

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Aleksandra Siniarskiego

Promotor: prof. dr hab. Grzegorz Gajos

Temat pracy doktorskiej: „*The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on coagulation, platelets activation, endothelial function and course of coronary artery disease in patients with high cardiovascular risk*” – cykl publikacji

(„*Wpływ wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 na układ krzepnięcia, aktywację płytek krwi, funkcję śródbłonna oraz obraz kliniczny choroby wieńcowej u pacjentów wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego*”)

Wstęp

Pierwsze, pionierskie badania nad n-3 PUFA potwierdziły ich korzystny wpływ na układ sercowo-naczyniowy, szczególnie u pacjentów z ChW. W ostatnich latach osiągnięto istotny postęp w farmakoterapii chorób sercowo-naczyniowych wyrażony między innymi poprzez powszechne stosowanie leków z grupy statyn, inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz kwasu acetylosalicylowego. Ponadto obserwowano stopniowo zgodne z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego zmiany stylu życia oraz diety. Co więcej w badaniach oceniających wpływ n-3 PUFA w chorobach sercowo-naczyniowych analizowano różne dawki (1 – 4 g na dobę) n-3 PUFA. Z wyżej wymienionych powodów niedawno opublikowane badania pokazały sprzeczne wyniki na temat korzystnej roli n-3 PUFA na zdarzenia sercowo-naczyniowe oraz śmiertelność.

Cele pracy

1. Ocena wpływu leczenia n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę na funkcję śródbłonna naczyniowego u pacjentów z udokumentowanym PZW oraz DMT2.
2. Ocena wpływu leczenia n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę na wybrane parametry układu krzepnięcia (generacja trombiny oraz własności skrzepu fibrynowego) oraz funkcję płytek krwi u pacjentów z udokumentowanym PZW oraz DMT2.
3. Ocena składu kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów surowicy w zależności od obrazu klinicznego choroby wieńcowej — porównanie chorych w ostrej fazie ZS do pacjentów z PZW.

Materiały i metody

Ocena wpływu leczenia n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę na wybrane parametry układu sercowo-naczyniowego (ocena funkcji śródbłonna naczyniowego, parametrów układu krzepnięcia, oraz aktywacji płytek krwi) była analizowana w randomizowanym, podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo badaniu klinicznym. W tym celu do badania włączono chorych z potwierdzonym angiograficznie PZW oraz towarzyszącą DMT2. W pierwszej fazie badania klinicznego dokonywano optymalizacji leczenia farmakologicznego wg. Wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (wizyta 0). Następnie chorych randomizowano w stosunku 1:1 do grupy interwencyjnej leczonej n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę (1 g DHA oraz 1 g EPA) i OMT (grupa n-3 PUFA) oraz do preparatu placebo i OMT (grupa placebo).

Wpływ leczenia n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę był oceniany po 3 miesiącach w porównaniu do początkowych wartości wybranych parametrów układu sercowo-naczyniowego. Funkcja śródbłonna była oceniana za pomocą FMD oraz NMD w tętnicy ramiennej. Układ krzepnięcia był oceniany za pomocą generacji trombiny (fragmenty 1+2 protrombiny oraz endogenne potencjały fibrynowy) oraz oceny własności skrzepu fibrynowego (przepuszczalność skrzepu oraz oporność skrzepu na lizę). Aktywację płytek krwi oceniano po stymulacji ADP w dawkach 5 i 20 $\mu\text{mol/L}$ oraz kwasem arachidonowym w dawce 0,5 mmol/L metodą agregometrii optycznej.

Ocena składu kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów surowicy w zależności od obrazu klinicznego ChW (ostra faza ZS vs. PZW) została przeprowadzona na podstawie badania kliniczno-kontrolnego. W tym celu zrekrutowano chorych w ostrej fazie ZS (STEMI lub NSTEMI). Grupę kontrolną stanowiła dobrana pod względem wieku oraz płci grupa chorych z udokumentowanym PZW oraz DMT2. Skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów surowicy wykonano z użyciem chromatografii gazowej.

Wyniki

Pomimo zastosowania n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę, a co za tym idzie znacznie wyższych stężeń EPA (o 204 %; $p < 0,001$) i DHA (o 62%; $p < 0,0001$) (w grupie n-3 PUFA) po 3 miesiącach leczenia nie zaobserwowano zmian wskaźników funkcji śródbłonna (FMD i NMD). Podobnie po 3. miesiącach leczenia za pomocą n-3 PUFA nie zaobserwowano zmian w generacji trombiny, własnościach skrzepu fibrynowego oraz aktywacji płytek krwi.

Oceniając skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów surowicy u chorych w ostrej fazie ZS vs. z PZW oraz towarzyszącą DMT2 stwierdzono, że u obu grup kolejno — SFA oraz n-6 PUFA stanowiły najliczniejsze frakcje kwasów tłuszczowych. Trzecią w kolejności frakcją kwasów tłuszczowych fosfolipidów surowicy u chorych w ostrej fazie ZS były MUFA, a w grupie kontrolnej n-3 PUFA. Co więcej, występowały istotne różnice pomiędzy badanymi grupami w SFA, MUFA, n-6 PUFA oraz w stosunku n-6 / n-3. W analizie wieloczynnikowej wykazano, że niezależnymi predyktorami wystąpienia ZS były kwasy palmitooleinowy, eikozadienowy oraz LDL, hs-CRP, BMI i AST.

Wnioski

1. Leczenie n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę nie przyniosło korzystnego wpływu na funkcję śródbłonna naczyńowego u pacjentów z udokumentowanym PZW oraz DMT2.
2. Leczenie n-3 PUFA w dawce 2 g na dobę nie przyniosło korzystnego wpływu na wybrane parametry układu krzepnięcia oraz funkcję płytek krwi u pacjentów z udokumentowanym PZW oraz DMT2.
3. Skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów surowicy u chorych w ostrej fazie ZS różnił się istotnie w porównaniu do chorych z PZW oraz towarzyszącą DMT2. Wykazano, że niezależnymi predyktorami wystąpienia ZS były kwasy palmitooleinowy oraz eikozadienowy.

Summary

Introduction

Initial, landmark studies on n-3 PUFAs confirmed their beneficial effects in the prevention of cardiovascular diseases, especially in patients with CAD. In recent years, significant progress has been made in the pharmacotherapy of cardiovascular diseases. It was expressed through the widespread use of medications such as statins, angiotensin-converting enzyme inhibitors and acetylsalicylic acid. In addition, gradual changes in lifestyle and diet behaviours which were in line with the recommendations of the European Society of Cardiology were observed. Additionally, the impact of n-3 PUFA was assessed in a variety of doses ranging from 1 to 4 g daily. Due to the above-mentioned reasons recently published studies have shown conflicting results on the role of n-3 PUFA on cardiovascular mortality. Therefore, the data on the impact of n-3 PUFA on cardiovascular diseases remain unclear.

Objectives

This doctoral dissertation aimed to assess:

1. The effect of n-3 PUFA treatment at a dose of 2 g per day on endothelial function in patients with documented chronic coronary syndrome and type 2 diabetes.
2. The effect of n-3 PUFA treatment at a dose of 2 g per day on selected coagulation parameters (thrombin generation and fibrin clot properties) and platelet function in patients with documented chronic coronary syndrome and type 2 diabetes.
3. The effect of the fatty acid composition in serum phospholipids on the clinical course of coronary artery disease — a comparison between patients in the acute phase of myocardial infarction vs. with chronic coronary syndrome.

Materials and methods

The effects of n-3 PUFA treatment at the dose of 2 g per day on selected cardiovascular parameters were analyzed in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. For this purpose, patients with established chronic coronary syndrome and type 2 diabetes were recruited. In the initial phase of the study (visits 0) the optimization of pharmacological treatment according to the current guidelines of the European Society of Cardiology was performed. Then, patients were randomized in 1:1 ratio into two groups: 1) treated with optimal medical therapy (OMT) and n-3 PUFA at the dose of 2 g per day (1 g of DHA [*docosahexaenoic acid*] and 1 g of EPA [*eicosapentaenoic acid*]) — n-3 PUFA group; or 2) placebo and OMT — placebo group. In both groups, the effects of the treatment with n-3 PUFA were evaluated after 3 months and compared to baseline values. Endothelial function was assessed by FMD and NMD in the brachial artery. The coagulation parameters were assessed using thrombin generation (1 + 2 fragments of prothrombin and endogenous fibrin potential) and evaluation of fibrin clot properties (clot permeability and lysis). Platelet activation was assessed after ADP stimulation at doses of 5 and 20 $\mu\text{mol/L}$ and arachidonic acid at a dose of 0.5 mmol/L by optical aggregometry.

The evaluation of the fatty acid composition in serum phospholipids in a different clinical setting was a case-control study. It was a comparison between patients with an acute phase myocardial infarction or chronic coronary syndrome. For this purpose, patients in the acute phase of myocardial infarction (both with ST-segment elevation [STEMI] and non-ST segment elevation [NSTEMI]) were recruited. Patients with the angiographically confirmed chronic coronary syndrome and concomitant type 2 diabetes served as a control group. During the baseline and final assessment standard biochemical laboratory evaluation was performed. The fatty acid composition in serum phospholipid was determined by gas chromatography.

Results

Despite the use of n-3 PUFAs at the dose of 2 g per day and significant increase of EPA (204 %; $p < 0.001$) and DHA (62 %; $p < 0.0001$) concentrations (n-3 PUFA group) after 3 months treatment — no significant changes in endothelial function (FMD and NMD) were observed. Similarly, no significant changes in thrombin generation, fibrin clot properties and platelet function were observed at the end of the 3 month treatment period. In the assessment of the fatty acid composition in serum

phospholipids in patients in the acute phase of myocardial infarction vs. chronic coronary syndrome and concomitant type 2 diabetes, it was found that in both groups saturated fatty acids (SFAs) and n-6 polyunsaturated fatty acids (n-6 PUFAs) were respectively the largest fraction of fatty acids. The third most common fatty acid fraction in patients with the acute phase myocardial infarction was monounsaturated fatty acids (MUFAs) and in the control group it was n-3 PUFAs. Moreover, there were significant differences between the analysed groups in the concentrations of SFAs, MUFAs, n-6 PUFAs and the n-6 / n-3 ratio. Importantly, multivariate analysis showed that independent predictors of myocardial infarction were palmitoleic and eicosadienoic acids, as well as LDL, high sensitive C-reactive protein, BMI and AST.

Conclusions

1. Treatment with n-3 PUFA at a dose of 2 g per day did not have a beneficial effect on the vascular endothelium function in patients with documented chronic coronary syndrome and type 2 diabetes.
2. Treatment with n-3 PUFA at a dose of 2 g per day did not have a beneficial effect on selected coagulation parameters (thrombin generation and fibrin clot properties) and platelet function in patients with documented chronic coronary syndrome and type 2 diabetes.
3. The fatty acid composition in serum phospholipids in patients in the acute phase of myocardial infarction differed significantly when compared to patients with the chronic coronary syndrome and concomitant type 2 diabetes. It was shown that palmitoleic and eicosadienoic acids were independent predictors of myocardial infarction.