

ANALISI DEL TRASCRIPTOMA IN SINGOLE PIASTRINE DI SOGGETTI SANI E PAZIENTI CAD

Chiara Zara¹, Rossella D'alessandro¹, Mattia Chiesa¹, Marta Brambilla¹, Elena Tremoli¹, Marina Camera^{1,2}

1 Centro Cardiologico Monzino IRCCS - 2 Università degli Studi di Milano

INTRODUZIONE: Le piastrine, pur essendo prive di nucleo, contengono numerosi RNA messaggeri (mRNA) derivanti dai megacariociti. Oltre alla loro funzione primaria nell'emostasi, le piastrine prendono parte anche nell'infiammazione, immunità e angiogenesi. È plausibile che le differenti funzioni siano svolte da specifiche sottopopolazioni piastriniche distinte per caratteristiche morfologiche, proteomiche e trascrittomiche che possono variare in condizioni patologiche. Alcuni studi hanno evidenziato come le piastrine di pazienti con STEMI abbiano un trascrittoma differente rispetto ai controlli sani. Queste analisi, eseguite sull'intera popolazione piastrinica, non consentono tuttavia di caratterizzare le diverse sottopopolazioni. Sulla base di queste evidenze, per verificare se si potessero identificare sottopopolazioni piastriniche analizzando il trascrittoma, è stata utilizzata la tecnologia Smartflare, che permette di rilevare in citofluorimetria la presenza di mRNA nelle singole cellule.

METODO: Dopo aver ottimizzato la tecnologia Smartflare per ottenere un'internalizzazione delle sonde in una percentuale maggiore al 90% di piastrine, è stata valutata l'espressione di 50 mRNA coinvolti nell'emostasi (n = 25) e nell'infiammazione (n = 25) nelle singole piastrine isolate da 20 soggetti sani (HS) (35±10anni) e 20 pazienti STEMI (62 ± 15anni). La fluorescenza emessa dalle sonde in seguito al riconoscimento dell'mRNA bersaglio è stata analizzata attraverso l'utilizzo dell'ImageStream.

RISULTATI: Nei soggetti sani la maggior parte dei trascritti coinvolti nell'emostasi (n=13) sono espressi in oltre il 70% delle piastrine e sono distribuiti in maniera omogenea tra piastrine piccole e grandi; solo 6 trascritti sono presenti in una percentuale tra il 30-60% di piastrine. Degli mRNA associati all'infiammazione, 14 sono presenti in una ridotta percentuale di piastrine (30-60%) mentre 8 trascritti sono espressi nella maggior parte delle piastrine (>70%).

Nei pazienti STEMI aumenta significativamente la percentuale delle piastrine esprimenti IL-10 e COX-1, i quali si localizzano soprattutto nelle piastrine di dimensioni minori nei pazienti; gli mRNA del preTF e TF sono invece presenti in una percentuale ridotta di piastrine.

Analizzando l'espressione dei singoli mRNA risulta significativamente ridotta quella relativa al CXCR4, preTF e TF negli STEMI rispetto ai controlli sani.

CONCLUSIONE: I risultati evidenziano, per la prima volta, una differente distribuzione ed espressione degli mRNA coinvolti nell'emostasi e nell'infiammazione all'interno della popolazione piastrinica. Questo potrebbe essere il risultato di meccanismi che agiscono sia a livello centrale, sui megacariociti nel midollo osseo, sia a livello periferico direttamente sulle piastrine circolanti.