

Streszczenie w języku polskim

Wpływ terapii empagliflozyną na krążące niekodujące RNA związane ze szlakami sirtuinowymi u pacjentów po zawale mięśnia sercowego

Zawał mięśnia sercowego, będący jedną z głównych manifestacji chorób układu sercowo-naczyniowego, prowadzi do trwałego uszkodzenia mięśnia sercowego, przebudowy lewej komory i w konsekwencji do rozwoju niewydolności serca o etiologii niedokrwiennej. Jednym z kluczowych mechanizmów odpowiedzialnych za uszkodzenie mięśnia sercowego po zawale jest uraz niedokrwienno-reperfuzyjny (*ischemia/reperfusion injury, I/R*), który obejmuje złożoną sieć procesów molekularnych, takich jak stres oksydacyjny, dysfunkcja mitochondrialna, aktywacja procesów zapalnych oraz apoptoza kardiomiocytów. Wśród regulatorów molekularnych uczestniczących w tych procesach szczególną rolę odgrywają sirtuiny (SIRT), które należą do rodziny enzymów zależnych od dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD⁺). Ich rola polega na regulacji metabolizmu komórkowego oraz mechanizmów epigenetycznych poprzez wpływ na stres oksydacyjny, starzenie komórkowe, funkcję mitochondriów oraz modulację szlaków zapalnych aktywowanych w przebiegu uszkodzenia mięśnia sercowego.

Równocześnie, coraz więcej badań wskazuje, że regulacja ekspresji genów w chorobach układu sercowo-naczyniowego zależy między innymi od działania niekodujących RNA (*non-coding RNA, ncRNA*), w tym mikroRNA (*microRNA, miRNA*) oraz długich niekodujących RNA (*long non-coding RNA, lncRNA*). Cząsteczki te stanowią regulatory posttranskrypcyjne zdolne do modulowania ekspresji białek zaangażowanych w procesy związane z uszkodzeniem mięśnia sercowego oraz przebudową mięśnia sercowego i coraz więcej dowodów naukowych wskazuje, że mogą one wpływać na patofizjologię chorób układu sercowo-naczyniowego.

Jednocześnie współczesna farmakoterapia chorób kardiometabolicznych uległa znacznemu postępowi dzięki nowym lekom stosowanym do tej pory w leczeniu cukrzycy typu 2. Inhibitory kotransportera sodowo-glukozowego typu 2 (SGLT2) wykazują działanie kardioprotekcyjne niezależnie od ich wpływu na gospodarkę węglowodanową. W badaniach klinicznych wykazano, że leki te zmniejszają ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz poprawiają rokowanie u pacjentów z cukrzycą typu 2 i/lub wysokim ryzykiem sercowo-naczyniowym. Pomimo licznych badań klinicznych mechanizmy molekularne odpowiedzialne za ich działanie ochronne na układ sercowo-naczyniowy pozostają w dużej

mierze niewyjaśnione. Jedną z hipotez stanowi modulacja szlaków SIRT. Dodatkowo, odpowiedź na leczenie różni się między pacjentami, co stanowi istotne wyzwanie w praktyce klinicznej. Zrozumienie tych mechanizmów może przyczynić się do identyfikacji nowych celów terapeutycznych oraz rozwoju spersonalizowanych strategii leczenia.


Głównym celem niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena roli krążących ncRNA związanych ze szlakami sygnałowymi SIRT u pacjentów po zawale mięśnia sercowego leczonych inhibitorem SGLT2 - empagliflozyną, oraz analiza ich użyteczności jako nowych biomarkerów predykcji odpowiedzi na lek. Praca łączy podejście kliniczne, molekularne i bioinformatyczne w celu identyfikacji szlaków regulacyjnych empagliflozyna-ncRNA-SIRT zaangażowanych w patofizjologię zawału mięśnia sercowego.

Centralną część rozprawy stanowi praca oryginalna analizująca molekularne efekty terapii empagliflozyną u pacjentów po zawale mięśnia sercowego. W pierwszym etapie badań przeprowadzono identyfikację miRNA związanych ze szlakami regulowanymi przez SIRT z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych. Uzyskane wyniki analiz *in silico* stanowiły podstawę do opracowania wniosku grantowego, który został złożony w konkursie PRELUDIUM Narodowego Centrum Nauki i uzyskał finansowanie przy pierwszej aplikacji (nr 2022/45/N/NZ7/0246). Następnie przeprowadzono walidację ekspresji wytypowanych miRNA oraz SIRT w próbkach osocza pochodzących od pacjentów uczestniczących w randomizowanym badaniu klinicznym *Empagliflozin in acute myocardial infarction: the EMMY trial*, w którym pacjenci otrzymywali inhibitor SGLT2 - empagliflozynę lub placebo. Ekspresję wybranych miRNA oraz genów kodujących sirtuiny (SIRT1-SIRT7) oceniono metodą qRT-PCR przed włączeniem terapii oraz po 26 tygodniach leczenia wśród 227 pacjentów. Wykazano, że terapia inhibitorem SGLT2 istotnie moduluje ekspresję SIRT oraz regulatorowych miRNA. Po 26 tygodniach leczenia obserwowano obniżoną ekspresję SIRT4 ($p=0.018$) oraz podwyższoną ekspresję SIRT6 ($p=0.006$) w porównaniu z grupą placebo. Ponadto wykazano, że wyjściowa ekspresja SIRT2 i SIRT4, a także miR-182-5p i miR-302a-3p może stanowić niezależny panel predykcyjny odpowiedzi na leczenie empagliflozyną, biorąc pod uwagę zmianę frakcji wyrzutowej lewej komory serca po 26 tygodniach terapii (AUC: 0.890; czułość 81%; swoistość 90%). Wyniki te wskazują, że krążące ncRNA oraz szlaki molekularne związane z sirtuinami mogą stanowić potencjalne biomarkery odpowiedzi na leczenie inhibitorami SGLT2 u pacjentów po zawale mięśnia sercowego. Badanie wskazuje również na możliwe epigenetyczne mechanizmy działania empagliflozyny oraz podkreśla znaczenie biomarkerów molekularnych w rozwoju spersonalizowanych strategii leczenia chorób układu sercowo-naczyniowego.

Druga publikacja, o charakterze bioinformatycznym, rozszerza kontekst molekularny rozprawy poprzez analizę *in silico*. W pracy tej wykazano, że nowoczesne terapie kardiometaboliczne działają w obrębie częściowo wspólnych sieci regulacyjnych obejmujących procesy związane z gospodarką glukozową, metabolizmem energetycznym, odpowiedzią zapalną, funkcją naczyń oraz odpowiedzią na stres komórkowy. Wyniki te stanowią systemowe tło interpretacyjne dla obserwacji uzyskanych w części klinicznej.

Trzecią część rozprawy stanowi praca przeglądowa poświęcona roli ncRNA regulujących szlaki sygnałowe SIRT w uszkodzeniu niedokrwienno-reperfuzyjnym mięśnia sercowego. W pracy tej podsumowano aktualną wiedzę eksperymentalną dotyczącą regulacji SIRT przez miRNA oraz lncRNA, a także ich wpływu na kluczowe procesy komórkowe związane z uszkodzeniem mięśnia sercowego. Analiza dostępnej literatury wskazuje, że cząsteczki ncRNA modulują liczne procesy biologiczne, w tym apoptozę, stres oksydacyjny, dysfunkcję mitochondriów oraz odpowiedź zapalną, które odgrywają istotną rolę w patofizjologii uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego. Praca podkreśla również potencjał ncRNA jako celów terapeutycznych oraz nowych biomarkerów prognostycznych i diagnostycznych w zawale mięśnia sercowego.

Podsumowując, przedstawiona rozprawa dostarcza nowych danych dotyczących znaczenia osi ncRNA-SIRT w odpowiedzi mięśnia sercowego na leczenie empagliflozyną po zawale mięśnia sercowego. Uzyskane wyniki podkreślają znaczenie epigenetycznych mechanizmów regulacyjnych w chorobach układu sercowo-naczyniowego oraz wskazują na potencjalną rolę krążących ncRNA jako biomarkerów odpowiedzi na leczenie. Praca ta pokazuje również, że integracja badań molekularnych, klinicznych i analiz bioinformatycznych sprzyja lepszemu zrozumieniu złożonych mechanizmów patofizjologicznych chorób kardiometabolicznych oraz może wspierać identyfikację nowych celów terapeutycznych i rozwój strategii medycyny spersonalizowanej, ukierunkowanych na poprawę rokowania pacjentów.

Ceren Ejiletes Postula


Anna Nomak-Smed
