

lek. Karolina Gumiężna

**Fracja niedojrzałych płytek krwi oraz płytkowe mikroRNA
w ocenie rokowania oraz odpowiedzi na leczenie przeciwplatekowe
w ostrych zespołach wieńcowych:
prospektywne badanie kohortowe**

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

Promotor: dr hab. n. med. i n. o zdr. Mariusz Tomaniak

I Katedra i Klinika Kardiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Marcin Grabowski



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2024 r.

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wprowadzenie: Ostre zespoły wieńcowe (*acute coronary syndromes*, ACS) stanowią poważny problem zdrowotny na całym świecie, zasługujący na szczególną uwagę. Jednym z kluczowych elementów patofizjologii ACS są płytki krwi. W związku z tym terapia skoncentrowana na inhibicję ich działania stanowi podstawę leczenia w tej grupie pacjentów. Pomimo postępów w rozumieniu fizjologii płytek krwi i rozwoju leków przeciwplatek, wciąż istnieje szereg luk w dowodach naukowych dotyczących optymalnego podejścia do czasu trwania i doboru leków w terapii przeciwplatekowej u pacjentów z ACS. Wobec zróżnicowanej odpowiedzi pacjentów na stosowane leczenie mające na celu zapobieganie powikłaniom zakrzepowo-zatorowym, jednocześnie wiążąc się z ryzykiem powikłań krwotocznych, podkreślana jest potrzeba indywidualizacji strategii leczenia. Obecne wytyczne Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (*European Society of Cardiology*, ESC) dostrzegają to wyzwanie, sugerując zastosowanie ogólnych skal oceny ryzyka wystąpienia zdarzeń zakrzepowo-zatorowych i krwotocznych. Aktualnie, rutynowa ocena funkcji płytek krwi nie jest rekomendowana u wszystkich pacjentów poddawanych przezskórnym interwencjom wieńcowym (*percutaneous coronary intervention*, PCI). Planując farmakoterapię można ją jednak rozważyć w zależności od profilu ryzyka i dostępności testów (zalecenie ESC klasy IIb, poziom dowodów naukowych A).

Prezentowana praca miała na celu ocenę roli dwóch obiecujących markerów – frakcji niedojrzałych płytek krwi (*immature platelet fraction*, IPF) i wybranych płytkopochodnych mikroRNA (*microRNA*, miR) – w ocenie rokowania oraz odpowiedzi na leczenie przeciwplatekowe w ACS. IPF jest jednym ze wskaźników używanych do reprezentacji ilości niedojrzałych płytek krwi (*reticulated platelets*, RPs) i wyraża ich odsetek w całej populacji płytek krwi w procentach. Ze względu na większą reaktywność RPs, podejrzewa się, że IPF może być użyteczna w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego i monitorowaniu terapii przeciwplatekowej. Wgląd w interakcję pomiędzy IPF a terapią przeciwplatekową może stworzyć szansę na udoskonalenie strategii leczenia i poprawę jego wyników u pacjentów z ACS. MiR to krótkie, niekodujące cząsteczki RNA, które odgrywają kluczową rolę w potranskrypcyjnej regulacji genów. MiR pochodzące z płytek krwi mogą regulować procesy ich aktywacji i tym samym wpływać na odpowiedź na leczenie przeciwplatekowe. Analiza wybranych płytkopochodnych miR wśród pacjentów z ACS może pozwolić na lepsze zrozumienie ich roli w patomechanizmie zespołów wieńcowych, a także ocenić ich

przydatność jako potencjalnych nowych biomarkerów do stratyfikacji ryzyka i monitorowania skuteczności podwójnej terapii przeciwplateletowej (*dual antiplatelet therapy*, DAPT).

Cel: Głównym celem pracy była analiza roli IPF i płytkowych miR w ocenie rokowania oraz odpowiedzi na leczenie przeciwplatetowe w ACS.

Metody: Badanie zostało zarejestrowane w ClinicalTrials.gov (NCT06177587). Część oryginalną pracy doktorskiej stanowiło prospektywne jednośrodkowe badanie kohortowe, do którego włączani byli pacjenci przyjmowani do I Kliniki Kardiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z rozpoznaniem ACS (Publikacje 1-3). Pacjenci poddawani byli koronarografii i PCI zgodnie z obowiązującymi wytycznymi postępowania. W okresie okołozabiegowym chorzy otrzymywali dawki nasycające leków przeciwplatetowych, obejmujące kwas acetylosalicylowy oraz antagonistę receptora P2Y₁₂ - kłopidogrel lub tikagrelor. Próbkę krwi z żyły obwodowej pobierano w ciągu pierwszych 24 godzin po zabiegu. Analizę IPF przeprowadzono na krwi pełnej antykoagulowanej kwasem etylenodiaminotetraoctowym (K3EDTA) przy użyciu automatycznego analizatora hematologicznego (Sysmex XN 2000, Kobe, Japonia). Agregometrię impedancyjną z ADP jako agonistą, przeprowadzono 30-120 minut po pobraniu krwi przy wykorzystaniu analizatora Multiplate® (Roche Diagnostics, Bazylea, Szwajcaria). Badanie agregacji przeprowadzono zgodnie z instrukcjami dostarczonymi przez producenta. Pacjenci byli następnie obserwowani przez okres 60 miesięcy w celu oceny długoterminowych wyników leczenia i wartości prognostycznej badanych parametrów (Publikacje 1 i 3). Pierwszorzędowy punkt końcowy zdefiniowano jako poważne niekorzystne zdarzenia sercowo-naczyniowe (*major adverse cardiovascular events*, MACE) obejmujące zgon, zawał mięśnia sercowego (*myocardial infarction*, MI), udar mózgu i nieplanowaną rewaskularyzację. Poszerzenie analiz dotyczące oceny miR zostało przeprowadzone w podgrupie pacjentów z ACS, obejmującej dodatkowo pacjentów leczonych prasugrelem i zdrowych ochotników (Publikacja 2). Oznaczenia miR wykonywane były z próbek krwi żyłnej, pobranej w ciągu pierwszych 24 godzin po zabiegu. Pacjenci otrzymywali DAPT z użyciem kłopidogrelu, tikagreloru lub prasugrelu jako antagonisty receptora P2Y₁₂. W publikacji przedstawiono szczegółowe metody pomiaru ekspresji wybranych miR: miR-126-3p, miR-21-5p, miR-223-3p, miR-197-3p i miR-24-3p.

Część poglądową rozprawy doktorskiej stanowi kompleksowy przegląd dostępnego piśmiennictwa (Publikacja 4).

Wyniki: Do pierwszej części badania włączono 140 pacjentów (Publikacje 1 i 3). Pełna obserwacja klinicznych punktów końcowych była dostępna dla 130 chorych. Łącznie MACE wystąpiły u 27 pacjentów (20,8%) w okresie obserwacji o medianie wynoszącej 57 miesięcy. Po podzieleniu pacjentów na tercyle w oparciu wartość IPF, model proporcjonalnego hazardu Coxa wykazał istotną różnicę w występowaniu MACE w najwyższym tercylu, w porównaniu z najniższym tercylem IPF (HR = 5,341 95% CI: 1,546-18,454, p = 0,008). Wieloczynnikowa analiza regresji Coxa ujawniła, że wyjściowy poziom IPF był niezależnie związany z przyszłym wystąpieniem MACE (HR = 1,279, 95% CI: 1,056-1,549, p = 0,012). Analiza krzywej ROC (*Receiver operating characteristic*) pozwoliła uzyskać pole pod krzywą (*area under curve*, AUC) na poziomie 0,656 dla 5-letnich wyników z punktem odcięcia IPF wynoszącym 3,45%, który był w 63,0% czuły i w 65,0% swoisty dla MACE. Analiza wykazała również, że odsetek IPF koreluje z reaktywnością płytek krwi indukowaną ADP u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST (*non-ST elevation acute coronary syndrome*, NSTEMI-ACS) (rho = 0,387, 95% CI: 0,101-0,615, p = 0,008), niezależnie od otrzymywanego antagonisty receptora P2Y₁₂, ale nie zaobserwowano tej zależności w grupie osób z ostrym zespołem wieńcowym z uniesieniem odcinka ST (*ST elevation acute coronary syndrome*, STEMI-ACS) (Publikacja 1). Podobną, jeszcze silniejszą zależność zaobserwowano dla liczby niedojrzałych płytek krwi (*immature platelet count*, IPC). Do drugiej części badania (Publikacja 2), dotyczącej pomiarów miR, zrekrutowano 97 pacjentów, w tym 79 osób z ACS i 18 zdrowych ochotników. Badanie potwierdziło istotnie niższą ekspresję miR-126-3p, miR-223-3p, miR-21-5p i miR-197-3p u pacjentów leczonych tikagrelorom w porównaniu z kłopidogrelem (fold change od -1,43 do -1,27, wartości p od 0,028 do 0,048). Zaobserwowano pozytywne korelacje między reaktywnością płytek krwi a ekspresją miR-223-3p (rho = 0,400, p = 0,019) i miR-21-5p (rho = 0,423, p = 0,013) u pacjentów leczonych silnymi antagonistami receptora P2Y₁₂ (tikagrelorom lub prasugrelem).

Wnioski:

- Zróżnicowana odpowiedź na leczenie przeciwplatekcyjne wskazuje na konieczność spersonalizowanych strategii leczenia oraz poszukiwania nowych biomarkerów do optymalizacji i monitorowania terapii.
- Wartość IPF u pacjentów z NSTEMI-ACS przyjmujących DAPT koreluje z wynikiem agregometrii impedancyjnej indukowanej ADP.

- Ekspresja miR-126-3p, miR-223-3p, miR-21-5p, miR-197-3p istotnie różni się między pacjentami otrzymującymi silne (tikagrelor) oraz słabsze (klopidogrel) leki z grupy antagonistów receptora P2Y₁₂ w ramach DAPT, a ponadto ekspresja miR-223-3p i miR-21-5p koreluje z wynikiem agregometrii impedancyjnej.
- IPF u pacjentów z ACS ma znaczącą wartość predykcyjną dla MACE w obserwacji długoterminowej. Jednocześnie czułość i swoistość IPF wydaje się na ten moment zbyt niska, aby mogła służyć jako samodzielne narzędzie do podejmowania decyzji terapeutycznych.
- Uzasadnione są dalsze badania nad wykorzystaniem IPF oraz wybranych płytkowych miR w ocenie rokowania oraz odpowiedzi na leczenie przeciwplatekcyjne w ACS.