leczonych DAPT z kłopidogrelem (*Kalantzi i wsp. Platelets 2012;23:121; Kafian i wsp. Platelets 2015;26:467; Rosińska i wsp. Cardiovasc Drugs Ther. 2017;31:627*).

Do roku 2019 nie opublikowano prac o liczebności PMVs u wyodrębnionych podgrup chorych z OZW leczonych DAPT z tikagrelorem lub prasugrelem.

Natomiast jedyne dostępne wówczas publikacje o wpływie tikagreloru na tworzenie PMVs dotyczyła badań w warunkach *in vitro* (*Gąsecka i wsp. Cardiol J. 2019;26:782; e-publicacja z 2018 roku poprzedzająca wersję drukowaną*), podobnie jak wcześniejsze prace eksperymentalne dotyczące kangreloru i aktywnego metabolitu prasugrelu (*Behan i wsp. Platelets 2005;16:73; Judge i wsp. Platelets 2008;19:125*).

Cel badania (Praca Nr 1): Porównanie liczebności krążących PMVs w relacji do reaktywności płytek krwi u chorych z OZW leczonych DAPT z różnymi blokerami receptora P2Y₁₂

Metodyka (Praca Nr 1):

Badaniem objęto 38 mężczyzn (średni wiek 63 ± 10 lat) hospitalizowanych w powodu OZW i leczonych od dnia przyjęcia DAPT z kłopidogrelem (n=16), tikagrelorem (n=12) lub prasugrelem (n=10), bez istotnych chorób współistniejących z wyjątkiem nadciśnienia tętniczego i dobrze kontrolowanej cukrzycy. Poza DAPT wszyscy pacjenci otrzymywali lek z grupy ACEI oraz statynę.

W ostatnim dniu hospitalizacji zmierzono odpowiedź agregacyjną płytek na ADP *ex vivo* za pomocą agregometrii impedancyjnej oraz zabezpieczono próbki osocza celem oznaczenia liczebności PMVs metodą cytometrii przepływowej. Jako wskaźnik reaktywności płytek przyjęto pole pod krzywą zmian impedancji po ekspozycji płytek na ADP w ostatecznym stężeniu $6.4 \mu\text{mol/L}$ i wyrażono w jednostkach umownych (AU, *arbitrary units*) * min (*Multiplate analyzer, Dynabyte, Monachium, Niemcy*). Badania cytometryczne wykonano w Zakładzie Fizyki Medycznej Instytutu Fizyki UJ (Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej UJ) (Kierownik: Prof. Ewa Ł. Stępień). Dokonano pomiaru liczebności PMVs podwójnie dodatnich w zakresie powierzchniowych markerów CD42 (glikoproteina Ib) i CD62P (selektyna P) (CD42⁺/CD62P⁺-PMVs), pochodzących z aktywowanych płytek, oraz CD42⁺-PMVs, pochodzących zarówno z aktywowanych jak i z nieaktywowanych płytek.

Omówienie wyników:

W porównaniu z chorymi leczonymi DAPT z kłopidogrelem stopień zahamowania reaktywności płytek był znamienne obniżony w podobnym stopniu u pacjentów otrzymujących DAPT z tikagrelorem (mediana [przedział międzykwartylowy]: 152 [94–190] vs. 266 [168–374] AU * min., $p < 0.01$) lub prasugrelem (151 [104–203] vs. 266 [168–374] AU * min., $p < 0.01$).

U chorych leczonych DAPT z tikagrelorem lub prasugrelem zaobserwowano ok. 3-4-krotnie niższą liczebność krążących w osoczu CD42⁺/CD62P⁺-PMVs (pochodzących z aktywowanych płytek) w porównaniu do pacjentów otrzymujących DAPT z kłopidogrelem (tikagrelor: 128 [78–133] / μL vs. 474 [181–1330] / μL, p=0.001; prasugrel: 142 [87–238] / μL vs. 474 [181–1330] / μL, p<0.05).

Znamienna dodatnia zależność między reaktywnością płytek a liczebnością CD42⁺/CD62P⁺-PMVs występowała jedynie u chorych leczonych DAPT z kłopidogrelem (r = 0.60, p<0.01) lub prasugrelem (r = 0.65, p<0.01), zaś nie stwierdzono jej u pacjentów otrzymujących DAPT z tikagrelorem (r = 0.1, p=0.8).

Ponadto liczebność CD42⁺-PMVs była ok. 6-krotnie obniżona u chorych na DAPT z tikagrelorem w porównaniu do DAPT z kłopidogrelem (5.7 [4.2–6.6] x 10³/μL vs. 37.2 [21.8–93.3] x 10³/μL, p<0.001). Natomiast nie obserwowano znamienych różnic w tym zakresie między pacjentami leczonymi DAPT z prasugrelem i kłopidogrelem (23.8 [16.9–50.6] x 10³/μL vs. 37.2 [21.8–93.3] x 10³/μL p=0.3).

Interpretacja wyników, proponowane mechanizmy i możliwe implikacje kliniczne:

Publikacja z początku 2019 roku była prawdopodobnie pierwszym doniesieniem klinicznym, w którym porównano liczebność krążących PMVs u chorych otrzymujących DAPT z tikagrelorem w odniesieniu do DAPT z tienopirydynowymi antagonistami receptora P2Y₁₂, kłopidogrelem i prasugrelem. Kolejna praca podejmująca to zagadnienie została opublikowana później przez Gąsecką i wsp. (*J Thromb Haemost.* 2020;18:609), którzy potwierdzili nasze obserwacje w badaniu randomizowanym AFFECT EV, wykazując niższą liczebność PMVs pochodzących z aktywowanych płytek 6 miesięcy po przebyciu OZW u pacjentów uprzednio zrandomizowanych do DAPT z z tikagrelorem w porównaniu do DAPT z kłopidogrelem.

Silniejsza redukcja liczebności PMVs (zwłaszcza CD42⁺-PMVs) i brak korelacji między liczebnością CD42⁺/CD62⁺-PMVs a reaktywnością płytek u chorych leczonych DAPT z tikagrelorem pomimo porównywalnego stopnia zahamowania czynności płytek *ex vivo* w grupie tikagreloru i prasugrelu względem kłopidogrelu mogły wynikać z co najmniej z dwóch wzajemnie nie wykluczających się mechanizmów:

– z ciągłego działania antyagregacyjnego nie wymagającego aktywacji tikagreloru, co powoduje także stałe hamowanie generacji PMVs przez nowo powstałe w międzyczasie płytki krwi. Natomiast czas obecności w krążeniu aktywnego metabolitu kłopidogrelu lub prasugrelu nie przekracza kilku godzin od przyjęcia leku (*Wallentin i wsp. Eur Heart J.* 2008;29:21), w związku z czym po tym okresie następuje stopniowa akumulacja niedojrzałych postaci płytek krwi, wykazujących zwiększoną skłonność do aktywacji (*Kuijpers i wsp. Thromb Haemost.* 2011;106:1179) (i powiązanej z nią generacji PMVs), najbardziej nasiloną bezpośrednio przed przyjęciem kolejnej dawki antagonisty P2Y₁₂. Mogło to sprzyjać dodatniej korelacji między liczebnością CD42⁺/CD62⁺-PMVs (pochodzących z aktywowanych płytek) a oznaczaną wówczas *ex vivo* odpowiedzią agregacyjną płytek na ADP jedynie u naszych chorych leczonych DAPT z kłopidogrelem lub prasugrelem (a nie tikagrelorem), gdyż reaktywność płytek *ex vivo* była powiązana z odsetkiem niedojrzałych płytek u

pacjentów stosujących DAPT z prasugrelem, podczas gdy nie stwierdzono tej zależności u chorych leczonych DAPT z tikagrelorem (*Bernlochner i wsp. Eur Heart J. 2015;36:3202*).

– z synergistycznego wzmocnienia rzeczywistego (*in vivo*) efektu antyagregacyjnego antagonistów receptora P2Y₁₂ przez wzajemnie nasilające swoje działanie mediatory śródbłonkowe, tlenek azotu (NO, *nitric oxide*) i prostacyklinę (PGI₂) (*Radomski i wsp. Br J Pharmacol. 1987;92:639; Chan i wsp. Br J Clin Pharmacol. 2016;81:621*)). Tikagrelor może dodatkowo wzmacniać powyższy efekt poprzez stymulację akumulacji w płynie pozakomórkowym adenozyliny (*van Giezen i wsp. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2012;17:164; Ohman i wsp. Biochem Biophys Res Commun. 2012;418:754*), zwiększającej uwalnianie NO przez śródbłonek (*Smits i wsp. Circulation 1995;92:2135*) oraz generację w płytkach cAMP (*Johnston-Cox & Ravid. Purinergic Signal. 2011;7:357*), tzw. „drugiego przekaźnika” PGI₂. Przedstawiony mechanizm hamuje aktywację płytek i powiązane z nią ściśle tworzenie PMVs *in vivo*, nie wpływając jednak na odpowiedź agregacyjną płytek na ADP oznaczaną *ex vivo*. Zatem stanowi to potencjalne wytłumaczenie niższej liczebności CD42⁺/CD62P⁺-PMVs u chorych leczonych tikagrelorem, a także braku korelacji między liczebnością CD42⁺/CD62P⁺-PMVs a reaktywnością płytek *ex vivo* jedynie u chorych otrzymujących tikagrelor.

Podsumowując, niezależnie od mechanizmów stwierdzonych zależności wyniki naszych badań – wykonanych w warunkach klinicznych – wskazują na możliwy nowy efekt plejotropowy tikagreloru, polegający na hamowaniu tworzenia PMVs w sposób częściowo niezależny od antyagregacyjnego działania leku oznaczanego w warunkach *ex vivo*. Zważywszy na związek większej liczebności PMVs z niekorzystnym rokowaniem po OZW (*Christerrson i wsp. Thromb Haemost 2017;117:1571*) oraz działanie prozakrzepowe, pro-miażdżycowe i prozapalne PMVs (*Barry i wsp. J Clin Invest. 1998;102:136; Nomura i wsp. Thromb Res. 2008;123:8; Badimon i wsp. Front Pharmacol. 2016;7:293*), zaproponowany mechanizm może przyczyniać się do lepszego rokowania u chorych po OZW leczonych DAPT z tikagrelorem. Niemniej jednak weryfikacja powyższej hipotezy wymaga badań prospektywnych z udziałem licznej grupy chorych.

Przesłanki badania (Praca Nr 2):

Badania, w których porównywano wpływ tikagreloru i kłopidogrelu na parametry czynności śródbłonka naczyniowego, przyniosły niejednoznaczne wyniki (*Guan i wsp. Front Cardiovasc Med. 2021;8:820604*).

W literaturze istnieją publikacje wskazujące w sposób pośredni, że efekt tikagreloru może być odmienny u chorych z cukrzycą i bez cukrzycy zarówno w odniesieniu zarówno do funkcji śródbłonka (*Mangiacapra i wsp. Circulation 2016;134:835; Jeong i wsp. JACC Cardiovasc Interv. 2017;10:1646; Ariotti i wsp. JACC Cardiovasc Interv. 2018;11:1576; Schnorbus i wsp. Eur Heart J. 2020;41:3144*), jak i rokowania u chorych po OZW (*Ndrepepa i wsp. JACC Cardiovasc Interv. 2020;13:2238; Angiolillo i wsp. J Am Coll Cardiol. 2020;75:2403*).

Ponadto zależności między czynnością śródbłonka a reaktywnością płytek mają charakter wieloczynnikowy, gdyż blokada płytkowych receptorów P2Y₁₂ prowadzi do synergistycznego wzmocnienia przeciwpłytkowego efektu kluczowych mediatorów śródbłonkowych, NO i PGI₂ (*Cattaneo i wsp. J Thromb Haemost. 2007;5:577; Kirkby i wsp. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 10:15782*).

Do roku 2022 nie opublikowano prac ukierunkowanych na porównanie biomarkerów dysfunkcji/aktywacji śródbłonna naczyniowego u chorych leczonych DAPT z tikagrelorem i kłopidogrelem w zależności od współistnienia cukrzycy.

Cel badania (Praca Nr 2): Porównanie stężenia krążących biomarkerów dysfunkcji/aktywacji śródbłonna naczyniowego i ich ewentualnego związku z reaktywnością płytek u chorych po przebyciu OZW leczonych DAPT z tikagrelorem bądź kłopidogrelem w zależności od współistnienia cukrzycy typu 2.

Metodyka (Praca Nr 2):

Badaniem objęto 126 chorych (34 kobiet i 92 mężczyzn, średni wiek 65 ± 10 lat) 1–3 miesiące po przebyciu OZW, leczonych DAPT z tikagrelorem ($n=62$, w tym 30 osób z cukrzycą typu 2) lub kłopidogrelem ($n=64$, w tym 31 osób z cukrzycą typu 2). Zastosowano szeroki zestaw kryteriów kwalifikacji do badania: włączano do badania jedynie pacjentów bez istotnych chorób współistniejących z wyjątkiem nadciśnienia tętniczego, dobrze kontrolowanej cukrzycy i niewielkiego stopnia niewydolności nerek, zaś wszyscy chorzy poza DAPT otrzymywali lek z grupy ACEI (bądź ARB), statynę o wysokiej intensywności działania (atorwastatynę w dawce dobowej 40–80 mg lub rosuwastatynę w dawce dobowej 20–40 mg) oraz inhibitor pompy protonowej. Dołożono starań, aby uzyskać podobną liczebność ($n = 30–33$) dla 4 analizowanych podgrup oraz ich porównywalność pod względem wieku i płci.

Podczas hospitalizacji zmierzono odpowiedź agregacyjną płytek krwi na ADP za pomocą agregometrii impedancyjnej (*Multiplate analyzer, Dynabyte, Monachium, Niemcy*) oraz zabezpieczono próbki osocza celem późniejszych oznaczeń stężeń biochemicznych markerów dysfunkcji/aktywacji śródbłonna naczyniowego metodą immunoenzymatyczną. Biomarkery obejmowały rozpuszczalną formę cząstki adhezyjnej sVCAM-1 (*soluble vascular cell adhesion molecule-1*) i selektyny E, chemokinę MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) oraz asymetryczną dwumetyloargininę (ADMA, *asymmetric dimethyloarginine*), a także strukturalny izomer ADMA, symetryczną dwumetyloargininę (SDMA, *symmetric dimethyloarginine*) i rozpuszczalną formę selektyny P. Porównano reaktywność płytek i stężenia w/wym. markerów biochemicznych u chorych leczonych DAPT z tikagrelorem lub kłopidogrelem w zależności od współistnienia cukrzycy typu 2.

Omówienie wyników:

Odpowiedź agregacyjna płytek krwi na ADP oraz poziom rozpuszczalnej formy selektyny P w osoczu były znamienne obniżone u chorych leczonych DAPT z tikagrelorem niezależnie od współistnienia cukrzycy typu 2, przy czym stopień tego obniżenia był podobny u chorych z cukrzycą (reaktywność płytek: 136 ± 69 vs. 254 ± 111 AU * min., $p<0.001$; selektyna P (mediana [przedział międzykwartyłowy]): $84 [72–106]$ vs. $114 [83–142]$ $\mu\text{g/L}$, $p<0.01$) i bez cukrzycy (reaktywność płytek: 159 ± 83 vs. 260 ± 128 AU * min., $p<0.001$; selektyna P: $88 [75–110]$ vs. $118 [81–145]$ $\mu\text{g/L}$, $p<0.01$).

Stwierdzono istotnie niższe stężenie sVCAM-1 w osoczu krwi u chorych po OZW z towarzyszącą cukrzycą typu 2 leczonych DAPT z tikagrelorem względem DAPT z kłopidogrelem (758 ± 162 vs. 913 ± 217 $\mu\text{g/L}$, $p<0.01$), podczas gdy u pacjentów bez cukrzycy poziom sVCAM-1 był porównywalny u pacjentów otrzymujących stosujących tikagrelor i kłopidogrel (872 ± 203 vs. $821 \pm$

210 $\mu\text{g/L}$, $p > 0.7$). Znamienność w/wym. interakcji między obecnością cukrzycy a stosowaniem tikagreloru potwierdzono za pomocą 2-czynnikowej analizy wariancji (ANOVA) ($p < 0.05$).

Powyższą zależność zaobserwowano wyłącznie dla sVCAM-1; stężenia pozostałych biomarkerów dysfunkcji/aktywacji śródbłonna, czyli ADMA, MCP-1 i selektyny E, nie wykazywały znamiennych różnic u chorych otrzymujących tikagrelor i kłopidogrel.

Wyniki nie uległy istotnej zmianie po uwzględnieniu poprawki na wiek, wskaźnik masy ciała, poziom hemoglobiny glikowanej i cholesterolu frakcji LDL za pomocą analizy kowariancji (ANCOVA), bądź po wyłączeniu z analizy chorych leczonych insuliną.

Nie stwierdzono istotnych zależności między reaktywnością płytek a stężeniem biomarkerów dysfunkcji śródbłonna zarówno u chorych z cukrzycą typu 2 jak i bez cukrzycy ($p > 0.3$).

Interpretacja wyników, proponowane mechanizmy i możliwe implikacje kliniczne:

Nasza publikacja, jakkolwiek o charakterze obserwacyjnym, jest prawdopodobnie pierwszym doniesieniem porównującym biomarkery dysfunkcji/aktywacji śródbłonna naczyniowego u leczonych DAPT z tikagrelorem i kłopidogrelem w zależności od współistnienia cukrzycy.

Poszukując mechanizmów zaobserwowanych różnic w stężeniu sVCAM-1 w zależności od stosowania tikagreloru u osób z i bez cukrzycy, na wstępie wykluczono różny stopień zahamowania reaktywności płytek, gdyż odpowiedź agregacyjna płytek na ADP i poziom rozpuszczalnej postaci selektyny P – pochodzącej głównie z płytek (*Blann i wsp. Eur Heart J. 2003;24:2166*) – były obniżone w porównywalnym stopniu u leczonych tikagrelorem chorych z i bez towarzyszącej cukrzycy, zaś reaktywność płytek nie korelowała z żadnym z oznaczanych biomarkerów dysfunkcji śródbłonna.

Jako prawdopodobne mechanizmy obserwowanych zależności zaproponowano:

– specyficzną właściwość tikagreloru, polegającą na stymulacji lokalnej akumulacji adenozyiny w przestrzeni zewnątrzkomórkowej (*van Giezen i wsp. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2012;17:164*). W pracach eksperymentalnych uprzednio wykazano zdolność adenozyiny do hamowania ekspresji VCAM-1 przez śródbłonek (*Bouma i wsp. Am J Physiol. 1996;270:C522*), najprawdopodobniej na drodze stymulacji uwalniania NO (*Smits i wsp. Circulation 1995;92:2135*).

Jakkolwiek proponowany mechanizm bezpośrednio nie tłumaczy wybiórczego obniżenia stężenia sVCAM-1 jedynie u chorych z cukrzycą leczonych DAPT z tikagrelorem, wyniki niektórych badań z randomizacją pośrednio sugerują, że towarzysząca cukrzyca typu 2 może predysponować do nasilenia akumulacji adenozyiny i poprawy funkcji śródbłonna podczas DAPT z tikagrelorem. Mianowicie u pacjentów otrzymujących tikagrelor zwiększenie poziomu adenozyiny i korzystny wpływ na czynność śródbłonna zaobserwowali Jeong i wsp., którzy objęli badaniem wyłącznie chorych z cukrzycą typu 2 (*JACC Cardiovasc Interv. 2017;10:1646*), podczas gdy brak wpływu tikagreloru na stężenie adenozyiny i parametry funkcji śródbłonna stwierdzili Ariotti i wsp. u pacjentów w większości (80%) bez cukrzycy (*JACC Cardiovasc Interv. 2018;11:1576*).

– możliwy nowy efekt plejotropowy tikagreloru, polegający na silniejszym hamowaniu tworzenia PMVs w porównaniu z tienopirydynowymi antagonistami receptora P2Y₁₂ w sposób częściowo niezależny od antyagregacyjnego działania leku, co zaobserwowano po raz pierwszy w naszym

wcześniejszym badaniu obserwacyjnym (Praca Nr 1: *Chyrchel i wsp. Int J Med. Sci. 2019;16:264*). Znamienne niższą liczebność PMVs 6 miesięcy po przebyciu OZW u chorych leczonych DAPT z tikagrelor wzdług DAPT z klopido gremem potwierdzono póniej w randomizowanym badaniu AFFECT EV (*Gqsecka i wsp. J Thromb Haemost. 2020;18:609*). PMVs uczestniczą w interakcjach między aktywowanymi płytkami krwi, leukocytami i śródbłónkiem, m.in. stymulując ekspresję integryn na monocytach i cząstek adhezyjnych na powierzchni komórek śródbłónka (*Barry i wsp. J Clin Invest. 1998;102:136; Nomura i wsp. Thromb Res. 2008;123:8*).

W związku z wyžszą liczebnošcią PMVs pochodzących z aktywowanych płytek u chorych po niedawno przebywym OZW ze wspólistniejącą cukrzycą (*Christerrson i wsp. Thromb Haemost. 2017;117:1571*), powyższy proponowany efekt hamowania generacji PMVs przez tikagrelor móglby mieć wówczas większe znaczenie, tłumacząc obniżone stężenie sVCAM-1 jedynie u naszych pacjentów z cukrzycą leczonych tikagrelor.

Przesłanki na rzecz interpretacji obniżonego stężenia sVCAM-1 u chorych z cukrzycą leczonych DAPT z tikagrelor jako móżliwej konsekwencji lepszej czynności śródbłónka z móżliwymi implikacjami klinicznymi:

– na znaczenie kliniczne poziomu krążącej sVCAM-1 wskazuje badanie *AtheroGene*, w którym wykazano związek sVCAM-1 (w przeciwieństwie do rozpuszczalnych form selektyny E oraz ICAM-1 [*intercellular adhesion molecule-1*]) z ryzykiem niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych w obserwacji prospektywnej pacjentów z chorobą wieńcową (*Blankenberg i wsp. Circulation 2001;104:1336*). Stężenie sVCAM-1 jest markerem śródbłónkowej ekspresji VCAM-1, cząstki adhezyjnej, której ligandem jest integryna $\alpha_4\beta_1$ (VLA-4, *very late antigen-4*) na powierzchni monocytów i limfocytów T. Wiązanie VCAM-1 z VLA-4 ma charakter bardziej trwały niż interakcje międzykomórkowe zależne od selektyn (*Muller. Lab Invest. 2002;82:521*), zaś stężenie sVCAM-1 we krwi uważa się za marker dysfunkcji i aktywacji śródbłónka, kluczowych zaburzeń w patogenezie rozwoju miażdżycy i OZW (*Suwaidi i wsp. Circulation 2000;101:948; Schächinger i wsp. Circulation 2000;101:1899*).

– powyższej interpretacji nie przeczy brak odpowiednich różnic w zakresie stężenia ADMA, endogennego inhibitora syntezy NO uważanego za jeden z biomarkerów dysfunkcji śródbłónka. Wydaje się bowiem, iż – w przeciwieństwie do osób bez cukrzycy – u chorych z cukrzycą związek ADMA z ryzykiem sercowo-naczyniowym nie jest jednoznaczny, na co wskazują wyniki badań *Framingham Offspring Study* (*Böger i wsp. Circulation 2009;119:1592*), *Hoorn Study* (*Teerlink i wsp. Atheroscler Suppl. 2006;7:23*) i *Edinburgh Type 2 Diabetes Study* (*Anderssohn i wsp. Diabetes Care 2014;37:846*).

Implikacje kliniczne móżliwego wybiórczego korzystnego wpływu DAPT z tikagrelor na czynność śródbłónka u chorych z cukrzycą:

Punktem wyjścia naszych rozważań w Dyskusji była koncepcja Autorów brytyjskich (*Rebecca B. Knowles & Timothy D. Warner: Pharmacol Ther. 2019;193:83*), którzy zaproponowali, że upóśledzenie synergistycznej interakcji między blokadą receptorów P2Y₁₂ a mediatorami śródbłónkowymi, NO i PGI₂ może mieć znaczenie kliniczne zwłaszcza podczas DAPT u chorych po

OZW z chorobami towarzyszącymi przebiegającymi z nasiloną uogólnioną dysfunkcją śródbłonna, jak przewlekła choroba nerek, przewlekła obturacyjna choroba płuc i miażdżyca tętnic obwodowych. Synergistyczna interakcja między blokadą płytkowego receptora P2Y₁₂ a mediatorami uwalnianymi przez śródbłonek ma charakter wielostronny: nie tylko blokada receptorów P2Y₁₂ wielokrotnie wzmacnia efekt antyagregacyjny NO i PGI₂ (*Cattaneo i wsp. J Thromb Haemost. 2007;5:577; Kirkby i wsp. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;10:15782*), ale także NO i PGI₂ wzajemnie potęgują swoje działanie antyagregacyjne (*Radomski i wsp. Br J Pharmacol. 1987;92:639*) oraz efekt przeciwpłytkowy antagonistów receptora P2Y₁₂ w warunkach submaksymalnej blokady tych receptorów (*Chan i wsp. Br J Clin Pharmacol. 2016;81:621*). Wg cytowanych Autorów (*Knowles & Warner. Pharmacol Ther. 2019;193:83*), w warunkach uogólnionej dysfunkcji śródbłonna, obejmującej także naczynia mikrokrążenia obwodowego i płucnego (gdzie przepływ krwi jest zwolniony, zaś liczba otaczających komórek śródbłonna wielokrotnie przewyższa liczbę płytek) brak jest wówczas adekwatnej ekspozycji krążących płytek na NO i PGI₂, odpowiedzialnych w warunkach prawidłowych za ciągły efekt antyagregacyjny śródbłonna. Przedstawiony mechanizm ma podwyższać reaktywność pytek i na tej drodze zwiększać ryzyko niedokrwiennych zdarzeń sercowo-naczyniowych pomimo stosowania DAPT u chorych po OZW z chorobami towarzyszącymi przebiegającymi z uogólnioną dysfunkcją śródbłonna, jak m.in. przewlekła choroba nerek, przewlekła obturacyjna choroba płuc lub miażdżyca tętnic obwodowych.

W Dyskusji zaproponowaliśmy posłużenie się powyższą koncepcją defektu synergistycznej interakcji między blokadą receptora P2Y₁₂ a mediatorami śródbłonkowymi także w przypadku chorych po OZW z cukrzycą typu 2, której również towarzyszy uogólniona dysfunkcja śródbłonna oraz nadmierna reaktywność płytek krwi i podwyższone ryzyko niedokrwiennych zdarzeń sercowo-naczyniowych pomimo DAPT (*Angiolillo i wsp. Diabetes 2005;54:2430; Ferreiro & Angiolillo. Circulation 2011;123:798*). Natomiast sugerowana przez nasze wyniki hipotetyczna wybiórcza poprawa czynności śródbłonna u chorych z cukrzycą leczonych DAPT z tikagrelorem może częściowo korygować defekt w/wym. synergistycznej interakcji w wyniku zwiększonej akumulacji w płynie pozakomórkowym adenozyiny (*van Giezen i wsp. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2012;17:164;*). Adenozyina – poprzez receptory A_{2A} i A_{2B} – stymuluje uwalnianie NO przez śródbłonek (*Smits i wsp. Circulation 1995;92:2135*) oraz wewnątrzpłytkową generację cAMP (*Johnston-Cox & Ravid. Purinergic Signal. 2011;7:357*), drugiego przekaźnika PGI₂, nasilając efekt antyagregacyjny antagonistów receptora P2Y₁₂.

W praktyce klinicznej proponowany mechanizm może przekładać się niższe ryzyko niedokrwiennych zdarzeń sercowo-naczyniowych u leczonych tikagrelorem chorych po OZW i/lub angioplastyce wieńcowej z towarzyszącą cukrzycą w następujących badaniach klinicznych z randomizacją:

- **(tikagrelor + aspiryna) vs. (prasugrel + aspiryna):**
 - **ISAR-REACT 5** (0–12 miesięcy po OZW):
 - znamiennie niższe ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych z OZW leczonych DAPT z prasugrelem względem DAPT z tikagrelorem jedynie u chorych bez cukrzycy; tendencja o kierunku odwrotnym u pacjentów z cukrzycą (*Ndrepepa i wsp. JACC Cardiovasc Interv. 2020;13:2238*)

➤ **(tikagrelor + aspiryna) vs. aspiryna:**

- **PEGASUS-TIMI 54** (1–3 lata po OZW):
 - znamienne niższe ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych jedynie u chorych z cukrzycą (*Bhatt i wsp. J Am Coll Cardiol. 2016;67:2732*)
- **THEMIS-PCI** (wyłącznie chorzy z cukrzycą po angioplastyce, bez przebytego OZW):
 - znamienne niższe ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych (*Bhatt i wsp. Lancet 2019;394:1169*)

➤ **tikagrelor vs. aspiryna**

- **GLOBAL LEADERS** (12–24 miesiące po angioplastyce z OZW lub bez OZW):
 - znamienne niższe ryzyko niedokrwiennych zdarzeń sercowo-naczyniowych w drugim roku po angioplastyce jedynie u chorych ze współistniejącą cukrzycą i przewlekłą chorobą nerek (*Gao i wsp. Cardiovasc Diabetol. 2020;19:179*)

Ponadto można spekulować, że raczej zaskakujący wynik uzyskany w badaniu **TWILIGHT** także stanowi potencjalne odzwierciedlenie bardziej nasilonej zależności korzystnych efektów klinicznych tikagreloru w cukrzycy od synergistycznego wzmocnienia działania przeciwplatekowego leku przez mediatory śródbłonkowe, NO i PGI₂. Mianowicie w badaniu TWILIGHT zaobserwowano granicznie znamienne (p=0.05) interakcję między obecnością cukrzycy a efektem prognostycznym rodzaju farmakoterapii stosowanej 3–15 miesięcy po PCI wysokiego ryzyka, głównie w wyniku tendencji do niższego ryzyka zawału serca jedynie u chorych z towarzyszącą cukrzycą zrandomizowanych do monoterapii tikagrelorem w porównaniu do pacjentów leczonych tikagrelorem a aspiryną (*Angiolillo i wsp. J Am Coll Cardiol. 2020;75:2403*).

Zważywszy, że nawet niska dawka aspiryny znacząco hamuje generację PGI₂ (*FitzGerald i wsp. J Clin Invest. 1983;71:676*), towarzyszące stosowanie aspiryny mogło zaburzać trójstronny synergizm blokady receptorów P2Y₁₂, cGMP (drugiego przekaźnika NO) i cAMP (drugiego przekaźnika PGI₂ i adenozyliny działającej na płytkowe receptory A_{2A} i A_{2B}) (*Radomski i wsp. Br J Pharmacol. 1987;92:639; Johnston-Cox & Ravid. Purinergic Signal. 2011;7:357; Chan i wsp. Br J Clin Pharmacol. 2016;81:621*).

Podsumowując, nasze obserwacje sugerują lepszą czynność śródbłonka naczyniowego u stabilnych chorych po przebyciu OZW ze współistniejącą cukrzycą typu 2 otrzymujących DAPT z tikagrelorem w porównaniu do DAPT z kłopidogrelem. O ile obserwacja ta zostanie potwierdzona, przedstawiona zależność może wskazywać na nowy efekt plejotropowy tikagreloru, przekładający się na wyraźniejsze korzystne efekty prognostyczne u leczonych tikagrelorem chorych z cukrzycą.

Przesłanki badania (Praca Nr 3):

W ostatnich latach coraz mocniej podkreśla się konieczność indywidualizacji intensywności i czasu stosowania DAPT celem minimalizacji całkowitego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych, z uwzględnieniem zarówno ryzyka zdarzeń niedokrwiennych jak i krwotocznych.

W stanowisku ekspertów z 2019 roku zaznaczono, że zindywidualizowana eskalacja intensywności DAPT w oparciu o monitorowanie czynności płytek krwi nie przyniosła spodziewanych korzystnych efektów klinicznych w dużych badaniach randomizowanych, w przeciwieństwie do badań obserwacyjnych i niewielkich badań z randomizacją (*Sibbing i wsp. JACC Cardiovasc Interv. 2019;12:1521*). **Natomiast tendencje do niższego całkowitego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych zaobserwowano po wczesnej deeskalacji intensywności DAPT u chorych po OZW leczonych początkowo silnymi antagonistami receptora P2Y₁₂ (*Kang i wsp. Eur Heart J. 2023;44:1360*), w tym deeskalacji zindywidualizowanej w oparciu o badanie reaktywności płytek w badaniu TROPICAL-ACS (*Sibbing i wsp. Lancet 2017;390:1747*).**

W związku z powyższym istotne znaczenie kliniczne ma poszukiwanie parametrów klinicznych i biochemicznych powiązanych ze stopniem zahamowania czynności płytek w celu optymalizacji intensywności DAPT u chorych leczonych silnymi antagonistami receptorów P2Y₁₂.

Cel badania (Praca Nr 3): Poszukiwanie parametrów klinicznych i biochemicznych powiązanych z reaktywnością płytek krwi *ex vivo* oraz stopniem aktywacji płytek *in vivo* – porównanie DAPT z tikagrelorem i DAPT z kłopidogrelem.

Metodyka (Praca Nr 3):

Badaniem objęto podgrupę 62 chorych (16 kobiet i 46 mężczyzn, średni wiek 64 ± 10 lat) leczonych DAPT z tikagrelorem, wyodrębnionych spośród 126 pacjentów opisanych w Pracy Nr 3.

Oznaczenia objęły ocenę odpowiedzi agregacyjnej płytek na ADP oraz pomiar stężenia rozpuszczalnej formy selektyny P, markera aktywacji płytek *in vivo* (*Blann i wsp. Eur Heart J. 2003;24:2166*), co szczegółowo opisano w Metodyce dotyczącej Pracy Nr 2). Ponadto, w celu identyfikacji parametrów wybiórczo powiązanych ze stosowaniem tikagreloru, dokonano oceny w/wym. zależności także u wcześniej scharakteryzowanych w Pracy Nr 2 64 chorych leczonych DAPT z kłopidogrelem, porównywalnych pod względem wieku, płci i współistnienia cukrzycy.

Omówienie wyników:

Odpowiedź agregacyjna płytek na ADP pozostawała poniżej przedziału przyjmowanego jako optymalny dla agregometrii impedancyjnej (190–460 AU * min) (*Tantry i wsp. J Am Coll Cardiol. 2013;62:2261*) u większości chorych leczonych DAPT z tikagrelorem, zwłaszcza przy stężeniu cholesterolu frakcji LDL (LDL-c) poniżej mediany (<1.9 mmol/L) (128 ± 61 vs. 167 ± 73 AU * min dla LDL-c odpowiednio <1.9 mmol/L i >1.9 mmol/L, $p=0.025$), podczas gdy stężenie rozpuszczalnej formy selektyny P było podobne niezależnie od poziomu LDL-c (odpowiednio 91 ± 20 vs. 95 ± 22 vs. $\mu\text{g/L}$, $p>0.4$). Reaktywność pytek korelowała znamienne ze stężeniem LDL-c ($r = 0.34$, $p=0.008$).

Nie stwierdzono istotnych zależności między stężeniem rozpuszczalnej formy selektyny P a analizowanymi parametrami, w tym LDL-c ($p>0.4$), zaś dodatnia korelacji selektyny P z wiekiem miała charakter nieznamienne ($r = 0.24$, $p=0.09$).

Pacjenci z poziomem LDL-c powyżej i poniżej mediany nie wykazywali znamiennych różnic w zakresie parametrów klinicznych i biochemicznych, a także w rodzaju stosowanej farmakoterapii.

U chorych leczonych DAPT z kłopidogrelem nie stwierdzono istotnej zależności między stężeniem LDL-c a reaktywnością płytek ($r = 0.13$, $p>0.3$; 246 ± 101 vs. 268 ± 108 AU * min dla

LDL-c odpowiednio <1.9 mmol/L i >1.9 mmol/L, $p>0.4$) bądź poziomem selektyny P (odpowiednio 120 ± 37 vs. 118 ± 35 $\mu\text{g/L}$, $p>0.8$).

Interpretacja wyników, proponowane mechanizmy i możliwe implikacje kliniczne:

Zaproponowano następujące możliwe mechanizmy wyższej reaktywności płytek krwi w warunkach *ex vivo* przy podwyższonym stężeniu LDL-c pomimo intensywnego leczenia hipolipemizującego statyną o wysokiej intensywności działania:

– stymulację reaktywności płytek przez wiązanie się zmodyfikowanych (tzw. „utlenowanych”) postaci cząstek LDL z płytkowym receptorem CD36 (*Podrez i wsp. Nat Med. 2007;13:1086; Morotti i wsp. Int J Mol Sci. 2022;23:11446*), który powoduje wzrost aktywności płytek m.in. poprzez hamowanie szlaków przekąźnikowych kontrolowanych przez cGMP-zależną kinazę białkową G (PKG, *protein kinase G*) i cAMP-zależną kinazę białkową A (PKA, *protein kinase A*) (*Magwenzi i wsp. Blood 2015;125:269; Roberts i wsp. Blood 2010;116:4297*);

– upośledzenie generacji NO – mediatora hamującego agregację kolejnych płytek krwi – przez płytki agregujące w odpowiedzi na ADP w obecności wyższych stężeń LDL-c (*Freedman i wsp. J Clin Invest. 1997;100:350; Ikeda i wsp. Hypertension 2000;35:904*);

– nadmierną reaktywność płytek z powodu zwiększonego stresu oksydacyjnego towarzyszącego hipercholesterolemii (*Barale i wsp. Biomed Res Int. 2018;2018:6508709; Barale & Russo. Int J Mol Sci. 2020;21:623; Morotti i wsp. Int J Mol Sci. 2022;23:11446*).

Jako hipotetyczny mechanizm podobnego stężenia rozpuszczalnej formy selektyny P u chorych z poziomem LDL-c powyżej i poniżej mediany zaproponowano:

– relatywnie wyższą możliwość zaobserwowania wpływu LDL-c na reaktywność płytek w warunkach *ex vivo*, czyli w sytuacji, gdy wewnątrzpłytkowe poziomy cGMP i cAMP (drugich przekąźników mediatorów o krótkim okresie półtrwania, NO, PGI₂ i adenozyne) są już najprawdopodobniej niskie (*Söderbäck i wsp. Acta Physiol Scand. 1987;129:189; Nolte i wsp. J Biol Chem. 1991;266:14808; Mullershausen i wsp. J Cell Biol. 2001;155:271; Mo i wsp. J Biol Chem. 2004;279:26149*). Może to hipotetycznie sprzyjać ujawnieniu się wpływu zmodyfikowanych postaci cząstek LDL na płytki poprzez płytkowy receptor CD36 (*Podrez i wsp. Nat Med. 2007;13:1086*), gdyż jest on zależny w znacznej mierze od mechanizmów usytuowanych dystalnie („*downstream*”) od syntezy cGMP i cAMP. (*Magwenzi i wsp. Blood 2015;125:269; Roberts i wsp. Blood 2010;116:4297*).

Sformułowaliśmy hipotezę, że w warunkach *in vivo* przypuszczalnie ma miejsce maskowanie powyższego efektu z powodu ciągłego hamowania aktywacji płytek w wyniku stymulacji wewnątrzpłytkowej syntezy cGMP i cAMP przez endogenne mediatory – NO, PGI₂, i adenozynę – z możliwym dodatkowym udziałem tikagreloru, zwiększającym akumulację adenozyne i uwalnianie NO (*van Giezen i wsp. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 2012;17:164*); *Smits i wsp. Circulation 1995;92:2135*). Można się spodziewać wzmocnienie tego wpływu u pacjentów na DAPT poprzez wcześniej omawianą synergistyczną interakcję między blokadą receptora P2Y₁₂ a

mediatorami śródbłonkowymi (*Kirkby i wsp. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 10:15782*), jak i PGI₂ (*Cattaneo i wsp. J Thromb Haemost. 2007;5:577; Chan i wsp. Br J Clin Pharmacol. 2016;81:621*).

– słabsze zwiększenie ekspresji selektyny P (magazynowanej w płytkowych ziarnistościach alfa) przez płytki izolowane od myszy z łagodnie podwyższonym poziomem cholesterolu w porównaniu z odpowiednim nasileniem uwalniania ATP (magazynowanego w tzw. ziarnistościach gęstych) przez płytki agregujące w odpowiedzi na ADP (*Nagy Jr. i wsp. J Thromb Haemost. 2011;9:810*). Wskazuje to, że towarzysząca hipercholesterolemii nadmierna aktywność szlaków sygnałowych usytuowanych dystalnie od receptorów P2Y₁₂ w większym stopniu nasila uwalnianie zawartości płytkowych ziarnistości gęstych niż zawierających selektynę P ziarnistości alfa.

Ponadto w/wym. mechanizm uprawdopodobniają dane z literatury wskazujące na:

– brak korelacji między stężeniem rozpuszczalnej formy selektyny P – predyktorem niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych – a klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego (w tym stężeniem LDL-c) w różnych sytuacjach klinicznych (*Blann i wsp. Blood Coagul Fibrinolysis 1997;8:200; Blann i wsp. Blood Coagul Fibrinolysis 1997;8:383; Barale i wsp. Biomed Res Int. 2018;2018:6508709; Tscharre i wsp. Thromb Haemost. 2019;119:340; Siudut i wsp. Int J Cardiol. 2023;373:110*), co sugeruje zależność aktywacji płytek *in vivo* od dodatkowych czynników, w tym prawdopodobnie mediatorów pochodzenia śródbłonkowego;

– ujemną korelację między stężeniem rozpuszczalnej formy selektyny P a zależną od śródbłonka odpowiedzią wazodilatacyjną u chorych leczonych aspiryną przed włączeniem antagonisty receptora P2Y₁₂, co sugeruje ciągłą modulację aktywacji płytek przez śródbłonek (*Muller i wsp. Am J Cardiol. 2010;105:333*).

Implikacje kliniczne zależności między profilem lipidowym a reaktywnością płytek u chorych leczonych DAPT z tikagrelorem:

Obniżenie reaktywności płytek poniżej przedziału uznawanego za optymalny podczas DAPT może wskazywać na wyższe ryzyko krwawienia, zwłaszcza u chorych z niższym poziomem LDL-c. Istnieją doniesienia wskazujące na taką możliwość zarówno u pacjentów z wschodniej Azji (*Yang i wsp. Eur Heart J. 2021;42:3175*), jak i innych regionów świata (*Iijima i wsp. Eur Heart J. 2009; 30:290; Hochholzer i wsp. Circulation 2011;123:2681*). W roku 2021 autorzy chińscy opublikowali wyniki analizy rejestru obejmującego ponad 40 tys. chorych po OZW, które wykazały wzrost ryzyka istotnych powikłań krwotocznych począwszy od wyjściowego stężenia LDL-c poniżej 2.3 mmol/ u pacjentów leczonych DAPT z tikagrelorem, podczas gdy w trakcie DAPT z kłopidogrelem powyższe ryzyko wzrastało dopiero przy stężeniu LDL-c poniżej 1.4 mmol/L (*Yang i wsp. Eur Heart J. 2021;42:3175*). Może to wynikać z następujących potencjalnych mechanizmów:

– silniejszego hamowania receptorów P2Y₁₂ przez tikagrelor niż kłopidogrel, w związku z czym wcześniej (czyli już przy wyższym stężeniu LDL-c, porównywalnym z wartością mediany w Pracy Nr 3) ujawnia się hamowanie wcześniej wspomnianego mechanizmu polegającego na stymulacji przez cholesterol proagregacyjnych szlaków przekaźnikowych zależnych od receptora P2Y₁₂ (*Nagy Jr. i*

wsp. *J Thromb Haemost.* 2011;9:810), czego konsekwencją mogło być zwiększone ryzyko krwawienia począwszy od wyższych wartości progowych poziomu LDL-c u leczonych tikagrelorem (Yang i wsp. *Eur Heart J.* 2021;42:3175). Natomiast brak zależności między stężeniem LDL-c a reaktywnością płytek u naszych chorych leczonych DAPT z kłopidogrelem mógł wynikać z faktu, że u zdecydowanej większości tych pacjentów poziom LDL-c przekraczał wartość progową 1.4 mmol/L, przy którym wzrastało ryzyko krwawienia u pacjentów otrzymujących kłopidogrel wg autorów cytowanego rejestru (Yang i wsp. *Eur Heart J.* 2021;42:3175).

– omawianego uprzednio szczegółowo efektu plejotropowego tikagreloru, polegającego na stymulacji uwalniania adenozyliny i NO, co może predysponować do krwawień przy wyższych stężeniach progowych LDL-c w porównaniu z kłopidogrelem.

Podsumowując, uzyskane wyniki wskazują na wyższy stopień zahamowania czynności płytek krwi w warunkach *ex vivo* przy niższym stężeniu LDL-c u chorych leczonych DAPT z tikagrelorem. Powyższa zależność wymaga weryfikacji w dużych badaniach prospektywnych ukierunkowanych na badanie związku między reaktywnością płytek a profilem lipidowym celem zindywidualizowanej optymalizacji intensywności DAPT u chorych po OZW. Dodatkowe przesłanki takich badań to m.in.:

- rekomendowany przez aktualne wytyczne europejskie docelowy poziom LDL-c poniżej 1.4 mmol/L u chorych po przebyciu OZW niezależnie od strategii leczenia przeciwplatekowego;
- korzystne tendencje kliniczne obserwowane przy wczesnej deeskalacji intensywności DAPT po OZW (Kang i wsp. *Eur Heart J.* 2023;44:1360), w tym deeskalacji zindywidualizowanej w oparciu o ocenę stopnia zahamowania reaktywności płytek czynności płytek w badaniu TROPICAL-ACS (Sibbing i wsp. *Lancet* 2017;390:1747);
- wciąż dyskutowana kwestia możliwości wyższego ryzyka krwotoku wewnątrzczaszkowego przy niskim poziomie LDL-c (Gurewitz i wsp. *J Clin Med.* 2022;11:536).

Przesłanki badania (Praca Nr 4):

MikroRNA-223 (miR-223), jedna z postaci niekodującego jednoniciowego RNA, występuje głównie w płytkach krwi, gdzie hamuje ekspresję receptora P2Y₁₂ oraz jest uwalniany przy ich aktywacji (Landry i wsp. *Nat Struct Mol Biol.* 2009;19:961; Laffont i wsp. *Blood* 2013;122:253; Willeit i wsp. *Circ Res.* 2013;112:595). W związku ze względną stabilnością cząsteczek mikroRNA, regulujących ekspresję genów na poziomie potranskrypcyjnym, przypisywana jest im istotna rola w komunikacji międzykomórkowej.

Doniesienia, które badały zależność między stężeniem miR-223 w osoczu a reaktywnością płytek krwi przyniosły sprzeczne wyniki (Willeit i wsp. *Circ Res.* 2013;112:595; Zhang i wsp. *J Thromb Thrombolysis* 2014;38:65).

Do roku 2014 nie zostały opublikowane prace na temat poziomu krążącego miR-223 u chorych leczonych DAPT z nowymi antagonistami receptora P2Y₁₂, prasugrelem lub tikagrelorem.

Jakkolwiek w 2 wcześniejszych publikacjach u chorych z wyższą reaktywnością płytek w trakcie DAPT opisano zwiększony poziom miR-223 w płytkach (*Shi i wsp. Thromb Res. 2013;131:508*) i w osoczu krwi (*Zhang i wsp. J Thromb Thrombolysis 2014;38:65*), jednak badane grupy pacjentów obejmowały jedynie osoby z populacji chińskiej leczone wyłącznie DAPT z kłopidogrelem, a nie nowszymi antagonistami receptora P2Y₁₂.

Cel badania (Praca Nr 4): Ocena charakteru zależności między stężeniem miR-223 w osoczu krwi a reaktywnością płytek u chorych po OZW leczonych DAPT z antagonistami receptora P2Y₁₂ o różnej sile działania przeciwplateletowego (tikagrelor / prasugrel vs. kłopidogrel).

Metodyka (Praca Nr 4):

Badaniem objęto 21 mężczyzn (średni wiek 63 ± 9 lat) hospitalizowanych z powodu OZW, leczonych od dnia przyjęcia DAPT z kłopidogrelem (n=11) bądź z silnymi antagonistami receptora P2Y₁₂ (tikagrelor albo prasugrel) (n=10).

W ostatnim dniu hospitalizacji zmierzono odpowiedź agregacyjną płytek na ADP *ex vivo* za pomocą agregometrii impedancyjnej (*Multiplate analyzer, Dynabyte, Monachium, Niemcy*) oraz zabezpieczono próbki osocza celem oznaczenia stężenia miR-223. Oznaczenie poziomu miR-223 wykonano w Ośrodku Genomiki Medycznej OMICRON WL UJ CM (Kierownik: Dr n. med. Paweł Wołkow) za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA; CFX384 Touch Real Time PCR Detection System, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Stężenie miR-223 wyrażono jako wartość względną względem poziomu miR-16, który przyjęto jako endogenne wartości referencyjne.

Omówienie wyników:

W porównaniu z chorymi leczonymi DAPT z kłopidogrelem stopień zahamowania odpowiedzi agregacyjnej płytek na ADP był znacząco obniżony ($p < 0.01$) u pacjentów otrzymujących DAPT z tikagrelorem lub prasugrelem (139 ± 71 vs. 313 ± 162 AU * min., $p < 0.01$).

Czynnikiem determinującym stężenie miR-223 okazał się wyłącznie stopień zahamowania reaktywności płytek a nie rodzaj stosowanego antagonisty receptora P2Y₁₂. Poziom miR-223 (wyrażony jako wartość względna względem poziomu miR-16) obniżał się bowiem stopniowo w kolejnych tercylach reaktywności płytek: 1.06 [0.25–2.31], 0.57 [0.24–1.85] i 0.20 [0.13–2.30] odpowiednio dla dolnego (<168 AU * min), środkowego (168–246 AU * min) i górnego tercylu (>246 AU * min) odpowiedzi agregacyjnej na ADP (współczynnik rho Spearmana: -0.52, $p = 0.015$, $p = 0.015$ dla efektu trendu).

Natomiast stężenie miR-223 nie wykazywało istotnych statystycznie różnic między chorymi leczonymi DAPT z tikagrelorem lub prasugrelem względem DAPT z kłopidogrelem (mediana [zakres]: 0.70 [0.13–2.07] vs. 0.42 [0.16–2.31], $p > 0.4$).

Interpretacja wyników, proponowane mechanizmy i możliwe implikacje kliniczne:

Nasz artykuł w *Platelets* (opublikowany wcześniej on-line w dniu 28.10.2014) jest pierwszą publikacją, w której poddano ocenie zależność między reaktywnością płytek a stężeniem miR-223 u chorych leczonych DAPT z silnymi antagonistami receptora P2Y₁₂, tikagrelorem i

prasugrelem. Oryginalny charakter tego niewielkiego doniesienia znalazł odzwierciedlenie w liczbie cytowań, przekraczających 60 w lipcu 2023 roku (wg *Web of Science*).

Uzyskane wyniki przemawiają przeciwko koncepcji stopnia obniżenia poziomu miR-223 w osoczu jak wykładnika skuteczności leczenia przeciwplatekowego, gdyż obserwowana zależność między reaktywnością płytek a stężeniem miR-223 miała kierunek przeciwny (*Willeit i wsp. Circ Res. 2013;112:595; Kaudewitz i wsp. Circ Res. 2016;118:420*). Stanowi to przyczynek do wciąż toczącej się dyskusji na temat niewyjaśnionej dotychczas kwestii, czy zwiększone stężenie miR-223 w osoczu idzie w parze z niższą (*Zhang i wsp. J Thromb Thrombolysis 2014;38:65*) czy wyższą (*Willeit i wsp. Circ Res. 2013;112:595; Kaudewitz i wsp. Circ Res;118:420*) reaktywnością płytek krwi.

Powyższe zagadnienie – istotne dla roli miR-223 w stratyfikacji ryzyka – nie zostało dotychczas jednoznacznie rozstrzygnięte. Przyjmując bowiem, że wyższa aktywność płytek krwi pomimo leczenia przeciwplatekowego zwiększa ryzyko niedokrwienych zdarzeń sercowo-naczyniowych (*Gurbel i wsp. J Am Coll Cardiol. 2005;46:1827; Bonello i wsp. J Am Coll Cardiol. 2011;58:467*), można by się spodziewać wyraźnego związku wyższego poziomu miR-223 z gorszym rokowaniem, o ile stężenie miR-223 przebiegałoby ze zwiększoną reaktywnością płytek, co sugerowali niektórzy Autorzy (*Willeit i wsp. Circ Res. 2013;112:595; Kaudewitz i wsp. 2016 Circ Res;118:420*).

Jednakże – podobnie jak wcześniej przytoczone sprzeczne doniesienia na temat kierunku związku miR-223 z reaktywnością płytek – badania kierunku efektu prognostycznego stężenia miR-223 przyniosły podobnie sprzeczne wyniki zarówno u chorych leczonych DAPT (*Li i wsp. J Int Med Res. 2021;49:1; Hromadka i wsp. J Pers Med. 2021;11: 508*), jak i osób w większości nie stosujących DAPT (*Zampetaki i wsp. J Am Coll Cardiol. 2012;60:290; Schulte i wsp. PLoS ONE 2015;10:e0145930; Keller i wsp. Sci Rep. 2017;7:4511*).

Zhang i wsp. (*Front Cardiovasc Med. 2021;7:610561*) dokonali kompleksowego podsumowania możliwych mechanizmów podlegających potencjalnej regulacji przez miR-223, w tym wykraczających poza płytki krwi. Modulacja powyższych pozapłytkowych mechanizmów przez miR-223 może tłumaczyć korzystny efekt prognostyczny wyższego stężenia miR-223 w pewnych sytuacjach klinicznych (*Zampetaki i wsp. J Am Coll Cardiol. 2012;60:290; Li i wsp. J Int Med Res. 2021;49:1*), prawdopodobnie m.in. poprzez hamowanie ekspresji płytkowego receptora P2Y₁₂, ale także inne efekty na poziomie komórek śródbłonna naczyniowego, miocytów naczyniowych, makrofagów i hepatocytów (*Zhang i wsp. (Front Cardiovasc Med. 2021;7:610561)*). Przykładowo, wykazano, że miR-223 hamuje ekspresję czynnika tkankowego w komórkach śródbłonna (*Li i wsp. Atherosclerosis 2014;237:514*).

Zatem aktualny stan wiedzy wskazuje, że krążący miR-223 powinien być traktowany nie jedynie jako “marker” wyższej reaktywności płytek, ale także jako potencjalny modulator mechanizmów powiązanych z ryzykiem sercowo-naczyniowym, przy czym dominujący charakter tych powiązań jest najprawdopodobniej różny w zależności od sytuacji klinicznej, co może wyjaśniać w/wym. sprzeczności wyników badań (*Zhang i wsp. Front Cardiovasc Med. 2021;7:610561*).

Przykładem jednej z takich sytuacji klinicznych jest publikacja Wang'a i wsp. (*Ann Transl Med.* 2020;8:1341), którzy opisali nie niższy, ale wyższy poziom miR-223 u chorych na DAPT z tikagrelor w porównaniu do DAPT z kłopidogrelem, przy równocześnie niższej reaktywności płytek u chorych przed planowaną operacją CABG bez użycia krążenia pozaustrojowego po odstawieniu antagonisty P2Y₁₂ na okres ok. 5 dni. Co więcej, podwyższone stężenie miR-223 w osoczu – a nie stosowanie tikagreloru bądź niższa reaktywność płytek – okazało się wówczas niezależnym predyktorem epizodów ciężkich krwawień w okresie okołoperacyjnym (*Ann Transl Med.* 2020;8:1341). **Komentując w/wym. wynik, Wang i wsp. nawiązali do naszej publikacji w *Platelets* z 2015 roku:**

“The present study also showed that the more potent P2Y₁₂ inhibitor, ticagrelor significantly decreased the percentage of ADP-induced platelet aggregation and increased circulating miR-223 levels in CAD patients. This was in line with a previous study that showed that plasma miR-223 levels were elevated with decreasing platelet reactivity (20).” (odnośnik Nr 20 oznacza naszą publikację z 2015 roku).

Podsumowując, nasze doniesienie z 2015 roku wskazuje na powiązanie między stężeniem miR-223 w osoczu krwi a stopniem zahamowania czynności płytek u chorych leczonych DAPT z silnymi antagonistami receptora P2Y₁₂. Późniejsze publikacje dowodzą, że zróżnicowanie kierunku tej zależności w zależności od sytuacji klinicznej może przekładać się na różny charakter efektu prognostycznego poziomu krążącego miR-223.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej.

Uczestnictwo w owocującej publikacjami prac oryginalnych współpracy naukowej II Kliniki Kardiologii z następującymi zewnętrznymi jednostkami naukowymi:

(wyróżniono pogrubionym itałikiem z podkreśleniem Autorów z Uczelni innych niż UJ CM):

5.1. Narodowym Instytutem Kardiologii im. Stefana kardynała Wyszyńskiego – Państwowym Instytutem Badawczym w Warszawie

(Klinika Wad Zastawkowych Serca)

– Chyrchel B, Długosz D, Bolt K, Kruszelnicka O, Dziewierz A, Świerszcz J, Wieczorek-Surdacka E, ***Hryniewiecki T***, Surdacki A. Association of Inadequately Low Left Ventricular Mass with Enhanced Myocardial Contractility in Severe Degenerative Aortic Stenosis. ***J Clin Med.* 2018; 7: 464.**

IF: 5,688

Mój udział w pracy polega na uczestnictwie w powstaniu koncepcji pracy, w opracowaniu jej metodologii i w analizie uzyskanych wyników, na wiodącym udziale w przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptu oraz w jego modyfikacjach po uwagach Recenzentów, a także na akceptacji ostatecznej wersji manuskryptu.

Nawiązana w toku realizacji pracy współpraca z Narodowym Instytutem Kardiologii w Warszawie była kontynuowana w następnych latach, przynosząc następujące efekty:

– 3 krótkoterminowe pobyty szkoleniowe w **Narodowym Instytucie Kardiologii w Warszawie** w okresach: 19–20.04.2021, 19–20.07.2021 oraz 25–26.10.2021 celem uzyskania *umiejętności w zakresie zaawansowanych metod obrazowania serca* (vide podpunkt **II.7. części A Wykazu Osiągnięć naukowych**)

– rolę **Opiekuna Naukowego** we wniosku złożonym w konkursie **NCN PRELUDIUM 22 (15.06.2023)** pt. „*Dysfunkcja śródbłonna a proces zapalny w ścianie tętnic wieńcowych - obrazowanie wczesnych zmian miażdżycowych metodą tomografii komputerowej u chorych czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego*” (**wniosek aktualnie w trakcie oceny**) (vide podpunkt **II.5. części A Wykazu Osiągnięć naukowych**)

5.2. Wyższą Szkołą Medyczną w Hanowerze (Niemcy)

(Institute of Toxicology, Core Unit Proteomics, Hannover Medical School)

– Wieczorek-Surdacka E, **Hanff E**, **Chyrchel B**, Kuźniewski M, Surdacki A, **Tsikias D**. Distinct associations between plasma osteoprotegerin, homoarginine and asymmetric dimethylarginine in chronic kidney disease male patients with coronary artery disease **Amino Acids** **2019**; 51: 977–982.

IF: 3,063

Mój udział w pracy polegał na uczestnictwie w powstaniu koncepcji pracy, w rekrutacji i włączaniu chorych do badania i w organizacji pobierania próbek krwi, na udziale w analizie wyników i redagowaniu zmodyfikowanej wersji poprawionego manuskryptu, oraz na akceptacji ostatecznej wersji manuskryptu.

5.3. Uniwersytetem w Genewie (Szwajcaria)

(Department of Community Medicine, Service of Therapeutic Education for Chronic Diseases, WHO Collaborating Centre, University Hospitals of Geneva)

– Kruszelnicka O, **Chyrchel B**, **Golay A**, Surdacki A. Differential associations of circulating asymmetric dimethylarginine and cell adhesion molecules with metformin use in patients with type 2 diabetes mellitus and stable coronary artery disease. **Amino Acids** **2015**; 47: 1951–1959.

IF: 3,196

Mój udział w pracy polegał na uczestnictwie w rekrutacji i włączaniu chorych do badania oraz na organizacji pobierania próbek krwi, a także na akceptacji ostatecznej wersji manuskryptu.

5.4. Uniwersytetem w Magdeburgu (Niemcy)

(Institute for Clinical Pharmacology, Otto-von-Guericke University, Magdeburg)

– Jaźwińska-Kozuba A, **Martens-Lobenhoffer J**, Kruszelnicka O, Rycaj J, **Chyrchel B**, Surdacki A, **Bode-Böger SM**. Opposite associations of plasma homoarginine and ornithine with arginine in healthy children and adolescents. **Int J Mol Sci.** **2013**; 14: 21819–21832.

IF: 2,339

Mój udział w pracy polegał na uczestnictwie w powstaniu koncepcji pracy, opracowaniu jej metodologii i w analizie uzyskanych wyników, a także na udziale w redagowaniu

zmodyfikowanej wersji poprawionego manuskryptu, oraz na akceptacji ostatecznej wersji manuskryptu.

6. Informacja o innych osiągnięciach naukowych:

Poszukiwanie czynników wpływających na czynność skurczową lewej komory i jej odpowiedź przerostową na obciążenie u chorych ze zwężeniem zastawki aortalnej

Celem badań było poszukiwanie czynników wpływających na czynność skurczową lewej komory i stopień przerostu lewej komory serca – w tym brak przerostu oraz jego adekwatność w stosunku do obciążenia – u chorych ze zwyrodnieniowym zwężeniem zastawki aortalnej z zachowaną frakcją wyrzutową lewej komory, biorąc poprawkę na jej zmienione obciążenie wstępne i następcze.

(Publikacje te powstały pod moją opieką jako wiodącego Opiekuna Studenckiego Koła Naukowego przy II Klinice Kardiologii UJ CM, na podstawie retrospektywnych analiz dokumentacji medycznej chorych uprzednio hospitalizowanych) (zgoda Komisji Bioetycznej UJ Nr 122.6120.228.2016 z dnia 27.06.2016, wznowiona w dniu 31.01.2019). Mój udział w powstaniu prac obejmował koncepcję poszczególnych analiz i ich zaplanowanie, udział w opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, oraz w przygotowaniu manuskryptów.)

– **Chyrchel B**, Długosz D, Bolt K, Kruszelnicka O, Dziewierz A, Świerszcz J, Wieczorek-Surdacka E, Hryniewiecki T, Surdacki A. Association of Inadequately Low Left Ventricular Mass with Enhanced Myocardial Contractility in Severe Degenerative Aortic Stenosis. **J Clin Med.** **2018**; 7: 464.

IF: 5,688

– **Chyrchel B**, Bolt K, Długosz D, Urbańska A, Nowak-Kępczyk M, Bałata J, Rożanowska A, Czestkowska E, Kruszelnicka O, Surdacki A. Better Myocardial Function in Aortic Stenosis with Low Left Ventricular Mass: A Mechanism of Protection against Heart Failure Regardless of Stenosis Severity? **J Clin Med.** **2019**; 8: 1836.

IF: 3,303

– Długosz D, Bolt K, Sam W.S, Nawara T, Kruszelnicka O, **Chyrchel B**, Surdacki A. Excessive left ventricular hypertrophy in moderate degenerative aortic stenosis: an ineffective compensatory mechanism triggered by primary myocardial dysfunction and enhanced by concomitant mild renal impairment? **Kardiologia Pol.** **2018**; 76: 1486-1488.

IF: 1,674

– Czestkowska E, Rożanowska A, Długosz D, Bolt K, Świerszcz J, Kruszelnicka O, **Chyrchel B**, Surdacki A. Depressed systemic arterial compliance and impaired left ventricular midwall

performance in aortic stenosis with concomitant type 2 diabetes: a retrospective cross-sectional study. **Cardiovasc Diabetol.** 2019; 18: 92.

IF: 7,332

– Długosz D, Surdacki A, Zawiślak B, Bartuś S, **Chyrchel B.** Impaired Left Ventricular Circumferential Midwall Systolic Performance Appears Linked to Depressed Preload, but Not Intrinsic Contractile Dysfunction or Excessive Afterload, in Paradoxical Low-Flow/Low-Gradient Severe Aortic Stenosis. **J Clin Med.** 2022; 11: 2873.

IF: 3,9

W pierwszej z prac z powyższego Obszaru tematycznego (*Chyrchel i wsp., J Clin Med.* 2018;7:464) wykazano, że brak przerostu lewej komory pomimo ciężkiej stenozy aortalnej idzie w parze z podwyższeniem kurczliwości lewej komory ocenianej nie tylko poprzez pomiar frakcji wyrzutowej (EF, *ejection fraction*) ale także za pomocą oceny frakcji skracania na poziomie śródściennym (mwFS, *midwall fractional shortening*). Stwierdzono bowiem wyższe wartości mwFS i EF u 23 chorych z ciężką stenozą aortalną i nieadekwatną odpowiedzią przerostową lewej komory (tzw. *i-lowLVM, inadequately low left ventricular mass*) w porównaniu do 77 pozostałych pacjentów bez *i-lowLVM* pomimo podobnych wartości parametrów obciążenia następczego lewej komory.

Wyniki drugiej publikacji dotyczącej tej tematyki (*Chyrchel i wsp. J Clin Med.* 2019;8:1836) wskazują, że zaproponowany mechanizm ujawnia się już we wcześniejszej fazie rozwoju wady aortalnej. Zaobserwowano bowiem analogiczny charakter powyższych zależności u 115 chorych z umiarkowaną stenozą aortalną i 110 pacjentów z ciężką stenozą aortalną.

W trzeciej publikacji (*Długosz i wsp. Kardiologia Pol.* 2018;76:1486) stwierdzono związek między stopniem dysfunkcji nerek a nadmierną odpowiedzią przerostową lewej komory na obciążenie i dyskretnym upośledzeniem jej kurczliwości w umiarkowanej stenozie aortalnej. Zaobserwowano bowiem, że u 52 chorych z umiarkowaną stenozą aortalną stopniowe narastanie dysfunkcji nerek (w przedziale wartości szacowanego wskaźnika filtracji kłębuszkowej 15–85 ml/min.) szło w parze z równoległym nasileniem nadmiernego przerostu lewej komory (tzw. *excess of LV mass*) oraz postępującym spadkiem mwFS pomimo braku istotnych różnic w zakresie EF oraz parametrów obciążenia następczego i wstępnego.

U czwartej publikacji (*Czestkowska i wsp. Cardiovasc Diabetol.* 2019;18:92) wykazano, że towarzysząca stenozie aortalnej cukrzyca typu 2 może predysponować do dysfunkcji lewej komory zarówno poprzez wzrost sztywności tętnic, jak i bezpośredni wpływ na serce.. U 50 chorych z ciężką lub umiarkowaną stenożą współistniejącą z cukrzycą typu 2 stwierdzono bowiem mniejszą podatność tętnic i dyskretnie upośledzenie kurczliwości lewej komory (niższa wartość mwFS powiązana w sposób niezależny zarówno z wyższym obciążeniem następczym jak i obecnością cukrzycy) w porównaniu do 80 pacjentów z wadą aortalną bez towarzyszącej cukrzycy. Sformułowano wniosek, że optymalne wyrównanie cukrzycy i poprawa elastyczności tętnic mogą opóźnić wystąpienie niewydolności serca w stenozie aortalnej. Pomimo relatywnie prostej metodyki (analizowano parametry hemodynamiczne obliczone w oparciu o standardowe badania echokardiograficzne), wnioski mogą mieć implikacje kliniczne, a nowatorski charakter pracy przyniósł publikację w czasopiśmie z IF 7,332.

Wyniki piątej publikacji dotyczącej powyższej tematyki (*Długosz i wsp. J Clin Med. 2022;11:2873*) wskazują, że dyskretne upośledzenie kurczliwości lewej komory w nisko-przepływowej nisko-gradientowej ciężkiej stenozie aortalnej pomimo zachowanej EF (P-LFLG-AS, *paradoxical low-flow/low-gradient aortic stenosis*) wynika przede wszystkim z mniejszego wymiaru rozkurczowego lewej komory na zasadzie mechanizmu Franka-Starlinga. Porównując bowiem 30 chorych z P-LFLG-AS z 30 pacjentami z klasyczną wysokogradientową ciężką stenozą aortalną zaobserwowano, że różnica w zakresie mwFS między powyższymi grupami utraciła znamienność statystyczną nie po dokonaniu poprawki na obciążenie następcze metodą wielorakiej regresji liniowej, ale dopiero po uwzględnieniu korekty na niższy wymiar rozkurczowy lewej komory u chorych z P-LFLG-AS.

Wyniki uzyskane w powyższych publikacjach mogą mieć potencjalne implikacje kliniczne, gdyż inwazyjne leczenie wady aortalnej pozwala jedynie skorygować nadmierne obciążenie następcze, podczas gdy niezależne od obciążenia zaburzenia struktury i funkcji komory wpływają na wybór optymalnego czasu zabiegu oraz rokowanie w okresie pooperacyjnym.

7. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.

7.1. Opieka nad Studenckim Kołem Naukowym (SKN) przy II Klinice Kardiologii UJ CM (jako wiodący opiekun SKN).

7.1.1. W roku 2021 zostałam uhonorowana Medalem Komisji Edukacji Narodowej za osiągnięcia w pracy dydaktycznej jako wiodący Opiekun Studenckiego Koła Naukowego (SKN) przy II Klinice Kardiologii UJ CM.

7.1.2. SKN przy II Klinice Kardiologii 3-krotnie zajęło I miejsce w Konkursie na Najlepsze SKN na Wydziale Lekarskim UJ CM w kategorii nauki kliniczne niezabiegowe, organizowanym przez Studenckie Towarzystwo Naukowe UJ CM – za rok akademicki 2018/2019, 2020/2021 i 2021/2022

7.1.3. Osiągnięcia Studentów-Członków SKN uzyskane pod moją opieką obejmują:

– *Laur Medyczny im. Doktora Wacława Mayzla* przyznany przez Wydział V Nauk Medycznych PAN w dniu 5.11.2020 Studentkom V roku WL za pracę oryginalną opublikowaną w czasopiśmie *Cardiovascular Diabetology* (IF: 7,332) w ramach prac SKN przy II Klinice Kardiologii.

W związku z powyższą pracą Studentki zostały ponadto laureatkami *Nagrody dla młodego naukowca za najlepszą publikację oryginalną poświęconą echokardiografii* za rok 2019 przyznanej przez Zarząd Sekcji Echokardiografii PTK.

– *9 Stypendiów Ministra Nauki i Edukacji* (poprzednio *Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego*) za wybitne osiągnięcia dla Studentów-Członków SKN przy II Klinice Kardiologii uzyskane pod moją opieką naukową (2019–2022)

- 14 wspólnych publikacji ze Studentami-Członkami SKN przy II Klinice Kardiologii pod moją opieką naukową w latach 2018–2021 – łączny IF tych prac wynosi ok. 50.
 - 8 prac oryginalnych,
 - 5 prac poglądowych oraz 1 przegląd systematyczny
 (w tym 11-krotnie Student-Członek SKN występował jako pierwszy Autor, a 2-krotnie jako drugi Autor).

- 2 prezentacje plakatowe przedstawione przez Studentkę-Członkinię SKN podczas 22-jej i 23-jej dorocznej Konferencji *Heart Failure Society of America* (2018 – Nashville; 2019 – Philadelphia)

- nominację oryginalnej pracy studenckiej SKN przy II Klinice Kardiologii do Nagrody Komitetu Naukowego Kongresów PTK jako jednej z 5 prac studenckich (2018 – Kraków)

- Nagrodę Dziekana WL UJ CM dla Studentów VI roku WL za najlepsze publikacje przygotowane pod moją opieką naukową dla 2 Studentek-Członkiń SKN przy II Klinice Kardiologii (18.07.2022)

7.2. Współautorstwo rozdziałów w podręcznikach:

7.2.1. Jako pierwszy Autor:

- **Chyrchel B**, Surdacki A. **Diagnostyka niewydolności serca. W: Niewydolność serca**, pod red. J.S. Dubiela, J. Korewickiego, T. Grodzickiego. Via Medica, Gdańsk, **2022**: 61-82 (wyd. 3 poprawione i uzupełnione).
- **Chyrchel B**, Surdacki A. **Leki hamujące układ renina-angiotensyna-aldosteron, diuretyki, naporstnica. W: Niewydolność serca**, pod red. J.S. Dubiela, J. Korewickiego, T. Grodzickiego. Via Medica, Gdańsk, **2022**: 97-128 (wyd. 3 poprawione i uzupełnione).
- **Chyrchel B**, Surdacki A. **Patofizjologia. W: Przewlekła niewydolność serca – kompendium 2022, według aktualnych wytycznych ESC**, pod red. J. Nessler, A. Gackowskiego. Via Medica, Gdańsk, **2022**: 14-29 (wyd. 3 zmienione i rozszerzone).

7.2.2. Jako współautor:

- Surdacki A, Kruszelnicka O, **Chyrchel B**, Bednarek J, Dubiel J. **Przewlekła niewydolność serca. W: Interna Szczeklika 2022**, pod red. P. Gajewskiego i wsp. Medycyna Praktyczna, Kraków, **2022**: 422-445.
- Kruszelnicka O, **Chyrchel B**, Wieczorek-Surdacka E, Surdacki A. **Patofizjologia powikłań sercowo-naczyniowych po chemioterapii. W: Kardioonkologia**, pod red. M. Olszowskiej. i-medica, Warszawa, **2021**: 21-35 (wyd. II zaktualizowane).

– Sorysz D, Dubiel J.S, Larysz B, Kurowski M, *Witanek B*, Gackowski A. **Lewostronne serce trójprzedsionkowe typu A1. W: Echokardiografia praktyczna Tom IV**, pod red. W. Tracz, P. Podolca, P. Hoffmana, A. Gackowskiego. Medycyna Praktyczna, Kraków, **2006**: 107-111.

7.3. Funkcja kierownika naukowego kursów do specjalizacji z kardiologii prowadzonych przez MCKP UJ:

- *Patofizjologia chorób sercowo-naczyniowych* (2 edycje / rok) (2017–2022)
- *Farmakoterapia chorób sercowo-naczyniowych* (2 edycje / rok) (2017–2022)

7.4. Wykłady na zaproszenie Organizatorów Konferencji:

– *Czy warto oceniać żywotność i niedokrwienie serca przed rewaskularyzacją w HFrEF ?*
IV Wiosenna Akademii Kardiologii Interwencyjnej i Kardiochirurgii (WAKiK'2023), Kraków / Grodków, 11–13.05.2023.

– „*Rezonans magnetyczny w diagnostyce kardiologicznej – kiedy niezbędny i konieczny ?*”
III Wiosenna Akademii Kardiologii Interwencyjnej i Kardiochirurgii (WAKiK'2022), Kraków / Grodków, 12–14.05.2022.

– „*Kwalifikacja chorych z obniżoną frakcją wyrzutową do zabiegów rewaskularyzacji – nieinwazyjne techniki obrazowania*”
Zebranie Naukowe Oddziału Krakowskiego Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, Kraków, 25.10.2021.

– „*Leczenie przeciwplatekcyjne i przeciwkrzepliwie*”
XVII Kongres Medycyny Rodzinnej „Hejnał na 25-lecie”, Kraków, 25–28.05.2017.

7.5. Udział w przygotowaniu i aktualizacja materiałów do następujących nowych elementów wprowadzonych do Programu studiów na WL UJ CM:

– *kursu EKG* w formie seminariów e-learningowych dla Studentów IV roku WL (przedmiot obowiązkowy od roku akademickiego 2018/2019)

– *seminariów z Patofizjologii arytmii* w ramach kursu patofizjologii dla Studentów II roku WL (od roku akademickiego 2016/2017)

– *fakultetu dla Studentów WL Biomarkery w chorobach układu krążenia* (od roku akademickiego 2017/2018)

7.6. Praca organizacyjna:

- członkostwo Zarządu Oddziału Krakowskiego Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego (PTK) (2017–2021)
- delegatka Oddziału Krakowskiego PTK na Walne Zebranie Członków PTK (2019–2021)
- przedstawicielka II Kliniki Kardiologii w Komisji ds. Edukacji Studentów i Kształcenia Podyplomowego Rady Instytutu Kardiologii WL UJ CM (w kadencji 2020–2024)
- członkostwo Komitetu Organizacyjnego Warsztatów Kardiologii Inwazyjnej *New Frontiers in Interventional Cardiology* (NFIC) organizowanych corocznie w grudniu w Krakowie (2007–2019)
- członkostwo Komitetu Organizacyjnego Warsztatów Tętnic Obwodowych *Peripheral Interventions in Cracow* (PINC) organizowanych corocznie w czerwcu w Krakowie (2013–2022)

8. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-7, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

- **Nagroda** w Drugiej Edycji Konkursu Dziekana WL UJ CM na Najlepszą Oryginalną Pracę Naukową z zakresu nauk przedklinicznych i klinicznych, opublikowaną przez Pracowników Wydziału w roku 2015 (*Chyrchel B i wsp. Platelets 2015;26:593-597*)
- rola **Opiekuna Naukowego** we wniosku złożonym w konkursie **NCN PRELUDIUM 22 (15.06.2023)** pt. „*Dysfunkcja śródbłonna a proces zapalny w ścianie tętnic wieńcowych - obrazowanie wczesnych zmian miażdżycowych metodą tomografii komputerowej u chorych z czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego*” (**wniosek aktualnie w trakcie oceny**)

.....
(podpis wnioskodawcy)