

lek. Aleksandra Gąsecka-van der Pol

**„Płytkowe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe a stosowanie
antagonistów receptora P2Y12 w ostrym zawale serca”**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: **prof. zw. dr hab. med. Krzysztof J. Filipiak**

Promotor pomocniczy: **dr n. med. Monika Budnik**

I Katedra i Klinika Kardiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2019

2. STRESZCZENIE

Wprowadzenie: Aktywacja płytek krwi i formowanie zakrzepu na pękniętej blaszce miażdżycowej są kluczowymi wydarzeniami w patogenezie ostrego zawału serca (ang. *acute myocardial infarction*, AMI). Płytkowe receptory P2Y1 i P2Y12 odgrywają istotną rolę w procesie aktywacji i agregacji płytek krwi. Podczas gdy antagoniści receptora P2Y1 pozostają na etapie badań przedklinicznych, antagoniści receptora P2Y12 są powszechnie stosowani w prewencji wtórnej powikłań niedokrwiennych u pacjentów z AMI leczonych przezskórną angioplastyką wieńcową (ang. *percutaneous coronary intervention*, PCI). Nowy i silniejszy antagonist receptoru P2Y12, tikagrelor, obniża śmiertelność w porównaniu z kłopidogrelem, poprzednim standardem terapeutycznym u pacjentów z AMI. Patofizjologiczny mechanizm lepszego rokowania u pacjentów leczonych tikagrelorem pozostaje niejasny. Z aktywowanych w przebiegu AMI płytek krwi uwalniane są płytkowe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (ang. *extracellular vesicles*, EVs) o właściwościach prozapalnych i prozakrzepowych. Pracę oparto o następujące hipotezy badawcze: (i) inhibicja receptora P2Y1 i P2Y12 ma wpływ na uwalnianie EVs oraz (ii) nowy i silniejszy antagonist receptoru P2Y12, tikagrelor, obniża stężenie EVs w porównaniu z kłopidogrelem, poprzednim standardem terapeutycznym u chorych z AMI.

Cel pracy: Celem poniższego badania była ocena wpływu inhibicji receptorów P2Y1 i P2Y12 na reaktywność płytek krwi, uwalnianie EVs i aktywność prokoagulacyjną EVs w osoczu zdrowych ochotników (część eksperymentalna) i pacjentów z AMI leczonych PCI (część kliniczna).

Metodyka: Część doświadczalna to seria eksperymentów laboratoryjnych przeprowadzonych w osoczu bogatopłytkowym uzyskanym od 10 zdrowych ochotników. Po inkubacji z antagonistą receptora P2Y1 (MRS2179; 100 μ M), antagonistą receptora P2Y12 (tikagrelor; 1 μ M) i połączeniem obu antagonistów, płytki krwi były aktywowane adenozynodifosforanem (ADP; 10 μ M). Część kliniczna to randomizowane badanie porównujące wpływ tikagreloru i kłopidogrelu na stężenie EVs u 60 pacjentów z AMI leczonych PCI. W części klinicznej, krew żylna została pobrana trzykrotnie: przed randomizacją, po 72 godzinach leczenia oraz po 6 miesiącach leczenia. W obu częściach badania reaktywność płytek krwi oceniono z użyciem agregometrii impedancyjnej. Stężenie EVs z aktywowanych płytek krwi (CD61⁺, CD62p⁺), eksponujących fibrynogen, eksponujących fosfatydyloserynę (PS⁺), z leukocytów (CD45⁺), komórek śródbłonna (CD31⁺, 146⁺) i erytrocytów (CD235a⁺) oceniono przy pomocy cytometrii

przepływowej. Aktywność prokoagulacyjną EVs zbadano z użyciem testu generowania fibryny.

Wyniki: W osoczu zdrowych ochotników, agregacja indukowana ADP była zmniejszona o 73% przez antagonistę P2Y1, o 86% przez antagonistę P2Y12 i o 95% w obecności obu antagonistów ($p < 0,001$). Uwalnianie EV z płytek krwi było zmniejszone o 48% jedynie w obecności obu antagonistów ($p = 0,015$). Uwalnianie EVs z aktywowanych płytek krwi było zmniejszone o 62% przez antagonistę P2Y12 ($p = 0,035$) oraz o 72% przez obu antagonistów ($p = 0,022$). EVs promowały krzepnięcie w obecności czynnika tkankowego.

W osoczu pacjentów, stężenie EVs z aktywowanych płytek krwi, eksponujących fibrynogen, eksponujących PS, EVs z leukocytów i erytrocytów wzrosło 6 miesięcy po AMI, w porównaniu do ostrej fazy AMI ($p \leq 0,03$). Agregacja indukowana ADP była niższa u pacjentów otrzymujących tikagrelor w porównaniu z pacjentami otrzymującymi kłopidogrel po 72 godzinach i 6 miesiącach leczenia ($p \leq 0,01$). Stężenie EVs z aktywowanych płytek krwi było niższe w przypadku tikagreloru w porównaniu do kłopidogrelu po 6 miesiącach leczenia ($p = 0,03$). Stężenia EV eksponujących fibrynogen, eksponujących PS oraz EVs z leukocytów były niższe w przypadku tikagreloru w porównaniu do kłopidogrelu zarówno po 72 godzinach, jak i po 6 miesiącach leczenia ($p \leq 0,03$). Stężenie EVs z komórek śródbłonna i aktywność prokoagulacyjna EV nie różniły się pomiędzy grupami oraz w różnych punktach czasowych ($p \geq 0,17$).

Wnioski: Inhibicja receptora P2Y1 i P2Y12 wpływa na uwalnianie różnych subpopulacji EVs z płytek krwi. Antagonista receptora P2Y12 tikagrelor obniża uwalnianie EVs z aktywowanych płytek krwi u zdrowych ochotników w porównaniu z antagonistą receptora P2Y1, a także zmniejsza wzrost osoczowego stężenia EVs u pacjentów po AMI w porównaniu z kłopidogrelem. Obniżenie stężenia prozapalnych i prozakrzepowych EVs może częściowo wyjaśniać lepsze rokowanie obserwowane u pacjentów leczonych tikagrelorem. Jednocześnie, ciągle uwalnianie EVs pomimo leczenia przeciwplatekowego może przyczyniać się do występowania nawracających zdarzeń niedokrwiennych po AMI.

lek. Aleksandra Gasecka
3166606

dr n. med. Monika Budnik
SPECJALISTA KARDIOLOG
2535393

Prof. dr hab. n. med.
KRZYSZTOF J. FILIPIAK
specjalista chorób wewnętrznych
specjalista hipertensjologii
farmakolog kliniczny
KARDIOLOG
9714796