

Aktywność antytrombiny jako modulator właściwości sieci fibryny u pacjentów z niedoborami antytrombiny: wpływ glikacji i oksydacji

Antytrombina (AT) jest najważniejszym ludzkim endogennym antykoagulantem, który inaktywuje trombinę i aktywowany czynnik X. Niedobór AT występujący u około 0,17% populacji europejskiej, przeważnie dziedziczony autosomalnie dominująco (jednogenowo), wiąże się z 14-krotnie wyższym ryzykiem wystąpienia żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej (ŻChZZ). U około 65% pacjentów z dziedzicznym niedoborem AT rozwija się zakrzepica. Dlatego tak ważne jest poszukiwanie patomechanizmów prowadzących do wystąpienia tendencji prozakrzepowych związanych z niedoborem AT.

Częstość występowania zakrzepicy u pacjentów z niedoborem AT wzrasta w obecności dodatkowych czynników ryzyka, takich jak mutacje określonych białek układu krzepnięcia oraz może być indukowana przez czynniki, które zwykle nie prowadzą do powstawania zakrzepów, takie jak: niewielkie urazy, zabiegi chirurgiczne lub ciąża. Ostatnio przeprowadzone badanie kliniczne (MEGA study) wykazało, że nawet łagodny niedobór AT wiąże się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia nawrotów ŻChZZ. Dziedziczny niedobór AT można podzielić na dwa typy: typ I charakteryzujący się niskim poziomem AT (około 50%) we krwi o obniżonej aktywności (około 50%) oraz niedobór AT typu II z prawidłowym poziomem antygeny, ale zmniejszoną aktywnością. Dostępne są koncentraty AT izolowanej z ludzkiego osocza, które wykorzystywane są w różnych stanach klinicznych, np. u pacjentów z niedoborem AT przed zabiegiem chirurgicznym. Jednak właściwe stosowanie tego rodzaju terapii zastępczej nie zostało do końca zbadane. Ponieważ AT jest głównym inhibitorem trombiny, wpływa ona istotnie na strukturę skrzepu fibrynowego. Wiadomo, że skrzepy wytworzone w obecności wysokich stężeń trombiny są bardziej zwarte i odporne na lizę z powodu ograniczonego dostępu do wnętrza skrzepu enzymów fibrynolitycznych. Taki prozakrzepowy fenotyp skrzepu jest znanym czynnikiem ryzyka rozwoju zakrzepicy. Główna hipoteza badania zakłada, że niedobór AT wiąże się z niekorzystnie zmodyfikowanymi właściwościami skrzepu fibrynowego. Zatem celem badania jest kompleksowa ocena cech skrzepu fibrynowego, w tym badanie składu białkowego skrzepu, potencjału do generacji trombiny i wykonanie badań tromboelastograficznych u pacjentów z rozpoznaniem niedoborem AT. Kolejnym celem projektu jest wyjaśnienie na modelach *in vitro* czy normalizacja aktywności AT przy użyciu oczyszczonego białka dodanego do osocza pacjenta z niedoborem AT poprawia właściwości sieci fibryny u pacjentów z niedoborem AT. Nie wiadomo również, czy skrzepy wytworzone z osocza krwi pacjentów z obniżoną aktywnością AT (niedobór AT II typu) charakteryzują się podobnymi właściwościami co skrzepy wytworzone z osocza krwi pacjentów z obniżoną aktywnością, jak i poziomem antygeny AT (niedobór AT I typu). Ponadto, projekt ten ma na celu zbadanie wpływu posttranslacyjnych modyfikacji cząsteczki AT, takich jak glikacja czy stres oksydacyjny na fenotyp skrzepu fibrynowego. W tym celu rekombinowana ludzka AT zostanie poddana powyższym modyfikacjom i wprowadzona do osocza pozbawionego AT, jak również badany będzie stosunek aktywność/antygen AT u pacjentów z cukrzycą typu 2 i zaawansowaną miażdżycą tętnic w kontekście oceny wpływu na właściwości fibryny. Wraz z analizą najważniejszych właściwości skrzepu fibrynowego, w tym: porowatości fibryny i jej podatności na lizę, generacji trombiny, analizy skanów skrzepów przy pomocy skaningowej mikroskopii elektronowej czy mikroskopii konfokalnej i dodatkowych parametrów wpływających na parametry skrzepu, np. profilu lipidowego osocza, osoczowych stężeń plazminogenu, antyplazminy, będziemy wykonywać zaawansowane badania *in vitro*, testując wpływ modyfikacji cząsteczek AT na cechy skrzepu.

Projekt ten porusza istotne kwestie dotyczące zdrowia ludzkiego. Nie wiadomo bowiem, czy prozakrzepowy fenotyp skrzepu fibrynowego charakteryzuje pacjentów z niedoborem AT oraz czy normalizacja aktywności AT w osoczu pacjenta z deficytem tego białka może przywracać właściwości skrzepu fibrynowego do wartości obserwowanych u osób zdrowych. Brak jest danych dotyczących wpływu dziedziczonych niedoborów AT lub posttranslacyjnych modyfikacji AT, takich jak glikacja i oksydacja na strukturę i czynność skrzepu fibrynowego. Projekt ten pomagając zrozumieć patomechanizmy zmian prozakrzepowych związanych z niedoborem AT, może przyczynić się do odpowiedniego wykorzystania koncentratów AT, co ma potencjalne implikacje kliniczne.