

Wpływ lipoprotein na fibrylizę i plejotropowe działanie inhibitorów proproteinowej konwertazy subtylizyny/keksyny typu 9 (PCSK9) w stenozie aortalnej - powiązania ze stanem zapalnym i hemostazą

Stenoza aortalna (SA) jest najczęstszą przyczyną nabytej wady zastawkowej serca u osób powyżej 65 roku życia, bez dostępnego leczenia farmakologicznego w celu zahamowania progresji choroby. Niestety, ze względu na podeszły wiek pacjentów śmiertelność z różnych przyczyn jest bardzo wysoka. SA jest aktywnym procesem zapalnym zachodzącym w odpowiedzi na uszkodzenie śródbłonna. Zarówno stan zapalny, jak i aktywacja układu krzepnięcia są zaangażowane w rozwój i progresję SA. Nasze badania wskazują, że stopień zaawansowania SA związany jest z ekspresją czynnika tkankowego (TF). Najwyższą ekspresję TF stwierdzono w okolicy złożeń tłuszczowo-wapniowych czemu towarzyszyła duża infiltracja makrofagów. Ponadto, stwierdziliśmy dodatnią korelację między nasileniem zastawkowej ekspresji TF a poziomem lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) oraz ekspresją zastawkowego TF ze stężeniami TF we krwi obwodowej, co wspiera hipotezę że hipercholesterolemia prowadzi do aktywacji procesów zapalnych i aktywacji układu krzepnięcia. Wykazaliśmy również, że upośledzona fibrylizacja u pacjentów z SA była związana ze zwiększoną ekspresją fibryny i głównego inhibitora fibrylizacji (PAI-1), a także ze stopniem zwapnienia zastawki i progresją choroby. Jednak rola układu krzepnięcia i fibrylizacji w zwapnieniu zastawek aortalnych nie została jeszcze w pełni wyjaśniona. Ponadto, coraz więcej danych wskazuje, że poziom lipoprotein i ich utlenionych form jest związany ze stopniem nasilenia zapalenia oraz przebudową tkanek w SA. Pomimo nielicznych badań dotyczących związków między lipoproteiną (a) [Lp(a)] a rozwojem i postępem SA, mechanizmy działania Lp(a) w promowaniu mineralizacji płatków zastawki są nadal słabo poznane. Lp(a) ma właściwości prozakrzepowe i proaterogenne, a jego struktura jest wysoce homologiczna z plazminogenem - głównym białkiem fibrynolitycznym. Konkurencja między apo(a) a plazminogenem o miejsca wiązania sugeruje, że Lp(a) jest zdolna do hamowania fibrylizacji i promowania krzepnięcia. Wykazano, że leczenie hipolipemizujące statynami nie zmniejsza tempa progresji SA. Jednak badania kliniczne nad inhibitorami konwertazy proproteinowej subtylizyny/keksyny typu 9 (PCSK9) wykazały, że leczenie to znacząco obniża poziom cholesterolu LDL, a także poziom Lp(a) i podwyższa poziom cholesterolu HDL u pacjentów z hipercholesterolemią. Co ciekawe, niedawna analiza randomizowanego badania klinicznego *FOURIER* (Further Cardiovascular Outcomes Research With PCSK9 Inhibition in Subjects With Elevated Risk) wykazała, że długotrwałe leczenie ewolokumabem zmniejsza częstość występowania SA w porównaniu z placebo. Ponadto, badania *in loco* wykazały, że zastawkowa ekspresja PCSK9 była obecna zarówno w zwapnionych, jak i niezwapnionych płatkach zastawki aortalnej, podczas gdy zwapnione charakteryzowały się istotnie wyższym poziomem PCSK9. Ostatnio zasugerowano, że inhibitory PCSK9 poza działaniem obniżającym poziom lipidów mogą wykazywać plejotropowe działanie na hemostazę i stan zapalny. Stawiamy hipotezę, że wysokie poziomy lipidów we krwi krążącej prowadzą nie tylko do nasilenia zapalenia i aktywacji układu krzepnięcia, ale także upośledzają fibrylizację, które razem napędzają przebudowę tkanki. Ponadto przypuszczamy, że hamowanie PCSK9 może być związane z osłabionym uwalnianiem czynników prozapalnych i zmniejszoną aktywacją kaskady krzepnięcia w SA.

Celem prezentowanego projektu jest wielokierunkowa ocena wpływu Lp(a) i LDL na stan zapalny oraz aktywację układu krzepnięcia i fibrylizacji (1) we krwi obwodowej pacjentów z SA, (2) *in loco* w obrębie stenotycznych zastawek i (3) w hodowlach *in vitro* zastawkowych komórek śródmiąższowych (VICs) wraz z badaniem mechanistycznym inhibitorów PCSK9, w celu wyjaśnienia ich potencjalnych korzyści i efektów plejotropowych. Postulowana hipoteza badawcza zostanie zweryfikowana przy użyciu szeregu metod, takich jak czas lizy skrzepu, immunofluorescencja, hodowle *in vitro*, mikrotomografia komputerowa, analiza proteomiczna i genetyczna oraz testy ELISA. Do badania zostanie włączonych 100 pacjentów (50 pacjentów z hipercholesterolemią i 50 pacjentów z prawidłowym profilem lipidowym) z rozpoznaną izolowaną SA poddawanych wymianie zastawki aortalnej. Stenotyczne zastawki uzyskane podczas zabiegu wymiany zastawki aortalnej posłużą jako źródło komórek do hodowli *in vitro*, w tym eksperymentów mechanistycznych. Zdrowe zastawki od dawców autopsyjnych będą stanowić kontrolę w badaniach nad ekspresją markerów zastawkowych.

Naszym zdaniem weryfikacja postulowanych hipotez może pozwolić lepiej zrozumieć patobiologię SA, a tym samym uzasadnić zastosowanie inhibitorów PCSK9 jako leków opóźniających wapnienie zastawek u pacjentów z SA i z wysokim poziomem krążących lipidów.