

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko: Jarosław Zalewski

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

1997, dyplom ukończenia studiów medycznych, Wydział Lekarski Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum,

2004, dyplom specjalisty chorób wewnętrznych, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

2006, dyplom doktora nauk medycznych, Wydział Lekarski Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Tytuł rozprawy doktorskiej: Niedotlenienie i reoksygenacja komórek ludzkiego śródbłonka naczyniowego a ekspresja ich wybranych genów in vitro.

2007, dyplom specjalisty kardiologa, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

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

1998 - 2002 studia doktoranckie na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum

1999 - 2011 asystent w Centrum Interwencyjnego Leczenia Chorób Serca i Naczyń w Krakowskim Szpitalu Specjalistycznym im. Jana Pawła II,

2011 do teraz starszy asystent w Oddziale Klinicznym Choroby Wieńcowej w Krakowskim Szpitalu Specjalistycznym im. Jana Pawła II,

2011-2012 asystent w Klinice Choroby Wieńcowej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum,

1.01.2013 do teraz adiunkt w Klinice Choroby Wieńcowej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum,

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:

Nowe prozakrzepowe mechanizmy towarzyszące upośledzonej nasierdziowej i tkankowej reperfuzji w świeżym zawale serca oraz zakrzepicy w stencie.

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

Jarosław Zalewski, Krzysztof Nycz, Tadeusz Przewłocki, Monika Durak, Michał Cul, Wojciech Zajdel, Krzysztof Zmudka. Evolution of myocardial perfusion during primary angioplasty in spontaneously reperfused infarct-related artery. Impact on long-term clinical outcomes and left ventricular function recovery. International Journal of Cardiology 2011; 147: 25-31 (IF 7,078).

Jarosław Zalewski, Anetta Undas, Jacek Godlewski, Ewa Stepien, Krzysztof Zmudka. No-reflow phenomenon after acute myocardial infarction is associated with reduced clot permeability and susceptibility to lysis. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology 2007; 27: 2258-2265 (IF 7,221).

Jarosław Zalewski, Monika Durak, Piotr Lech, Grzegorz Gajos, Anetta Undas, Jadwiga Nessler, Agnieszka Rosławiecka, Krzysztof Zmudka. Platelet activation and microvascular injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. Kardiologia Polska 2012; 70: 677-684 (IF 0,536).

Anetta Undas*, Jarosław Zalewski*, Marek Krochin, Zbigniew Siudak, Marcin Sadowski, Jerzy Pregowski, Dariusz Dudek, Marianna Janion, Adam Witkowski, Krzysztof Zmudka. Altered plasma fibrin clot properties are associated with in-stent thrombosis. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology 2010; 30: 276-82 (IF 7,215). *A.U. and J.Z. equally contributed to this work.

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

Pomimo aspiracji skrzepliny i przywrócenia pełnego przepływu nasierdziowego, mechaniczna reperfuzja w ostrym zawałe mięśnia sercowego (*myocardial infarction*, MI) wiąże się z uszkodzeniem mikrokrążenia wieńcowego, obrzękiem przestrzeni międzykomórkowej i martwicą kardiomiocytów (*Braunwald E, Kloner RA, J Clin Invest 1985*), które w konsekwencji prowadzą do zaburzenia perfuzji tkankowej tzw. zjawiska braku reperfuzji (*no-reflow phenomenon, Kloner RA. J Clin Invest 1974*). Dotyczy ono do 30% pacjentów poddawanych pierwotnej przezskórnej interwencji wieńcowej (*primary percutaneous coronary intervention*, PPCI) (*Gibson CM i wsp. Circulation 2000, Rezkalla SH i wsp. J Interv Cardiol 2010*). Z kolei niepełna reperfuzja łożyska wieńcowego podczas MI wiąże się z większą strefą zawału (*Feldman LJ i wsp. JACC 2000*), gorszą kurczliwością lewej komory (*left ventricle*, LV), większą śmiertelnością i częstszym występowaniem objawów niewydolności serca będących konsekwencją niekorzystnej przebudowy LV (*Rezkalla SH i wsp. J Interv Cardiol 2010*). Nawet niewielkie uszkodzenie mikrokrążenia można zidentyfikować przy pomocy rezonansu magnetycznego jako tzw. obstrukcja mikrokrążenia (*microvascular obstruction*, MVO) (*Bogaert J i wsp. Eur Radiol 2007*). Histopatologiczna charakterystyka MVO jest obecnie intensywnie badana (*Robbers LF i wsp. Eur Heart J 2013*) a samo wystąpienie MVO u pacjentów z MI wiąże się gorszym przebiegiem klinicznym, tworzeniem cienkiej blizny i przebudową LV, w sposób niezależny od wielkości strefy zawału (*Wu KC i wsp. Circulation 1998, Ørn S i wsp. Eur Heart J 2009*). Dlatego zmniejszenie strefy uszkodzenia mikrokrążenia w warunkach klinicznych stało się istotnym celem terapeutycznym (*Kloner RA Circ Res 2013*).

Szybkie przywrócenie przepływu nasierdziowego jest warunkiem koniecznym dla uratowania jak największego obszaru objętego niedokrwieniem a także dla dobrego wyniku klinicznego (*Stone GW i wsp. Am J Cardiol 2007*). Spontaniczna, pełna TIMI-3 (*Thrombolysis in Myocardial Infarction*) reperfuzja nasierdziowa występuje u 10-30% pacjentów z zawałem przebiegającym z uniesieniem odcinka ST (*ST-segment elevation myocardial infarction*, STEMI) (*Stone GW i wsp. Circulation 2001, Bailey KR i wsp. Am Heart J 2008*). Niemniej drożna tętnica dozawałowa często wypełniona jest świeżymi zakrzepami o różnych rozmiarach i dlatego wczesna interwencja w prozakrzepowym środowisku już drożnej tętnicy może wiązać się z wysokim ryzykiem dystalnej embolizacji i pogorszeniem perfuzji tkankowej (*De Luca G i wsp. J Thromb Thrombolysis 2007*). W konsekwencji, korzyści wynikające z wczesnej, spontanicznej reperfuzji mogą zostać utracone podczas następowej mechanicznej manipulacji. Częstość widocznej angiograficznie dystalnej embolizacji podczas PPCI dotycząca 15% pacjentów wiąże się z większym uszkodzeniem miokardium jak również większym wskaźnikiem śmiertelności po 5 latach (*Henriques JP i wsp. Eur Heart J 2002*).

U większości pacjentów ze STEMI pęknięcie blaszki miażdżycowej aktywuje płytki krwi i generację trombin, która uczestniczy w konwersji fibrynogenu do fibryny będącej głównym elementem zakrzepu w ostrej fazie MI (*Furie B, Furie BC. N Eng J Med 2008*). Narastanie zakrzepu jest związane ze stabilizacją sieci włókien fibrynowych i wychwytywaniem dużej ilości erytrocytów i komórek zapalnych. W warunkach fizjologicznych, płytki krwi nie

wchodzą w reakcję z leukocytami. Zwiększone stężenie agregatów płytkowo-leukocytarnych zauważono na przykład w krwi krążącej pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym (Freedman JE, Loscalzo J i wsp. *Circulation* 2002). W przeszłości wskazywano, że stężenie agregatów płytkowo-monocytnych jak również płytkowo-neutrofilowych może być czułym wskaźnikiem aktywacji płytek krwi (Michelson AD i wsp. *Circulation* 2001).

Dotychczas wyodrębniono szereg czynników ryzyka związanych z wystąpieniem zakrzepicy w stencie (*in-stent thrombosis*, IST) wszczepionym do nasierdziowej tętnicy wieńcowej, obejmujących elementy samej procedury (mały przekrój naczyń z powodu niedopięcia stentu, jego malpozycja i długość, wszczępienie wielu stentów, dysekcja, rodzaj stentu), stan pacjenta (niska frakcja wyrzutowa lewej komory (*left ventricular ejection fraction*, LVEF), cukrzyca, zaawansowany wiek, stentowanie w ostrym zespole wieńcowym), czynniki związane z samą zmianą (rozwidlenie, nawrót zwężenia w stencie) oraz przedwczesne przerwanie terapii przeciwplatekowej (Luscher TF i wsp. *Circulation*. 2007, Daemen J i wsp. *Lancet*. 2007). Badania autopsyjne wykazały, że niepełne pokrycie śródbłonkiem stentu oraz obecne na jego powierzchni zakrzepy fibrynowe są wyjściowym substratem dla IST (Nakazawa G i wsp. *Circulation* 2008, Fuji K i wsp. *Eur Heart J*. 2008).

Złożona kaskada reakcji w obrębie układu krzepnięcia prowadzi ostatecznie do utworzenia zakrzepu fibrynowego (Blomback B. *Thromb Res* 1996). Strukturę i funkcję skrzepu fibrynowego determinują czynniki genetyczne i środowiskowe, szczególnie te wpływające na stężenie i funkcję fibrynogenu (Scott EM i wsp. *ATVB* 2004). Skuteczna fibrynoliza jest konieczna do usuwania wewnątrznacyniowych skrzeplin a jej zaburzenie może manifestować się jako zakrzepica lub być substratem dla wzrost blaszki miażdżycowej. Bardziej zbita struktura fibryny i mniejsza jej porowatość zmniejszają transport białek uczestniczących w procesie fibrynolizy i upośledzają aktywność przeciwzakrzepową zależną od antytrombiny wewnątrz zakrzepu. Te zmiany mogą przedłużyć zaleganie fibryny w świetle naczyń. Zmniejszona przepuszczalność skrzepu i wydłużony czas jego lizy odnotowano u pacjentów z zaawansowaną chorobą niedokrwinną serca (Undas A i wsp. *J Thromb Haemost* 2007), podczas gdy zwiększoną twardość skrzepu oraz wolniejszą fibrynolizę zaobserwowano u młodych pacjentów po zawale (Collet JP i wsp. *ATVB* 2006). Pacjenci, którzy przeżyli pierwszy zawał przed 50 rokiem życia mieli dłuższy czas lizy związany z większym indeksem masy ciała, ciśnieniem tętniczym krwi i białkiem C-reaktywnym (Meltzer ME i wsp. *Blood* 2010). W porównaniu do pacjentów ze stabilną dławicą piersiową, ci z ostrym MI do dwunastu godzin od jego początku, szybciej formowali mniej przepuszczalny i mniej podatny na lizę skrzep, którego struktura była przede wszystkim zależna od nasilenia stresu oksydacyjnego i procesu zapalnego (Undas A i wsp. *Atherosclerosis* 2007).

Wpływ zmiany stopnia perfuzji podczas PPCI u pacjentów ze spontanicznie udrożnioną nasierdziową tętnicą wieńcową w STEMI na odległy wynik kliniczny, związek pomiędzy strukturą i funkcją skrzepu fibrynowego a wystąpieniem zjawiska braku reperfuzy lub zakrzepicy w stencie jak również wpływ zahamowania reaktywności płytek krwi na wielkość

uszkodzenia mikrokrążenia w STEMI były nieznane lub słabo poznane w momencie tworzenia koncepcji prezentowanych badań.

Dlatego postanowiliśmy zbadać:

1. czy zmiana perfuzji miokardium podczas PPCI u pacjenta ze spontanicznie reperfundowanym STEMI ma wpływ na odległy przebieg kliniczny i powrót funkcji lewej komory.
2. właściwości skrzepu fibrynowego u pacjentów z upośledzoną nasierdziową i tkankową reperfuzyją po PPCI w STEMI.
3. wpływ reaktywności płytek krwi i ich supresji farmakologicznej na wielkość uszkodzenia mikrokrążenia u pacjentów ze STEMI.
4. strukturę i funkcję skrzepu fibrynowego u pacjentów z potwierdzoną angiograficznie zakrzepicą w stencie.

Ad 1.

U 392 pacjentów ze STEMI do dwunastu godzin od początku bólu z w pełni, spontanicznie udrożnioną nasierdziową tętnicą wieńcową, zbadano wpływ zmian perfuzji miokardium podczas PPCI na wczesny i odległy wynik kliniczny i powrót funkcji lewej komory (*Zalewski i wsp. Evolution of myocardial perfusion during primary angioplasty in spontaneously reperfused infarct-related artery. Impact on long-term clinical outcomes and left ventricular function recovery. Int J Cardiol 2011*).

Perfuzję miokardium oceniono wg angiograficznej skali *TIMI Myocardial Perfusion Grade* (TMPG). Na podstawie TMPG ocenionego przed i po PPCI stworzono cztery scenariusze reperfuzyjne: A. pogorszenie TMPG z 2/3 przed do 0/1 po PPCI (14.0%), B. niskie TMPG-0/1 przed i po PPCI (28.3%), C. poprawa TMPG z 0/1 do 2/3 (13.3%), D. wysokie TMPG-2/3 przed i po PPCI (44.4%). Częstość przedzawałowej dławicy piersiowej wzrastała w kolejnych od A do D scenariuszach reperfuzyjnych. Przeciwna sytuacja miała miejsce w odniesieniu do częstości wstrząsu kardiogennego w chwili przyjęcia.

Po 30 dniach wskaźnik śmiertelności w grupach A-D wyniósł odpowiednio 9.1%, 2.7%, 1.9% i 0% ($P<0.001$) a po roku 16.3%, 7.2%, 5.8% and 0.6% ($P<0.001$). Największą śmiertelność po roku odnotowano u pacjentów z pogorszeniem perfuzji miokardium z TMPG-2/3 do 0/1 w trakcie PPCI, była ona ponad dwukrotnie większa aniżeli wśród pacjentów z TMPG-0/1 przed i po PCI. Z kolei poprawa perfuzji podczas PPCI z TMPG-0/1 do 2/3 była związana z prawie 20% względną redukcją śmiertelności po roku w porównaniu do grupy pacjentów bez poprawy TMPG. Pacjenci z dobrą reperfuzyją tkankową TMPG-2/3 przed i po PPCI mieli najniższy wskaźnik śmiertelności.

Znamiennie wyższy wskaźnik śmiertelności po roku zaobserwowano u pacjentów z widoczną w angiografii skrzepliną w nasierdziowym odcinku tętnicy podczas PPCI (8.3 vs. 3.4%, $P=0.045$) jak również u pacjentów z dystalną embolizacją (16.7 vs. 4.8%, $P<0.001$).

Szczegółowa analiza pola powierzchni pod krzywą uwalniania izoenzymu MB kinazy kreatynowej (CK-MB) podczas reperfuzji wskazuje iż uszkodzenie miokardium znamiennie różniło się w grupach A-D ($P<0.01$). Zarówno pogorszenie TMPG jak i niski TMPG przed i po PPCI wiązały się z największym uwalnianiem CK-MB. Z kolei największy odsetek pacjentów z pełną rezolucją uniesienia odcinka ST (STR) po PPCI odnotowano w grupie pacjentów z wysokim TMPG przed i po PPCI lub jego poprawą podczas PPCI.

Wyjściowo LVEF była porównywalna w grupach A-D. Po 6 miesiącach LVEF poprawiła się w grupie D (o $7.5\pm 5.4\%$, $P<0.01$) i C (o $3.7\pm 3.4\%$, $p<0.05$), pogorszyła w przypadku scenariusza A (o $5.2\pm 3.9\%$, $P<0.01$) i nie uległa zmianie w grupie B. Poprawa LVEF podczas 6-miesięcznej obserwacji była widoczniejsza w kolejnych A-D scenariuszach reperfuzyjnych ($P<0.001$).

Analiza wieloczynnikowa wykazała, że wstrząs kardiogeny przy przyjęciu, wiek pacjenta powyżej 75 lat oraz zmiana stopnia perfuzji podczas PPCI (iloraz szans 2.5, 95% przedział ufności od 1.3 do 4.0, $P=0.006$, na klasę scenariusza reperfuzyjnego od D do A) były niezależnymi czynnikami determinującymi śmiertelność po roku a wstrząs kardiogeny przy przyjęciu i ewolucja reperfuzji podczas PPCI determinowały wolne od niekorzystnych zdarzeń przeżycie w pierwszym roku.

Zaprezentowane badanie ilustruje kliniczną istotność zmiany stopnia reperfuzji miokardium podczas PPCI u pacjentów z już w pełni drożnym naczyniem nasierdziowym przed interwencją. Utrzymanie dobrej perfuzji miokardium przez cały okres zabiegu lub poprawa perfuzji w trakcie PPCI implikują najlepsze długoterminowe przeżycie, natomiast pogorszenie perfuzji podczas PPCI wiąże się z najwyższym wskaźnikiem śmiertelności po roku. Wykonana już w pracowni hemodynamiki ocena stopnia reperfuzji jednocześnie przed i po PPCI może być cennym, wczesnym wskaźnikiem umożliwiającym prognozowanie uszkodzenia miokardium i ewentualnych możliwości powrotu funkcji LV. Przedstawione obserwacje wskazują, iż pogorszenie stopnia reperfuzji może ułatwić identyfikację pacjentów o największym ryzyku niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Dodanie takiej oceny do powszechnie stosowanych angiograficznych wskaźników reperfuzji może zwiększyć dokładność prognozowania klinicznego a także ułatwić wybór najbardziej skutecznej dodatkowej farmakoterapii wspomagającej.

Mechanizm tłumaczący związek pomiędzy ewolucją perfuzji podczas PPCI a powrotem funkcji miokardium i odległym wynikiem klinicznym nie jest jasny. Istotnym elementem tej zależności może być przemieszczenie zakrzepu towarzyszącego ostrej fazie zawału z powierzchni blaszki miażdżycowej do światła naczynia a następnie na jego obwód prowadzące do dystalnej embolizacji dorzecza dozawałowego, szczególnie podczas implantacji stentu. W konsekwencji może dojść do zwolnienia przepływu nasierdziowego,

obstrukcji mikrokrążenia i pogorszenia perfuzji tkankowej. Ewolucja TMPG podczas PPCI była związana z uszkodzeniem enzymatycznym, integralnością mikrokrążenia wyrażoną w postaci stopnia rezolucji uniesienia odcinka ST jak również powrotem funkcji LV po 6 miesiącach obserwacji.

Podsumowując, nasze wyniki wskazują, że utrzymanie dobrej perfuzji podczas całej procedury PPCI w STEMI lub jej poprawa w trakcie interwencji skutkuje małym, w znacznym stopniu odwracalnym uszkodzeniem miokardium, któremu towarzyszy dobre odległe rokowanie kliniczne. Przeciwnie, znaczne pogorszenie perfuzji podczas PPCI wiąże się dużym uszkodzeniem mięśnia sercowego, brakiem powrotu funkcji LV i najwyższym odsetkiem zgonów i objawów niewydolności serca w obserwacji odległej. Nasze wyniki wskazują, iż określenie scenariusza reperfuzyjnego po PPCI, które jest łatwe do wykonania już w pracowni hemodynamiki, może być wczesnym angiograficznym wskaźnikiem umożliwiającym prognozowanie wyniku klinicznego i możliwości powrotu funkcji lewej komory.

Ad 2.

Właściwości skrzepu fibrynowego, jego przepuszczalność i czas lizy zostały oznaczone *ex-vivo* po okresie 6 do 14 (średnio 10.2 ± 2.5) miesięcy od PPCI w STEMI u 30 pacjentów z przepływem nasierdziowym $TIMI \leq 2$ po zakończonym zabiegu (grupa no-reflow) i u 31 pacjentów z grupy kontrolnej z końcowym przepływem TIMI-3, dobranych pod względem wieku, płci, czynników ryzyka schorzeń układu sercowo-naczyniowego oraz stosowanego leczenia (*Zalewski i wsp. No-reflow phenomenon after acute myocardial infarction is associated with reduced clot permeability and susceptibility to lysis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007*).

Po PPCI przepływ nasierdziowy został oceniony w oparciu o TIMI i *corrected TIMI frame count* (cTFC), a perfuzja miokardium według skali TMPG. Uszkodzenie miokardium i jego funkcja zostały określone na podstawie odpowiednio maksymalnego stężenia CK-MB i LVEF w echokardiografii. Standardowy 12-odprowadzeniowy zapis EKG zarejestrowano przed i 30 min po udrożnieniu tętnicy dozawałowej. Na tej podstawie obliczono STR.

Aby określić przepuszczalność skrzepu fibrynowego, skrzep utworzony *ex-vivo* z osocza cytrynianowego w obecności chlorku wapnia i trombiny perfundowano buforem Tris mierząc jego objętość. Współczynnik przepuszczalności (K_s , 10^{-9} cm²), który wyraża wielkość pora sieci fibrynowej obliczono ze wzoru: $K_s = Q \times L \times \mu / t \times A \times \Delta p$, gdzie Q to objętość buforu przepływająca w czasie t, L długość żelu fibrynowego, μ lepkość roztworu (poise), A pole powierzchni przekroju żelu (cm²), a Δp gradient ciśnień (dyne/cm²).

Lizę skrzepu fibrynowego indukowaną rekombinowanym tkankowym aktywatorem plazminogenu (rt-PA) w obecności chlorku wapnia i trombiny oceniono monitorując kinetykę rozpadu skrzepu przy pomocy pomiaru absorbancji światła o długości 405 nm. Czas lizy

($t_{50\%}$, min) zdefiniowano jako czas potrzebny do zmniejszenia się wyjściowej absorbancji o połowę.

Z kolei, liżę skrzepu z udziałem rt-PA, ale bez obecności egzogennej trombiny, monitorowano w teście z udziałem czynnika tkankowego. Osocze cytrynianowe zmieszano z buforem HEPES zawierającym chlorek wapnia, rozcieńczony rekombinowany ludzki czynnik tkankowy i fosfolipidowe pęcherzyki z rt-PA. Turbidymetrię tej mieszaniny monitorowano przy długości światła 405 nm. W oparciu o nią zmierzono czas lizy (t_{TF} , min).

W porównaniu do pacjentów z pełnym przepływem nasierdziowym, pacjenci z no-reflow mieli większe uszkodzenie enzymatyczne ($P<0.05$), większą wartość cTFC ($P<0.001$) i mniejszy TMPG ($P<0.001$) po PPCI w MI.

Pacjenci z zespołem no-reflow mieli znamienne mniejszą wartość K_s (8.4 ± 0.7 vs. $9.9\pm 0.7 \times 10^{-9} \text{ cm}^2$, $P<0.0001$), wskazującą na mniejszy rozmiar pora sieci fibrynowej w porównaniu z pacjentami z TIMI-3 po PPCI. K_s korelował w sposób odwrotnie proporcjonalny z fibrynogenem, cTFC, uszkodzeniem enzymatycznym, redukcją uniesienia odcinka ST, D-dimerami i CRP (r od -0.24 do -0.6 , $P<0.05$). K_s korelował z LVEF natomiast nie był związany z czasem od początku bólu do udrożnienia tętnicy dozawałowej ani z wiekiem. Im lepszy był przepływ wg TIMI ($P<0.0001$) i perfuzja wg TMPG ($P<0.0001$) tym większa była przepuszczalność skrzepu. Związek pomiędzy K_s a STR był także istotny ($P=0.03$).

W grupie no-reflow wartości $t_{50\%}$ (10.3 ± 1.0 vs. 7.7 ± 1.1 min, $P<0.0001$) i t_{TF} (88 ± 14 vs. 60 ± 15 min, $P<0.0001$) były znamienne dłuższe niż u pacjentów z końcowym TIMI-3, wskazując na zmniejszoną podatność skrzepu na liżę u chorych z no-reflow.

t_{TF} korelował z cTFC, fibrynogenem, uszkodzeniem enzymatycznym i redukcją uniesienia odcinka ST (r od 0.43 do 0.54 , $P<0.05$) a odwrotnie korelował z LVEF. $t_{50\%}$ korelował z tymi samymi zmiennymi, niemniej zależności te były nieznacznie słabsze niż dla t_{TF} (r od 0.36 do 0.51 , $P<0.05$). Im lepszy był przepływ wg TIMI ($P<0.0001$) i perfuzja wg TMPG ($P=0.0018$) tym krótszy był czas lizy $t_{50\%}$. Nie znaleziono istotnej zależności pomiędzy $t_{50\%}$ i STR. Podobnie, im lepsza była wartość TIMI ($P<0.0001$) i TMPG ($P=0.0004$) tym krótszy był czas lizy t_{TF} . Z analizy post-hoc wynika, że wartość t_{TF} nie różniła się w podgrupach z TIMI-0/1 i -2 jak również w podgrupach z perfuzją TMPG-2 i -3.

K_s i fibrynogen były niezależnymi czynnikami determinującymi wartość cTFC ($P<0.05$ dla obu) i $\text{TIMI}\leq 2$ po PPCI ($P<0.05$ dla obu, $R^2=0.88$). Ponadto t_{TF} był w sposób niezależny związany z pełną reperfuzyą TMPG-3 (iloraz szans 0.94 , 95% przedział ufności od 0.9 do 1.0 , $P<0.05$). Fibrinogen i K_s były niezależnymi czynnikami determinującymi wystąpienie zjawiska brak reperfuzyi wyrażonego jako TMPG-0/1 ($R^2=0.37$, $P<0.05$).

Prezentowane badanie było pierwszym, które wykazało istotny związek pomiędzy niekorzystnie zmienionymi właściwościami skrzepu fibrynowego a zjawiskiem no-reflow u pacjentów ze STEMI leczonych metodą PPCI. Stwierdziliśmy, że u pacjentów z zaburzeniami zarówno reperfuzyi nasierdziowej jak i tkankowej skrzep fibrynowy składa się z gęstszej sieci

fibryny, która jest bardziej odporna na lizę w porównaniu do tych którzy mają pełną reperfuzję. Wynik ten wskazuje, że zmienione właściwości skrzepu fibrynowego mogą charakteryzować pacjentów o większym ryzyku wystąpienia zjawiska no-reflow, co może pomóc w ich identyfikacji.

Co ciekawe, zależność pomiędzy strukturą/funkcją skrzepu fibrynowego a wystąpieniem zjawiska no-reflow została stwierdzona kilka miesięcy po zawale. W związku z tym nie można tej relacji tłumaczyć typowym dla ostrej fazy MI wzrostem stężenia krążących czynników tj. fibrynogen czy CRP. Ustalenia te potwierdzają hipotezę, że właściwości skrzepu fibrynowego mogą być determinowane przez czynniki genetyczne.

W końcu przepuszczalność skrzepu i stężenie fibrynogenu, ale nie czas lizy niezależnie wpływały na wystąpienie zarówno przepływu $TIMI \leq 2$ jak i zwiększonej wartości cTFC. Co ciekawe te same czynniki pozwalały przewidzieć wystąpienie zjawiska brak reperfuzji tkankowej wyrażonej jako TMPG-0/1.

Podsumowując, nasze wyniki wskazują, że u pacjentów z wywiadem zjawiska no-reflow podczas PPCI można stwierdzić bardziej zwartą strukturę skrzepu fibrynowego o osłabionej podatności na lizę. Zmniejszona przepuszczalność i upośledzona liza skrzepu podczas PPCI może być nowym prozakrzepowym mechanizmem istotnym dla patogenezy zjawiska no-reflow. Prospektywne badanie większej grupy pacjentów poddawanych PPCI umożliwiające analizę właściwości skrzepu fibrynowego w ostrej fazie MI jest konieczne do sprawdzania naszych wyników i ewentualnie określenia klinicznych implikacji dotyczących optymalizacji postępowania przeciwzakrzepowego u pacjentów narażonych na zjawisko no-reflow.

Ad 3.

U 83 pacjentów ze STEMI do 12 godzin od początku objawów leczonych metodą PPCI docelowo otrzymujących terapię przeciwplatekową obejmującą aspirynę i kłopidogrel zmierzono agregację płytek krwi przy przyjęciu i 4 dni później metodą agregometrii optycznej po stymulacji 0.5 mM kwasem arachidonowym (AA) i 5 lub 20 μ M dwufosforanem adenozy (ADP₅ i ADP₂₀). Stężenie agregatów płytkowo-neutrofilowych (PNA) i płytkowo-monocytnych oznaczono cytometrem przepływowym. Parametry laboratoryjne porównano z wielkością przepływu nasierdziowego, uszkodzeniem enzymatycznym, rezolucją uniesienia odcinka ST i wielkością obstrukcji mikrokrążenia w rezonansie magnetycznym (*Zalewski i wsp. Platelet activation and microvascular injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. Kardiologia Pol 2012*).

Rezonans magnetyczny wykonano 2-4 dni po PPCI. Spoczynkową perfuzję zobrazowano techniką pierwszego przejścia kontrastu. Strefę MVO zdefiniowano jako ciemny obszar o upośledzonej penetracji kontrastu znajdujący się w obrębie strefy zawału o wysokiej intensywności sygnału. MVO zmierzono wcześniej (2-5 min) i późno (10-25 min) po podaniu kontrastu i wyrażono jako odsetek strefy zawału.

Przy pierwszym kontakcie medycznym wszyscy pacjenci otrzymali 300 mg aspiryny, 53 (63.9%) otrzymało dawkę ładującą 600 mg kłopidogrelu a 45 (54.2%) dożylny bolus 5000 IU heparyny niefrakcjonowanej. Mediana (rozstęp międzykwartyłowy) czasu od początku bólu do PPCI wyniosła 219 (160, 334) min a mediana czasu od podania kłopidogrelu do pobrania krwi 55 (32, 77) min.

Im dłuższy był czas od podania kłopidogrelu do pobrania krwi tym większe było zahamowanie agregacji zależnej od ADP ($r=-0.3$ i $r=-0.32$ dla ADP₅ i ADP₂₀, odpowiednio, $P<0.05$ dla obu). Mediana agregacji płytek zależnej od AA wynosiła 2.6% przy przyjęciu i nie uległa zmianie do czwartej doby, podczas gdy w tym samym czasie ADP₅ i ADP₂₀ uległy znamiennej zmniejszeniu o odpowiednio 29% i 23% ($P<0.0001$ dla obu). Stężenie PMA nie zmieniło się pomiędzy przyjęciem a dobą 4 a PNA znamienne się obniżyło o 35% ($P=0.005$). Podanie abciximabu podczas PPCI nie wpłynęło ani na liczbę płytek ani na agregację w dobie 4.

Spoczynkowy defekt perfuzji stwierdzono u 56 (67.5%) pacjentów natomiast obecność MVO u 63 (75.9%) pacjentów. Wśród pacjentów z i bez spoczynkowego defektu perfuzji nie było różnicy w wyjściowej agregacji zależnej od AA (2.5 vs. 2.7%, $P=0.80$) i 4 dni później (2.4 vs. 2.0%, $P=0.30$), wyjściowej agregacji zależnej od ADP₅ (73 vs. 69%, $P=0.37$) i od ADP₂₀ (64 vs. 61%, $P=0.49$) oraz 4 dni później (49 vs. 54%, $P=0.34$ dla ADP₅, 48 vs. 52%, $P=0.12$, dla ADP₂₀). Wyjściowo, pacjenci z defektem perfuzji mieli wyższe stężenie PMA (7.0 vs. 4.5%, $P=0.004$) i PNA (4.1 vs. 2.2%, $P=0.016$), niemniej różnice te zmniejszyły się do 4 doby (7.1 vs. 4.6%, $P=0.08$; 2.5 vs. 1.8%, $P=0.14$, odpowiednio). Wyjściowo oznaczona agregacja płytek krwi po stymulacji 5 μ M ADP korelowała ($r=0.37$, $P=0.004$) z obszarem MVO. Ponadto im większe było stężenie PMA ($r=0.31$, $P=0.016$) i PNA ($r=0.34$, $P=0.006$) oraz PMA w 4. dobie ($r=0.35$, $P=0.005$) tym większa była strefa MVO.

Strefa zawału ($\beta=0.43$, 95% CI 0.19-0.67, $P<0.0001$), TIMI<3 po PPCI ($\beta=-0.27$, 95% CI -1.90- -0.11, $P=0.015$) i stężenie PMA w 4 dobie po PPCI ($\beta=0.21$, 95% CI 0.13-1.86, $P=0.032$) niezależnie determinowały wielkość MVO ($R^2=0.60$, $P<0.0001$).

Prezentowane badanie było pierwszym, które pokazało, że u pacjentów ze STEMI leczonym metodą PPCI stopień zahamowania płytek krwi dwom lekami przeciwplatekowymi wpływa na wielkość uszkodzenia mikrokrążenia. Jednoczynnikowa analiza wykazała, że im wyższa wyjściowa agregacja zależna od ADP, wyjściowe stężenie PMA i PNA, jak również stężenie PMA 4 dni po PPCI tym większe MVO, jednak wszystkie te korelacje pozostały co najwyżej umiarkowane.

Istotne zależności jednoczynnikowe zachodzące pomiędzy parametrami płytkowymi i MVO nie zmieniają faktu, że w tym badaniu to wielkość strefy zawału było najsilniej związana z MVO. Obserwacja ta pozostaje w zgodzie z wynikami opublikowanych do tej pory prac, w których obszar MVO był nie tylko skorelowany z wielkością zawału, ale także był niezależnym czynnikiem determinującym wynik kliniczny (Wu KC i wsp. *Circulation* 1998).

Podsumowując, utrzymująca się pomimo dwulekowej terapii przeciwplatekowej nadmierna reaktywność płytek krwi jest związana z większym MVO u pacjentów ze STEMI. Jest to kolejny argument za koniecznością stosowania adekwatnej terapii przeciwplatekowej w tej grupie pacjentów. Potrzebne są dalsze prospektywne badania, w celu określenia docelowej reaktywności płytek podczas podwójnej terapii przeciwplatekowej, która umożliwi zminimalizowanie uszkodzenia mikrokrążenia bez jednoczesnego zwiększania ryzyka krwawienia.

Ad 4.

Przepuszczalność skrzepu fibrynowego (K_s), która wyraża wielkość pora sieci włókien fibryny, zagęszczenie, turbidymetria (lag phase, wskazujący na szybkość tworzenia skrzepu fibrynowego, ΔAbs_{max} , maksymalna absorbancja żelu fibrynowego, wyrażająca grubość włókien fibrynowych), czas lizy ($t_{50\%}$) i maksymalna szybkość uwalniania D-dimerów ze skrzepu ($D-D_{rate}$) jak również ich maksymalne stężenie ($D-D_{max}$) zostały oznaczone 2 do 73 (mediana 14.7) miesiące po wystąpieniu potwierdzonej angiograficznie IST u 47 pacjentów, w tym u 15 ostrej, u 26 podostrej a u 6 późnej (*Undas, Zalewski i wsp. Altered plasma fibrin clot properties are associated with in-stent thrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2010*).

Pacjenci z angiograficznie potwierdzoną IST po przezskórnej interwencji wieńcowej (PCI) z wszczępieniem stentu byli zidentyfikowani retrospektywnie na podstawie dokumentacji szpitalnej i wyniku koronarografii wykonanych w 6 pracowniach hemodynamiki w Polsce w latach 2002 do 2008. Wszyscy pacjenci podejrzani o IST związaną z nieoptymalnym wykonaniem zabiegu lub przerwaniem terapii przeciwplatekowej nie zostali włączeni do badania. Jako grupę kontrolną wybrano 48 pacjentów, którzy nie mieli objawów sugerujących wystąpienie IST, dobranych pod względem wieku, płci, czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego (przebyty MI, cukrzyca, zaburzenia lipidowe, palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, wywiad rodzinny, niewydolność nerek), wskazań do wyjściowej PCI, parametrów angiograficznych (tętnica z IST, jej średnica, TIMI po PCI, częstości dyssekcji nie pokrytej stentem), rodzaju stentu (typu, długości) oraz leczenia towarzyszącego.

K_s i $t_{50\%}$ oznaczono tak jak w poprzedniej pracy (*Zalewski i wsp. ATVB 2007*). Do pomiaru zagęszczenia uformowany ex-vivo skrzep (jak do pomiaru przepuszczalności) poddano wirowaniu 6000g przez 1 minutę. Objętość płynu ewakuowaną podczas wirowania zmierzono na podstawie różnicy w wadze skrzepu (gęstość przyjęto 1.0 g/cm^3). Zagęszczenie obliczono dzieląc odwirowaną objętość przez wyjściową objętość osocza użytą do uformowania skrzepu.

Próbki osocza z buforem rozpoczynały polimeryzację po dodaniu trombiny i chlorku wapnia. Absorbancję odczytywano w spektrofotometrze przy 405 nm przez 15 minut. Na podstawie krzywej turbidymetrycznej zmierzono: i. lag phase, będący czasem potrzebnym protofibrili

fibryny do osiągnięcia długości umożliwiającej boczną agregację i ii. maksymalną absorbancję w fazie plateau ($\Delta\text{Abs}_{\text{max}}$), która odzwierciedla liczbę protofibryli w włóknie.

Utworzony ex-vivo skrzep inkubowano z buforem z rt-PA aby ocenić tempo lizy. Co 20 min mierzono stężenie D-dimerów w efluencie. Maksymalną szybkość przyrostu stężenia D-dimerów (D-D_{rate} , mg/L/min) i maksymalne stężenie D-dimerów (D-D_{max} , mg/L) zmierzono pomiędzy 80 a 100 minutą.

Do pacjentów z IST drobiazgowo dobrano grupę kontrolną. W czasie epizodu IST, samą angioplastykę balonowa wykonano u 27 (57.4%) pacjentów, dodatkowy stent implantowano u 20 (42.6%) z nich a trombektomię aspiracyjną użyto u 14 (29.8%), niemniej jednak dystalną embolizację po PCI odnotowano u 11 (23.4%) pacjentów.

Skrzep pacjentów z IST miał znamienne mniejszą przepuszczalność ($6.0 \pm 0.1.3$ vs. $7.6 \pm 1.0 \times 10^{-9}$ cm², $P < 0.0001$) i mniejsze zagęszczenie (50.1 ± 8.6 vs. $56.8 \pm 7.1\%$, $P < 0.0001$) aniżeli w grupie kontrolnej. K_s miał mniejszą wartość w grupie pacjentów z okluzją tętnicy podczas IST (TIMI-0/1 przed PCI) w porównaniu do pozostałych pacjentów z IST (5.7 ± 1.2 vs. $6.8 \pm 1.3 \times 10^{-9}$ cm², $P = 0.017$). K_s był w sposób odwrotnie proporcjonalny skorelowany z fibrynogenem ($r = -0.51$, $P < 0.001$) i cTFC zmierzonym po PCI podczas epizodu IST ($r = -0.54$, $P < 0.001$).

Porównując z pacjentami kontrolnymi, chorzy z IST mieli krótszy lag phase (40.3 ± 4.1 vs. 42.2 ± 4.8 s, $P = 0.042$) i większą maksymalną absorbancję skrzepu (0.9 ($0.82-0.96$) vs. 0.79 ($0.75-0.83$), $P < 0.0001$).

Pacjenci z IST mieli także 30% dłuższy $t_{50\%}$ 11% mniejsze D-D_{rate} i 32% większe D-D_{max} (dla wszystkich $P < 0.0001$) w porównaniu z grupą kontrolną. Pacjenci z IST, którzy mieli stent implantowany z powodu STEMI mieli dłuższy $t_{50\%}$ (10.3 ± 1.1 vs. 9.0 ± 1.3 min, $P = 0.006$) i większe D-D_{max} (4.4 [4.2 to 4.85] vs. 3.5 [3.35 to 4.6] mg/L, $P < 0.05$) niż kontrolni pacjenci, którzy wyjściowe PCI mieli też wykonane z powodu STEMI. Z czynników opisujących proces fibrynolizy tylko inhibitor aktywatora plazminogenu 1 korelował z D-D_{rate} w grupie pacjentów z IST ($r = 0.52$, $P = 0.002$), ale nie w kontroli. W grupie pacjentów z IST zarówno $t_{50\%}$ jak i D-D_{max} korelowały z fibrynogenem ($r = 0.31$, $P = 0.003$, i $r = 0.5$, $P < 0.001$, odpowiednio) i z cTFC ($r = 0.36$, $P = 0.015$, and $r = 0.34$, $P = 0.024$, odpowiednio).

K_s , zagęszczenie, lag phase, $\Delta\text{Abs}_{\text{max}}$ $t_{50\%}$, D-D_{rate} , D-D_{max} nie korelowały z czasem jaki upłynął od wyjściowej implantacji stentu do chwili IST.

Przed incydemem IST wszyscy pacjenci otrzymywali aspirynę a 43 (91.5%) tienopirydyny. W momencie zakrzepicy wszyscy pacjenci otrzymali 300 do 600 mg klopidoogrelu przed PCI a 34 (72.3%) abciximab. W momencie pobrania krwi do oznaczeń wszyscy przyjmowali aspirynę (75 do 150 mg/d), a 16 pacjentów kontrolnych i 24 z IST także klopidoogrel. Dawka aspiryny i klopidoogrelu nie wpływała na właściwości skrzepu fibrynowego.

Analiza wieloczynnikowa wskazała, że K_s (iloraz szans 0.36 na każde $0.1 \mu\text{m}^2$, $P < 0.001$), D_{rate} (iloraz szans 0.16 na każde 0.01 mg/L/min , $P < 0.001$) i długość stentu (iloraz szans 1.1 na każdy 1 mm, $P = 0.043$) niezależnie determinowały wystąpienie IST ($R^2 = 0.58$, $P < 0.001$).

Badanie to wykazało, że zmienione właściwości skrzepu fibrynowego i jego upośledzoną podatność na lizę można stwierdzić u pacjentów z wywiadem zakrzepicy w stencie. W tej grupie, skrzep fibrynowy powstaje szybciej i ma bardziej zwartą strukturę w porównaniu do pacjentów, którzy nie doświadczyli takiego powikłania. Skrzep pacjentów z przebytą IST jest bardziej odporny na lizę, prawdopodobnie wskutek utrudnionej penetracji leków fibrynolitycznych przez gęstą sieć włókniaka. Wyniki te sugerują, że zmienione właściwości skrzepu fibrynowego mogą charakteryzować pacjentów z wywiadem IST a to z kolei może pomóc w identyfikacji chorych o zwiększonym ryzyku takiego zdarzenia.

Mechanizm pozwalający powiązać fakt wystąpienia IST ze zmienioną strukturą i funkcją skrzepu fibrynowego pozostaje niejasny. Pacjenci z wywiadem IST i kontrolni nie różnili się poziomem fibrynogenu czyli głównego czynnika wpływającego na właściwości skrzepu fibrynowego. U pacjentów z i bez historii IST poziom wysokoczułego białka C-reaktywnego był podobny. Nie znaleziono związku pomiędzy cechami skrzepu fibrynowego a parametrami płytkowymi (P-selektyna, sCD40L) i fibrynolitycznymi (akt t-PA, akt. PAI-1). Co więcej, zmian w funkcji i strukturze skrzepu fibrynowego, u pacjentów kilka miesięcy po epizodzie IST nie można przypisać aktywacji układu krzepnięcia obserwowanej krótko po ostrym niedokrwieniu mięśnia serca. Potencjalnym mechanizmem odpowiedzialnym za różnice w cechach skrzepu fibrynowego może być stres oksydacyjny. Jest prawdopodobne, że czynniki środowiskowe modulując funkcję fibryny i fibrynogenu mogą istotnie wpływać na związane z IST różnice w właściwościach skrzepu fibrynowego.

Co ważne, zmienione właściwości skrzepu osoczowego u pacjentów z IST były widoczne pomimo stosowania aspiryny, która zwiększa przepuszczalność skrzepu i ułatwia jego lizę (Undas i wsp. Blood 2006). Ponieważ wszyscy pacjenci przyjmowali aspirynę, wpływ tej ostatniej nie mógł być oceniony. Ponadto brak danych na temat jakiegokolwiek modulującego wpływu kłopidogrelu w testach na bazie osocza. Tromboelastografia wykonana z próbek pełnej krwi wskazuje na wystąpienie zmian w właściwościach skrzepu fibrynowego pod wpływem kłopidogrelu (*Gurbel PA i wsp. Thromb Res 2007*).

Poszukując czynników związanych ze zwiększonym ryzykiem IST, wykazaliśmy, że zwiększenie wielkości pora fibrynowego o każde $0.1 \mu\text{m}^2$ lub tempa uwalniania D-dimerów o każde $0,01 \text{ mg/L/min}$ były związane z redukcją ryzyka IST od 2,8 do 6,3 razy. Nasze wyniki wskazują, że przepuszczalność skrzepu i szybkość lizy fibryny są najmocniejszymi czynnikami determinującymi wystąpienie IST i mogą być stosowane w dalszych badaniach klinicznych.

Podsumowując, uzyskane wyniki wskazują, że zmienione właściwości skrzepu fibrynowego wiążące się z upośledzoną jego lizą mogą być wykryte u pacjentów z IST. Zmniejszona przepuszczalność i podatność skrzepu na lizę stanowią nowy prozakrzepowy mechanizm,

który może przyczynić się do IST. Potrzebne są dalsze prospektywne badania dotyczące pacjentów poddawanych stentowaniu tętnic wieńcowych aby określić kliniczne znaczenie uzyskanych wyników.

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

* w przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/ prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie

A. Dane bibliometryczne

Mój dorobek obejmuje:

- 35 prac oryginalnych, w tym 26 opublikowanych w czasopismach posiadających *impact factor* (jego sumaryczna wartość = 90,783).
- 1 pracę pogładową
- 3 rozdziały w podręcznikach krajowych
- 1 komentarz redakcyjny
- 4 prace w suplementach czasopism (2 o łącznym *impact factor* = 1,038)
- 72 streszczenia ze zjazdów, w tym 32 ze zjazdów międzynarodowych (pierwszy autor w 24) i 40 krajowych (pierwszy autor w 18).

Całkowita punktacja wskaźników dokonań naukowych (nie zawierająca streszczeń, komentarza redakcyjnego, publikacji pełnotekstowych w suplementach czasopism) wyniosła:

impact factor = 90,783

KBN/MNiSW = 638

IC = 198,21

Liczba cytowań: 300 (wg Web of Science 1945-2014 z dnia 16.01.2014 r.)

Indeks Hirscha: 9 (wg Web of Science 1945-2014 z dnia 16.01.2014 r.)

B. Tematyka prac badawczych

Najważniejszymi tematami moich badań są:

- i) poznanie mechanizmów uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego miokardium i mikrokrążenia podczas świeżego zawału,
- ii) znalezienie wczesnych, przydatnych klinicznie wskaźników świadczących o jego nasileniu (angiograficznych, laboratoryjnych, w rezonansie magnetycznym) oraz
- iii) ocena skuteczności nowych metod farmakologicznych (leki przeciwplatekcyjne i przeciwzkrzepowe) i interwencyjnych (aspiracja skrzepliny, hartowanie reperfuzyjną), które można zastosować przed i podczas mechanicznej reperfuzyjacji po to, aby poprawić wczesny i odległy wynik kliniczny jak również zapobiec upośledzeniu funkcji lewej komory.

Problematyką tą zajmuję się od kilkunastu lat. Wyniki badań prezentowałem podczas krajowych i międzynarodowych konferencji kardiologicznych w postaci wystąpień ustnych i plakatowych.

W jednej z pierwszych prac będących subanalizą wyników badań doświadczalnych wykonanych w modelu zawału u psa (*Żmudka, Zalewski i wsp. Pol J Pharmacol 2001*) zauważyliśmy, że w warunkach blokady układu β -adrenergicznego przy pomocy metoprololu ilość produktów degradacji adenozyliny uwolnionych z miokardium podczas niedokrwienia i reperfuzyjacji korelowała z wielkością strefy zawału i odwrotnie korelowała z obszarem o zachowanej żywotności. Jednocześnie stężenie adenozyliny zmierzonej we krwi tętniczej znamienne korelowało ze strefą niedokrwionego miokardium o zachowanej żywotności i odwrotnie korelowało z obszarem martwicy, co mogłoby wskazywać na ochronne znaczenie endogennie uwolnionej adenozyliny podczas niedokrwienia i reperfuzyjacji.

Poszukując wczesnych wykładników uszkodzenia mikrokrążenia, u kolejnych 272 pacjentów ze STEMI leczonych metodą PPCI oceniliśmy przepływ w tętnicy dozawałowej przed, bezpośrednio po jej udrożnieniu i po 15 min w skalach TIMI i TIMI frame count (*Zalewski i wsp. Int J Cardiol 2004*). Zauważyliśmy, że szybkość przepływu krwi w obu skalach w ciągu pierwszych minut reperfuzyjacji zmniejsza się a stopień pogorszenia przepływu mierzony różnicą w ilości klatek ruchomego obrazu bezpośrednio po udrożnieniu i 15 min później koreluje z rezolucją uniesienia odcinka ST, uszkodzeniem enzymatycznym i wewnątrzszpitalnym wynikiem klinicznym. Podsumowując, stwierdziliśmy, że wzrost wartości skorygowanego TIMI frame count po skutecznym udrożnieniu tętnicy dozawałowej może być wczesnym angiograficznym wykładnikiem uszkodzenia mikrokrążenia. Jednocześnie wykazaliśmy, że stopień reperfuzyjacji miokardium mierzony w skali TIMI myocardial perfusion grade u kolejnych 588 pacjentów ze STEMI poddanych PPCI koreluje z uszkodzeniem

enzymatycznym, rezolucją odcinka ST po 30 min oraz wczesnym i odległym rokowaniem klinicznym (Żmudka, Zalewski i wsp. *Kardiologia Polska* 2004).

Dwa lata później, pokazaliśmy (Żmudka, Zalewski i wsp. *Eurointervention* 2006) że u 202 kolejnych pacjentów ze STEMI leczonych metodą ułatwionej angioplastyki wieńcowej, stężenie N-terminalnego mózgowego czynnika natriuretycznego (NT-proBNP) zmierzone 48 godzin po interwencji korelowało z rezolucją uniesienia odcinka ST zmierzoną 30 min po zabiegu, polem powierzchni pod krzywą uwalniania CK-MB w pierwszych 48 godzinach reperfuzji oraz odwrotnie korelowało z LVEF. Ponadto, im lepszą uzyskano reperfuzję nasierdżiową zmierzoną w skali TIMI lub tkankową w skali TMPG tym niższe było stężenie NT-proBNP. Czwarty, najwyższy kwartyl stężenia NT-proBNP był niezależnym czynnikiem umożliwiającym prognozowanie zgonu lub ponownej hospitalizacji w obserwacji rocznej.

Wiadomo, iż interwencyjne leczenie świeżego zawału serca ma pewne ograniczenia wiążące się głównie z późną prezentacją zawału, brakiem zgody pacjenta lub co już rzadsze obecnie brakiem logistycznych możliwości wykonania interwencji w wymaganym oknie czasowym. Niewiele wiadomo na temat wyników zachowawczego postępowania w grupie pacjentów pierwotnie zdyskwalifikowanych od interwencji w ostrym zawałe, dlatego postanowiliśmy zbadać to zagadnienie (Zalewski i wsp. *Post Kardiol Interw* 2010;3, Zalewski i wsp. *Post Kardiol Interw* 2010;4). W 2005 roku lekarze 20 szpitali oraz zespołów pogotowienia ratunkowego zgłosili 1604 pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym do pracowni hemodynamiki w Krakowskim Szpitalu Specjalistycznym im. Jana Pawła II. Analizie poddano dane 526 (33.8%) pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia ST (NSTACS) i 1031 (66.3%) pacjentów ze STEMI. Do leczenia zachowawczego, na podstawie obowiązujących w 2005 roku wytycznych, pierwotnie zakwalifikowano 335 pacjentów z NSTACS (63.7%) i 194 ze STEMI (18.8%). W grupie NSTACS najczęstszym powodem dyskwalifikacji od interwencji było niskie ryzyko według skali TIMI risk score <4 a w grupie ze STEMI czas od początku dolegliwości powyżej 12 godzin. Śmiertelność 30-dniowa wśród pacjentów ze STEMI pierwotnie leczonych interwencyjnie lub zachowawczo wyniosła odpowiednio 9,0% i 13,9% ($P=0.037$) a wiek pacjenta i strategia zachowawcza były niezależnymi czynnikami wystąpienia zgonu do 30. dnia w tej populacji. Z kolei śmiertelność 30-dniowa wśród pacjentów z NSTACS pierwotnie leczonych interwencyjnie lub zachowawczo wyniosła odpowiednio 6,0% i 10,5% ($P=0.061$). Podczas wyjściowej hospitalizacji u 8,1% pacjentów leczonych zachowawczo i 3,7% leczonych inwazyjnie rozwinęły się objawy niewydolności serca ($P<0.05$). W grupie pacjentów zarówno ze STEMI jak i z NSTACS pierwotnie leczonych zachowawczo objawy niewydolności serca podczas wyjściowej hospitalizacji w sposób niezależny zwiększały 30-dniową śmiertelność. Obecnie odsetek pacjentów, szczególnie z NSTACS, pierwotnie dyskwalifikowanych od leczenia interwencyjnego znacznie się zmniejszył, głównie dzięki większej dostępności do leczenia interwencyjnego oraz mocnym dowodom klinicznym, że taka strategia przynosi korzyść kliniczną.

Bezwłoczna reperfuzja jest kluczem do sukcesu w leczeniu zawału. Aby mogła ona nastąpić jak najwcześniej, zaproponowano koncepcję ułatwionej angioplastyki polegającą na podaniu fibrynolizy, inhibitora płytkowej glikoproteiny IIb/IIIa lub obu jednocześnie jak najwcześniej przed interwencją. Pomimo, iż terapia ta znamienne przyspiesza udrożnienie tętnicy dożawałowej nie wiąże się ona z poprawą rokowania klinicznego. Przyczyny tej nieoczekiwanej nieskuteczności nie zostały wyjaśnione. Z tego powodu przeprowadziliśmy szczegółową analizę angiografii pacjentów leczonych metodą pierwotnej lub ułatwionej pełną dawką tenekteplazy angioplastyki w badaniu ASSENT-4 PCI (*Zalewski i wsp. JACC 2011*). Porównano ładunek skrzepliny wewnątrzwieńcowej ze stopniem reperfuzji i wynikiem klinicznym w obu grupach. Skrzeplina wewnątrzwieńcowa oceniona w skali TIMI thrombus grade ≥ 2 i/lub dystalna embolizacja i/lub zwolniony przepływ nasierdziowy wyrażające ładunek skrzepliny wystąpiły częściej (19.7% vs. 13.4%, $P=0.002$) u pacjentów poddanych ułatwionej angioplastyce pomimo większej wyjściowej drożności tętnicy dożawałowej w tej grupie (73.7% vs. 33.4%, $P<0.001$). Analiza wieloczynnikowa wykazała, iż ułatwiona angioplastyka jak również ładunek skrzepliny wewnątrzwieńcowej w sposób niezależny determinowały śmiertelność po 90 dniach. Podsumowując, ułatwionej angioplastyce towarzyszyła większa drożność tętnicy dożawałowej ale także większy ładunek wewnątrzwieńcowej skrzepliny, który z kolei wiązał się z gorszą reperfuzją tkankową i gorszym wynikiem klinicznym.

Inne tematy, w opracowaniu których aktywnie uczestniczyłem dotyczyły:

1. Wpływu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 (*n-3 polyunsaturated fatty acid*, n-3 PUFA) na profil osoczowych adipokin u pacjentów ze stabilną dławicą piersiową poddanych przezskórnej interwencji wieńcowej (*Mostowik M i wsp. Cardiovasc Drugs Ther. 2013*). Wykazaliśmy, że suplementacja n-3 PUFA poprawia profil krążących adipokin, co może być kolejnym mechanizmem związanym z ich korzystnym działaniem.
2. Oceny przepuszczalności skrzepu fibrynowego i jego podatności na lizę u pacjentów z cukrzycą i chorobą niedokrwienną serca (*Bochenek M i wsp. J Thromb Thrombolysis. 2013*). Okazało się, że cukrzyca nasila niekorzystne właściwości skrzepu fibrynowego już i tak nieprawidłowe wśród pacjentów z chorobą niedokrwienną serca. Ponadto zauważyliśmy, że czynniki płytkowe i śródbłonkowe modyfikują właściwości skrzepu fibrynowego u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca i cukrzycą.
3. Analizy czy n-3 PUFA są zdolne modyfikować odpowiedź płytek krwi na kłopidogrel u pacjentów z polimorfizmem CYP2C19 o typie utraty funkcji, którzy zostali poddani przezskórnej interwencji wieńcowej. (*Gajos G i wsp. Kardiol Pol. 2012*). Okazało się, że n-3 PUFA znamienne poprawiają odpowiedź płytek krwi na kłopidogrel w tej grupie pacjentów.

4. Wpływu n-3 PUFA na właściwości skrzepu fibrynowego i generację trombiny u pacjentów ze stabilną dławicą piersiową poddanych przezskórnej interwencji wieńcowej (*Gajos G i wsp. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2011*). Dodanie n-3 PUFA do standardowej terapii wiązało się ze znamionym zmniejszeniem generacji trombiny, stresu oksydacyjnego i poprawiało właściwości skrzepu fibrynowego w czym można upatrywać przeciwwzkrzepowych efektów n-3 PUFA.
5. Wpływu statyn podanych przed interwencją na generację trombiny i aktywację płytek krwi wśród pacjentów z zawałem z uniesieniem odcinka ST (*Pastuszczak M i wsp. Thromb Res. 2010*). Okazało się, że podanie simwastatyny przed interwencją wiązało się z mniejszą generacją trombiny i mniejszą aktywacją płytek krwi.
6. Oceny właściwości skrzepu fibrynowego i ich determinant u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym (*Undas A i wsp. Atherosclerosis 2008*). W porównaniu z pacjentami ze stabilną dławicą piersiową, pacjenci z ostrym zespołem wieńcowym mieli tendencję do formowania skrzepów o gęstszej siatce włókien fibrynowych, bardziej opornych na lizę. Cechy te były w sposób niezależny zdeterminowane przez stężenie CRP i stres oksydacyjny.

Jarosław Kalenki