

## Streszczenie

W ostrych zespołach wieńcowych ( ACS ) dochodzi do upośledzonego przepływu krwi przez tętnice wieńcowe, co w konsekwencji prowadzi do niedokrwienia mięśnia serca i zagrożenia życia pacjenta. W przebiegu ACS występują zaburzenia hemostazy płytkowej, a następnie osoczowej. Aktywowane płytki krwi pełnią kluczową rolę w patomechanizmach formowania się skrzepin w tętniczym łożysku naczyniowym. Najczęściej stosowaną metodą leczenia ostrego zespołu wieńcowego jest angioplastyka tętnicy wieńcowej z implantacją stentu. Komplementarnym leczeniem jest użycie podwójnej terapii przeciwplatek. Zastosowanie aspiryny i kłopidogrelu prowadzi do silnej, definitywnej inhibicji odpowiednio COX-1 i receptora P2Y<sub>12</sub> płytek krwi upośledzając ich zdolność do agregacji. Efekt kliniczny leczenia wyraża się w redukcji ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawału, udaru mózgu oraz zakrzepicy w stencie. Mimo wysokiej skuteczności leczenia wciąż jednak obserwuje się zwiększoną reaktywnością płytek pomimo leczenia kłopidogrelem ( HPR ). Tzw. fenomen „oporności” na kłopidogrel może nieść za sobą poważne konsekwencje kliniczne. U pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym stwierdzona w testach laboratoryjnych HPR jest czynnikiem ryzyka wystąpienia zawału mięśnia serca, zakrzepicy w stencie oraz zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych. Przyjmuje się, że zjawisko to wynika, między innymi, z genetycznie uwarunkowanego upośledzenia metabolizmu kłopidogrelu. Mutacje i polimorfizmy genu CYP2C19 i ABCB1 są opisywane w literaturze jako istotnie wpływające na wchłanianie i aktywację tego leku, co skutkuje niepełną odpowiedzią na leczenie.

Celem pracy było określenie częstości występowania polimorfizmów CYP2C19 i ABCB1 oraz ocena ich wpływu na parametry agregacji płytek w grupie pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym ( ACS ) leczonych angioplastyką wieńcową z implantacją stentu. Podjęta została również próba oceny wpływu innych czynników ryzyka HPR oraz parametrów morfotycznych płytek krwi na reaktywność płytek krwi w tej grupie pacjentów.

Badaniem objęto 188 chorych, którzy byli hospitalizowani w Klinice Kardiologii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu z powodu ostrego zespołu wieńcowego. Do badania włączono 131 mężczyzn i 57 kobiet. Wszyscy pacjenci byli poddani PCI z implantacją stentu i leczeni w sposób typowy z użyciem kłopidogrelu i aspiryny. W analizowanej grupie wykonano testy genetyczne krwi określające mutacje i polimorfizmy

genetyczne CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 oraz ABCB1. Równolegle u osób poddanych badaniu wykonano pomiary reaktywności płytek za pomocą agregometru świetlnego przy użyciu różnych stężeń ADP. Chorych podzielono na grupy w zależności od genotypu, ale także pod względem wieku, płci, BMI, cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, funkcji nerek, hipercholesterolemii, nikotynizmu oraz podstawowych parametrów morfotycznych płytek krwi.

W oparciu o przeprowadzone badania określono częstość występowania polimorfizmów w zakresie genów CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 i ABCB1 w badanej populacji. Wyniki pracy wskazują, że występowanie allelu \*2 w proporcjach ( \*1/\*1 - 74%, \*1/\*2 - 24%, \*2/\*2 - 2% ) jest zbliżone do danych europejskich ( 72%, 25%, 2% ), a także jest zgodne z nielicznymi doniesieniami opisującymi genotypy mieszkańców Polski ( 80%, 18%, 2% ). W badanej populacji nie zarejestrowano ani jednej mutacji CYP2C19\*3. Analizując penetrację allelu \*17 stwierdzono następujący rozkład genotypów: \*1/\*1 – 54 %, \*1/\*17 – 41 %, \*17/\*17 – 5 %, co jest zbliżone z profilem rozkładu w populacji niemieckiej ( 58%, 36%, 5% ). Polimorfizm genu ABCB1 w badanej w niniejszej pracy populacji przedstawiał się w następującej proporcji : CC 16 %, CT 58 %, TT 26 %. Osiągnięte wyniki wpisują się w ogólne wyniki dla populacji europejskiej : odpowiednio CC 23%, CT 50%, TT 26% i polskiej CC 28 %, CT 51 %, TT 21 %.

W oparciu o przeprowadzone analizy genetyczne oceniano również wpływ badanych polimorfizmów na reaktywność płytek krwi. Podczas ich stymulacji za pomocą 10  $\mu\text{mol/l}$  roztworu ADP, wykorzystując metodę agregometrii świetlnej, wykazano istotne różnice w agregacji pomiędzy homozygotami dzikimi a heterozygotami CYP2C19\*2 (  $0,43 \pm 0,09$  vs  $0,47 \pm 0,08$ ,  $p=0,018$  ). Nie wykazano przy tym istotnego wpływu polimorfizmów CYP2C19\*17 i ABCB1 na reaktywność płytek ocenianą w LTA, bez względu na stężenie zastosowanego ADP. Stosując podział na fenotypy metaboliczne PM, IM i RM ( poor, intermediate, rapid metabolizers ) wykazano znamienne różnice w średniej agregacji płytek krwi pomiędzy PM i IM dla obu stężeń agonisty ( 5  $\mu\text{mol/l}$  ADP:  $0,44 \pm 0,09$  vs  $0,38 \pm 0,08$ ;  $p=0,02$  ) ( 10  $\mu\text{mol/l}$  ADP;  $0,48 \pm 0,08$  vs  $0,42 \pm 0,08$ ;  $p=0,015$  ).

Podczas analizy podgrup uwzględniających czynniki ryzyka HPR nie stwierdzono istotnego statystycznie wpływu wieku, płci, cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, hipercholesterolemii oraz funkcji nerek na parametry agregacji płytek w czasie leczenia kłopidogrelem. Istotność statystyczną wykazano w kontekście zmian reaktywności płytek krwi pod wpływem stymulacji 10  $\mu\text{mol/l}$  ADP roztworem ADP w

odniesieniu do wartości BMI (  $p=0,024$  ). Pacjenci z większym BMI wykazywali słabszą inhibicję płytkową. Nie wykazano związku statystycznego między agregacją płytek a MPV i PLT.

W przedstawionej pracy stwierdzono, że w grupie chorych z ACS leczonych angioplastyką z użyciem stentu istotny wpływ na zwiększoną reaktywność płytek krwi pomimo leczenia kłopidogrelem należy wiązać z obecnością allelu CYP2C19\*2. Istnienie tego polimorfizmu okazało się niezależnym czynnikiem wystąpienia HPR we wczesnym okresie po incydencie ACS w czasie terapii kłopidogrelem. Dodatkowo zwiększoną reaktywność płytek krwi pomimo leczenia kłopidogrelem można wiązać z wyższym BMI. Nie dowiedziono wpływu pozostałych badanych polimorfizmów CYP2C19 i ABCB1 na HPR ocenianą za pomocą LTA. W grupie chorych z ACS leczonych angioplastyką z implantacją stentu nie wykazano również istotnego statystycznie związku pomiędzy czynnikami ryzyka HPR oraz PLT i MPV a reaktywnością płytek krwi.