

## Autoreferat

### 1. Imię i Nazwisko

**Izabela Tuleta**

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

- 2004** Dyplom ukończenia studiów medycznych na Wydziale Lekarskim Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (ocena: bardzo dobra)
- 2005** Dyplom ukończenia studiów medycznych na Wydziale Lekarskim Reńskiego Uniwersytetu im. Friedricha Wilhelma w Bonn w Niemczech (ocena: bardzo dobra)
- 2009** Dyplom doktora nauk medycznych uzyskany na Reńskim Uniwersytecie im. Friedricha Wilhelma w Bonn (ocena: bardzo dobra)  
Tytuł rozprawy doktorskiej: *Pathomechanismen der In-Stent Restenose*  
Promotor: Prof. Dr. med. Gerhard Bauriedel
- 2015** Dyplom *Privatdozentin* uzyskany na Reńskim Uniwersytecie im. Friedricha Wilhelma w Bonn  
Tytuł rozprawy habilitacyjnej: *Mechanismen der vaskulären und valvulären Krankheitsprogression: therapeutische Implikationen*
- 2012** Dyplom specjalisty chorób wewnętrznych, Ärztekammer Nordrhein, Düsseldorf, Niemcy
- 2015** Dyplom specjalisty chorób płuc, Ärztekammer Nordrhein, Düsseldorf, Niemcy
- 2015** Rozpoczęcie specjalizacji z kardiologii na Reńskim Uniwersytecie w Bonn

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

- 2006-2007** Kontynuacja prac badawczych w molekularno-biologicznym laboratorium Reńskiego Uniwersytetu w Bonn pod kierunkiem Prof. Dr. med. G. Bauriedela w celu uzyskania stopnia doktora nauk medycznych
- od 2007** Lekarz - asystent, Medizinische Klinik und Poliklinik II, Reński Uniwersytet w Bonn, Dyrektor Kliniki - Prof. Dr. med. Georg Nickenig
- 2011-2012** Stypendium naukowe Reńskiego Uniwersytetu w Bonn (BONFOR-Stipendium)

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

**Mechanizmy rozwoju chorób naczyniowych i zastawkowych serca: implikacje terapeutyczne**

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

Prezentowane osiągnięcie naukowe opiera się na cyklu 6 publikacji naukowych o łącznym Impact Factor 12,015:

**I. Tuleta I**, França CN, Wenzel D, Fleischmann B, Nickenig G, Werner N, Skowasch D. Hypoxia-induced endothelial dysfunction in apolipoprotein E-deficient mice; effects of infliximab and L-glutathione. *Atherosclerosis*. 2014;236:400-410. (IF: 3,994)

**II. Tuleta I**, França CN, Wenzel D, Fleischmann B, Nickenig G, Werner N, Skowasch D. Intermittent hypoxia impairs endothelial function in early preatherosclerosis. *Adv Exp Med Biol*. 2015;858:1-7. (IF: 1,953)

**III. Tuleta I**, Reek D, Braun P, Bauriedel G, Nickenig G, Skowasch D, Andrié R. Influence of intimal *Chlamydomphila pneumoniae* persistence on cardiovascular complications after coronary intervention. *Infection*. 2015;43:51-57. (IF: 2,294)

**IV. Tuleta I**, Al Ghaddioui AK, Bauriedel G, Wernert N, Preusse CJ, Welz A, Nickenig G, Skowasch D. The imbalance between proliferation and apoptosis contributes to degeneration of aortic valves and bioprostheses. *Cardiol J*. 2013;20:268-276. (IF: 1,215)

**V. Tuleta I**, Bauriedel G, Hasenbank I, Andrié R, Pabst S, Nickenig G, Skowasch D. Antiplatelet effects of n-3 polyunsaturated fatty acids compared with aspirin: a pilot study with whole-blood aggregometry. *Thromb Res*. 2009;124:724-726. (IF: 2,406)

**VI. Tuleta I**, Bauriedel G, Krämer S, Nickenig G, Skowasch D. Long-term effects of ACE inhibitor on vascular remodelling. *Cent Eur J Med*. 2014;9:741-747. (IF: 0,153)

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

## Wstęp

Miażdżycza tętnic jest przewlekłą chorobą zapalną, która może prowadzić do komplikacji sercowo-naczyniowych, takich jak: choroba niedokrwienna serca, zawał mięśnia sercowego, arytmia serca, udar mózgu, choroby tętnic obwodowych i stenoza zastawki aortalnej [1,2]. Pomimo intensywnych badań, czynniki wpływające na rozwój i progresję miażdżycy nie są

dostatecznie poznane. Proces miażdżycy może być znacząco przyspieszony w obecności tak zwanych klasycznych czynników ryzyka chorób układu krążenia, takich jak: nadciśnienie tętnicze, hipercholesterolemia, cukrzyca, otyłość i palenie tytoniu. Jednakże, w wielu przypadkach dochodzi do rozwoju miażdżycy i jej powikłań pomimo braku wyżej wymienionych czynników ryzyka [3]. Dlatego w wielu pracach laboratoryjnych i klinicznych były badane inne procesy, które mogą przyczyniać się do powstania miażdżycy.

W ostatnich latach potencjalny wpływ obturacyjnego bezdechu sennego na układ sercowo-naczyniowy był intensywnie badany. Obturacyjny bezdech senny (obstructive sleep apnea = OSA) jest częstym zaburzeniem, które dotyka około 1-5% mężczyzn i 1-2% kobiet [4]. Przyczyną choroby jest powtarzające się zamykanie światła górnych dróg oddechowych w czasie snu powodujące przejściowe niedotlenienie, co prowadzi do przebudzeń, przywrócenia przepływu powietrza przez drogi oddechowe i w konsekwencji reoaktywacji. Hipoksja przerywana (intermittent hypoxia = IH) wydaje się być głównym składnikiem OSA wywołującym patologię naczyniową [5]. Wykazano, że hipoksja przerywana może zainicjować złożone procesy, takie jak: dysfunkcja śródbłonna naczyń, stres oksydacyjny, reakcja zapalna, nadkrzepliwość, aktywacja współczulnego układu nerwowego i zaburzenia metaboliczne [6]. Dysfunkcja śródbłonna jest centralnym zjawiskiem w procesie powstawania patologicznych zmian naczyniowych w OSA [7]. Dotychczasowe wyniki badań wykazały niezmienną lub podwyższoną zawartość mikrocząstek śródbłonna we krwi pacjentów z OSA w stosunku do grupy kontrolnej [8,9], co odzwierciedla stopień zniszczenia śródbłonna [10].

Uszkodzenie śródbłonna naczyń uruchamia mechanizmy naprawcze polegające na aktywacji komórek progenitorowych śródbłonna, które mogą przeciwdziałać urazowi naczyń krwionośnych. Komórki progenitorowe śródbłonna mogą przyczynić się poprzez neoangiogenezę i reendotelizację do zmniejszenia się obszaru zawału mięśnia serca, redukcji miażdżycy i restenozy [11,12]. Uwalnianie tych komórek ze szpiku kostnego do krwi obwodowej zależy od wzajemnego oddziaływania oksydazy 2 fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-2 = NOX-2), czynników 1 i 2 indukowanych hipoksją (hypoxia-inducible factors -1 and -2 = HIF-1, -2), czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (vascular endothelial growth factor = VEGF), zrębowego czynnika wzrostu 1 $\alpha$  (stromal cell-derived factor-1 $\alpha$  = SDF-1 $\alpha$ ) i metaloproteazy-9 (matrix metalloproteinase-9 = MMP-9) [13,14,15]. Badania dotyczące komórek progenitorowych śródbłonna u pacjentów z OSA pokazują zmniejszone, niezmienną lub podwyższoną zawartość tych komórek we krwi obwodowej w stosunku do grupy kontrolnej [16,17,18,19].

Ponieważ dysfunkcja śródbłonna naczyń krwionośnych reprezentuje przedkliniczne stadium miażdżycy, badano również wpływ OSA na progresję blaszek miażdżycowych. Badania eksperymentalne pokazały, podobnie jak dla poziomów komórek progenitorowych śródbłonna, różne wyniki w zależności od lokalizacji badanych naczyń, wieku zwierząt lub czasu trwania i intensywności hipoksji przerywanej [18,20].

Innym czynnikiem ryzyka dla rozwoju miażdżycy tętnic/restenozy może być infekcja [3,21,22]. Liczne badania wskazują, że zakażenie wirusem cytomegalii, wirusem opryszczki pospolitej, wirusem zapalenia wątroby typu A, *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma pneumoniae* i *Chlamydomphila pneumoniae* może mieć działanie sprzyjające progresji miażdżycy/restenozy [21]. Zakażenie *Chlamydomphila pneumoniae* wydaje się mieć największe znaczenie w tych procesach. *Chlamydomphila pneumoniae* może przyczyniać się do powstawania komplikacji naczyniowych poprzez aktywację zapalenia, proliferację mięśni gładkich, zaburzenie homeostazy lipidów [23,24] oraz wywoływanie reakcji immunologicznej opartej o zjawisko tzw. mimiki molekularnej [25,26].

Procesy miażdżycy i restenozy wykazują wiele podobieństw z procesem degeneracji zastawek serca. Ten ostatni rozpoczyna się ogniskowym uszkodzeniem śródbłonna w warstwie skierowanej ku aorcie (lamina fibrosa) oraz następującymi po sobie transformacją rezydualnych fibroblastów w miofibroblasty i akumulacją kolagenu w zastawce [27,28]. Dodatkowo, zwiększona proliferacja i apoptoza komórkowa odgrywają w zjawisku degeneracji zastawek istotną rolę [29]. Jednakże, natężenie i zależność przestrzenno-czasowa obu procesów nie zostały jak dotąd w pełni zbadane. Procesom zwyrodnieniowym podlegają nie tylko natywne zastawki serca, ale także ich bioprotezy. Pomimo, że procesy prowadzące do degeneracji bioprotez zastawek wydają się być podobne do tych w zastawkach natiwnych serca [30], to jednak nie są one dobrze poznane.

Podstawowymi grupami leków w leczeniu miażdżycy są: beta-blokery, inhibitory konwertazy angiotensyny (angiotensin converting enzyme = ACE)/antagoniści receptora angiotensyny II typu 1 (angiotensin II type 1 = AT1), antagoniści kanałów wapniowych, inhibitory reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A = HMG-CoA) (tzw. statyny), leki przeciwzakrzepowe oraz blokery receptorów mineralokortykoidowych [31]. Pomimo zoptymalizowanej terapii, miażdżycy z jej powikłaniami stanowi nadal jedną z najczęstszych przyczyn śmierci [32]. W związku z tym poszukuje się nowych leków o działaniu przyczynowym, charakteryzujących się małą ilością efektów ubocznych. Z drugiej strony, podejmowane są badania w celu polepszenia efektów

przeciwmiażdżycowych/antyrestenotycznych lub wykorzystania wcześniej nieznanymi korzystnymi właściwościami istniejących już leków na układ sercowo-naczyniowy.

Złotym standardem w leczeniu obturacyjnego bezdechu sennego, który jest jednym z czynników ryzyka chorób układu krążenia jest terapia aparatem wytwarzającym stałe dodatnie ciśnienie w drogach oddechowych (Continuous Positive Airway Pressure = CPAP). Wadami tej terapii są: leczenie nieprzyczynowe, którego pozytywny wpływ znika bezpośrednio po przerwaniu terapii i niska akceptacja wśród pacjentów [33,34]. Dlatego wiele badań jest skoncentrowanych na rozwoju alternatywnych metod farmakologicznego leczenia tej choroby, na przykład dożylna terapia witaminą C lub blokada receptora endoteliny bosentanem [35,36]. Ponieważ stres oksydacyjny i stan zapalny są głównymi czynnikami prowadzącymi do powstania miażdżycy naczyń w hipoksji przerywanej [37], leki o właściwościach przeciwzapalnych i przeciwutleniających mogłyby wykazać działanie przeciwmiażdżycowe u pacjentów z OSA. Czynnikiem martwicy nowotworu  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$  = TNF- $\alpha$ ) jest jednym z ważniejszych markerów stanu zapalnego, którego stężenie we krwi u pacjentów z OSA jest znacznie podwyższone [38]. Hamowanie działania TNF- $\alpha$  infliksymabem - przeciwciałem monoklonalnym anti-TNF- $\alpha$  - stanowi skuteczną terapię wielu chorób reumatycznych. Ostatnie badania wykazały, że infliksymab może obniżać poziom lipidów oraz poprawiać czynność śródbłonna i sztywność naczyń krwionośnych, jednakże dane dotyczące tych zagadnień opublikowane w dostępnej literaturze nie są jednoznaczne [39]. L-glutation jest silnym lekiem antyoksydacyjnym, który znalazł zastosowanie w leczeniu wielu schorzeń z następujących dziedzin: onkologii, toksykologii, immunologii, pulmonologii i gastroenterologii [40]. Jednak jego potencjalne właściwości kardioprotekcyjne w leczeniu powikłań sercowo-naczyniowych u pacjentów z OSA nie zostały dotychczas zbadane.

Ponieważ miażdżycę jest chorobą wieloczynnikową, w której patogenezie odgrywa wiodącą rolę wiele różnych procesów obejmujących zapalenie, stres oksydacyjny, dyslipidemię i nadkrzepliwość, lek, który miałby korzystny wpływ na te procesy stanowiłby optymalną terapię antymiażdżycową. Kwasy tłuszczowe omega-3 (polyunsaturated fatty acids = PUFAs) składające się z kwasu eikozapentaenowego (eicosapentaenoic acid = EPA) i kwasu dokozaheksaenowego (docosahexaenoic acid = DHA) wykazują poprzez ich pleiotropowe właściwości pozytywne efekty w leczeniu wielu schorzeń [41], do których można zaliczyć zmniejszenie częstotliwości występowania incydentów sercowo-naczyniowych [42]. Protektywny wpływ kwasów tłuszczowych omega-3 na układ krążenia jest przypisywany regulacji różnych procesów: metabolizmu lipidów i insuliny, zmniejszeniu nadciśnienia

tętniczego, poprawy funkcji śródbłonna, stabilizacji blaszki miażdżycowej oraz efektem antyarytmicznym, przeciwzapalnym, przeciwutleniającym i przeciwzkrzepowym [43,44,45,46,47]. Zdolności przeciwzkrzepowe kwasów tłuszczowych omega-3 związane są ze zmniejszeniem generacji trombiny [48], agregacji płytek krwi i monocytów [49], adhezji płytek krwi [50], liczby płytek krwi [51], lepkości krwi, hematokrytu i poziomów fibrynogenu [52]. Jednak działania antykoagulacyjnego kwasów tłuszczowych omega-3 nie potwierdzono we wszystkich badaniach [53]. Może to wynikać z odmiennych dawek dziennych [53], procentowego udziału różnych kwasów tłuszczowych omega-3 [54] oraz ich różnej czystości [55].

Równoległe do poszukiwań nowych przeciwmiażdżycowych opcji terapeutycznych, leczenie zdegenerowanych zastawek serca stanowi kolejne wyzwanie. Tutaj leczeniem z wyboru jest interwencyjna lub chirurgiczna wymiana zastawki serca [56]. Niestety bioprotezy zastawek serca, pomimo ciągłej optymalizacji ich właściwości biomechanicznych, charakteryzują się stosunkowo szybko przebiegającym procesem degeneracji [57]. Z tego względu prowadzone są badania nad farmakologicznym leczeniem (np. za pomocą statyn [58]), które mogłyby w przyszłości stanowić alternatywę dla wymiany zastawek serca. Biorąc pod uwagę podobieństwa procesów miażdżycy/restenozy i zwyrodnienia zastawek serca, terapia rapamycyną, który to lek jest skutecznym lekiem przeciw restenozie poprzez redukcję proliferacji mięśni gładkich, zapalenia i akumulacji kolagenu [59,60,61], mogłaby również zostać wypróbowana w leczeniu patologii zastawek serca.

Powyższe wprowadzenie pokazuje złożoność i brak pełnego wyjaśnienia opisywanych zagadnień. Dlatego wydaje się zasadnym i interesującym podjęcie badań związanych z tą problematyką. Takie badania będące osiągnięciem naukowym autora zostały przeprowadzone nad: 1) wpływem hipoksji przerywanej na strukturę i funkcję śródbłonna naczyń oraz aktywację mechanizmów naprawczych; 2) skutkami przewlekłej infekcji *Chlamydomphila pneumoniae* na układ naczyniowy; 3) określeniem czasowo-przestrzennych interakcji między procesami proliferacji i apoptozy w degeneracji natywnej zastawki aortalnej i jej bioprotezy; 4) zastosowaniem leków o działaniu przeciwzapalnym, przeciwutleniającym, przeciwzkrzepowym i antyproliferacyjnym w leczeniu miażdżycy, restenozy i zwyrodnieniowego zwężenia natywnej i bioprotetycznej zastawki aortalnej. Otrzymane wyniki zostały zaprezentowane w poniższych rozdziałach.

## **1. Pogorszenie funkcji śródbłonka naczyniowego pod wpływem hipoksji przerywanej poprzez podwyższenie poziomu wolnych rodników tlenowych w ścianie aorty oraz redukcję obwodowej zdolności regeneracyjnej**

W pracy [I] badano wpływ hipoksji przerywanej w ramach obturacyjnego bezdechu sennego na procesy naczyniowe i pozanaczyniowe w modelu zwierzęcym. W tym celu myszy apoE-knockout zostały umieszczone w komorze hipoksyjnej. Po 6 tygodniach zwierzęta uśmiercono i usunięte tkanki składające się z naczyń krwionośnych, krwi, szpiku kostnego i śledziony poddano dalszym badaniom. Głównym wynikiem eksperymentu było stwierdzenie, że funkcja śródbłonka, wyrażona jako procent maksymalnego skurczu naczyń pod wpływem fenylefryny, była bardziej upośledzona w grupie zwierząt przebywających w komorze hipoksyjnej w porównaniu z grupą kontrolną pozostającą w warunkach normoksji ( $60,5 \pm 5,3\%$  versus  $32,7 \pm 4,0\%$ ). Dysfunkcji śródbłonka w hipoksji przerywanej towarzyszyło zwiększenie stężenia mikrocząstek śródbłonka we krwi ( $0,28 \pm 0,04\%$  w porównaniu do kontroli:  $0,16 \pm 0,02\%$ ), co wskazuje na niszczenie warstwy śródbłonka naczyń [10]. Podobne wyniki uzyskano w innych badaniach [8,62]. Jednakże, są również prace, w których nie wykazano żadnych znaczących różnic w poziomach mikrocząstek śródbłonka u chorych na obstrukcyjny bezdech senny i w grupie kontrolnej [9]. Może to być tłumaczone różnicami pomiędzy badanymi grupami pacjentów [9]. Jedną z przyczyn stwierdzonej w pracy [I] dysfunkcji śródbłonka mógł być pokazany w tym samym eksperymencie wzrost aktywności enzymu NOX-2, a co za tym idzie podwyższenie stężenia wolnych rodników tlenowych w ścianie aorty piersiowej. Odkrycie to jest zgodne z wynikami opublikowanymi w innych artykułach naukowych, które podkreślają rolę stresu oksydacyjnego jako głównego czynnika prowadzącego do dysfunkcji śródbłonka naczyń w hipoksji przerywanej [17,63]. Fakt, że funkcja śródbłonka była zaburzona sugerował, że mechanizmy kompensujące nie zostały aktywowane lub nie były wystarczająco skuteczne, aby zapobiec uszkodzeniu śródbłonka w hipoksji przerywanej. Jednym z możliwych mechanizmów naprawczych mogła być aktywacja komórek progenitorowych śródbłonka, które mogą przyczyniać się do odbudowy warstwy śródbłonka [11,12]. Przeprowadzona w pracy [I] analiza komórek progenitorowych śródbłonka za pomocą cytometrii przepływowej (fluorescence-activated cell sorter = FACS) wykazała, że odsetek tych komórek w szpiku kostnym generowany hipoksją przerywaną był znacznie wyższy w porównaniu z normoksją ( $2,2 \pm 0,4\%$  vs.  $1,3 \pm 0,2\%$ ). W przeciwieństwie do tego wyniku, ilość komórek progenitorowych śródbłonka we krwi była mniejsza w warunkach hipoksji przerywanej w porównaniu z kontrolą ( $2,3 \pm 0,5\%$  vs.  $5,5 \pm 1,5\%$ ).

Powyższy rezultat wskazuje na uaktywnienie centralnych procesów naprawczych w szpiku kostnym i jednocześnie zmniejszenie obwodowej zdolności reparacyjnej organizmu w odpowiedzi na bodziec hipoksji przerywanej. Przyczynami powodującymi różnice między poziomami komórek progenitorowych śródbłonka w szpiku kostnym i krwi mogło być zmniejszone uwalnianie komórek progenitorowych śródbłonka ze szpiku kostnego do krwi obwodowej, zwiększona apoptoza tych komórek we krwi i/lub zwiększony ich odpływ z krwi do tkanki docelowej. W pracy [I] wykazano, że stężenie czynników wpływających na uwalnianie komórek progenitorowych ze szpiku kostnego mierzone testem immunoenzymatycznym (enzyme-linked immunosorbent assay = ELISA) było inne w warunkach hipoksji przerywanej w odniesieniu do normoksji. Poziom SDF-1 $\alpha$ , który jest czynnikiem chemotaktycznym współodpowiedzialnym za zakotwiczenie komórek macierzystych w szpiku kostnym [64], był podniesiony w hipoksji przerywanej ( $142,2 \pm 18,5\%$  stężenia w grupie kontrolnej). Z drugiej strony, stężenie SDF-1 $\alpha$  we krwi obwodowej, które wpływa na migrację komórek progenitorowych w kierunku chorobowo zmienionych naczyń krwionośnych [65], było zredukowane ( $73,1 \pm 15,4\%$  stężenia w grupie kontrolnej). Ponadto ilość MMP-9 w szpiku kostnym, która wspomaga uwalnianie komórek macierzystych ze szpiku kostnego do krwi obwodowej poprzez degradację połączeń pomiędzy komórkami progenitorowymi i zrębem szpiku kostnego [15], była obniżona ( $89,8 \pm 3,5\%$  stężenia w grupie kontrolnej). Pomimo zwiększonych poziomów czynników we krwi wpływających pozytywnie na rekrutację komórek macierzystych do ścian naczyń krwionośnych, takich jak: MMP-9 [66] ( $121,4 \pm 10,0\%$  stężenia w grupie kontrolnej) oraz VEGF [67] ( $153,1 \pm 25,2\%$  stężenia w grupie kontrolnej), ilość komórek macierzystych we krwi obwodowej była zmniejszona pod wpływem hipoksji przerywanej, czego konsekwencją mógł być zredukowany obwodowy proces regeneracji śródbłonka naczyniowego. W warunkach fizjologicznych wytwarzane przez NOX-2 wolne rodniki wywierają wpływ na VEGF, SDF-1 $\alpha$  i MMP-9, co prowadzi do mobilizacji komórek progenitorowych śródbłonka [14]. Natomiast w sytuacjach patologicznych (np. hipoksja przerywana), uwalnianie komórek progenitorowych śródbłonka ze szpiku kostnego może być zmniejszone [14]. Zmniejszone stężenia MMP-9 oraz zwiększone ilości SDF-1 $\alpha$  w szpiku kostnym związane ze zredukowaną mobilizacją komórek progenitorowych były obserwowane również w innych stanach patologicznych, jak: krytyczne niedokrwienie kończyn, ostry zawał mięśnia sercowego u pacjentów z cukrzycą, zespół ostrej niewydolności oddechowej i zaburzony proces gojenia rany w cukrzycy [68,69,70,71]. Podobnie jak w pracy [I], wyższe poziomy VEGF i MMP-9 we krwi obwodowej zostały stwierdzone w badaniach klinicznych i eksperymentalnych

dotyczących obturacyjnego bezdechu sennego [72,73]. Ponadto w pracy [I] stwierdzono, że ilość i zdolność wyizolowanych ze śledziony komórek macierzystych (1,1'-Dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine-labeled acetylated low-density lipoprotein+/lectin+ = DilacLDL+/lectin+ early outgrowth cells) do tworzenia kolonii komórek były większe w hipoksji przerywanej niż w grupie kontrolnej ( $87,4 \pm 1,6\%$  vs  $78,2 \pm 2,6\%$ ). Wynik ten umacnia koncepcję uogólnionej centralnej reakcji organizmu na bodziec hipoksyjny. Ponieważ dysfunkcja śródbłónka naczyń jest pierwszym etapem rozwoju choroby miażdżycowej naczyń krwionośnych, w pracy [I] analizowano również rozwój blaszek miażdżycowych w aorcie wstępującej metodą barwienia czerwieńią oleistą. Co ciekawe, nie stwierdzono istotnych różnic w formowaniu się neointimy dla hipoksji przerywanej i normoksji. Wpływ na ten wynik mogły mieć następujące fakty: 1) czas trwania i intensywność hipoksji przerywanej nie były wystarczająco silne, aby przyspieszyć tworzenie blaszek miażdżycowych; 2) blaszki miażdżycowe osiągnęły już swój maksymalny rozmiar poprzez akumulację lipidów, tak że dalsze narastanie płytki miażdżycowej pod wpływem hipoksji przerywanej nie było już możliwe; 3) do badania funkcji śródbłónka i neointimy były użyte różne fragmenty naczyń krwionośnych (do analizy funkcji śródbłónka - aorta wstępująca w pobliżu zastawki aortalnej, do analizy blaszek miażdżycowych - część piersiowa aorty); 4) niedokładność metody histologicznej obrazowania blaszek miażdżycowych. W zgodzie z powyższymi rozważaniami, prace eksperymentalne innych autorów przedstawiają różne wyniki dotyczące tworzenia blaszek miażdżycowych w warunkach hipoksji przerywanej, w zależności od lokalizacji naczynia krwionośnego, wieku i diety zwierząt oraz intensywności i długości hipoksji [74,75].

Przedmiotem pracy [II] było zbadanie, czy zmiany naczyniowe i pozanaczyniowe w warunkach hipoksji przerywanej zależą od początkowego stopnia zmian miażdżycowych naczyń. W tym celu wykonano badania na myszach apoE-knockout, które podzielono na cztery grupy. Dwie grupy zostały poddane 6-tygodniowej hipoksji przerywanej: pierwsza - natychmiast (wczesna preateroskleroza), druga - po uprzednim zastosowaniu diety wysokocholesterolowej przez 5 tygodni (zaawansowana preateroskleroza). Następne dwie grupy w warunkach normoksji (jedna bez, a druga po uprzednim zastosowaniu diety wysokocholesterolowej) służyły jako odpowiednie kontrole dla grupy pierwszej i drugiej. Analiza funkcji i integralności śródbłónka naczyń wykazała, że reaktywność naczyń krwionośnych zależna od śródbłónka uległa zmniejszeniu, a poziom mikrocząstek śródbłónka we krwi został zwiększony pod wpływem hipoksji przerywanej w porównaniu z kontrolą we wczesnej preaterosklerozie ( $56,6 \pm 6,2\%$  versus  $35,2 \pm 4,1\%$ ;  $0,28 \pm 0,05\%$  versus  $0,15 \pm 0,02\%$ ,

odpowiednio). Ponadto liczba komórek progenitorowych śródbłonka w szpiku kostnym była zwiększona, a we krwi obwodowej zmniejszona w hipoksji przerywanej w porównaniu z kontrolą ( $2,0 \pm 0,4\%$  versus  $1,1 \pm 0,2\%$ ;  $2,0 \pm 0,5\%$  versus  $5,3 \pm 1,9\%$ , odpowiednio). W przeciwieństwie do przedstawionych wyników dla wczesnej preaterosklerozy, nie znaleziono statystycznie istotnych różnic w funkcji śródbłonka ( $59,6 \pm 9,7\%$  versus  $52,4 \pm 11,6\%$ ), stężeniach mikrocząstek śródbłonka ( $0,92 \pm 0,61\%$  versus  $1,03 \pm 0,33\%$ ) i komórek progenitorowych w szpiku kostnym ( $1,2 \pm 0,3\%$  versus  $0,9 \pm 0,2\%$ ) i we krwi obwodowej ( $1,6 \pm 0,3\%$  versus  $1,6 \pm 0,2\%$ ) w warunkach hipoksji przerywanej w porównaniu z kontrolą w zaawansowanej preaterosklerozie. Te wyniki tłumaczą częściowo sprzeczne (opublikowane w pracach innych autorów [9,62,10,16,17,18,19]) rezultaty dotyczące poziomów mikrocząstek śródbłonka i komórek progenitorowych we krwi uzyskane pod wpływem hipoksji przerywanej, tym że w pracach tych opisano badania populacji o różnym stopniu nasilenia choroby miażdżycowej naczyń. Równie interesującym wynikiem pracy [II] było stwierdzenie, że funkcja i struktura śródbłonka były bardziej zaburzone, a poziomy komórek progenitorowych śródbłonka w szpiku kostnym i we krwi były niższe w zaawansowanej preaterosklerozie w porównaniu z wczesną preaterosklerozą w warunkach normoksji. Niższe poziomy komórek progenitorowych śródbłonka wskazują na pogarszanie się centralnej i obwodowej zdolności naprawczej organizmu wraz z postępującym niszczeniem śródbłonka. Podsumowując obie prace [I] i [II] należy stwierdzić, że funkcja i integralność warstwy śródbłonka naczyń oraz obwodowa zdolność naprawcza były znacząco zmniejszone, pomimo zwiększonej aktywacji centralnych mechanizmów kompensacyjnych w hipoksji przerywanej w porównaniu z normoksją. Jedną z możliwych przyczyn tych zmian był zaobserwowany wzrost wolnych rodników tlenowych w ścianie aorty. Wpływ hipoksji przerywanej na naczynia krwionośne i reakcje pozanaczyniowe był zależy od początkowego stanu naczyń.

## **2. Powikłania sercowo-naczyniowe związane z przewlekłym zakażeniem *Chlamydomphila pneumoniae*. Rola reakcji zapalnej i odpowiedzi autoimmunologicznej**

Ponieważ miażdżycy jest przewlekłą chorobą zapalną, infekcja może przyczynić się do powstania lub progresji tego procesu. Dlatego celem pracy [III] było zbadanie, czy infekcja spowodowana *Chlamydomphila pneumoniae* może sprzyjać powikłaniom sercowo-naczyniowym. Badana grupa liczyła 45 pacjentów w średnim wieku  $61,2 \pm 9,3$  lat z objawową chorobą wieńcową po kierunkowej aterektomii i implantacji stentu. Po 6 miesiącach obserwacji dokonano oceny klinicznej i angiograficznej. Pierwotny punkt

końcowy składał się z poważnych, niekorzystnych incydentów sercowo-naczyniowych (major adverse cardiac events = MACE), jak: zgon, ostry zespół wieńcowy, restenoza większa niż 50%. Pacjentów podzielono na dwie grupy: z MACE (n = 10 pacjentów) i bez MACE (n = 35 pacjentów). Nie było znaczących różnic w charakterystyce pacjentów pomiędzy tymi dwiema grupami. Głównym rezultatem było zidentyfikowanie w immunohistochemicznym badaniu sygnałów dla bakteryjnych białek szoku cieplnego pochodzących od chlamydii (chlamydial heat shock protein 60 = cHSP60) we wszystkich próbkach pobranych podczas aterektomii od pacjentów z grupy MACE. W przeciwieństwie do tego wyniku tylko w 7 z 35 preparatów otrzymanych od pacjentów z grupy bez MACE wykazano sygnały dla cHSP60. Również średnia ekspresja cHSP60 w neointymie była wyższa u pacjentów z MACE ( $1,1 \pm 0,4\%$ ) w porównaniu do pacjentów bez MACE ( $0,4 \pm 0,1\%$ ). Podobne wyniki uzyskano dla ludzkich (human = h) HSP60. Sygnały dla hHSP60 były częstsze w grupie z MACE w porównaniu z grupą bez MACE (8/10 versus 6/35 preparatów). Ponadto ko-lokalizacja sygnałów dla cHSP60 i hHSP60 występowała istotnie częściej w grupie z MACE (80,0%) w porównaniu z grupą bez MACE (11,4%). Również w pracy [76] została pokazana ko-lokalizacja sygnałów cHSP60 i hHSP60 w ludzkich preparatach ze zmienionych miażdżycowo tętnic. W pracy [III] pokazano także znacznie wyższe miana przeciwciał przeciw mykobakteryjnym (mycobacterial = m) białkom HSP65 w surowicy pacjentów z MACE (1: 500) w porównaniu z pacjentami bez MACE (1: 335). Białko mHSP65 wykazuje wysoką homologię z pochodzącymi od chlamydii i ludzkimi HSP60 [21,22]. Ponadto miana przeciwciał anti-mHSP65 korelowały z ekspresją cHSP60 i hHSP60 w blaszkach miażdżycowych ( $r = 0,54$ ;  $r = 0,46$ ; odpowiednio,  $p < 0,05$ ). Wiadomo z wcześniejszych badań, że przeciwciała anti-cHSP60 i anti-mHSP65 reagują krzyżowo z hHSP60 i poprzez to mogą przyczynić się do rozwoju miażdżycy tętnic [77,78]. Co ciekawe, w pracy [III] nie było różnic w poziomach przeciwciał IgG i IgA w surowicy przeciw *Chlamydomphila pneumoniae* pomiędzy dwoma badanymi grupami i nie stwierdzono korelacji między cHSP60, hHSP60 lub anti-HSP65 i IgG/IgA przeciw *Chlamydomphila pneumoniae*. Ten wynik potwierdzają też inne prace, w których nie stwierdzono korelacji między przeciwciałami przeciwko *Chlamydomphila pneumoniae* i obecnością bakterii w miażdżycowo zmienionych naczyniach krwionośnych [79]. W pracy [III] przeprowadzono dodatkowo analizę poziomów stanu zapalnego we krwi, która wykazała znaczący wzrost stężenia białka C-reaktywnego (C-reactive protein = CRP) we krwi u pacjentów z MACE ( $2,18 \pm 0,85$  mg/dl) w porównaniu z pacjentami bez MACE ( $0,67 \pm 0,16$  mg/dl). Podwyższone poziomy CRP we krwi są znanym predyktorem chorób układu krążenia [80]. Jednakże, rola CRP w procesie restenozy jest nadal kontrowersyjna [81].

Wyżej wymienione wyniki potwierdzają hipotezę, że przetrwałe zakażenie *Chlamydophila pneumoniae* może być czynnikiem predysponującym do wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych u pacjentów z chorobą wieńcową serca leczonych zabiegiem aterektomii kierunkowej z następczą implantacją stentu. Patomechanizmy leżące u podstaw tej patologii obejmują odpowiedź immunologiczną za pośrednictwem przeciwciał przeciwko *Chlamydophila pneumoniae* i reakcję autoimmunologiczną przeciw własnym HSP60 opartą o reakcję krzyżową w zjawisku mimikry molekularnej. Zakażeniu *Chlamydophila pneumoniae* towarzyszył ogólnoustrojowy stan zapalny, który może być traktowany jako dodatkowy niezależny czynnik ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych.

### **3. Zaburzenie równowagi pomiędzy proliferacją i apoptozą w procesie degeneracji natywnych i bioprotetycznych zastawek aortalnych**

Proliferacja i apoptoza są dwoma przeciwstawnymi procesami, które wpływają na tworzenie się neointymy [82,83]. W pracy [IV] wykazano, że proliferacja i apoptoza regulują również proces degeneracji natywnej zastawki aortalnej i jej bioprotezy. Aby to pokazać, badaniom morfometrycznym i immunohistochemicznym poddano ludzkie natywne zastawki sklerotyczne (SC) - wczesny etap wady zastawkowej i stenotyczne (ST) - zaawansowany etap wady zastawkowej oraz zdegenerowane bioprotezy zastawki aortalnej (BP). Około jedna trzecia komórek w sklerotycznej zastawce aortalnej znajdowała się w fazie proliferacji ( $30,1 \pm 2,2\%$ ). Wraz z postępowaniem procesu degeneracji w zastawkach stenotycznych, zjawisko proliferacji komórek występowało znacznie rzadziej ( $20,8 \pm 2,0\%$ ). W przeciwieństwie do tego wyniku, apoptoza komórek była częstsza w zastawkach stenotycznych ( $40,7 \pm 5,0\%$ ) niż w zastawkach sklerotycznych ( $28,0 \pm 5,1\%$ ). Zatem stosunek apoptozy do proliferacji dla sklerotycznych zastawek aortalnych wynosił 1, a dla stenotycznych zastawek aortalnych 2. Podobną zależność apoptozy do proliferacji jak dla stenotycznych zastawek aortalnych zaobserwowano w przypadku zdegenerowanej bioprotezy zastawki aortalnej (proliferacja:  $4,8 \pm 2,3\%$ ; apoptoza:  $13,1 \pm 6,8\%$ ). Różna intensywność procesów proliferacji i apoptozy w badanych grupach znalazła odzwierciedlenie w odmiennej gęstości komórkowej odpowiednich zastawek serca (SC:  $1034 \pm 284$  komórek/mm<sup>2</sup>; ST:  $893 \pm 168$  komórek/mm<sup>2</sup>; BP:  $385 \pm 179$  komórek/mm<sup>2</sup>). Zwiększoną proliferację w zdegenerowanej bioprotezie zastawki aortalnej zaobserwowano również w innych badaniach [29]. Wczesny etap procesu degeneracji zastawek serca charakteryzuje się wzmożoną wymianą komórkową; podobne zjawisko ma miejsce podczas rozwoju płodu. Natomiast zdrowe zastawki serca cechuje niska

szybkość proliferacji i apoptozy [84]. Przeważającej apoptozie w końcowym stadium choroby zastawek towarzyszyła zwiększona ekspresja zawierających alfa-aktynę miofibroblastów (ST:  $30,3 \pm 5,0\%$ ; SC:  $22,6 \pm 2,7\%$ ; BP:  $8,7 \pm 4,0\%$ ). Nabycie markera alfa-aktyny przez fibroblasty jest uważane za ważny proces w rozwoju patologii zastawek [28]. Sygnały dla alfa-aktyny dominowały w warstwie skierowanej ku komorom serca (lamina ventricularis) w zastawce stenotycznej, a w bioprotezie zastawki aortalnej w warstwie skierowanej ku aorcie (lamina fibrosa). Wynik ten sugeruje odmienne pochodzenie komórek zawierających alfa-aktynę lub ich prekursorów w zdegenerowanych natywnych zastawkach aortalnych (np. migracja komórek zawierających alfa-aktynę z sąsiednich tkanek serca w wyniku transformacji nabłonkowo-mezenchymalnej [85]) i w zdegenerowanych bioprotezach zastawki aortalnej (np. źródła pozasercowe we krwi obwodowej [86] lub aorcie). Ponadto stwierdzono, że stężenie białka HSP47, które jest związane z akumulacją kolagenu, było najwyższe w zastawce stenotycznej aorty (ST:  $22,6 \pm 2,8\%$ ; SC:  $15,4 \pm 2,1\%$ ; BP:  $3,4 \pm 1,0\%$ ). Powyższe wyniki wskazują na zaburzenie równowagi między proliferacją i apoptozą, aktywację miofibroblastów zawierających alfa-aktynę oraz odkładanie się kolagenu jako ważnych procesów leżących u podstaw degeneracji natywnych zastawek aortalnych i ich bioprotez. Różna ekspresja przestrzenna sygnałów dla alfa-aktyny sugeruje odmienny udział różnych warstw zastawek w procesie degeneracji w zależności od natywnego lub protetycznego charakteru badanej zastawki aortalnej.

#### **4. Zastosowanie leków przeciwzapalnych, przeciwutleniających, przeciwzakrzepowych i antyproliferacyjnych w terapii miażdżycy, restenozy i zwyrodnieniowego zwężenia natywnej i bioprotetycznej zastawki aortalnej**

W pracach składających się na osiągnięcie naukowe badano również ewentualny efekt różnych leków na procesy miażdżycy i degeneracji zastawki aortalnej. Szczególnie interesujące było zastosowanie przeciwzapalnie działającego infliksymabu i L-glutationu o właściwościach przeciwutleniających w badaniu dysfunkcji śródbłonka naczyń wywołanego hipoksją przerywaną. Oba leki są stosowane z powodzeniem w innych dziedzinach medycyny [39,40], jednakże ich działanie w kontekście zaburzeń funkcji śródbłonka naczyń pod wpływem hipoksji przerywanej nie jest znane. W pracy [I] pokazano, że podanie myszom apoE-knockout infliksymabu i L-glutationu zapobiegło dalszej degradacji struktury i funkcji śródbłonka naczyń w warunkach hipoksji przerywanej (poziomy mikrocząstek śródbłonka naczyń:  $0,16 \pm 0,02\%$ ,  $0,17 \pm 0,03\%$ ; funkcja śródbłonka naczyń:  $35,1 \pm 4,5\%$ ,  $34,5 \pm 6,3\%$ ,

odpowiednio dla infliksymabu i L-glutationu). Potencjalnym mechanizmem tłumaczącym wyżej wymieniony efekt mogło być stwierdzone w pracy [I] zmniejszenie stężenia wolnych rodników tlenu w aorcie albo przez hamowanie ich produkcji zależnej od NOX-2 (redukcja poziomów NOX-2 pod wpływem infliksimabu) lub przez ich neutralizację (wymiatanie wolnych rodników przez L-glutation). Ochrona warstwy śródbłonka przy użyciu obu leków zapobiegała aktywacji centralnych procesów kompensacyjnych związanych z podniesieniem poziomów komórek progenitorowych śródbłonka w szpiku kostnym (infliksimab:  $1,2 \pm 0,1\%$ , L-glutation:  $1,1 \pm 0,2\%$ ), które to zjawisko było zaobserwowane w warunkach hipoksji przerywanej bez dodatkowego użycia leków, jak opisano w rozdziale 1. W przeciwieństwie do tego wyniku, stężenie tych komórek we krwi w grupach leczonych infliksimabem i L-glutationem było znacznie wyższe w porównaniu z grupą hipoksji przerywanej bez dodatkowej terapii lekowej i podobne do normoksyjnej kontroli ( $5,3 \pm 1,2\%$ ,  $5,1 \pm 1,1\%$ , odpowiednio dla infliksimabu i L-glutationu). Wynik ten wskazuje na nienaruszoną obwodową zdolność naprawczą przy zastosowaniu obu leków, które neutralizują negatywne efekty hipoksji przerywanej. Ponadto, poziomy SDF-1 $\alpha$  we krwi obwodowej były wyższe dla infliksimabu i L-glutationu w porównaniu do kontroli ( $117,5 \pm 8,2\%$ ,  $122,3 \pm 10,5\%$  poziomów kontroli, odpowiednio), co sugeruje lepszą rekrutację komórek progenitorowych śródbłonka do patologicznie zmienionych naczyń.

Oprócz dysfunkcji śródbłonka, zwiększona agregacja płytek krwi jest również czynnikiem ryzyka dla rozwoju miażdżycy tętnic i jej powikłań. W związku z tym, przedmiotem pracy [V] było zbadanie potencjalnego działania przeciwplatekowego kwasów tłuszczowych omega-3 (PUFAs). W tym celu zastosowano metodę agregometrii impedancyjnej we krwi pełnej. Agregacja płytek krwi stymulowana kolagenem lub adenozyno-5'-difosforanem (adenosine 5'-diphosphate = ADP) była mierzona jako zmiana impedancji między dwiema elektrodami w określonym czasie. Do badania przekrojowego i podłużnego włączono pacjentów z chorobą wieńcową i/lub nadciśnieniem tętniczym, którzy utworzyli 4 grupy: A - bez terapii aspiryną (acetylsalicylic acid = ASA) lub PUFAs (grupa kontrolna); B - z terapią ASA; C - z terapią PUFAs; D - z terapią dwulekową złożoną z ASA i PUFAs. Po upływie co najmniej trzech miesięcy obserwacji stwierdzono, że terapia PUFAs w znacznym stopniu zahamowała agregację płytek krwi indukowaną kolagenem w porównaniu do kontroli (około 48% zmniejszenie impedancji). Podobny rezultat uzyskano dla grupy pacjentów z ASA (około 57% zmniejszenie impedancji). Podwójna terapia złożona z ASA i PUFAs nie pokazała żadnych istotnych dodatkowych efektów przeciwplatekowych w porównaniu z monoterapiami (około 63% zmniejszenie impedancji). Te wyniki sugerują, że aspiryna i kwasy tłuszczowe

omega-3 mogą wywierać działanie przeciwplatekcyjne poprzez wpływ na częściowo podobne komórkowe szlaki sygnałowe. W celu ustalenia czasowego wystąpienia pierwszych efektów leczenia kwasami tłuszczowymi omega-3 utworzono kolejną grupę pacjentów, którym po raz pierwszy przepisano tę terapię. Krew tych pacjentów była pobrana na początku badania oraz w dniach: 1, 3, 7 i 28 po jego rozpoczęciu. Wynikiem tego badania było zaobserwowanie znacznej redukcji (38%) agregacji płytek krwi indukowanej kolagenem w dniu 28 w porównaniu z dniem 1. Dokładne procesy leżące u podstaw przeciwplatekcyjnego działania PUFAs są niejasne. W innych pracach zostały przedstawione następujące mechanizmy inhibicji agregacji trombocytów przez PUFAs: 1) zwiększenie płynności błony komórkowej płytek krwi poprzez wymianę kwasów tłuszczowych omega-6 na omega-3 [87,88]; 2) redukcja syntezy tromboksanu 2 i/lub zaburzenie transdukcji sygnałów komórkowych w płytkach krwi indukowanych przez tromboksan 2 [89,90,91]; 3) przekształcenie kwasu eikozapentaenowego w tromboksan 3, który nie działa proagregacyjnie [92,93]; 4) zmniejszenie ekspresji cyklooksygenazy-2 (cyclooxygenase-2 = COX-2) przez redukcję aktywności jądrowego czynnika transkrypcyjnego (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells = NF-kappaB) [94].

Jednymi z podstawowych grup leków stosowanych w farmakoterapii chorób układu sercowo-naczyniowego są inhibitory ACE lub antagoniści receptora AT1. Jednakże, ich pozytywny wpływ na układ sercowo-naczyniowy wydaje się ograniczony [95,96]. Dlatego przedmiotem pracy [VI] było zbadanie długoterminowych efektów inhibitorów ACE na przebudowę ścian naczyń krwionośnych (tzw. remodeling). W tym celu szczury ze spontanicznym nadciśnieniem tętniczym, które poddano zabiegowi wprowadzenia cewnika balonowego do tętnicy szyjnej z następującym urazem tego naczynia, leczono inhibitorem ACE. Histochemiczne analizy przekroju uszkodzonej tętnicy szyjnej wykazały, że grubość warstwy neointimy naczynia była wyraźnie mniejsza (o 16% względem grupy kontrolnej nie leczonej inhibitorami ACE), natomiast światło naczynia było znacznie większe (o 66% w porównaniu do grupy kontrolnej) 28 dni po urazie naczyniowym u zwierząt leczonych inhibitorami ACE. W innej pracy, ograniczenie wzrostu neointimy podczas terapii inhibitorami ACE zaobserwowano już po dwóch tygodniach od urazu naczyniowego w modelu zwierzęcym z nadciśnieniem tętniczym [97]. W pracy [VI] rozwój neointimy nasilił się w dalszym przebiegu obserwacji pomimo kontynuowania leczenia inhibitorami ACE, czego efektem był podobny rozmiar neointimy jak u nieleczonych zwierząt trzy miesiące po interwencji naczyniowej. W przeciwieństwie do tego wyniku, grubość warstwy środkowej naczynia (media) była znacznie mniejsza począwszy od dnia 70 po zabiegu naczyniowym w grupie zwierząt leczonych inhibitorem

ACE, osiągając najmniejszy wymiar w dniu 90 (redukcja o około 31%) w stosunku do zwierząt nie poddanych terapii inhibitorem ACE. Jedną z przyczyn przejściowej redukcji neointymy pod wpływem inhibitora ACE we wczesnej fazie po urazie naczyniowym mogło być wykazane w tej samej pracy [VI] spowolnione odkładanie się kolagenu w uszkodzonym naczyniu krwionośnym. W późniejszej fazie remodelingu naczyniowego stwierdzono zwiększoną akumulację kolagenu w neointymie związaną ze wzmożoną ekspresją białka HSP47. Tak więc, inhibitory ACE powodują przynajmniej czasowe hamowanie rozwoju neointymy i długotrwałą redukcję warstwy środkowej naczynia. Ponadto w pracy [VI] wykryto receptor AT1 na komórkach dendrytycznych neointymy. Ten wynik wskazuje na potencjalny związek pomiędzy reakcją immunologiczną sterowaną przez komórki dendrytyczne i procesami przebudowy naczyń krwionośnych indukowanymi przez aktywację receptora AT1 oraz stanowi platformę dla nowych opcji farmakologicznych bazujących na ukierunkowanej modulacji komórek dendrytycznych w ścianie uszkodzonego naczynia krwionośnego.

Innym lekiem o działaniu antyrestenotycznym jest rapamycyna. Receptorem tego leku jest białko wiążące FK506 12 (FK506 binding protein 12 = FKBP12) [59]. Mając na uwadze podobieństwa między procesami restenozy i degeneracji zastawek serca, celem pracy [IV] było wykrycie również receptorów FKBP12 w eksplantowanych zdegenerowanych ludzkich natywnych zastawkach aorty i bioprotezach. Wynikiem tych badań było wykazanie częstych sygnałów dla FKBP12 w natywnych zastawkach sklerotycznych ( $42,2 \pm 3,8\%$ ), których gęstość znacznie zmalała ( $28,1 \pm 3,6\%$ ) w miarę postępowania procesu degeneracji w stenotycznych zastawkach aortalnych. W zdegenerowanych bioprotezach sygnały dla FKBP12 zaobserwowano w  $5,8 \pm 1,9\%$  komórek. Wykrycie sygnałów dla FKBP12 w zmienionych chorobowo zastawkach aortalnych i ich bioprotezach sugeruje potencjalną nową opcję leczenia rapamycyną. Jednakże, wydaje się ona być ograniczona raczej do wczesnych etapów procesu degeneracji zastawek aortalnych.

### **Literatura uzupełniająca:**

1. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. The road ahead. *Cell*. 2001;104:503-516.
2. Rajamannan NM. Calcific aortic stenosis: Lessons learned from experimental and clinical studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:162-168.
3. He C, Yang Z, Lu NH. Helicobacter pylori-an infectious risk factor for atherosclerosis? *J Atheroscler Thromb*. 2014;21:1229-1242.
4. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;154:1217-1239.
5. Bradley TD, Floras JS. Obstructive sleep apnoea and its cardiovascular consequences. *Lancet*. 2009;373:82-93.
6. Shamsuzzaman AS, Gersh BJ, Somers VK. Obstructive sleep apnea. *JAMA*. 2003;290:1906-1914.

7. Jelic S, Lederer DJ, Adams T, Padeletti M, Colombo PC, Factor PH, Le Jemtel, TH. Vascular inflammation in obesity and sleep apnea. *Circulation*. 2010;121:1014-1021.
8. El Solh AA, Akinnusi ME, Baddoura FH, Mankowski CR. Endothelial cell apoptosis in obstructive sleep apnea: a link to endothelial dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:1186-1191.
9. Akinnusi ME, El Solh AA. Circulating endothelial microparticle levels and hemodynamic severity of pulmonary hypertension: is there a role for sleep apnea? *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179:328.
10. Helbing T, Olivier C, Bode C, Moser M, Diehl P. Role of microparticles in endothelial dysfunction and arterial hypertension. *World J Cardiol*. 2014;6:1135-1139.
11. Fujiyama S, Amano K, Uehira K, Yoshida M, Nishiwaki Y, Nozawa Y, Jin D, Takai S, Miyazaki M, Egashira K, Imada T, Iwasaka T, Matsubara H. Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1-dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells. *Circ Res*. 2003;93:980-989.
12. Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M, Nickenig G. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. *Circ Res*. 2003;93:e17-e24.
13. Schröder K, Kohnen A, Aicher A, Liehn EA, Büchse T, Stein S, Weber C, Dimmeler S, Brandes RP. NADPH oxidase Nox2 is required for hypoxia-induced mobilization of endothelial progenitor cells. *Circ Res*. 2009;105:537-544.
14. Urao N, Ushio-Fukai M. Redox regulation of stem/progenitor cells and bone marrow niche. *Free Radic Biol Med*. 2013;54:26-39.
15. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells. Characterization and role in vascular biology. *Circ Res*. 2004;95:343.
16. Marin JM, Carrizo SJ, Vicente E, Agusti AGN. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep-apnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet*. 2005;365:1046-1053.
17. Jelic S, Padeletti M, Kawut SM, Higgins C, Canfield SM, Onat D, Colombo PC, Basner RC, Factor P, LeJemtel TH. Inflammation, oxidative stress, and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. *Circulation*. 2008;117:2270-2278.
18. Jun J, Reinke C, Bedja D, Berkowitz D, Bevans-Fonti S, Li J, Barouch LA, Gabrielson K, Polotsky VY. Effect of intermittent hypoxia on atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2010;209:381-386.
19. Kizawa T, Nakamura Y, Takahashi S, Sakurai S, Yamauchi K, Inoue H. Pathogenic role of angiotensin II and oxidized LDL in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2009;34:1390-1398.
20. Arnaud C, Poulain L, Lévy P, Dematteis M. Inflammation contributes to the atherogenic role of intermittent hypoxia in apolipoprotein-E knock out mice. *Atherosclerosis*. 2011;219:425-431.
21. Elkind MS. Infectious burden: a new risk factor and treatment target for atherosclerosis. *Infect Disord Drug Targets*. 2010;10:84-90.
22. Kobayashi N, Suzuki J, Ogawa M, Aoyama N, Hanatani T, Hirata Y, Nagai R, Izumi Y, Isobe M. *Porphyromonas gingivalis* accelerates neointimal formation after arterial injury. *J Vasc Res*. 2012;49:417-424.
23. Fazio G, Giovino M, Gullotti A, Bacarella D, Novo G, Novo S. Atherosclerosis, inflammation and *Chlamydia pneumoniae*. *World J Cardiol*. 2009;1:31-40.
24. Sasu S, LaVerda D, Qureshi N, Golenbock DT, Beasley D. *Chlamydia pneumoniae* and chlamydial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via toll-like receptor 4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation. *Circ Res*. 2001;89:244-250.
25. Kaufmann SH, Schoel B, van Embden JD, Koga T, Wand-Württenberger A, Munk ME, Steinhoff U. Heat-shock protein 60: implications for pathogenesis of and protection against bacterial infections. *Immunol Rev*. 1991;121:67-90.
26. Perschinka H, Mayr M, Millonig G, Mayerl C, van der Zee R, Morrison SG, Morrison RP, Xu Q, Wick G. Cross-reactive B-cell epitopes of microbial and human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1060-1065.
27. Mazzone A, Epistolato MC, De Caterina R, Storti S, Vittorini S, Sbrana S, Gianetti J, Bevilacqua S, Glauber M, Biagini A, Tanganelli P. Neoangiogenesis, T-lymphocyte infiltration, and heat shock protein-60 are biological hallmarks of an immunomediated inflammatory process in end-stage calcified aortic valve stenosis. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1670-1676.
28. Liu AC, Joag VR, Gotlieb AI. The emerging role of valve interstitial cell phenotypes in regulating heart valve pathobiology. *Am J Pathol*. 2007;171:1407-1418.
29. Wirrig EE, Hinton RB, Yutzey KE. Differential expression of cartilage and bone-related proteins in pediatric and adult diseased aortic valves. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;50:561-569.
30. Cigliano A, Gandaglia A, Lepedda AJ, Zinellu E, Naso F, Gastaldello A, Aguiari P, De Muro P, Gerosa G, Spina M, Formato M. Fine structure of glycosaminoglycans from fresh and decellularized porcine cardiac valves and pericardium. *Biochem Res Int*. 2012;2012:979351.

31. Sinno MC, Al-Mallah M. Impact of medical therapy on atheroma volume measured by different cardiovascular imaging modalities. *Cardiol Res Pract.* 2010;2010:134564.
32. Gaziano TA. Cardiovascular disease in the developing world and its cost-effective management. *Circulation.* 2005;112:3547-3553.
33. Karkoulas K, Lykouras D, Sampsonas F, Drakatos P, Canova S, Tsoukalas G, Spiropoulos K. The role of Endothelin-1 in obstructive sleep apnea syndrome and pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and Endothelin-1 antagonists. *Curr Med Chem.* 2010;17:1059-1066.
34. Basner RC. Continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnea. *N Engl J Med.* 2007;356:1751-1758.
35. Grebe M, Eisele HJ, Weissmann N, Schaefer C, Tillmanns H, Seeger W, Schulz R. Antioxidant vitamin C improves endothelial function in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173:897-901.
36. Belaidi E, Joyeux-Faure M, Ribuot C, Launois SH, Levy P, Godin-Ribuot D. Major role for hypoxia inducible factor-1 and the endothelin system in promoting myocardial infarction and hypertension in an animal model of obstructive sleep apnea. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53:1309-1317.
37. Lui MM, Sau-Man M. OSA and atherosclerosis. *J Thorac Dis.* 2012;4:164-172.
38. Ciccone MM, Scicchitano P, Zito A, Cortese F, Boninfante B, Falcone VA, Quaranta VN, Ventura VA, Zucano A, Di Serio F, Damiani MF, Resta O. Correlation between inflammatory markers of atherosclerosis and carotid intima-media thickness in obstructive sleep apnea. *Molecules.* 2014;19:1651-1662.
39. Kerekes G, Soltész P, Dér H, Veres K, Szabó Z, Végvári A, Shoenfeld Y, Szekanez Z. Effects of biologics on vascular function and atherosclerosis associated with rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1173:814-821.
40. Lomaestro BM, Malone M. Glutathione in health and disease: pharmacotherapeutic issues. *Ann Pharmacother.* 1995;29:1263-1273.
41. Arnoldussen IA, Kiliaan AJ. Impact of DHA on metabolic diseases from womb to tomb. *Mar Drugs.* 2014;12:6190-6212.
42. de Oliveira Otto MC, Wu JH, Baylin A, Vaidya D, Rich SS, Tsai MY, Jacobs DR Jr, Mozaffarian D. Circulating and dietary omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and incidence of CVD in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Am Heart Assoc.* 2013;2:e000506.
43. Merched AJ, Chan L. Nutrigenetics and nutrigenomics of atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2013;15:328.
44. Ilse A. C. Arnoldussen, Amanda J. Kiliaan. Impact of DHA on Metabolic Diseases from Womb to Tomb. *Mar Drugs.* 2014;12:6190-6212.
45. Tousoulis D, Plastiras A, Siasos G, Oikonomou E, Verveniotis A, Kokkou E, Maniatis K, Gouliopoulos N, Miliou A, Paraskevopoulos T, Stefanadis C. Omega-3 PUFAs improved endothelial function and arterial stiffness with a parallel antiinflammatory effect in adults with metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2014;232:10-16.
46. Nishio R, Shinke T, Otake H, Nakagawa M, Nagoshi R, Inoue T, Kozuki A, Hariki H, Osue T, Taniguchi Y, Iwasaki M, Hiranuma N, Konishi A, Kinutani H, Shite J, Hirata K. Stabilizing effect of combined eicosapentaenoic acid and statin therapy on coronary thin-cap fibroatheroma. *Atherosclerosis.* 2014;234:114-119.
47. Mori TA. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: epidemiology and effects on cardiometabolic risk factors. *Food Funct.* 2014;5:2004-2019.
48. Larson MK, Tormoen GW, Weaver LJ, Luepke KJ, Patel IA, Hjelmén CE, Ensz NM, McComas LS, McCarty OJ. Exogenous modification of platelet membranes with the omega-3 fatty acids EPA and DHA reduces platelet procoagulant activity and thrombus formation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2013;304:C273-279.
49. Din JN, Harding SA, Valerio CJ, Sarma J, Lyall K, Riemersma RA, Newby DE, Flapan AD. Dietary intervention with oil rich fish reduces platelet-monocyte aggregation in man. *Atherosclerosis.* 2008;197:290-296.
50. Li XL, Steiner M. Fish oil: a potent inhibitor of platelet adhesiveness. *Blood.* 1990;76:938-945.
51. Larson MK, Shearer GC, Ashmore JH, Anderson-Daniels JM, Graslie EL, Tholen JT, Vogelaar JL, Korth AJ, Nareddy V, Sprehe M, Harris WS. Omega-3 fatty acids modulate collagen signaling in human platelets. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2011;84:93-98.
52. Kimura S, Tamayama M, Minami M, Hata N, Saito H. Docosahexaenoic acid inhibits blood viscosity in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1998;100:351-61.
53. Kristensen SD, Bach Iversen AM, Schmidt EB. n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary thrombosis. *Lipids.* 2001;36:S79-S82.
54. Woodman RJ, Mori TA, Burke V, Puddey IB, Barden A, Watts GF, Beilin LJ. Effects of purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on platelet, fibrinolytic and vascular function in hypertensive type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis.* 2003;166:85-93.
55. Lindman AS, Pedersen JI, Hjerkin EM, Arnesen H, Veierød MB, Ellingsen I, Seljeflot I. The effects of long-term diet and omega-3 fatty acid supplementation on coagulation factor VII and serum phospholipids with special emphasis on the R353Q polymorphism of the FVII gene. *Thromb Haemost.* 2004;91:1097-1104.

- 56.** Bonow RO, Carabello BA, Kanu C, de Leon AC Jr, Faxon DP, Freed MD, Gaasch WH, Lytle BW, Nishimura RA, O'Gara PT, O'Rourke RA, Otto CM, Shah PM, Shanewise JS, Smith SC Jr, Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Antman EM, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Lytle BW, Nishimura R, Page RL, Riegel B. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing committee to revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease): Developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists: endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation*. 2006;114:e84-e231.
- 57.** Niclauss L, von Segesser LK, Ferrari E. Aortic biological valve prosthesis in patients younger than 65 years of age: transition to a flexible age limit? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2013;16:501-507.
- 58.** Osman L, Yacoub MH, Latif N, Amrani M, Chester AH. Role of human valve interstitial cells in valve calcification and their response to atorvastatin. *Circulation*. 2006;114:1547-1552.
- 59.** Guérin P, Sauzeau V, Rolli-Derkinderen M, Al Habbash O, Scalbert E, Crochet D, Pacaud P, Loirand G. Stent implantation activates RhoA in human arteries: inhibitory effect of rapamycin. *J Vasc Res*. 2005;42:21-28.
- 60.** Zohlh fer D, N hrenberg TG, Neumann FJ, Richter T, May AE, Schmidt R, Denker K, Clauss MA, Sch mig A, Baeuerle PA. Rapamycin effects transcriptional programs in smooth muscle cells controlling proliferative and inflammatory properties. *Mol Pharmacol*. 2004;65:880-889.
- 61.** Gou ffic Y, Potter-Perigo S, Chan CK, Johnson PY, Braun K, Evanko SP, Wight TN. Sirolimus blocks the accumulation of hyaluronan (HA) by arterial smooth muscle cells and reduces monocyte adhesion to the ECM. *Atherosclerosis*. 2007;195:23-30.
- 62.** Ayers L, Ferry B, Craig S, Nicoll D, Stradling JR, Kohler M. Circulating cell-derived microparticles in patients with minimally symptomatic obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2009;33:574-580.
- 63.** Badran M, Ayas N, Laher I. Oxid Med Cell Longev. Cardiovascular Complications of Sleep Apnea: Role of Oxidative Stress. 2014;2014:985258.
- 64.** Sugiyama T, Kohara H, Noda M, Nagasawa T. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity*. 2006;25:977-988.
- 65.** Goldschmidt-Clermont PJ, Dong C, Seo D, Velazquez O. Atherosclerosis, Inflammation, Genetics, and Stem Cells: 2011 Update. *Curr Atheroscler Rep*. 2012;14:201-210.
- 66.** van Hinsbergh VW, Koolwijk P. Endothelial sprouting and angiogenesis: matrix metalloproteinases in the lead. *Cardiovasc Res*. 2008;78:203-212.
- 67.** Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*. 1999;5:434-438.
- 68.** Teraa M, Sprengers RW, Westerweel PE, Gremmels H, Goumans M-JTH, Teerlink T, Moll FL, Verhaar MC. Bone Marrow Alterations and Lower Endothelial Progenitor Cell Numbers in Critical Limb Ischemia Patients. *PLoS One*. 2013;8:e55592.
- 69.** Ling L, Shen Y, Wang K, Jiang C, Fang C, Ferro A, Kang L, Xu B. Worse Clinical Outcomes in Acute Myocardial Infarction Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Relevance to Impaired Endothelial Progenitor Cells Mobilization. *PLoS One*. 2012;7:e50739.
- 70.** Qi Y, Qian L, Sun B, Wang Y, Liu L, Wu P, Sun L. Mobilization of endothelial progenitor cells from bone marrow is impaired in a piglet model of acute respiratory distress syndrome. *Pediatr Crit Care Med*. 2013;14:e233-e242.
- 71.** Tepper OM, Carr J, Allen RJ, Chang CC Jr, Lin CD, Tanaka R, Gupta SM, Levine JP, Saadeh PB, Warren SM. Decreased Circulating Progenitor Cell Number and Failed Mechanisms of Stromal Cell-Derived Factor-1 $\alpha$  Mediated Bone Marrow Mobilization Impair Diabetic Tissue Repair. *Diabetes*. 2010;59:1974-1983.
- 72.** Kaczmarek E, Bakker JP, Clarke DN, Csizmadia E, Kocher O, Veves A, Tecilazich F, O'Donnell CP, Ferran C, Malhotra A. Molecular biomarkers of vascular dysfunction in obstructive sleep apnea. *PLoS One*. 2013;8:e70559.
- 73.** Jiang S, Jin F, Li D, Zhang X, Yang Y, Yang D, Li K, Yang Y, Ma S. Intermittent hypobaric hypoxia promotes atherosclerotic plaque instability in ApoE-deficient mice. *High Alt Med Biol*. 2013;14:175-180.
- 74.** Jun J, Reinke C, Bedja D, Berkowitz D, Bevans-Fonti S, Li J, Barouch LA, Gabrielson K, Polotsky VY. Effect of intermittent hypoxia on atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2010;209:381-386.
- 75.** Arnaud C, Poulain L, L vy P, Dematteis M. Inflammation contributes to the atherogenic role of intermittent hypoxia in apolipoprotein-E knock out mice. *Atherosclerosis*. 2011;219:425-431.
- 76.** Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- $\alpha$  and matrix metalloproteinase expression. *Circulation*. 1998;98:300-307.

77. Mayr M, Metzler B, Kiechl S, Willeit J, Schett G, Xu Q, Wick G. Endothelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock proteins of *Escherichia coli* and *Chlamydia pneumoniae*: immune reactions to heat shock proteins as a possible link between infection and atherosclerosis. *Circulation*. 1999;99:1560-1566.
78. Zhang Y, Xiong Q, Hu X, Sun Y, Tan X, Zhang H, Lu Y, Liu J. A novel atherogenic epitope from *Mycobacterium tuberculosis* heat shock protein 65 enhances atherosclerosis in rabbit and LDL receptor-deficient mice. *Heart Vessels*. 2012;27:411-418.
79. Schumacher A, Lerkerød AB, Seljeflot I, Sommervoll L, Holme I, Otterstad JE, Arnesen H. *Chlamydia pneumoniae* serology: importance of methodology in patients with coronary heart disease and healthy individuals. *J Clin Microbiol*. 2001;39:1859-1864.
80. Agrawal A, Gang TB, Rusiñol AE. Recognition functions of pentameric C-reactive protein in cardiovascular disease. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:319215.
81. Horne BD, Muhlestein JB, Strobel GG, Carlquist JF, Bair TL, Anderson JL; Intermountain Heart Collaborative (IHC) Study Group. Greater pathogen burden but not elevated C-reactive protein increases the risk of clinical restenosis after percutaneous coronary intervention. *Am Heart J*. 2002;144:491-500.
82. Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Walley VM, Edwards WD, Schwartz RS, Virmani R. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation*. 1999;99:44-52.
83. Tasaki T, Yamada S, Guo X, Tanimoto A, Wang KY, Nabeshima A, Kitada S, Noguchi H, Kimura S, Shimajiri S, Kohno K, Ichijo H, Sasaguri Y. Apoptosis signal-regulating kinase 1 deficiency attenuates vascular injury-induced neointimal hyperplasia by suppressing apoptosis in smooth muscle cells. *Am J Pathol*. 2013;182:597-609.
84. Aikawa E, Whittaker P, Farber M, Mendelson K, Padera RF, Aikawa M, Schoen FJ. Human semilunar cardiac valve remodeling by activated cells from fetus to adult: implications for postnatal adaptation, pathology, and tissue engineering. *Circulation*. 2006;113:1344-1352.
85. Eisenberg LM, Markwald RR. Molecular regulation of atrioventricular valvuloseptal morphogenesis. *Circ Res*. 1995;77:1-6.
86. Skowasch D, Schrepf S, Wernert N, Steinmetz M, Jabs A, Tuleta I, Welsch U, Preusse CJ, Likungu JA, Welz A, Lüderitz B, Bauriedel G. Cells of primarily extra-valvular origin in degenerative aortic valves and bioprostheses. *Eur Heart J*. 2005;26:2576-2580.
87. Heemskerk JW, Vossen RC, van Dam-Mieras MC. Polyunsaturated fatty acids and function of platelets and endothelial cells. *Curr Opin Lipidol*. 1996;7:24-29.
88. Rand ML, Hennissen AA, Hornstra G. Effects of dietary sunflowerseed oil and marine oil on platelet membrane fluidity, arterial thrombosis, and platelet responses in rats. *Atherosclerosis*. 1986;62:267-276.
89. Knapp HR, Reilly IA, Alessandrini P, FitzGerald GA. In vivo indexes of platelet and vascular function during fish-oil administration in patients with atherosclerosis. *N Engl J Med*. 1986;314:937-942.
90. Heemskerk JW, Feijge MA, Kester A, Hornstra G. Dietary fat modifies thromboxane A2-induced stimulation of rat platelets. *Biochem J*. 1991;278:399-404.
91. Mori TA, Beilin LJ, Burke V, Morris J, Ritchie J. Interactions between dietary fat, fish, and fish oils and their effects on platelet function in men at risk of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:279-286.
92. Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *Lancet*. 1978;2:117-119.
93. Saito J, Terano T, Hirai A, Shiina T, Tamura Y, Saito Y. Mechanisms of enhanced production of PGI<sub>2</sub> in cultured rat vascular smooth muscle cells enriched with eicosapentaenoic acid. *Atherosclerosis*. 1997;131:219-228.
94. DeCaterina R, Massaro M. Omega-3 fatty acids and the regulation of expression of endothelial pro-atherogenic and pro-inflammatory genes. *J Membr Biol*. 2005;206:103-116.
95. Hanson SR, Powell JS, Dodson T, Lumsden A, Kelly AB, Anderson JS, Clowes AW, Harker LA. Effects of angiotensin converting enzyme inhibition with cilazapril on intimal hyperplasia in injured arteries and vascular grafts in the baboon. *Hypertension*. 1991;18:II70-II76.
96. Yilmaz R, Altun B, Kahraman S, Ozer N, Akinci D, Turgan C. Impact of amlodipine or ramipril treatment on left ventricular mass and carotid intima-media thickness in nondiabetic hemodialysis patients. *Ren Fail*. 2010;32:903-912.
97. Jandeleit-Dahm K, Burrell LM, Johnston CI, Koch KM. Elevated vascular angiotensin converting enzyme mediates increased neointima formation after balloon injury in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 1997;15:643-650.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych)

Moja dalsza działalność naukowa koncentrowała się na poszerzaniu spektrum badań nad interakcjami między chorobami układu sercowo-naczyniowego i układu oddechowego. Efektem tych badań był cykl prac dotyczących patologicznych zmian naczyniowych w obturacyjnym bezdechu sennym i sarkoidozie oraz częstości występowania zaburzeń w działaniu układu oddechowego u pacjentów z chorobami naczyniowymi [1,2,3]. Dodatkowo analizowano skutki leczenia nadciśnienia płucnego oraz przewlekłej obturacyjnej choroby płuc na funkcjonowanie prawej komory serca oraz krążenia i wentylacji płucnej [4,5,6]. Ponadto badano polimorfizmy różnych genów w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc [7,8,9]. Celem badań było również poznanie efektów oraz potencjalnych komplikacji najnowszych terapii w leczeniu przewlekłej obturacyjnej choroby płuc endoskopową metodą implantacji zastawki wewnątrzskrzelowej oraz ciężkiej, alergicznej astmy leczonej monoklonalnymi przeciwciałami anti-IgE [10,11]. Oprócz badań klinicznych przeprowadzono eksperymenty na zwierzęcym modelu obturacyjnego bezdechu sennego dotyczące wpływu hipoksji przerywanej na procesy oksydacyjne i zapalne w tkance płucnej [12].

Perspektywicznie planowane są dalsze badania nad pogłębianiem analizy zależności między chorobami układu oddechowego, m.in. astmą, a schorzeniami układu naczyniowego obejmującymi choroby tętnic obwodowych. Kolejne projekty związane także ze zwierzęcym modelem obturacyjnego bezdechu sennego będą dotyczyły wpływu hipoksji przerywanej na zaburzenia rytmu serca analizowane metodą Holtera oraz badaniem elektrofizjologicznym. Ponadto eksperymenty z użyciem komory hipoksyjnej zostaną poszerzone o model zwierzęcy naciśnienia płucnego (hipoksja ciągła). W tym modelu będzie badany wpływ aktywności fizycznej na ekspresję genów istotnych w przebiegu choroby nadciśnienia płucnego.

**1. Tuleta I, Skowasch D, Krycki J, Pizarro C, Hammerstingl C, Weber M, Schahab N, Nickenig G, Schaefer C, Pingel S.** Obstructive sleep apnea is related to increased arterial stiffness in ultrasound speckle-tracking analysis. *Adv Exp Med Biol.* 2016;910:9-14.

**2. Tuleta I, Pingel S, Biener L, Pizarro C, Hammerstingl C, Öztürk C, Schahab N, Grohé C, Nickenig G, Schaefer C, Skowasch D.** Atherosclerotic vessel changes in sarcoidosis. *Adv Exp Med Biol.* 2016;910:23-30.

3. Pizarro C, Schaefer C, Kimeu I, Pingel S, Horlbeck F, **Tuleta I**, Nickenig G, Skowasch D. Underdiagnosis of obstructive sleep apnoea in peripheral arterial disease. *Respiration*. 2015;89:214-220.
4. Pizarro C, Meyer Zur Heide Genannt Meyer-Arend J, Schueler R, Hammerstingl C, **Tuleta I**, Nickenig G, Skowasch D. Impact of macitentan on right ventricular myocardial function in pulmonary arterial hypertension. *Int J Cardiol*. 2016;214:438-441.
5. Pizarro C, Schueler R, Hammerstingl C, **Tuleta I**, Nickenig G, Skowasch D. Impact of endoscopic lung volume reduction on right ventricular myocardial function. *PLoS One*. 2015;10:e0121377. doi: 10.1371/journal.pone.0121377. eCollection 2015.
6. Pizarro C, Ahmadzadehfar H, Essler M, **Tuleta I**, Fimmers R, Nickenig G, Skowasch D. Effect of endobronchial valve therapy on pulmonary perfusion and ventilation distribution. *PLoS One*. 2015 ;10:e0118976. doi: 10.1371/journal.pone.0118976. eCollection 2015.
7. Pabst S, Yenice V, Lennarz M, **Tuleta I**, Nickenig G, Gillissen A, Grohé C. Toll-like receptor 2 gene polymorphisms Arg677Trp and Arg753Gln in chronic obstructive pulmonary disease. *Lung*. 2009;187:173-178.
8. Pabst S, Pizarro Touron C, Gillissen A, Lennarz M, **Tuleta I**, Nickenig G, Skowasch D, Grohé C. ADAM33 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Med Res*. 2009;14 Suppl 4:182-186.
9. Pabst S, Theis B, Gillissen A, Lennarz M, **Tuleta I**, Nickenig G, Skowasch D, Grohé C. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Med Res*. 2009;14 Suppl 4:177-181.
10. **Tuleta I**, Pizarro C, Molitor E, Kristiansen G, Nickenig G, Skowasch D. Recurrent Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbations after Endobronchial Valve Implantation Are Associated with the Presence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Respiration*. 2016;91:510-516.
11. Velling P, Skowasch D, Pabst S, Jansen E, **Tuleta I**, Grohé C. Improvement of quality of life in patients with concomitant allergic asthma and atopic dermatitis: one year follow-up of omalizumab therapy. *Eur J Med Res*. 2011;16:407-410.
12. **Tuleta I**, Stöckigt F, Juergens UR, Pizarro C, Schrickel JW, Kristiansen G, Nickenig G, Skowasch D. Intermittent Hypoxia Contributes to the Lung Damage by Increased Oxidative Stress, Inflammation, and Disbalance in Protease/Antiprotease System. *Lung*. 2016;194:1015-1020.

6. *Inne osiągnięcia naukowo - badawcze, działalność dydaktyczna, popularyzatorska i organizacyjna (ujęcie syntetyczne - szczegółowe informacje są zawarte w załączniku 3)*

**a)** Działalność w Studenckim Kole Naukowym przy II Klinice Kardiologii IK Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego pod opieką dr. med. Dariusza Dudka. Efektem tej działalności były wyniki naukowe zaprezentowane na XL i XLI Ogólnopolskiej i VI i VII Międzynarodowej Konferencji Studentów Medycyny w Krakowie w latach 2002 i 2003 oraz na 1st International Cardiology and Cardiosurgery Conference w Krakowie w 2003 roku i opublikowane w *Przeglądzie Lekarskim*.

**b)** Stypendium Ministra Zdrowia na rok akademicki 2002/2003 oraz 2003/2004 za wysokie osiągnięcia w nauce.

**c)** Studia medyczne na Uniwersytecie w Bonn w ramach Programu Socrates-Erasmus w roku akademickim 2002/2003 i 2003/2004.

**d)** Staż lekarski na Uniwersytecie w Bonn w roku akademickim 2004/2005.

**e)** Roczne stypendium naukowe Reńskiego Uniwersytetu w Bonn (BONFOR-Stipendium), 2011-2012, za dotychczasowe osiągnięcia naukowe oraz autorski projekt badawczy: „Wpływ hipoksji przerywanej na rozwój miażdżycy” („Einfluss von intermittierender Hypoxie auf Atherosklerose-Entwicklung”).

**f)** Nagroda Towarzystwa Medycyny Wewnętrznej Nadrenii-Westfalii przyznana w roku 2015 za najlepszą pracę eksperymentalną w roku 2014 pochodzącą z regionu niemieckojęzycznego: „Hypoxia-induced endothelial dysfunction in apolipoprotein E-deficient mice; effects of infliximab and L-glutathione” (*Atherosclerosis* 2014;236:400-410).

**g)** Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych: *Atherosclerosis*, *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*.

**h)** Aktywny udział w licznych międzynarodowych konferencjach naukowych jako prezynter dorobku naukowego zespołów badawczych oraz przewodniczący sesji tematycznych.

**i)** Udział w międzynarodowych badaniach i rejestrach klinicznych na stanowisku Subinvestigator (IMPROVE-IT, SERVE-HF, OMEGA, Apronta, AMBITION, CompERAXL, INSIGHTS-IPF, SOLITAIRE-IV, PANORAMA, MAJORAM, CLN0014 Rev C, LIVE, REPAIR, TRIBUTE, Arctic, Glyco Next, EXITING, Bronchial Thermoplasty).

**j)** Ukończenie kursów przygotowujących do pełnienia funkcji badacza w międzynarodowych projektach („Prüfarztkurs Bonn”, „GCP-Auffrischkurs“, „Grundzüge des Medizinprodukterechts und rechtliche Grundlagen von klinischen Prüfungen mit Medizinprodukten für Prüfärzte“).

**k)** Podnoszenie kwalifikacji w zakresie wiedzy medycznej na różnych kursach i szkoleniach rejestrowanych i ocenianych przez Nadreńską Izbę Lekarską.

**l)** Współudział w opracowaniu wytycznych w postępowaniu diagnostyczno-terapeutycznym dla poszczególnych jednostek chorobowych.

**m)** Opracowywanie opinii medycznych dla potrzeb instytucji ubezpieczeniowych.

**n)** Przygotowywanie projektów badań klinicznych i laboratoryjnych z uwzględnieniem wymogów etycznych.

**o)** Współpraca naukowa z wieloma niemieckimi placówkami badawczymi, m.in.: Instytutem Patologii, Instytutem Mikrobiologii, Immunologii i Parazytologii oraz Instytutem Fizjologii Uniwersytetu w Bonn, Wydziałem Kardiochirurgii oraz Wydziałem Psychiatrii Uniwersytetu w Bonn, Instytutem Anatomii Uniwersytetu w Monachium, Wydziałem Kardiologii Dziecięcej Uniwersytetu w Rostocku, Centrum Kardiologii w Duisburgu, Kliniką Chorób Wewnętrznych Klatki Piersiowej Uniwersytetu w Heidelbergu oraz Uniwersytetem Santo Amaro w Sao Paulo w Brazylii.

**p)** Rozpowszechnianie wiedzy medycznej na cyklicznych spotkaniach z pacjentami w formie wygłaszania wykładów i przeprowadzania pokazowych badań.

r) Szeroko zakrojona działalność dydaktyczna obejmująca liczne wykłady, seminaria, zajęcia praktyczne oraz interdyscyplinarne konferencje dla studentów i stażystów Wydziałów Lekarskiego, Lekarsko-Dentystycznego oraz Farmaceutycznego Uniwersytetu w Bonn.

Kobela Tullit