

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL DAVILA”
BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

***ROLUL MICRO-ARN-URILOR CIRCULANTE LA NIVELUL CELULELOR
VASCULARE DIN PLACA ATEROSCLEROTICĂ COMPLICATĂ LA
PACIENȚII CU INFARCT MIOCARDIC ACUT ȘI DIABET ZAHARAT TIP 2***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. DRAGOȘ VINEREANU**

Student-doctorand:

**GHEORGHIU (căs. IACOBESCU)
LOREDANA-ANAMARIA**

ANUL

2024

Cuprins

Lista lucrărilor științifice publicate.....	pagina 3
Introducere.....	pagina 4
Partea generală.....	pagina 6
Contribuții personale.....	pagina 8
1. Implicațiile micro ARN-urilor circulante asupra funcției biventriculare la pacienți cu placă aterosclerotică complicată în context de infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2.....	pagina 8
1.1.Introducere.....	pagina 8
1.2.Materiale și metode.....	pagina 8
1.3.Rezultate.....	pagina 9
1.4.Discuții	pagina 17
1.5.Concluzii.....	pagina 18
2. Implicațiile micro ARN-urilor circulante asupra funcției atriale la pacienți cu placă aterosclerotică complicată în context de infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2.....	pagina 18
2.1.Introducere	pagina 18
2.2.Materiale și metode.....	pagina 19
2.3.Rezultate.....	pagina 20
2.4.Discuții	pagina 26
2.5.Concluzii.....	pagina 27
3. Rolul micro-ARN-urilor circulante la nivelul celulelor vasculare din placa aterosclerotică complicată la pacienții cu infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2.....	pagina 28
3.1.Introducere	pagina 28
3.2.Materiale și metode.....	pagina 28
3.3.Rezultate.....	pagina 30
3.4.Discuții	pagina 34
3.5.Concluzii.....	pagina 35
4. Implicațiile micro ARN-urilor circulante asupra lucrului miocardic (myocardical work) la pacienți cu placă aterosclerotică complicată în context de infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2.....	pagina 35
4.1.Introducere	pagina 35
4.2.Materiale și metode.....	pagina 37
4.3.Rezultate.....	pagina 37
4.4.Discuții	pagina 43
4.5.Concluzii	pagina 44
5. Model cu elemente finite pentru analiza influenței procentului de miocard infarctat asupra fracției de ejeție a VS.....	pagina 44
5.1.Metoda elementelor finite în biomecanica sistemului cardiovascular.....	pagina 44
5.2.Prezentarea modelului propus.....	pagina 45
5.3.Direcții de analiză ulterioare.....	pagina 46
5.4.Concluzii.....	pagina 47
6. Concluzii finale și contribuții personale.....	pagina 47
Bibliografie.....	pagina 49

Lista lucrărilor științifice publicate

Articole publicate în reviste de specialitate

1. **Iacobescu L**, Ciobanu A, Corlatescu A, Simionescu M., Iacobescu G., Dragomir E., Vinereanu D., (July 08, 2024) The Role of Circulating MicroRNAs in Cardiovascular Diseases: A Novel Biomarker for Diagnosis and Potential Therapeutic Targets?. *Cureus* 16(7):e64100. DOI 10.7759/cureus.64100. FI 1.1. https://www.cureus.com/articles/270144-the-role-of-circulating-micrnas-in-cardiovascular-diseases-a-novel-biomarker-for-diagnosis-and-potential-therapeutic-targets?token=Hdh3xdfndPkszvH_XwjX&utm_medium=email&utm_source=transaction#!/.
2. **Iacobescu, L.;** Ciobanu, A.O.; Macarie, R.; Vadana, M.; Ciortan, L.; Tucureanu, M.M.; Butoi, E.; Simionescu, M.; Vinereanu, D. Diagnostic and Prognostic Role of Circulating microRNAs in Patients with Coronary Artery Disease—Impact on Left Ventricle and Arterial Function. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2024, 46, 8499–8511. <https://doi.org/10.3390/cimb46080500>. FI 2.8. <https://www.mdpi.com/1467-3045/46/8/500>.

INTRODUCERE

Ateroscleroza reprezintă principala cauză de boli cardiovasculare, care includ infarctul miocardic, insuficiența cardiacă, accidentul vascular cerebral sau boala arterială periferică. Din ce în ce mai multe studii dovedesc că inflamația joacă un rol deosebit de important în procesul aterosclerotic, stând la baza modificărilor patologice ce inițiază și duc la dezvoltarea aterosclerozei, prin activarea celulelor endoteliale, infiltrarea monocitelor și diferențierea în macrofage precum și formarea celulelor spumoase care determină disfuncție endotelială și proliferarea celulelor musculare netede.[1] Disfuncția endotelială este un eveniment precoce, ce determină tulburarea homeostaziei vasculare și stimulează producerea de citokine proinflamatorii cum sunt interleukina-6 (IL-6), proteina 1 chemotactică a monocitelor (PCM-1) și molecule de adeziune cum sunt molecula de adeziune intercelulară-1 (ICAM-1), molecula de adeziune vasculară-1 (VCAM-1) și E-selectina, toate aceste molecule determinând adeziunea și infiltrarea vasculară și formare de leziuni la nivelul neointimei.[2] În stadii avansate ale aterosclerozei, macrofagele și citokinele inflamatorii determină infiltrarea peretelui vascular, secreția de metaloproteinaze matriciale (MMP) ceea ce duce la degradarea fibrelor de colagen, ruptura plăcii de aterom și consecutiv, tromboza acesteia. [3]

Date recente arată importanța diabetului zaharat în patogeneza aterosclerozei prin implicarea în mecanismele stresului oxidativ și inflamației în asociere cu microARN-urile circulante.[4] Diabetul zaharat determină disfuncția microflorei și implicit producerea de metaboliți activi, așa cum sunt radicalii liberi de oxigen și lipopolizaharidele, ducând în final la expresia factorului nuclear – kB și accelerarea aterosclerozei. [5]

microARN-urile sunt considerate reglatori importanți în migrarea celulară, diferențiere, proliferare și producere de citokine, care conduc la noi mecanisme moleculare ale aterosclerozei sistemice și care pot sta la baza unor noi ținte terapeutice.[6] Date recente din literatură arată că microARN-urile sunt implicate în patogeneza unor multiple afecțiuni, cum sunt bolile cardiovasculare, diabetul zaharat, patologii renale, artrita reumatoidă sau bolile neoplazice. [6]

Cercetarea de față „*Rolul micro-ARN-urilor circulante la nivelul celulelor vasculare din placa aterosclerotică complicată la pacienții cu infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2*”, prezentată ca teză de doctorat, își propune evaluarea modificărilor funcționale cardiace la pacienții cu infarct miocardic acut, care asociază sau nu diabet zaharat și relația acestor modificări cu microARN-urile circulante. Cercetarea are un caracter descriptiv, fiind în întregime originală, încercând

în domeniul abordat, completarea domeniului de cercetare, cu noi aspecte, ce pot aduce o contribuție în ceea ce privește diagnosticul, prognosticul și atitudinea terapeutică a pacienților cu infarct miocardic acut.

Lucrarea este structurată în două părți principale și anume partea generală cu patru capitole și partea de contribuții personale structurată în cinci capitole. Partea generală a cercetării doctorale de față își propune identificarea stadiului actual al cunoașterii și prezentării celor mai recente noțiuni legate de fiziopatologia, diagnosticul și tratamentul bolii coronariene acute, precum și noțiuni legate de implicarea microARN-urilor și MMP-urilor în fiziopatologia aterosclerozei și disfuncției vasculare la pacienții cu infarct miocardic acut.

În partea specială a cercetării de față sunt prezentate rezultatele unui studiu clinic, ce evaluează 60 de pacienți cu infarct miocardic acut (30 de pacienți cu diabet zaharat, 30 de pacienți fără diabet zaharat) și 30 de pacienți cu sindrom coronarian cronic, din punct de vedere al funcției ventriculare stângi și drepte, funcției atriale stângi și drepte, funcției vasculare și respectiv funcției de lucru miocardic și corelarea principalilor parametri cu micro-ARN-urile și MMP-urile circulante.

Teza se încheie cu un capitol de concluzii, în care sunt subliniate rezultatele principale ale studiului și noile direcții de cercetare deschise de acesta.

Cercetarea de față face parte dintr-un proiect de cercetare susținut de Ministerul Cercetării Și Inovației, CNCS-UEFISCDI, numărul proiectului PN-II-RU-TE-2014-4-0965, care s-a desfășurat interdisciplinar cu Institutul de Biologie Celulară și Patologie „Nicolae Simionescu” București. În încheiere, aș dori să mulțumesc tuturor celor care, prin competență și bunăvoință, ne-au ajutat a realizarea acestei lucrări.

I. Partea generală

Această primă parte a lucrării de față conține patru capitole ce conțin informații despre infarctul miocardic acut, rolul microARN-urilor circulante în bolile cardiovasculare, rolul MMP-urilor în bolile cardiovasculare și mecanismele disfuncției vasculare la pacienții cu infarct miocardic.

Primul capitol, intitulat „Infarctul miocardic acut cu supradenivelare de segment ST” punctează cele mai importante noțiuni despre epidemiologia, mecanismele fiziopatologice, factorii de risc cardiovasculari și principalii biomarkeri de diagnostic în infarctul miocardic acut. Infarctul miocardic acut (IMA) rămâne una din cele mai importante cauze de mortalitate și morbiditate în lumea întreagă. Conform Societății Americane de Cardiologie, unul din 6 pacienți suferă un infarct miocardic acut la fiecare șase minute. Expresia monogenică a bolii aterosclerotice determină apariția IMA la vârstă tânără și asociază dislipidemie familială, homocistinurie, sindrom antifosfolipidic, displazie fibromusculară și alte sindroame rare. Ischemia miocardică și reperfuzia coronariană au efecte importante, printre care un răspuns inflamator intens la nivel miocardic și vascular. Mecanismele prin care celula cardiacă și sistemul imun participă la răspunsul inflamator după un infarct miocardic nu sunt pe deplin cunoscute. Modelul de biomarkeri ideali pentru diagnosticul infarctului miocardic acut necesită să fie exprimat la nivel înalt în țesutul cardiac, să aibă o specificitate și sensibilitate clinică înalte și să fie detectat în sânge rapid după instalarea simptomelor, cel mai frecvent durerea toracică.[7] Există foarte mulți biomarkeri descriși în literatură, astfel că este utilă clasificarea în diverse grupe fiziopatologice, cum sunt ischemia miocardică, necroza miocardică, inflamația, markeri hemodinamici, markeri legați de angiogeneză, ateroscleroză sau placă instabilă.

Capitolul următor sintetizează informații legate de implicațiile microARN-urilor circulante în patologia cardiovasculară. MicroARN-urile (miR) sunt ARN-uri scurte, endogene, non-codate, care dictează expresia genelor la nivel posttranscripțional prin legarea la regiunea 3'-netranslatată a mRNA-urilor țintă. Studii recente au arătat că microARN-urile joacă un rol esențial în anumite procese biologice, așa cum sunt proliferarea sau diferențierea celulară, dar și apoptoza. Totodată, acestea sunt asociate cu patologii importante, incluzând cancerul și bolile cardiovasculare.[8] După unii cercetători, au fost identificate peste 1500 microARN-uri la oameni, printre care există unele microARN-uri (miR1, miR133, miR206, miR208) ce sunt mușchi-specifice, și au fost denumite myomiR-uri.[9] Recent, microARN-urile au fost descrise ca reglatori

ai unor căi importante, cum sunt adeziune celulară, proliferarea, și inflamația, cu rol central în dezvoltarea aterosclerozei.

Cel de-al treilea capitol punctează principalele implicații ale MMP-urilor circulante în bolile cardiovasculare. Matrix metaloproteinazele (MMP) sunt alcătuite morfologic din endopeptidaze reglate de semnale inflamatorii destinate medierii modificărilor în procesele ce au loc la nivelul matricei extracelulare, ele reprezentând principalul grup de proteaze implicate în acest proces biologic. Rolul MMP-urilor este extrem de important la nivelul fiziopatologic în procese precum dezvoltarea embrionară, morfogeneza, angiogeneza, remodelarea osoasă sau apoptoza celulară. Implicit MMP-urile acționează asupra remodelării vasculare, nu doar în arhitectura vasculară globală, dar de asemenea în procesul de dezvoltare al plăcii aterosclerotice.

În ultimul capitol din partea generală am abordat tema disfuncției vasculare la pacienții cu infarct miocardic acut, făcând referire la principalele mecanisme ale disfuncției vasculare și metode de diagnostic a acesteia, precum și rolul microARN-urilor și MMP-urilor circulante în progresia acestei patologii. În prezent sunt evaluate mai multe metode non invazive imagistice cu scopul de a determina dacă pot crește acuratețea evaluării riscului cardiovascular. Printre cele mai eficiente sunt evaluarea disfuncției endoteliale, grosimea intimă-medie, indicele de presiune gleznă-brahial și presiunea pulsului.[10] La acest proces intens inflamator participă celule imune, monocite și macrofage, celule endoteliale care produc remodelarea vasculară prin contribuția fibroblastelor în stratul adventicial, celulelor musculare netede în stratul medial și celulele endoteliale în stratul intimal, precum și macrofagele în circulația sangvină. Activarea celulelor endoteliale determină eliberarea de endotelina 1 cu rol vasoconstrictor, elastaza care scade elasticitatea celulară și tenascina-C care induce proliferarea vasculară. Rolul microARN-urilor și MMP-urilor circulante în aceste procese vasculare nu este pe deplin cunoscut.[11]

II. Contribuții personale

1. Implicațiile micro ARN-urilor circulante asupra funcției biventriculare la pacienți cu placă aterosclerotică complicată în context de infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2

1.1. Introducere

Infarctul miocardic și remodelarea miocardică post infarct determină un risc înalt de mortalitate și morbiditate, în ciuda metodelor actuale de tratament, un procent ridicat de pacienți prezentând remodelare miocardică negativă și dezvoltarea insuficienței cardiace. Studii recente au arătat potențialul rol de reglatori a efectelor fiziopatologice în infarctul miocardic deținut de către microARN-uri, precum și rolul lor de ca ținte terapeutice în multe boli cardiovasculare. Până în prezent, cei mai folosiți biomarkeri în diagnosticul ischemiei miocardice sunt troponinele cardiace, însă detecția lor în sângele periferică este posibilă doar după 3-6 ore de la debutul simptomelor, ceea ce îngreunează diagnosticul precoce și impune determinarea repetată a acestora în camera de gardă.[12] Astfel, a fost demonstrat rolul familiei miR30 și în particular miR30c, în injuria miocardică, prin activarea factorului nuclear -κB și scăderea sintezei sirtuinei-1, dar și rolul lor protector în fața ischemiei miocardice, putând fi folosite ca potențiale ținte terapeutice pentru bolile cardiace ischemice. MiR126 este un biomarker al activării endoteliale ce menține integritatea vasculară și homeostazia endotelială prin scăderea sintezei de inhibitori de angiogeneză și inhibarea expresiei VCAM1 la nivel endotelial, precum și scăderea producerii de proteină 1 chemoattractantă a monocitelor, inhibând astfel infiltrarea monocitelor/macrofagelor.[8]

Unul din obiectivele principale ale acestui studiu a fost cuantificarea microARN-urilor investigate (miR30c, miR133, miR29a, miR126, miR146, miR21) precum și MMP1 și MMP9, cunoscute în literatură cu potențial rol în bolile cardiovasculare, în serul pacienților cu infarct miocardic acut cu supradenivelare segment ST (STEMI) și în serul pacienților cu sindrom coronarian cronic (SCC). Un alt obiectiv a fost corelarea acestor microARN-uri și MMP-uri circulante cu principalii parametri de funcție ventriculară stângă și dreaptă și un ultim obiectiv a fost identificarea unor biomarkeri cu putere de predicție a îmbunătățirii funcției ventriculare.

1.2. Materiale și metode

În cadrul cercetării doctorale s-a realizat un studiu prospectiv, tip cohortă, ce a inclus un număr de 90 de pacienți, în cadrul Clinicii de Cardiologie a Spitalului Universitar de Urgență

București, desfășurat pe o perioadă de 4 ani, în cadrul anilor 2017-2020. Protocolul studiului și toate protocoalele experimentale au fost aprobate de Comisia de Etică a Spitalului Universitar de Urgență București și consimțământul informat a fost obținut de la fiecare subiect participant la cercetare.

Toți pacienții au fost evaluați la momentul înrolării prin: examen clinic și istoricul medical; ECG de repaus; ecocardiografie 2D convențională, tissue Doppler și 2D Speckle Tracking, ecocardiografie 3D, și probe biologice, iar la un an pacienții au fost evaluați prin ECG de repaus, ecocardiografie 2D convențională, tissue Doppler și 2D Speckle Tracking și ecocardiografie 3D.

Pentru realizarea analizei statistice s-au utilizat softurile SPSS varianta 26, Python 3 și Microsoft Excel 365, cu ajutorul metodelor statistice Testul t pentru două eșantioane independente, Coeficientul de corelație al lui Pearson, Regresia logistică și curbele ROC de predicție.

1.3. Rezultate

Cei 90 de pacienți înrolați au fost împărțiți în două grupe: un lot cu STEMI (lotul 1) și un lot cu sindrom coronarian cronic (SCC) (lotul 2). În lotul 1 pacienții au fost împărțiți în pacienți cu STEMI și diabet zaharat și pacienți cu STEMI fără diabet zaharat.

În întreg lotul cu 90 de pacienți a existat o distribuție a cazurilor preponderent masculină, 68% din pacienți fiind bărbați (n=61) și 32% femei (n=29). Vârsta medie a pacienților din întregul lot a fost 59 de ani cu o eroare medie de 1.3 ani (deviația standard 12.641) (Fig. 1.1).

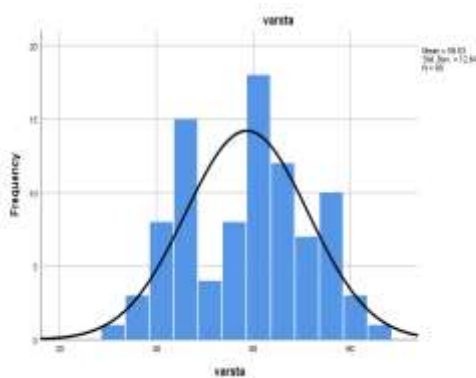


Fig. 1.1 . – Distribuția întregului lot în funcție de vârstă

În lotul pacienților cu STEMI și diabet zaharat vârsta medie a fost de 60 de ani +/-11.0, în lotul STEMI fără diabet zaharat vârsta medie a fost 54 de ani +/-14.8, respectiv în lotul cu SCC vârsta medie a pacienților a fost de 61 de ani +/- 10.6 (Fig. 1.2).

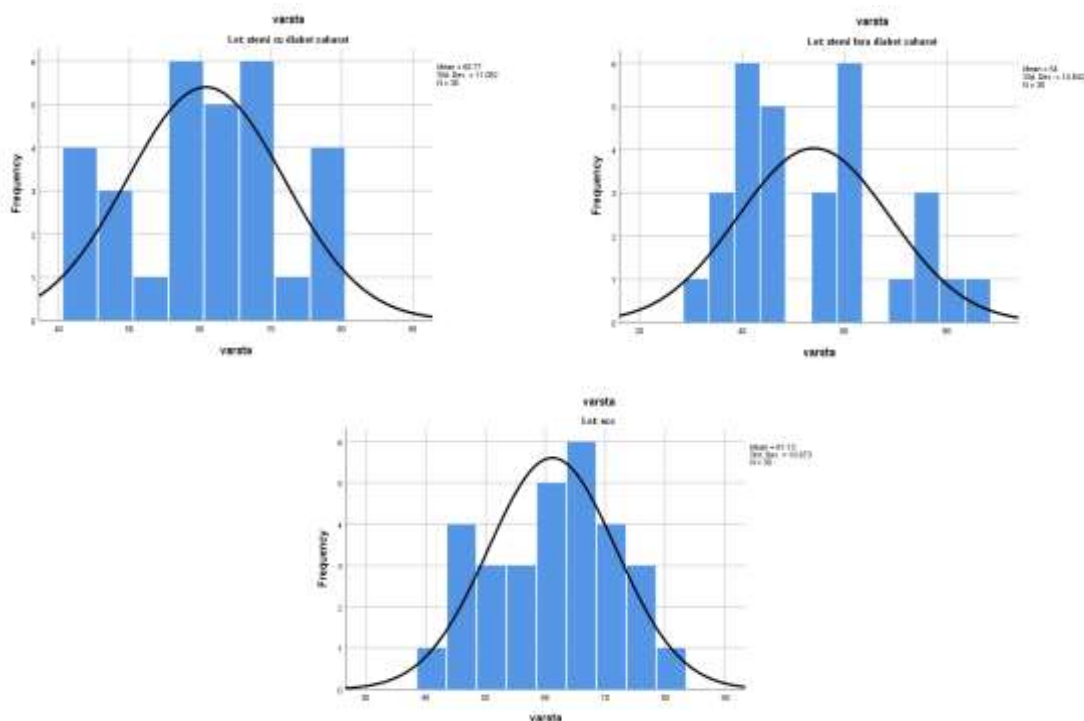


Fig. 1.2. – Distribuția pacienților în funcție de vârstă în lotul STEMI cu diabet zaharat, STEMI fără diabet zaharat, respectiv SCC

Din analiza principalilor factori de risc a reieșit că 63% din totalul pacienților erau nefumători, 81% prezentau hipertensiune arterială esențială, 42% prezentau diabet zaharat tip 2 și 92% dislipidemie. În ceea ce privește medicația de fond a pacienților, 42% nu primeau tratament anterior internării și numai 29% din totalul pacienților primeau tratament standard cu betablocant, statină și IECA pentru controlul factorilor de risc (Fig. 1.3).

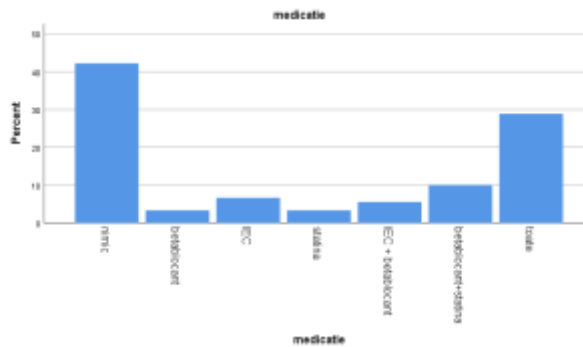


Fig. 1.3. – Distribuția pacienților în funcție de tratamentul la domiciliu în lotul general

În ceea ce privește evaluarea parametrilor la un an, din analiza statistică a reieșit o distribuție uniformă a vârstei și indicelui de masă corporală atât în întreg lotul cât și în fiecare sublot studiat, pacienții menținându-se supraponderali atât în lotul cu STEMI cât și în lotul cu SCC.

Din evaluarea parametrilor standard utilizând testul de comparație T-test a reieșit o diferență semnificativ statistică între FEVS măsurată prin ecocardiografie convențională ($p=0.0001$), strain radial VS ($p=0.01$), strain longitudinal ($p=0.0001$) și rata de strain longitudinal ($p=0.004$), rata de detorsiune ($p=0.03$), volumul telesistolic VS măsurat prin ecocardiografie 3D ($p=0.02$), debitul cardiac determinat prin ecocardiografie 3D ($p=0.001$) și FEVS determinată prin ecocardiografie 3D ($p=0.0001$) între pacienții cu STEMI și cei cu SCC (Fig 1.4).

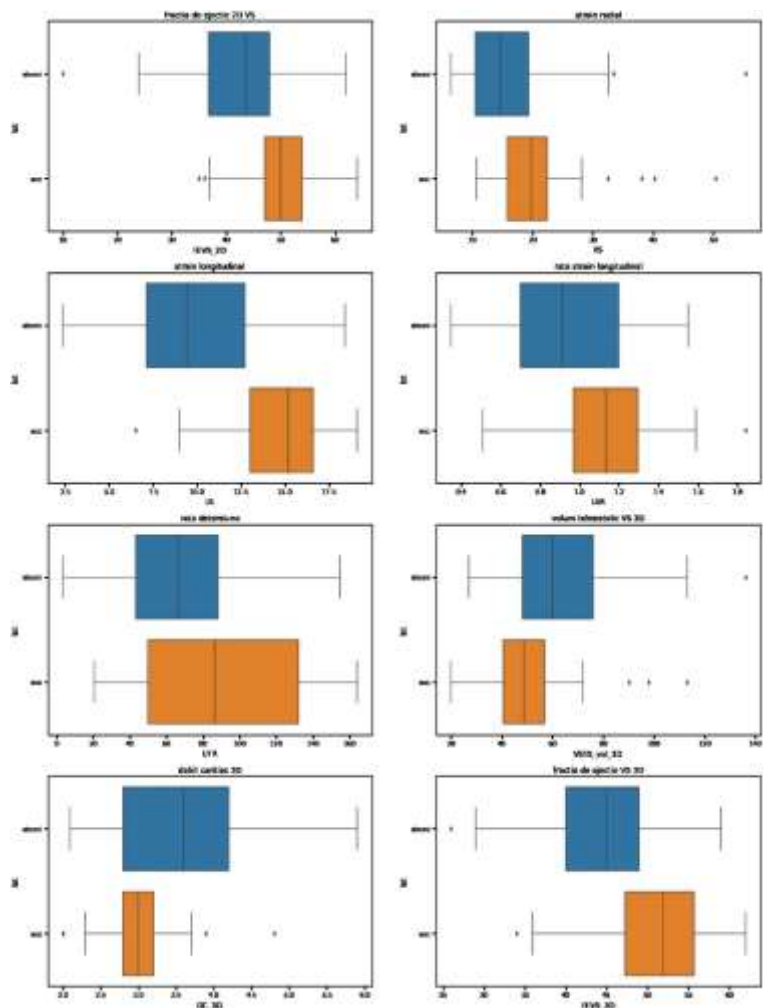


Fig. 1.4– Comparația parametrilor de funcție ventriculară stângă semnificativi statistic la pacienții cu STEMI și SCC la baseline

Din evaluarea parametrilor standard, folosind Independent T-test și testarea Levene, a reieșit că atât diametrul VD cât și strainul longitudinal VD sunt semnificativ statistic mai reduse la pacienții cu STEMI comparativ cu cei cu SCC ($t=-2.46$, $p=0.01$, respectiv $t=-3.08$, $p=0.003$) (Fig. 1.5).

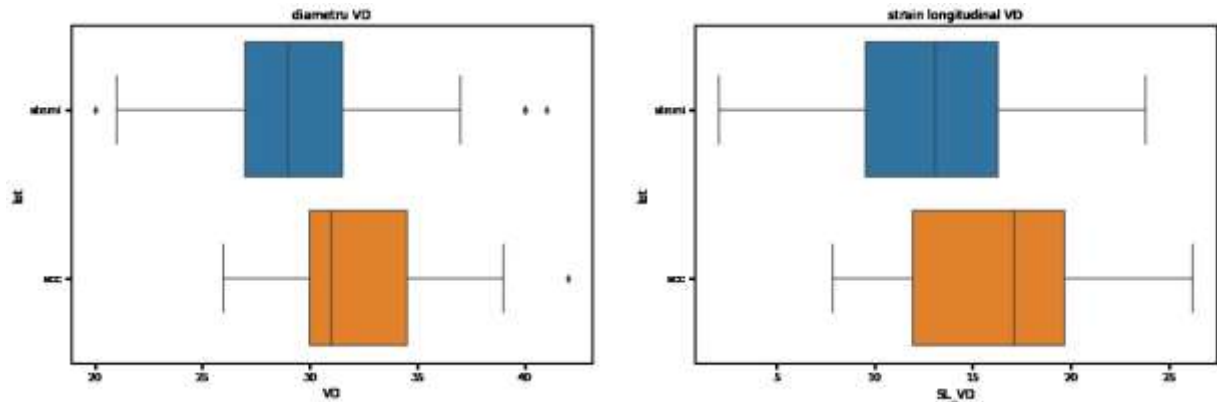


Fig. 1.5. Comparația parametrilor de funcție ventriculară dreaptă la pacienții cu STEMI și SCC la baseline.

Evaluarea microARN urilor și MMP -urilor circulante între cele două loturi prin testele T-test respectiv testul Levene, a relevat diferențe semnificativ statistic mai mari ale microARN-urilor în lotul cu STEMI (Fig.1.6). Mai mult decât atât, MMP1 și MMP 9 au avut valori semnificativ mai mari în lotul pacienților cu STEMI comparativ cu cei cu SCC, cu o valoare medie pentru MMP1 de 3.8 ± 3.4 , respectiv 1.7 ± 1.03 , $t=4.3$, $p=0.0001$, iar pentru MMP9 valoare medie de 302.9 ± 135.1 , respectiv 240.4 ± 89.4 , $t=2.56$, $p=0.01$. Analiza comparativă a microARN-urilor nu a evidențiat diferențe semnificative statistic în cazul miR30c ($t=1.37$, $p=0.17$) și miR126 ($t=1.49$, $p=0.14$) între cele două loturi studiate.

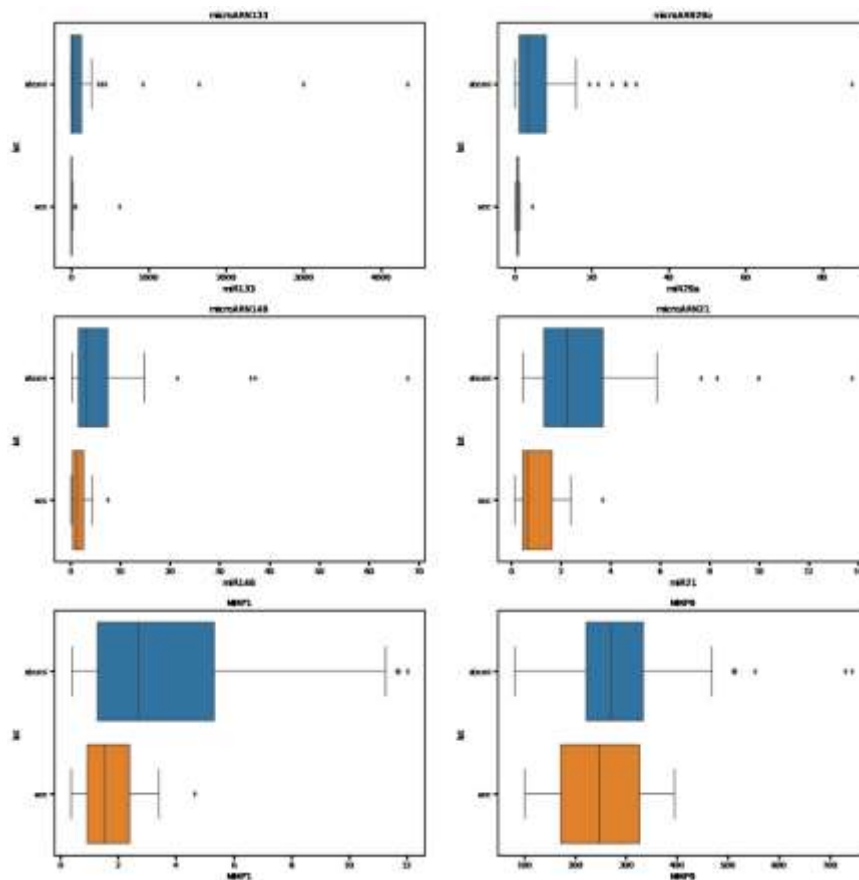


Fig. 1.6. Comparații semnificative statistic ale microARN-urilor și MMP-urilor circulante la pacienții cu STEMI și SCC la baseline

Folosind testele de corelație Pearson am evaluat principalii parametri de funcție ventriculară stângă și corelația dintre aceștia și microARN-urile, respectiv MMP-urile circulante în lotul general. Astfel, atât miR133, miR29, miR126, miR21 cât și MMP1 și MMP9 au fost corelate cu parametri de funcție ventriculară și de deformare miocardică.

Analiza extensivă a parametrilor funcției ventriculare stângi și corelația cu microARN-urile și MMP -urile circulante este explicată prin heat map-ul de mai jos, unde cu cât corelația Pearson este mai puternică cu atât nuanța graficului este mai intensă (Fig. 1.7).

În ceea ce privește analiza parametrilor de funcție ventriculară dreaptă la baseline nu au reieșit corelații semnificative statistic ale microARN-urilor sau MMP-urilor circulante cu excepția miR29a care s-a corelat negativ cu valoarea TAPSE ($R=-0.29$, $p=0.02$) (Fig.1.8).

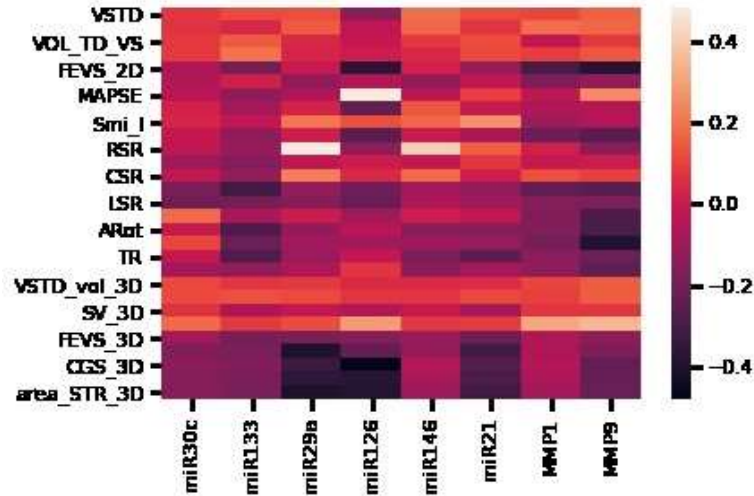


Fig. 1.7. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție ventriculară stângă cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la baseline

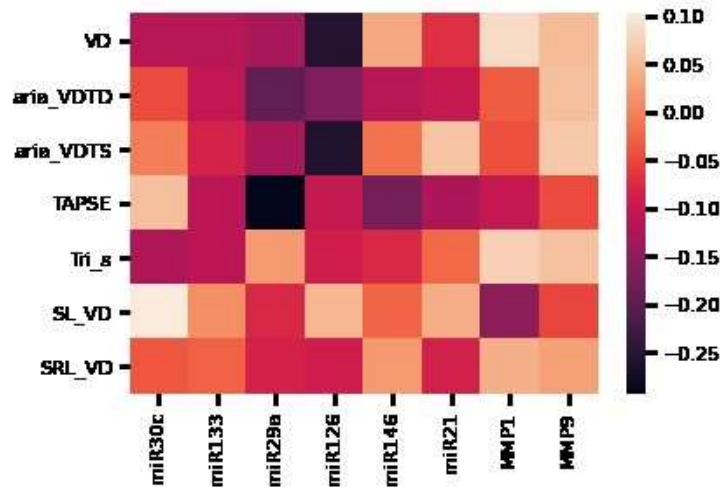


Fig. 1.8. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție ventriculară dreaptă cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la baseline

Am analizat ulterior corelația microARN-urilor și MMP-urile circulante în fiecare lot, folosind teste de corelație Pearson și am obținut următoarele date. Aceste rezultate se regăsesc în figura 1.9.

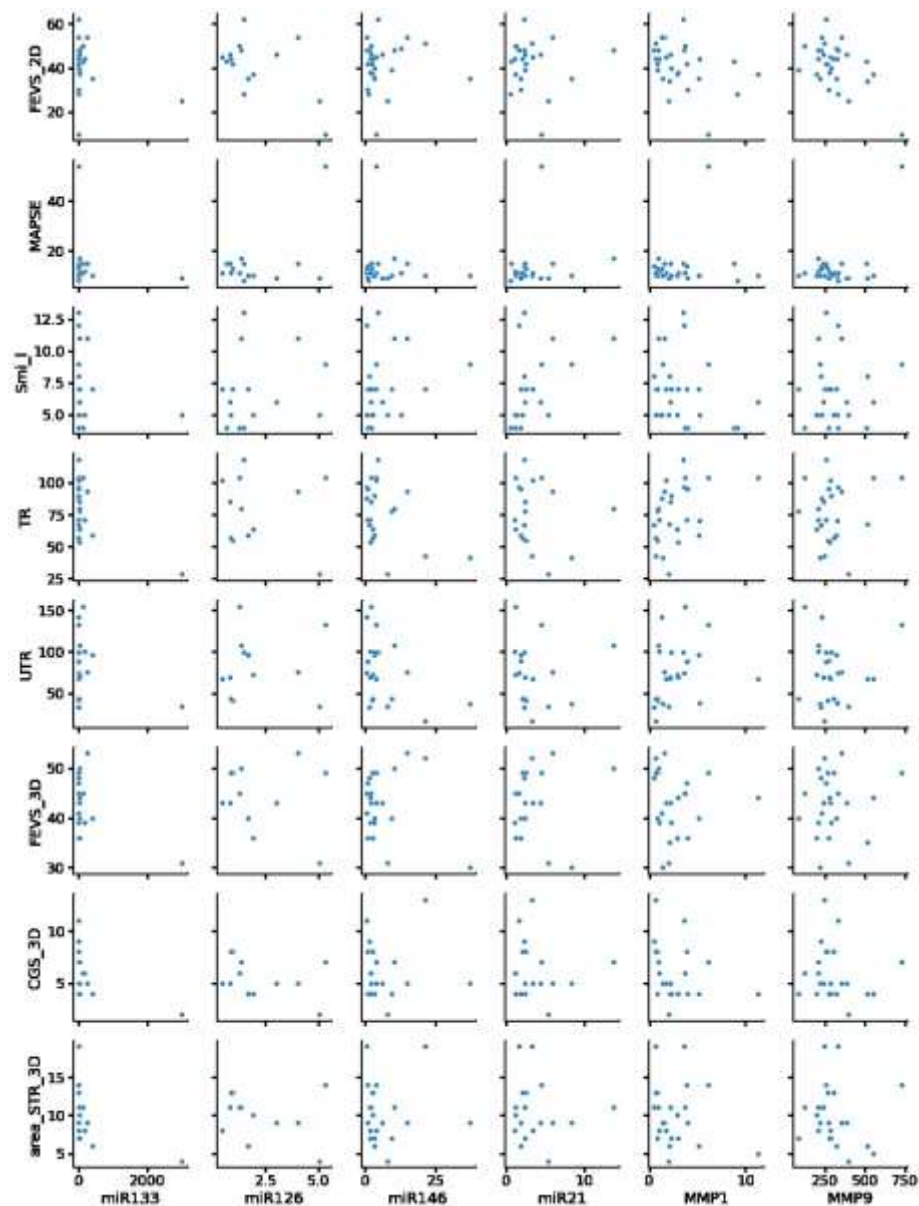


Fig 1.9. Corelații semnificative statistic ale parametrilor de funcție ventriculară și microARN uri respectiv MMP uri la pacienți cu STEMI cu diabet zaharat la baseline

Evaluarea parametrilor de funcție ventriculară la 1 an a fost efectuată prin corelarea microARNurilor și MMP urilor circulante utilizând testele de corelație Pearson și am obținut următoarele rezultate. În ceea ce privește microARN-urile circulante, miR133, miR146 au avut corelații semnificative cu parametrii de funcție ventriculară și deformare miocardică. Nu am identificat corelații semnificative statistic ale microARN-urilor 30 c, 126 și 21 cu parametrii de funcție ventriculară stângă. În ceea ce privește MMP-urile circulante, evaluarea la un an a

evidențiat că MMP1 a avut corelație negativă cu fracția de scurtare VS ($R=-0.28$, $p=0.02$), iar MMP9 a avut corelație negativă cu FEVS ($R=-0.28$, $p=0.01$). Analiza extensivă a parametrilor funcției ventriculare stângi și corelația cu microARN-urile și MMP -urile circulante la un este explicată prin heat map-ul de mai jos (Fig. 1.10).

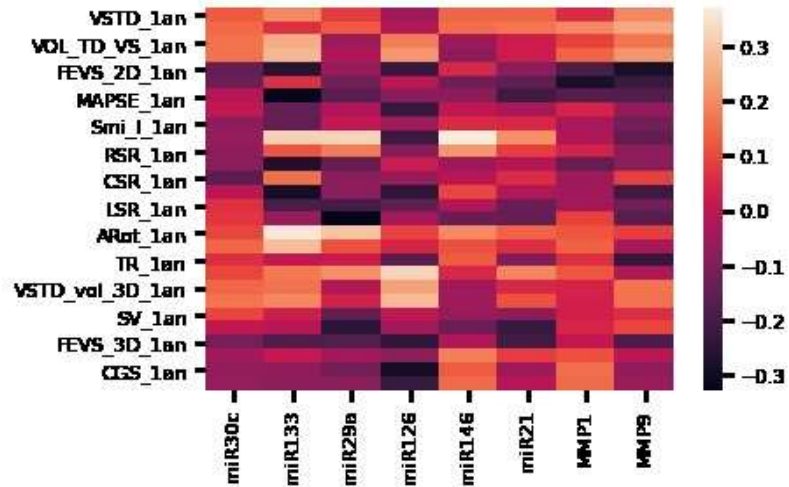


Fig. 1.10. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție ventriculară stângă cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la 1 an

Din evaluarea parametrilor de funcție ventriculară dreaptă la 1 an a reieșit ca atât miR29a, cât și miR21 au avut corelații negative cu TAPSE ($R=-0.36$, $p=0.01$, respectiv $R=-0.32$, $p=0.02$), și totodată miR21 a prezentat corelație negativă cu aria telediastolică VD ($R=-0.32$, $p=0.03$) (Fig. 1.11).

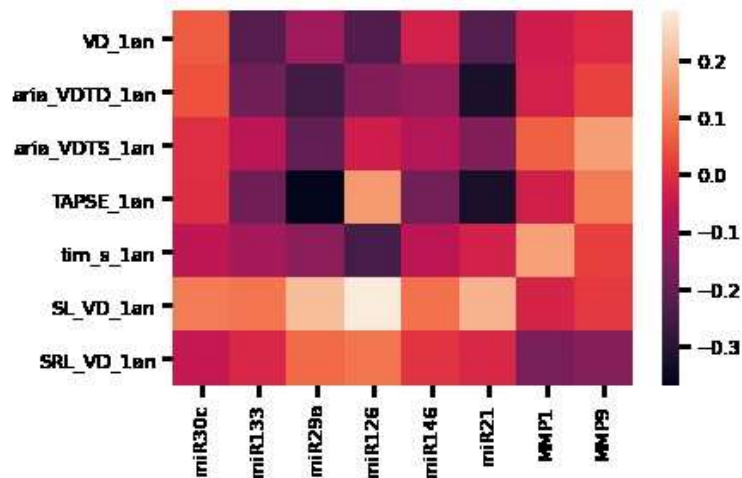


Fig. 1.11. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție ventriculară dreaptă cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la 1 an

Utilizând modele de regresie logistică, respectiv testul Omnibus pentru coeficienții modelului, Nagelkerke R^2 , testul Hosmer și Lemeshow a fost evaluată puterea de predicție a fiecărui microARN, respectiv MMP analizat pentru parametrii de deformare miocardică.

În analiza pe loturi, microARN133 a avut valoare predictivă înaltă pentru creșterea strainului radial determinat prin ecocardiografie 3D la 1 an, la pacienții cu STEMI ,cu AUC=0.8, $p=0.006$, CI 95% 0.638 – 0.962, cu o valoare prag de 3.22, sensibilitate 95%, respectiv specificitate 90% (Fig. 1.12), în timp ce în grupul cu SCC valoarea predictivă a microARN133 nu a fost semnificativ statistică pentru creșterea strainului radial 3D (AUC=0.51, $p=0.93$, CI 95% 0.236-0.786) (Fig. 1.13).

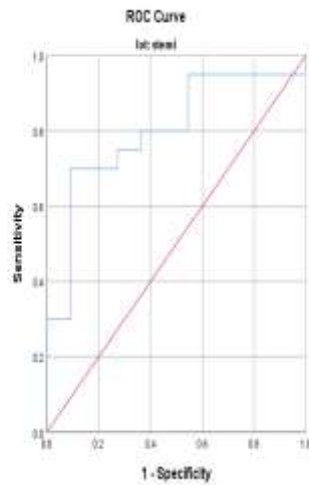


Fig. 1.12 – Curba ROC de predicție a creșterii SR 3D în STEMI de către miR133

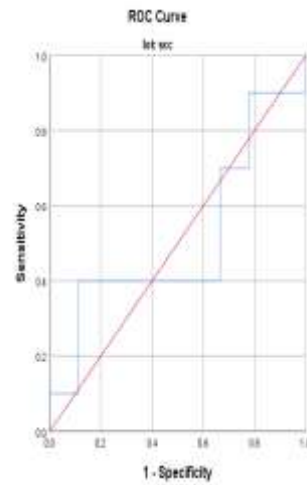


Fig. 1.13 – Curba ROC de predicție a creșterii SR 3D în SCC de către miR133

1.4. Discuții

În acest studiu, am demonstrat că FEVS determinată atât prin ecocardiografie bi cât și tridimensională, debitul cardiac precum și parametrii de deformare miocardică (strain radial, strain longitudinal și rata de strain longitudinal și rata de detorsiune) sunt semnificativ mai reduse la pacienții cu STEMI comparativ cu cei cu SCC, acest lucru menținându-se valabil și pentru parametrii de funcție ventriculară dreaptă unde atât diametrul cât și strainul longitudinal al VD au fost mai reduse la pacienții cu infarct miocardic acut.

În ceea ce privește analiza microARN-urilor și MMP-urilor circulante, rezultatele noastre arată că nivelurile de expresie ale miR133, miR146, miR29a și miR21 circulante sunt semnificativ mai crescute la pacienții cu STEMI în comparație cu pacienții cu SCC. De asemenea, am constatat că valorile mai mari ale miRNA126 și miR133 sunt asociate cu valori mai mici ale FEVS și valori mai scăzute ale parametrilor de deformare miocardică la pacienții cu STEMI, comparativ cu pacienții cu boală aterosclerotică cronică.[13][14][15]

Limitele studiului nostru sunt faptul că numărul de pacienți a fost relativ mic. Analiza a fost efectuată numai pentru parametrii la momentul înrolării și la un an, fiind necesară o urmărire suplimentară pentru a stabili potențialul diagnostic și prognostic al acestor biomarkeri. În acest studiu nu am inclus un grup de control, ținând cont că în acest moment, nu ne așteptăm la nicio corelație la subiecții normali, scopul nostru fiind de a stabili relația acestor biomarkeri cu parametrii de funcție ventriculară.

Cercetarea de față ia în considerare importanța creșterii miR21, miR126, miRNA146, miR30c, miR29a și miR133 precum și a MMP1 și MMP9, care pot fi considerate potențiali biomarkeri candidați pentru diagnosticul precoce al infarctului miocardic acut și, de asemenea, pentru disfuncția sistolică ventriculară stângă și dreaptă, precum și pentru vulnerabilitatea plăcii aterosclerotice.

1.5.Concluzii

MicroARN-urile circulante dar și MMP1 și MMP9 sunt potențiali biomarkeri ai funcției ventriculare la pacienții cu STEMI, prin corelarea acestora cu parametrii de deformare miocardică dar și prin potențialul rol predictiv al lor. MicroARN-urile circulante sunt biomarkeri promițători pentru diagnosticul precoce și prognosticul infarctului miocardic acut. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a stabili rolul lor în bolile cardiovasculare.

2. Implicațiile microARN-urilor și MMP-urilor circulante asupra funcției atriale stângi și drepte la pacienți cu placă aterosclerotică complicată în context de infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2

2.1.Introducere

Așa cum am arătat anterior, mecanismele moleculare și celulare care duc la remodelarea cardiacă după un infarct miocardic acut implică modificări ale funcției miocitelor cardiace și ale

matricei extracelulare (ECM).[16][17] ECM reprezintă o rețea dinamică de fibre și proteine structurale, colagen fibrilar, proteoglicani și glicozaminoglicani, care reglează morfologia celulară, diferențierea, migrarea și proliferarea.[18] Metaloproteinazele matriceale (MMP) sunt enzime proteolitice identificate în miocard, strâns legate de remodelarea miocardică și reglarea metabolismului ECM.[19] Ele sunt reglate la niveluri transcripționale de inhibitori fiziologici endogeni, cum ar fi inhibitorii metaloproteinazelor (TIMP).[20] Mai multe studii au arătat importanța MMP-urilor, în special MMP-1 și MMP 9, în remodelarea și progresia cicatricii ventriculului stâng după infarctul miocardic și dezvoltarea insuficienței cardiace.[21] În acest studiu, prin studierea expresiei microARN-urilor și MMP-urilor structurii miocardice atriale stângi în boala coronariană, ne propunem să determinăm relația dintre miR30c, miR133, miR29a, miR126, miR146 și miR21, precum și MMP-1 și MMP-9, și remodelarea structurală și funcția atrială.

2.2. Materiale și metode

Pentru realizarea acestui proiect de cercetare am urmărit prospectiv cei 90 de pacienți, în cadrul Clinicii de Cardiologie a Spitalului Universitar de Urgență București București, desfășurat pe o perioadă de 4 ani, în cadrul anilor 2017-2020. Pacienții au fost împărțiți în 2 loturi și anume 60 de pacienți în lotul cu STEMI (lotul 1) și 30 pacienți în lotul cu SCC (lotul 2).

Protocolul studiului și toate protocoalele experimentale au fost aprobate de Comisia de Etică a Spitalului Universitar de Urgență București și consimțământul informat a fost obținut de la fiecare subiect participant la cercetare. Toți pacienții au fost evaluați prin ecocardiografie 2D convențională, tissue Doppler și 2D Speckle Tracking, ecocardiografie 3D, și probe biologice.

Analiza statistică a fost efectuată folosind softurile SPSS varianta 26, Python 3 și Microsoft Excel 365. Pentru a testa **diferențele dintre mediile a două eșantioane independente** este necesară testarea a priori a omogenității varianțelor, deoarece valoarea testului t se calculează diferit, în funcție de acceptarea sau nu a ipotezei de egalitate a varianțelor. Testul folosit pentru acest scop este testul Levene. Dacă valoarea Sig. pentru acest test este mai mare decât 0,05, atunci varianțele sunt considerate egale și se trece la interpretarea rezultatului pentru testul t, folosind linia aferentă concluziei rezultate în urma aplicării testului lui Levene.

2.3. Rezultate

Analiza descriptivă a parametrilor standard de funcție atrială stângă și dreaptă arată o distribuție uniformă a pacienților în funcție de diametrul atât în lotul general la baseline (valoarea medie diametru AS 32.3+/-4.5, respectiv pentru AD 33.4+/-4.5) și la 1 an (valoarea medie diametru AS 33.8+/-4.7, respectiv pentru AD 34.2+/-4.1 (Fig. 2.1 și Fig 2.2) cât și în analiza de subgrup.

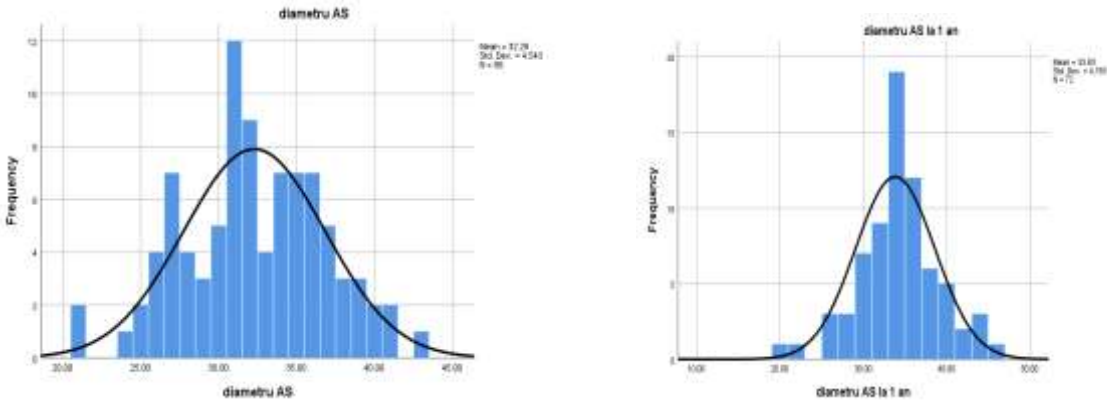


Fig. 2.1 Distribuția pacienților în funcție de diametrul AS la baseline și la 1 an

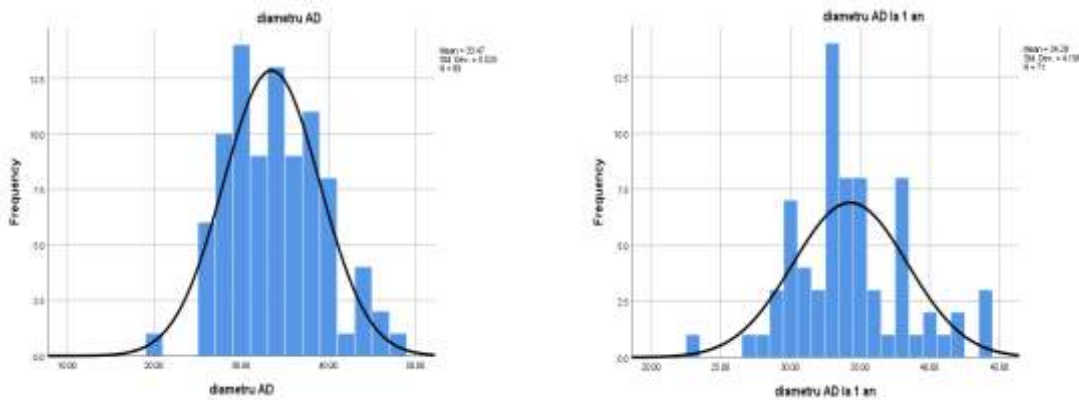


Fig. 2.2. Distribuția pacienților în funcție de diametrul AD la baseline și la 1 an

Utilizând testele de comparație T-test și Levene am obținut următoarele rezultate semnificative statistic între cele două loturi la baseline (Fig. 2.3). În ceea ce privește parametrii standard de evaluare a funcției atriale stângi au existat diferențe semnificative între indicii de expansiune fiind mai mic la cei cu STEMI comparativ cu cei cu SCC ($t=-2.55$, $p=0.01$), fracția de ejeție activă fiind de asemenea mai mică la pacienții cu STEMI față de cei cu SCC ($t=-2.63$, $p=0.01$), precum și fracția de ejeție totală care a fost mai redusă la cei cu STEMI ($t=-2.50$, $p=0.01$). Analiza funcției atriale drepte a relevat că strainul pozitiv AD, strainul global AD, precum și rata de strain negativ

și cea de strain pozitiv au avut valori semnificativ mai mari în lotul pacienților cu STEMI, evaluați la baseline.

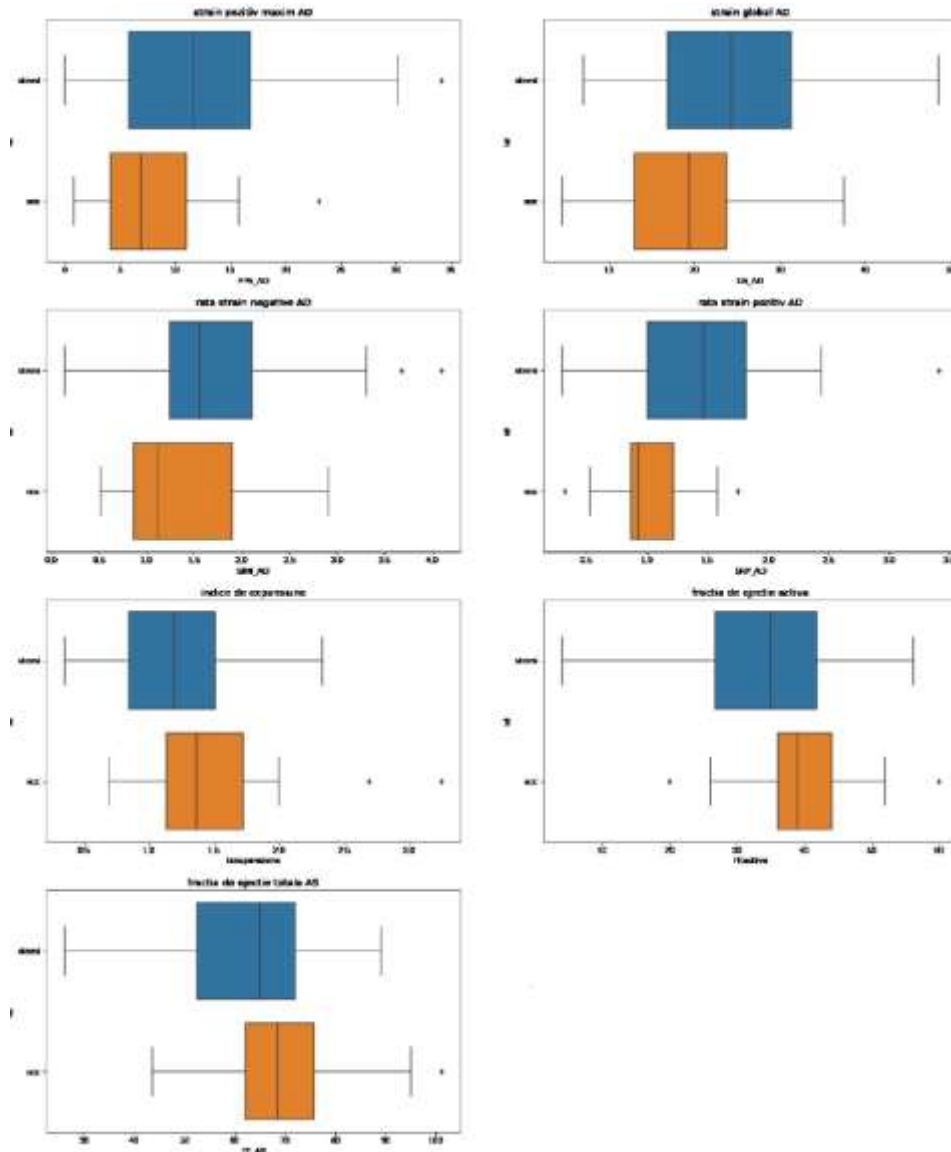


Fig. 2.3. – Comparația parametrilor de funcție atrială stângă și dreaptă semnificativi statistic la pacienții cu STEMI și SCC la baseline

Folosind testele de corelație Pearson, evaluarea atriului stâng a relevat la baseline, corelație a miR126 cu strainul pozitiv maxim al AS ($R=-0.40$, $p=0.01$), niciunul dintre celelalte miR-uri neavând corelații cu parametrii de funcție atrială stângă. În ceea ce privește MMP-urile circulante, am obținut corelații semnificative atât pentru MMP1 cât și pentru MMP9. Analiza extensivă a parametrilor funcției atriale stângi și corelația cu microARN-urile și MMP -urile circulante se

regăsește în heat map-ul de mai jos, unde cu cât corelația Pearson este mai puternică cu atât nuanța graficului este mai intensă (Fig. 2.4).

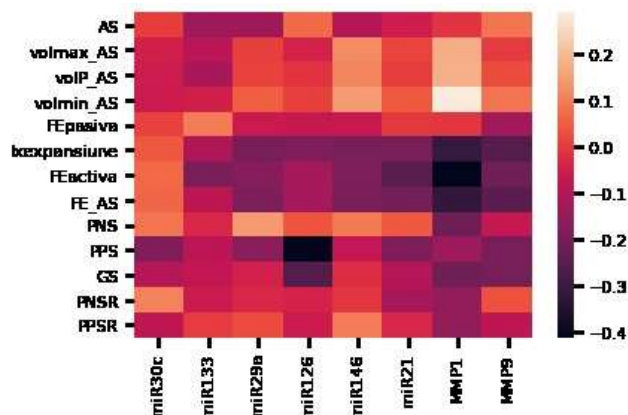


Figura 2.4. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție atrială stângă cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la baseline

Analiza parametrilor de funcție atrială dreaptă la baseline în lotul general a evidențiat corelații semnificative statistice ale microARN-urilor cu parametrii de deformare atrială, astfel: miR133, miR30c și miR146 și miR126 au avut corelații cu parametrii de deformare atrială. Totodată, MMP9 a avut valori semnificativ mai mari la cei cu strain global și rata de strain negativ maxim mai mari ($R=0.22$, $p=0.03$, respectiv $R=0.26$, $p=0.01$) (Fig. 2.5).

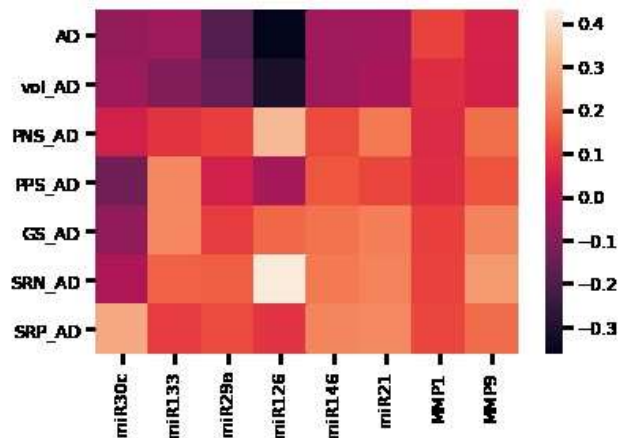


Figura 2.5. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție atrială dreaptă cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la baseline

Am analizat ulterior corelația microARN-urilor și MMP-urile circulante în fiecare lot, folosind teste de corelație Pearson și am obținut următoarele date. În lotul pacienților cu STEMI care asociau diabet zaharat miR30c s-a corelat pozitiv cu rata de strain pozitiv maxim al AD

($R=0.40$, $p=0.04$), fără să existe alte microARN-uri cu corelații semnificative statistic cu parametrii de funcție atrială stângă sau dreaptă. În schimb valoarea MMP1 a avut corelații pozitive atât cu diametru AS ($R=0.37$, $p=0.04$), volumul minim AS ($R=0.38$, $p=0.04$), și corelație negativă cu rata de strain pozitiv maxim al AS ($R=-0.42$, $p=0.02$), cât și cu diametrul și volumul AD ($R=0.37$, $p=0.04$, respectiv $R=0.44$, $p=0.01$) (Fig. 2.6).

În lotul pacienților cu STEMI fără diabet zaharat, analiza statistică a evidențiat că singurul microARN asociat cu funcția atrială a fost miR21, care s-a corelat negativ cu fracția de ejeție activă a AS ($R=-0.48$, $p=0.01$) și nu a avut corelații cu parametrii de funcție atrială dreaptă. Referitor la MMP-uri, MMP1 a avut valori mai mari la pacienții cu fracție de ejeție mai mică a AS ($R=-0.43$, $p=0.02$), iar MMP9 s-a corelat negativ cu indicele de expansiune al AS și cu fracția de ejeție totală a AS ($R=-0.50$, $p=0.005$ pentru ambii parametrii), și pozitiv cu strainul negativ maxim al AD ($R=0.50$, $p=0.005$) și rata de strain negativ maxim AD ($R=0.38$, $p=0.03$) (Fig. 2.7).

Evaluarea extensivă a parametrilor de funcție ventriculară la 1 an pe loturi a relevat următoarele corelații. În ceea ce privește lotul pacienților cu STEMI și diabet zaharat, miR133 s-a corelat negativ cu rata de strain negativ maxim al AS ($R=-0.46$, $p=0.05$), iar miR29a și miR126 au avut valori mai mari la cei cu strain pozitiv maxim de AS mai mic ($R=-0.53$, $p=0.01$, respectiv $R=-0.60$, $p=0.04$). Totodată, am găsit corelație semnificativă a MMP1 cu diametrul AD ($R=0.45$, $p=0.04$), fără alte asocieri semnificative ale MMP-urilor cu alți parametri de funcție atrială (Fig. 2.8).

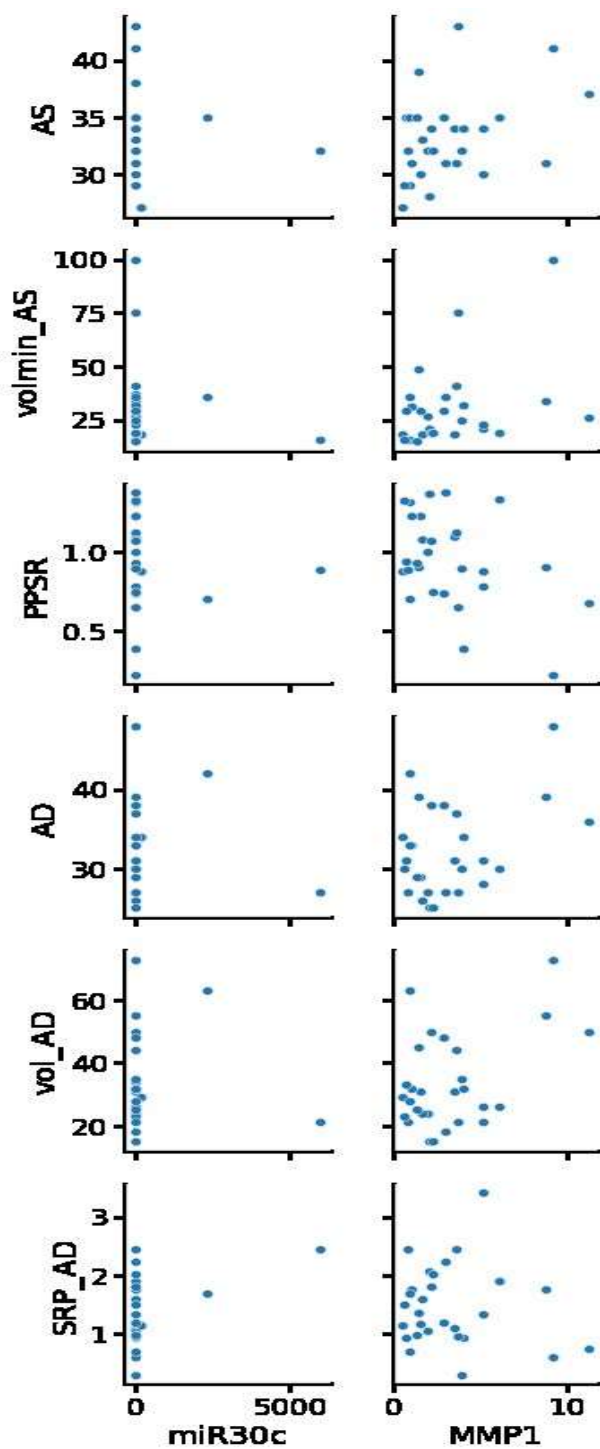


Fig 2.6. Corelații semnificative statistic ale parametrilor de funcție atrială și microARN uri respectiv MMP uri la pacienți cu STEMI cu DZ la baseline

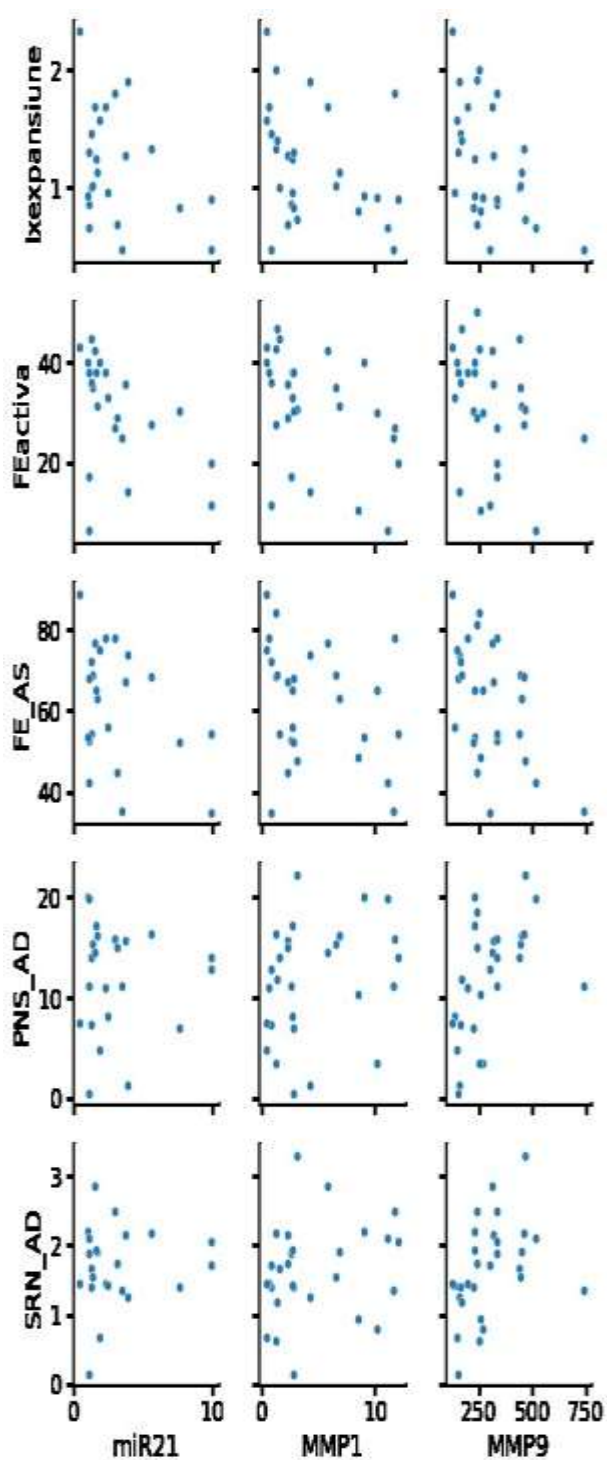


Fig 2.7. Corelații semnificative statistic ale parametrilor de funcție atrială și microARN uri respectiv MMP uri la pacienți cu STEMI fără DZ la baseline

În analiza lotului pacienților cu STEMI fără diabet zaharat, evaluarea funcției atriale stângi a relevat următoarele rezultate. Valori mai reduse ale fracției de ejeție activă a AS la un an s-au corelat cu valori mai mari ale miR30c ($R=-0.60$, $p=0.006$), miR126 ($R=-0.68$, $p=0.02$), precum și ale MMP1 ($R=-0.45$, $p=0.02$), și MMP9 ($R=-0.43$, $p=0.03$). Totodată, MMP1 s-a corelat negativ cu fracția de ejeție totală a AS ($R=-0.46$, $p=0.02$), iar MMP9 s-a corelat negativ cu indicele de expansiune al AS ($R=-0.50$, $p=0.01$) și cu fracția de ejeție totală a AS ($R=-0.54$, $p=0.005$) și pozitiv cu volumul minim al AS ($R=0.49$, $p=0.01$). Referitor la funcția atrială dreaptă, am identificat doar corelația negativă a miR133 cu volumul AD la un an ($R=-0.67$, $p=0.001$) (Fig. 2.9).

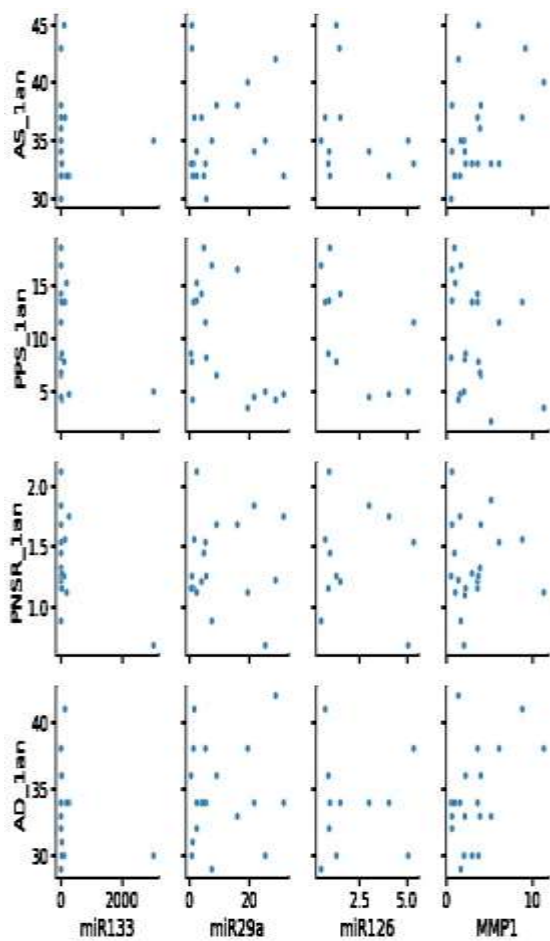


Fig 2.8. Corelații semnificative statistic ale parametrilor de funcție atrială și microARN uri respectiv MMP uri la pacienți cu STEMI cu DZ la un an

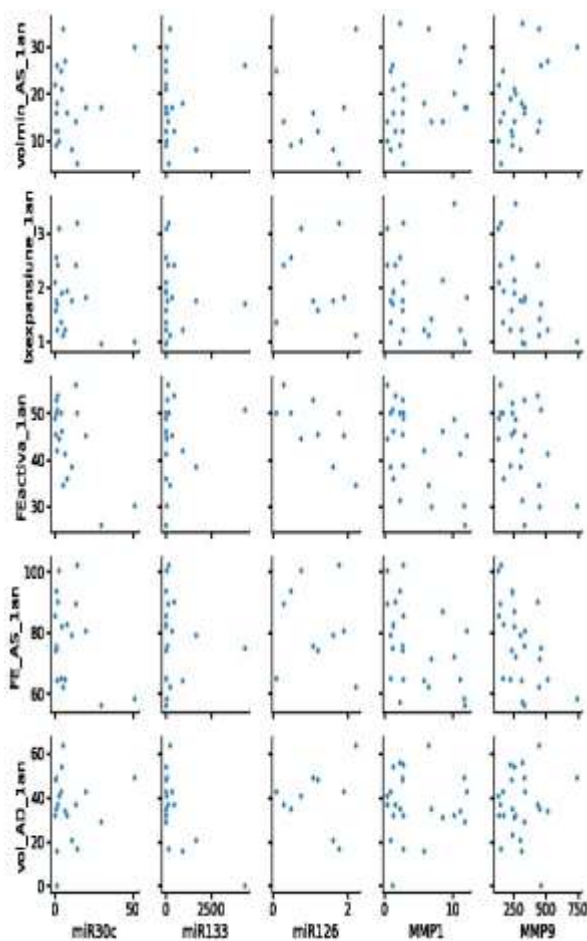


Fig 2.9. Corelații semnificative statistic ale parametrilor de funcție atrială și microARN uri respectiv MMP uri la pacienți cu STEMI fără DZ la un an

Utilizând modele de regresie logistică, respectiv testul Omnibus pentru coeficienții modelului, Nagelkerke R^2 , testul Hosmer și Lemeshow a fost evaluată puterea de predicție a fiecărui microARN, respectiv MMP analizat pentru parametrii de funcție atrială. În analiza lotului general, nu au existat predictorii semnificativ statistic pentru îmbunătățirea parametrilor de funcție atrială la 1 an, atât în rândul microARN -urilor cât și în rândul MMP-urilor, în cazul pacienților cu STEMI. În ceea ce privește pacienții cu SCC, MMP9 a reieșit un predictor pentru creșterea volumului AD la 1 an (AUC 0.902, $p=0.03$, CI 95% 0.761-1.000), cu o valoare prag de 158.65, sensibilitate 90%, specificitate 87% (Fig. 2.10), însă nu și pentru creșterea volumului AD la pacienții cu STEMI (Fig.2.11).

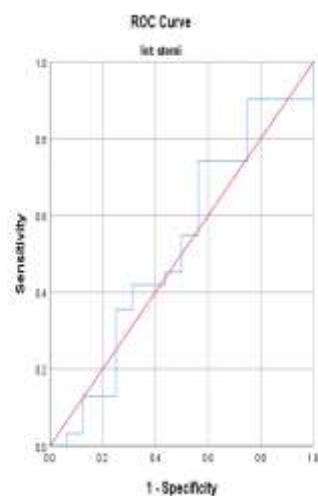


Fig 2.10. Curba ROC de predicție a creșterii volumului AD la un an în SCC de către MMP9

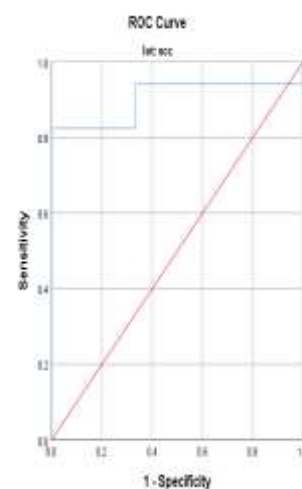


Fig 2.11. Curba ROC de predicție a creșterii volumului AD la un an în STEMI de către MMP9

2.4. Discuții

Studiile actuale despre expresia MMP-urilor și microARN-urilor circulante și rolul lor în bolile cardiovasculare se concentrează pe nivelurile de expresie ale acestora în ser sau folosind modele animale pentru a reproduce expresia MMP-urilor și TIMP-urilor în miocardul uman cu boli cardiace.[22] Studiile au arătat că MMP-urile au fost studiate pe scară largă ca posibili markeri pentru a prezice dezvoltarea BCV, în special remodelarea post-IM și insuficiența cardiacă.[23]

S-a demonstrat că MMP-urile, în special MMP1 și MMP9, sunt implicate în procesele de remodelare a matricei și aterosclerotice după IMA.[24] MMP1 are cea mai mare afinitate pentru colagenul fibrilar, inițiind degradarea fibrelor de colagen în AS și VS. MMP9 se găsește într-un

număr mare de tipuri de celule, cum ar fi cardiomiocite, macrofage, celule endoteliale și fibroblaste, iar nivelul său crește în ziua 1, rămânând crescut până în ziua 7 după IMA la șoareci.[25]

În studiul nostru, am demonstrat că nivelul de expresie al microARN-urilor precum și MMP1 și MMP9 circulante este crescut în plasma pacienților cu STEMI în comparație cu cei cu CCS. Am constatat că atât nivelul de miR126 cât și nivelurile serice ale acestor MMP, cunoscute pentru implicarea lor în procesele de remodelare, sunt asociate semnificativ cu parametrii funcției AS, inclusiv volumul maxim și minim AS și volumul de contracție preatrial, FE activă și totală, dar și cu parametrii de deformare precum strainul pozitiv, strainul negativ și strainul global AS la pacienții cu STEMI. În ceea ce privește AD, miR30c, miR133, miR126 și miR146 s-au asociat cu parametrii de deformare atrială în lotul general dar și la pacienții cu SCC. Cu toate acestea, nu au fost găsite corelații între MMP și parametrii funcției AS la pacienții cu SCC, arătând rolul lor important în procesul aterosclerotic și inflamator activ în infarctul miocardic acut, care duce la fibroză atrială și progresia spre insuficiență cardiacă.

Studiul are unele limitări. Numărul de pacienți este relativ mic, analiza s-a făcut doar pentru parametrii de la baseline și un an, fiind necesară o urmărire pe termen lung pentru a stabili potențialul diagnostic și prognostic al acestor biomarkeri, iar MMP-urile ar trebui detectate în momente diferite datorită modificărilor sale cu progresia infarctului miocardic.

2.5.Concluzii

MicroARN-urile și MMP-urile circulante sunt biomarkeri promițători implicați în remodelarea atrială, care determină direct modificările metabolismului colagenului, corelate cu unii dintre cei mai importanți parametri ai funcției și deformării atriale. Este important să înțelegem procesele fiziopatologice și funcțiile biologice în care sunt implicate microARN-urile și MMP-urile pentru a înțelege mai bine rolul acestora în dezvoltarea de noi strategii terapeutice pentru a limita progresia insuficienței cardiace.

3. Rolul micro-ARN-urilor circulante la nivelul celulelor vasculare din placa aterosclerotică complicată la pacienții cu infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2

3.1.Introducere

Remodelarea vasculară poate avea ca efecte disfuncția celulelor endoteliale, activarea fibroblastelor și a celulelor musculare netede, producerea de citokine și substanțe inflamatorii, procese care sunt în final implicate în ateroscleroză, prin activarea celulelor imune circulante și disfuncția metabolismului lipidic.[26] Rolul microARN-urilor circulante la nivelul acestor celule nu este încă pe deplin cunoscut, însă studiile arată rolul acestora în reglarea celulelor musculare netede, implicate în proliferarea celulară care duce la remodelare vasculară, precum și a celulelor endoteliale în procesul de reparare sau a răspunsului inflamator sau antiinflamator al macrofagelor.[27] Cu toate acestea există multe provocări în modularea acestor microARN-uri, dar și în mecanismele de antimiR de dezvoltare a strategiilor terapeutice, precum pierderea funcțiilor microARN-urilor prin antagomir-uri sau amplificarea funcției microARN-urilor prin stimulatori.[28]

În remodelarea vasculară un rol deosebit de important îl au și MMP-urile, fiind implicate în multiple procese celulare, proliferare, migrare, diferențiere celulară, dar și invazie tisulară și vascularizație.[29] Stimularea activității MMP-urilor duce la degradarea matricei extracelulare și la activarea căilor de semnalizare celulară și intracelulară, ceea ce împreună cu proliferare celulelor musculare netede vasculare contribuie la injurie endotelială și acumulare de lipide, ce duc în final la formarea plăcii de aterom.[30]

Obiectivele acestui studiu, prin studierea expresiei microARN-urilor și MMP-urilor structurii vasculare în boala aterosclerotică, au fost de a determina relația dintre miR30c, miR133, miR29a, miR126, miR146 și miR21, precum și MMP-1 și MMP-9, și remodelarea vasculară și parametrii de funcție vasculară și totodată de a identifica potențiali predictorii pentru funcția vasculară post infarct miocardic acut.

3.2.Materiale și Metode

În acest proiect de cercetare au fost evaluați prin urmărire prospectivă cei 90 de pacienți, din cadrul Clinicii de Cardiologie a Spitalului Universitar de Urgență București, împărțiți în pacienți cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST cu diabet zaharat tip 2,

pacienți cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST fără diabet zaharat tip 2 și pacienți cu sindrom coronarian cronic cu sau fără diabet zaharat, urmăriți pe o perioadă de trei ani.

Protocolul studiului și toate protocoalele experimentale au fost aprobate de Comisia de Etică a Spitalului Universitar de Urgență București și consimțământul informat a fost obținut de la fiecare subiect participant la cercetare, toate determinările fiind realizate în conformitate cu ghidurile și regulile actuale.[31]

Markerii biologici au fost recoltați în primele 24 de ore de la internarea pentru evenimentul coronarian și au constat în dozare de mir 30c, mir133, mir29, mir126, mir146, mir21, MMP1, MMP9 precum și markeri convenționali de injurie miocardică troponina I.

Colectarea probelor și extracția ARN a fost efectuată de la fiecare pacient în 24 de ore de la internare folosind un tub de acid etilendiaminotetraacetic (EDTA) de aproximativ 5 ml.

Ecografia vasculară de înaltă rezoluție este metodă standard de evaluare atât a modificărilor morfologice, cât și a celor funcționale care însoțesc procesul de remodelare vasculară prin grosimea intima-medie și parametri de rigiditate arterială.[32] Pentru evaluarea parametrilor de rigiditate arterială am utilizat un aparat Aloka SSD 5500/Prosound α 10 (Tokio, Japonia). Măsurătorile au fost făcute ca medie a 5 cicluri cardiace. S-au obținut următorii parametri: grosimea intimă-media (IMT) măsurată conform standardelor actuale [32], PWV-E (viteza undei pulsului „punct unic”), β , indicele beta de rigiditate, Ep, modulul Young de rigiditate, Complianța arterială (AC) și indicele de expansiune arterial (AI-E, în %).

De asemenea, funcția arterială a fost evaluată și prin indicele cardio-gleză vascular (CAVI) și PWV pentru ateroscleroza subclinică și indicele gleznă-brahial (IGB) pentru boala arterială periferică, obținut la toți pacienții după 5 minute de repaus în decubit dorsal folosind VaSera CAVI aparat (Fukuda Denshi, Tokyo, Japonia), cu funcții de electrocardiografie, fonocardiografie și mecanocardiografie. CAVI este un indice nou care definește rigiditatea aortei, arterei femurale și a arterei tibiale, independent de tensiunea arterială.[33]

Pentru analiza datelor statistice s-au utilizat softurile SPSS varianta 26 (SPSS, Inc, Chicago, Illinois), Python 3 și Microsoft Excel 365. Corelațiile dintre doi parametri sunt realizate utilizând corelația Pearson univariată și analiza regresiei liniară multiplă folosind testul Hosmer-Lemeshow. Ca și în cazul testului t pentru două populații, o valoare Sig. Sub 0.05 indică un test statistic semnificativ.

3.3.Rezultate

Valoarea medie a R_CAVI la baseline în grupul pacienților cu STEMI și diabet zaharat a fost de 9.85 ± 1.92 , respectiv 10 ± 2.1 pentru L_CAVI (Fig. 3.1), iar la pacienții cu STEMI fără diabet zaharat 8.75 ± 1.8 , pentru R_CAVI respectiv 8.7 ± 1.4 , pentru L_CAVI, (Fig. 3.2) în timp ce la pacienții cu SCC valoarea medie a fost 8.9 ± 1.7 pentru R_CAVI, respectiv 8.9 ± 1.4 pentru L_CAVI. (Fig. 3.3).

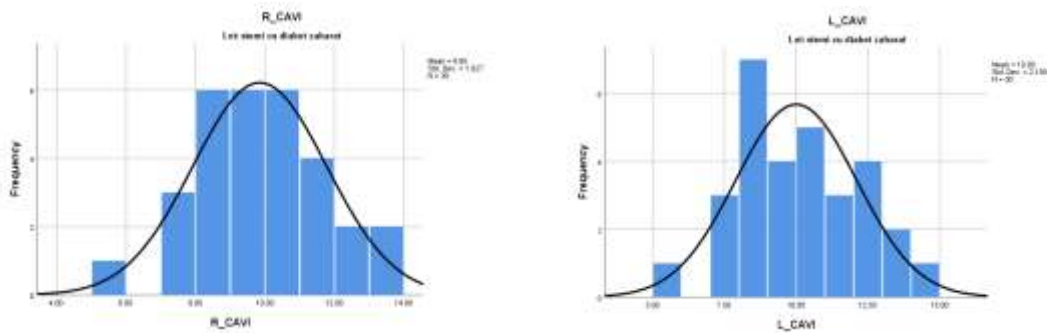


Fig. 3.1. Distribuția pacienților în funcție de R_CAVI și L_CAVI în lotul STEMI cu diabet zaharat

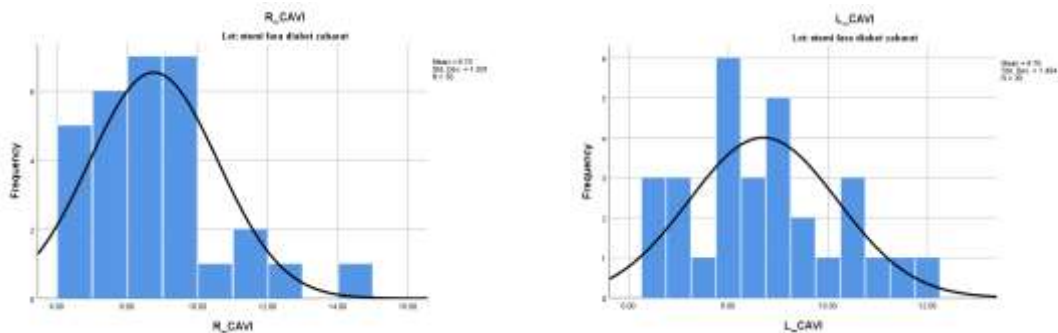


Fig. 3.2. Distribuția pacienților în funcție de R_CAVI și L_CAVI în lotul STEMI fără diabet zaharat

Utilizând testele de comparație T-test și Levene am obținut următoarele rezultate semnificative statistic între cele două loturi la baseline: valorile vârfului secundar vascular și a LIGB au fost mai mici în lotul cu STEMI comparativ cu lotul cu SCC ($t=-2.61$, $p=0.01$, respectiv $t=4.68$, $p=0.03$) (Fig. 3.3).

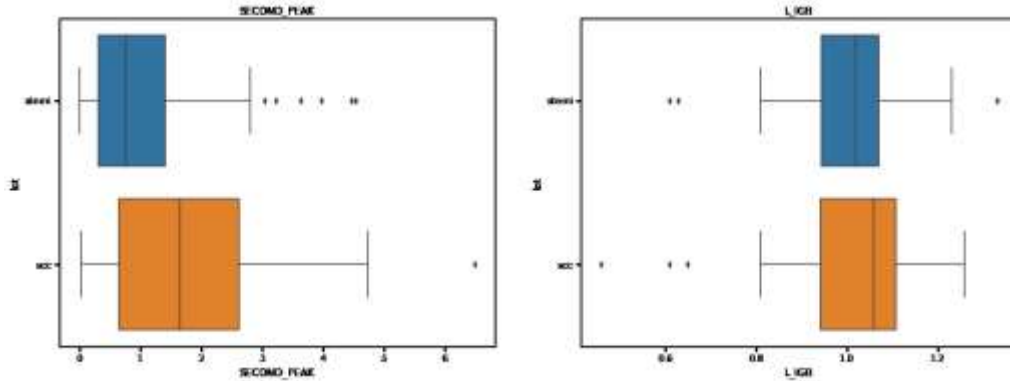


Fig. 3.3. – Comparația parametrilor de funcție vasculară semnificativi statistic la pacienții cu STEMI și SCC la baseline

Folosind testele de corelație Pearson am evaluat principalii parametri de funcție vasculară și corelația dintre aceștia și microARN-urile, respectiv MMP-urile circulante în lotul general. Astfel, au fost corelații semnificativ statistice ale indicelui de augmentare cu microARN30c, corelație pozitivă, ($R=-0.25$, $p=0.04$), și de asemenea corelație pozitivă au avut în lotul general RCAVI cu MMP9 ($R=0.21$, $p=0.05$) și LCAVI cu microARN126 ($R=0.32$, $p=0.04$). Analiza extensivă a parametrilor funcției vasculare și corelația cu microARN-urile și MMP -urile circulante se regăsește în heat map-ul de mai jos, unde cu cât corelația Pearson este mai puternică cu atât nuanța graficului este mai intensă (Fig. 3.4).

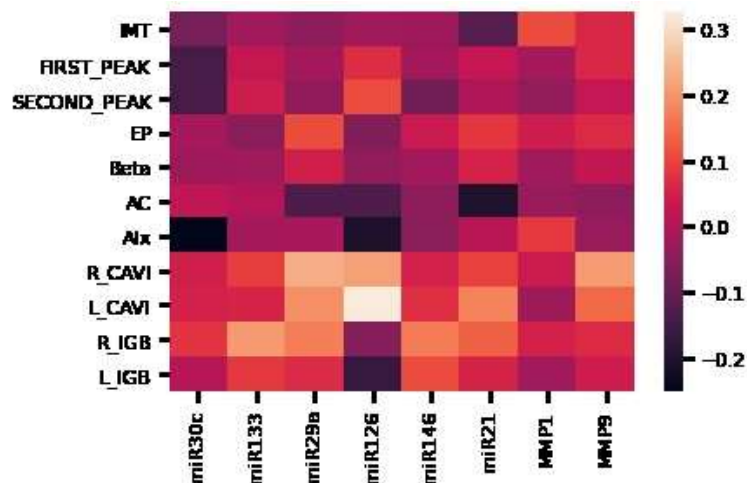


Figura 3.4. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție vasculară cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la baseline

Am analizat ulterior corelația microARN-urilor și MMP-urile circulante în fiecare lot, folosind teste de corelație Pearson și am obținut următoarele date. În lotul pacienților cu STEMI care asociau diabet zaharat doar miR29a a avut corelație pozitivă semnificativă cu RCAVI ($R=0.56$, $p=0.004$), fără corelații semnificative ale celorlalte microARN-uri sau MMP-uri circulante (Fig. 3.5).

În lotul pacienților cu STEMI fără diabet zaharat, evaluați la baseline, o valoare mai mare a miR126 a fost asociată cu valori mai crescute ale indicilor EP (modulul Young de rigiditate) și beta (indice beta de rigiditate) cu rezultate semnificative $R=0.82$, $p=0.002$, respectiv $R=0.86$, $p=0.001$. Dintre MMP-urile circulante, MMP9 a avut corelație pozitivă cu modulul Young de rigiditate ($R=0.37$, $p=0.04$) (Fig.3.6).

Evaluarea parametrilor de funcție vasculară la 1 an a fost efectuată prin corelarea microARN-urilor și MMP-urilor circulante utilizând testele de corelație Pearson și am obținut următoarele rezultate. În lotul general, nu au fost evidențiate corelații semnificativ statistice ale microARN-urilor sau MMP-urilor circulante cu parametrii CAVI sau IGB, așa cum se poate observa în Heat map-ul de mai jos (Fig.3.7)

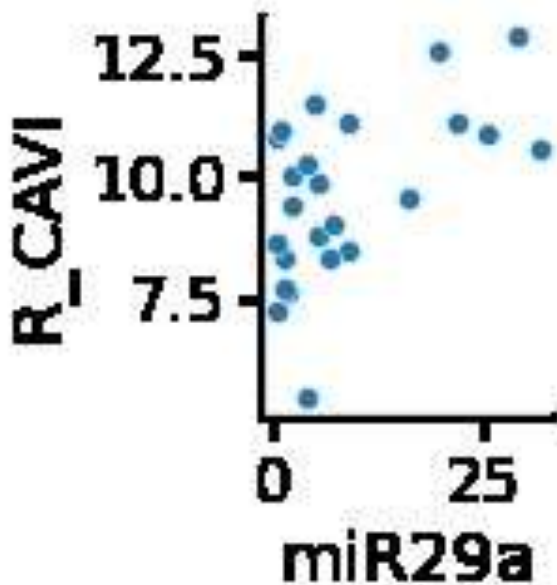


Fig 3.5. Corelație semnificativă statistic a miR29a cu R_CAVI la pacienți cu STEMI cu DZ la baseline

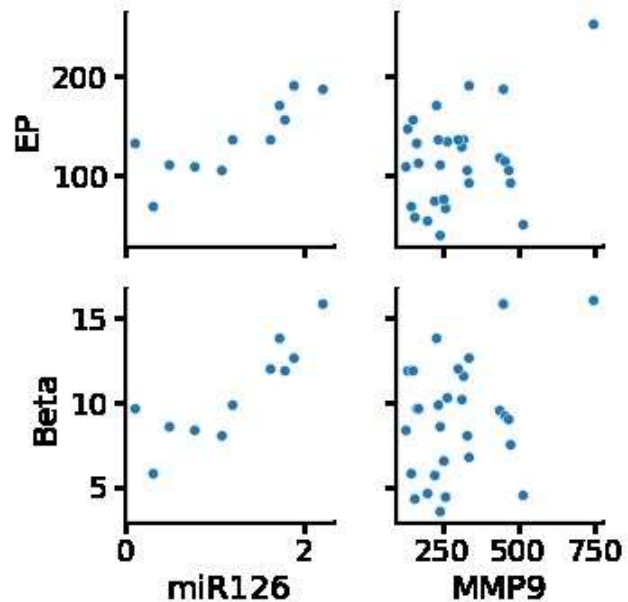


Fig 3.6. Corelații semnificative statistic a miR126 și MMP cu indicii beta și EP la pacienți cu STEMI fără DZ la baseline

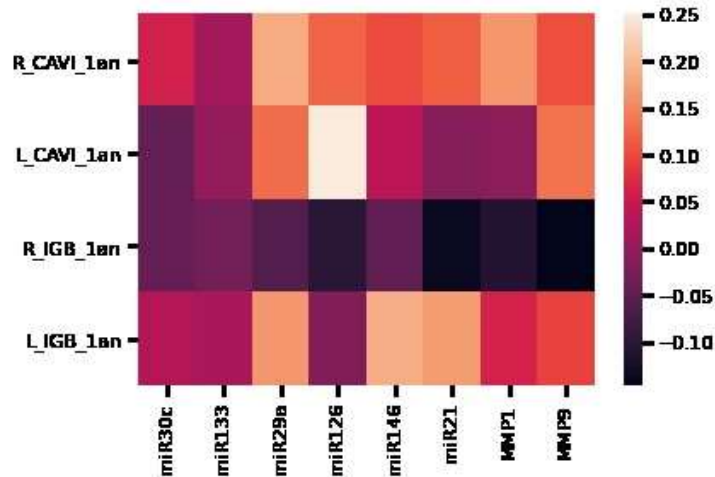


Figura 3.7. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de funcție vasculară cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la un an

Ca și în cazul parametrilor de funcție ventriculară și atrială pe care le-am analizat în capitolele precedente, am folosit modele de regresie logistică, respectiv testul Omnibus pentru coeficienții modelului, Nagelkerke R^2 , testul Hosmer și Lemeshow pentru evaluarea puterii de predicție a fiecărui microARN, respectiv MMP analizat pentru parametrii de funcție vasculară. În analiza lotului general, microARN30c a reieșit un predictor relativ semnificativ statistic, pentru scăderea valorii R_CAVI la un an, în cazul pacienților cu SCC (AUC 0.738, $p=0.05$, CI 95% 0.531-0.946), cu o valoare prag de 2.62, sensibilitate 70%, specificitate 70% (Fig. 3.8), însă nu și pentru scăderea R_CAVI la pacienții cu STEMI (AUC 0.363, $p=0.18$, CI 95% 0.183-0.543) (Fig. 3.9). Totodată, nu au existat predictorii semnificativi statistic pentru L_CAVI atât în lotul cu SCC cât și în cel cu STEMI.

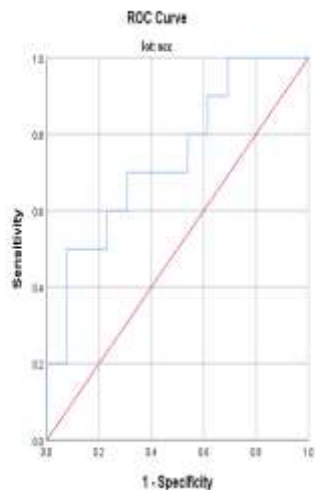


Fig 3.8. Curba ROC de predicție a scăderii RCAVI la un an în SCC de către miR30c

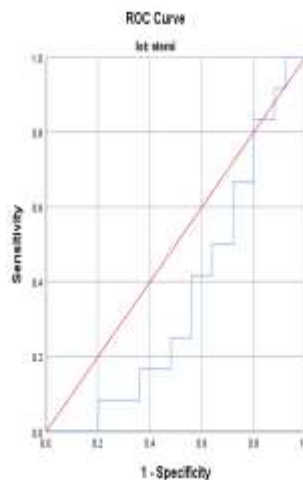


Fig 3.9. Curba ROC de predicție a scăderii RCAVI la un an în STEMI de către miR30c

3.4. Discuții

Așa cum am arătat mai sus, MMP-urile circulante sunt secretate de multiple celule, printre care fibroblaste, celule musculare netede și leucocite, iar mecanismul lor de acțiune este reglat la nivel de microARN prin activarea de înlăturarea domeniului propeptidelor din forma lor zimogenă latentă. MMP-urile sunt cel mai adesea secretate într-o formă proMMP inactivă clivată ulterior la forma activă prin intermediul unor proteaze sau chiar alte MMP-uri.[34]

Studii recente au demonstrat de asemenea că microARN-urile circulante au un rol important în remodelarea vasculară, prin acțiunea acestora la nivelul mecanismelor de proliferare la nivelul celulelor musculare netede, celulelor endoteliale intinale, activare a fibroblastelor adventiciale, inflamația macrofagelor sau participarea proteinelor matriciale extracelulare, microARN-urile fiind exprimate la nivelul tuturor acestor celule.[35] Studiile subliniază faptul că miR29 ar putea fi implicat în degradarea anumitor gene legate de fibroză așa cum sunt genele pentru colagen, elastină sau fibrilină și s-a arătat că reducerea sintezei de miR29 poate crește activitatea acestor gene ducând în final la fibroză cardiacă extinsă.[36] Astfel, miR29 și în mod particular miR29a și miR29b au un efect protector și constituie o posibilă țintă terapeutică împotriva fibrozei vasculare și cardiace, ameliorând disfuncția cardiacă și progresia către insuficiență cardiacă. Scăderea sintezei miR29 ar putea avea și un efect cardioprotector împotriva injuriei legate de mecanismul de ischemie/reperfuzie.[37] Putem spune astfel că determinarea

necesității creșterii sau scăderii sintezei de miR29 cu scopul de protecție cardiovasculară rămâne o provocare, întrucât inhibarea mir29 protejează cardiomiocitele de injuria ischemică, dar poate totodată agrava fibroza vasculară. [38] Acest lucru poate susține rezultatele studiului nostru ce arată o corelație pozitivă a miR29 cu parametrii de funcție vasculară CAVI la pacienții cu STEMI și diabet zaharat și corelații negative cu CAVI și IGB la pacienții cu SCC.

S-a arătat anterior că MMP1 și MMP9 se găsesc în cantitate mare în placa activă aterosclerotică și contribuie la inflamarea și instabilitatea plăcii.[39] În studiul nostru, la pacienții cu SCC, am constatat că MMP9 s-a corelat pozitiv cu valorile CAVI, dovedind existența unui proces aterosclerotic activ și rigiditate arterială ridicată la acești pacienți, în timp ce la pacienții cu STEMI și diabet zaharat MMP1 s-a asociat pozitiv cu parametrii de disfuncție vasculară CAVI.

3.5.Concluzii

În concluzie, atât microARN-urile circulante miR126, miR21 și miR29a, cât și MMP1 și MMP9 sunt puternici reglatori ai expresiei factorilor de transcripție, molecule de semnalizare, proteine contractile și au un rol important în remodelarea vasculară post infarct miocardică. Întrucât remodelarea tisulară este un proces dinamic, creșterea MMP-urilor într-o regiune poate fi însoțită de scăderea acestora în altă regiune, secundară diferențelor în activitatea enzimelor proteolitice ale MMP-urilor, astfel încât este importantă examinarea MMP-urilor și TIMP-urilor în localizări diferite tisulare și în stadii diferite ale bolii.

4. Implicațiile microARN-urilor circulante asupra funcției ventriculare stângi și lucrului mecanic miocardic (myocardial work) la pacienți cu placă aterosclerotică complicată în context de infarct miocardic acut și diabet zaharat tip 2

4.1.Introducere

Evaluarea funcției sistolice a ventriculului stâng prin intermediul fracției de ejeție reprezintă o componentă esențială în cardiologia clinică, fiind metoda cea mai validată și parametrul cel mai des folosit în evaluarea sistolică a ventriculului stâng.[40] Cu toate acestea, principalele limite ale fracției de ejeție sunt evaluarea subclinică și aceea a funcției regionale, este dependentă de sarcina de volum, ceea ce duce la pierderea reproductibilității, poate fi influențată de modificări ale geometriei în cazul ventriculului hipertrofiat sau dilatat și nu reflecta adevărata contractilitate ventriculară. Astfel, deformarea sau strainul longitudinal global (SLG) obținut prin

metode ecocardiografice de tip speckle tracking s-a dovedit în ultimii ani a fi o metodă viabilă pentru evaluarea parametrilor de funcție sistolică, și în mod particular a funcției globale și regionale a VS, inclusiv deformarea longitudinală, circumferențială, radială precum și mișcarea de torsiune ventriculară, fiind o metodă precisă, înalt sensibilă și reproductibilă.[41]

Lucrul mecanic miocardic („myocardial work”, MW) este un parametru nou derivat de la SLG, folosit pentru evaluarea funcțională a ventriculului stâng, care are avantajul că ia în considerare deformarea VS dar și modificările hemodinamice, prin integrarea SLG cu presiunea sistolică VS determinată non-invaziv.[42] Într-un studiu recent, Russell et al., au introdus o nouă metodă non invazivă pentru evaluarea lucrului mecanic miocardic regional, prin determinarea curbei de presiune-deformare (CBD) cu ajutorul măsurării presiunii arteriale brahiale și generată pornind de la o curbă de presiune ventriculară de bază în concordanță cu durata fazei de ejeecție și a celei izovolumice, definite prin închiderea și deschiderea valvelor mitrală și aortică, parametrii măsuțați ecocardiografic.[43] Munca totală a fiecărui segment contractat în condiții fiziologice este pozitivă și poartă denumirea de lucru mecanic constructiv („global constructive work”, GCW).[44] În cazul în care există afectare a miocardului, apare o alungire sistolică în timpul ejeecției VS, segmentele miocardice generând în acest caz un lucru mecanic necesar pentru această alungire sistolică, purtând denumirea de lucru mecanic epuizat („global wasted work”, GWW), întrucât nu contribuie la ejeecția ventriculară. Eficiența lucrului mecanic („global work efficiency”, GWE) se calculează ca rata dintre lucrul mecanic constructiv și suma dintre cel epuizat și constructiv, raportată ca procent, iar indicele lucrului mecanic („global work index”, GWI) este lucrul mecanic total efectuat de miocardic în timpul sistolei, adică aria curbei de presiune-deformare de la închiderea valvei mitrale până la deschiderea valvei mitrale.[45] Valori scăzute ale parametrilor de lucru mecanic (GWI, GWE, GCW) și valori crescute ale GWW se regăsesc și la pacienții cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST care dezvoltă remodelarea ventriculară la 3 luni de la momentul acut ischemic sau la cei care prezintă insuficiență cardiacă cu FEVS redusă, aceste rezultate fiind expresia metabolismului alterat predominant anaerob care apare în miocardul remodelat, cicatricial.[46]

Scopurile studiului nostru au fost de evaluare a principalilor parametri de lucru mecanic miocardic și asocierea acestora cu principalele microARN-uri și MMP-uri dozate, precum și de a identifica potențiali predictorii ai parametrilor de lucru miocardic la pacienții cu infarct miocardic acut sau sindrom coronarian cronic.

4.2. Materiale și metode

Am efectuat acest proiect de cercetare prin urmărirea prospectivă a unui număr de 90 de pacienți, în cadrul Clinicii de Cardiologie a Spitalului Universitar de Urgență București, care așa cum a fost menționat în capitolele precedente au fost împărțiți în 2 loturi: pacienți cu infarct miocardic acut cu supradenivelare de segment ST și pacienți cu sindrom coronarian cronic, urmăriți pe o perioadă de 3 ani între anii 2017-2020.

Protocolul studiului și toate protocoalele experimentale au fost aprobate de Comisia de Etică a Spitalului Universitar de Urgență București și consimțământul informat a fost obținut de la fiecare subiect participant la cercetare. Evaluarea pacienților a fost realizată în conformitate cu ghidurile și regulile actuale și a constat în determinarea tensiunii arteriale sistolice și diastolice și a frecvenței cardiace după o perioadă de 10 minute de repaus, recoltare de probe biologice și ecocardiografie avansată de tip speckle tracking, cu determinarea ulterioară a strainului longitudinal global și a parametrilor de lucru mecanic miocardic.

Tuturor pacienților li s-a măsurat tensiunea arterială sistolică și diastolică în aceeași poziție cu cea în care a fost efectuată ecocardiografia transtoracică, în decubit lateral stâng, pentru estimarea condițiilor hemodinamice, ca metodă non-invazivă de determinare a umplerii ventriculare.

Markerii biologici studiați au fost recoltați în primele 24 de ore de la internare și determinați prin cuantificarea microARN-urilor serice, miR30c, miR133, miR29, miR126, miR146 și miR21 prin analiza TaqMan PCR, precum și analiza MMP-1 și MMP-9 în ser cu ajutorul truselor ELISA. Totodată au fost recoltați markeri convenționali de injurie miocardică, troponina I.

Ecocardiografia 2D Speckle tracking (STE – Speckle Tracking Echocardiography) a fost utilizată pentru determinarea deformării longitudinale a VS (în incidența apical 2, 3 și 4C), toate înregistrările și măsurătorile fiind efectuate conform ghidurilor actuale. Parametrii MW au fost determinați prin analiza off-line cu ajutorul unui soft dedicat.

4.3. Rezultate

Așa cum am menționat anterior, cei 90 de pacienți înrolați în două loturi: un lot cu STEMI (lotul 1) și un lot cu sindrom coronarian cronic (SCC) (lotul 2). Pacienții din lotul 1 la rândul lor au fost împărțiți în pacienți cu STEMI și diabet zaharat și pacienți cu STEMI fără diabet zaharat.

Distribuția pacienților în funcție de valorile parametrilor de lucru mecanic miocardic se regăsește în figura 4.1 și figura 4.2, pentru pacienții cu STEMI fără diabet zaharat, respectiv în

figurile 4.3 și 4.4 pentru pacienții cu STEMI cu diabet zaharat și în figurile 4.5 și 4.6 pentru pacienții cu SCC.

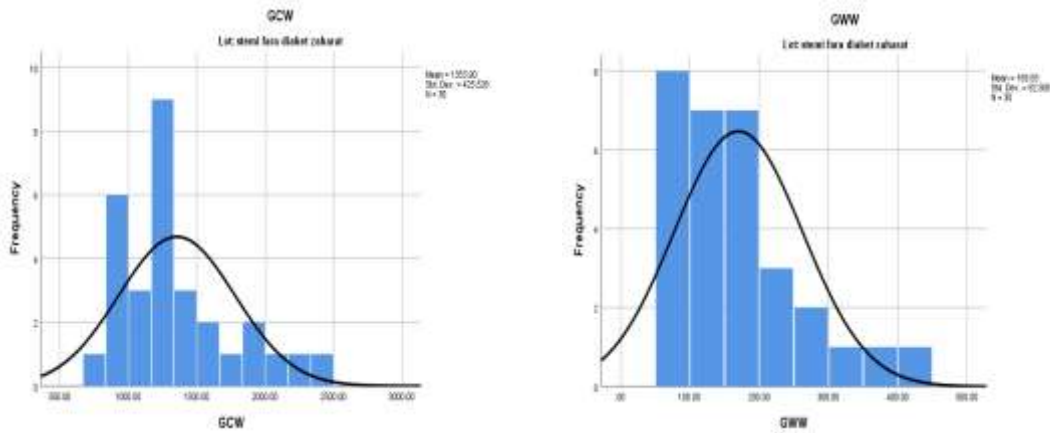


Fig. 4.1. Distribuția pacienților în funcție de GCW și GWW în lotul STEMI fără diabet zaharat

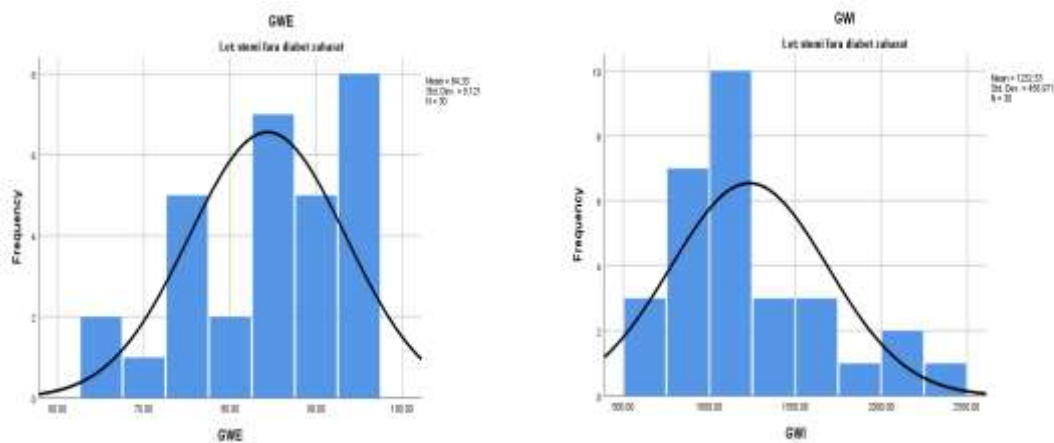


Fig. 4.2. Distribuția pacienților în funcție de GWE și GWI în lotul STEMI fără diabet zaharat

În lotul pacienților cu STEMI cu diabet zaharat, valoarea medie la baseline a GCW a fost de 1158.1+/-414.5, valoarea GWW a fost de 203.04+/-124.7, valoarea GWE a fost de 79.8+/-13.0, iar valoarea medie a GWI a fost de 1022+/-430.1.

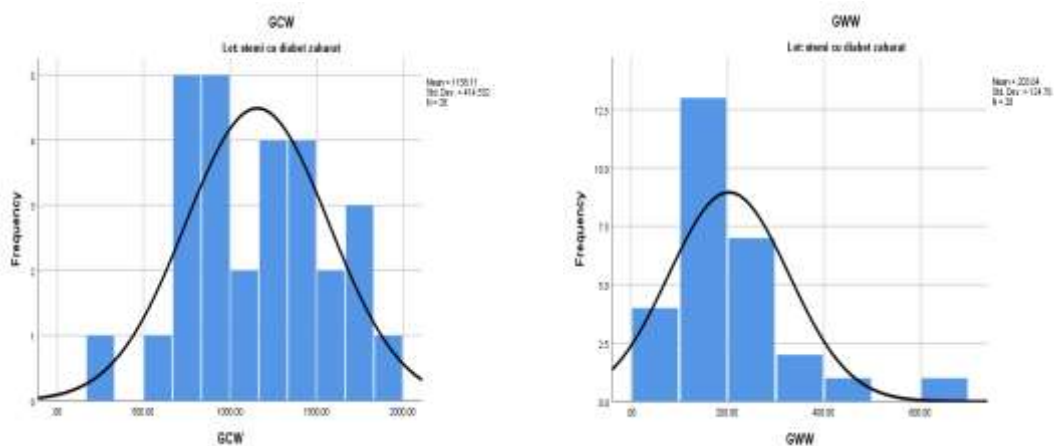


Fig. 4.3. Distribuția pacienților în funcție de GCW și GWW în lotul STEMI cu diabet zaharat

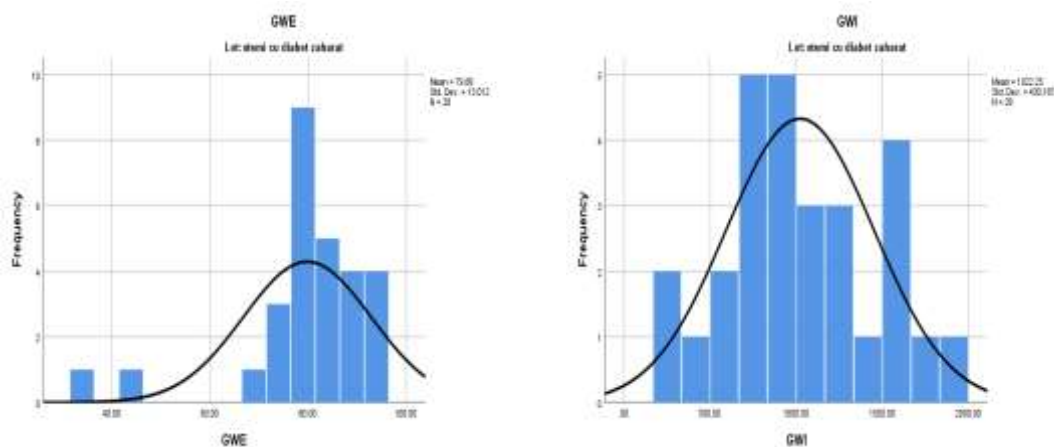


Fig. 4.4. Distribuția pacienților în funcție de GWE și GWI în lotul STEMI cu diabet zaharat

În lotul pacienților cu SCC, valoarea medie la baseline a GCW a fost de 1793.87 ± 396.0 , valoarea GWW a fost de 136.5 ± 85.6 , valoarea GWE a fost de 90.1 ± 6.9 , iar valoarea medie a GWI a fost de 1630.1 ± 403.5 .

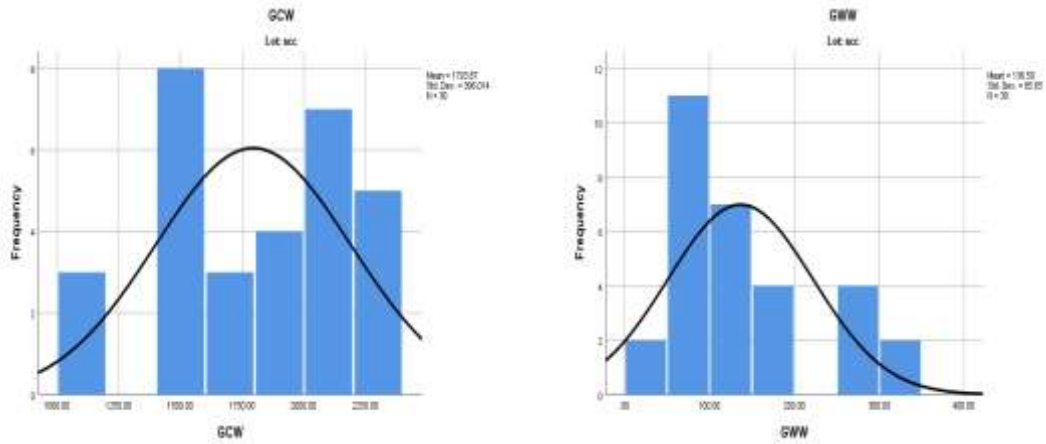


Fig. 4.5. Distribuția pacienților în funcție de GCW și GWW în lotul SCC

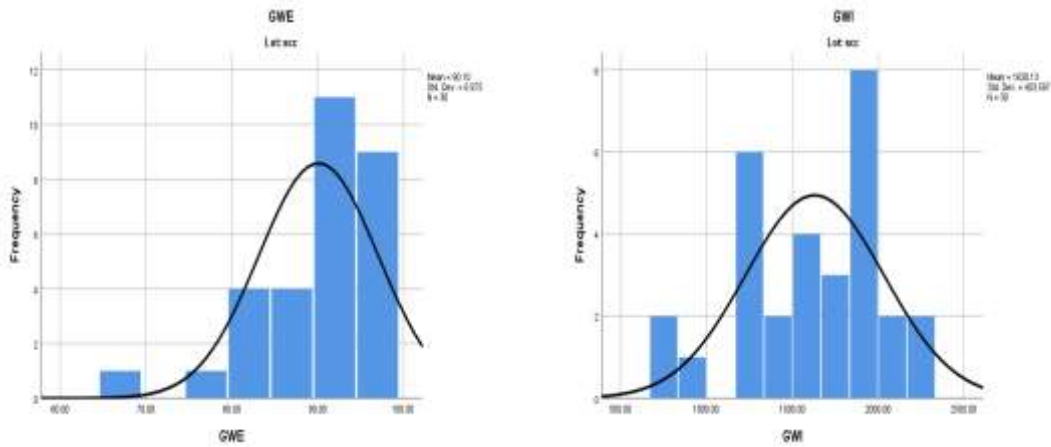


Fig. 4.6. Distribuția pacienților în funcție de GWE și GWI în lotul SCC

Utilizând testele de comparație T-test și Levene am obținut că toți parametrii de lucru mecanic au fost semnificativi mai mari în lotul pacienților cu STEMI comparativ cu cei cu SCC, cu următoarele rezultate: pentru GCW $t=-5.69$, $p=0.0001$, pentru GWW $t=2.15$, $p=0.03$, pentru GWE $t=-3.50$, $p=0.001$, respectiv pentru GWI $t=-5.08$, $p=0.0001$ (Fig. 4.7).

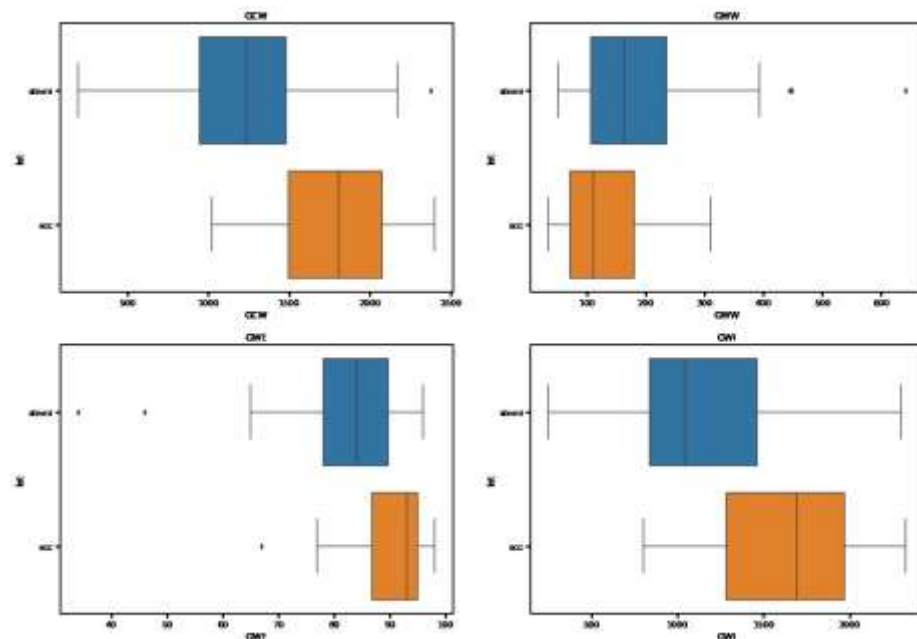


Fig. 4.7. – Comparația parametrilor de lucru mecanic miocardic semnificativi statistic la pacienții cu STEMI și SCC la baseline

Folosind testele de corelație Pearson am evaluat principalii parametri de lucru mecanic miocardic și corelația dintre aceștia și microARN-urile, respectiv MMP-urile circulante în lotul general, la baseline. Astfel, miR133 a avut corelații negative semnificative cu GCW ($R=-0.29$, $p=0.01$), GWE ($R=-0.40$, $p=0.001$), și cu GWI ($R=-0.31$, $p=0.008$), fără alte asocieri semnificative ale celorlalte microARN-uri. În ceea ce privește MMP-urile circulante atât MMP1 cât și MMP9 au prezentat corelații semnificative cu parametrii de lucru mecanic în lotul general. Aceste rezultate se regăsesc în heat map-ul de mai jos (Fig. 4.8).

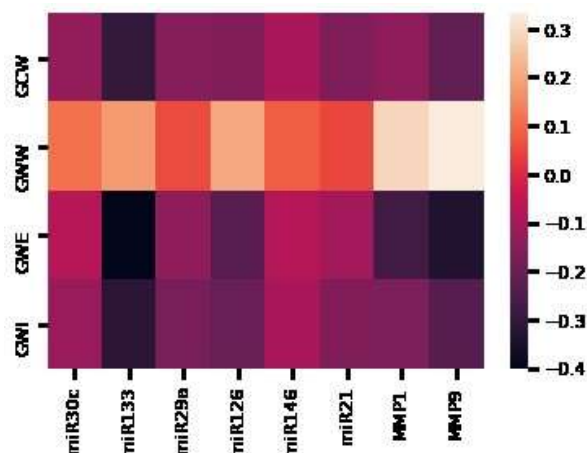


Figura 4.8. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de lucru mecanic miocardic cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la baseline

Am analizat ulterior corelația microARN-urilor și MMP-urile circulante în fiecare lot, folosind teste de corelație Pearson și am obținut următoarele date. În lotul pacienților cu STEMI care asociau diabet zaharat, MMP9 s-a corelat pozitiv cu valoarea GWW ($R=0.46$, $p=0.01$) și nu am obținut corelații semnificative ale microARN-urilor sau ale MMP1 (Fig. 4.9). Mai mult decât atât, în lotul pacienților cu STEMI fără diabet zaharat GWE s-a corelat negativ cu miR133 ($R=-0.61$, $p=0.004$), miR126 ($R=-0.60$, $p=0.04$), dar și cu MMP9 ($R=-0.44$, $p=0.01$), în timp ce GWW a avut corelație pozitivă cu miR133 ($R=0.49$, $p=0.02$) (Fig. 4.10).

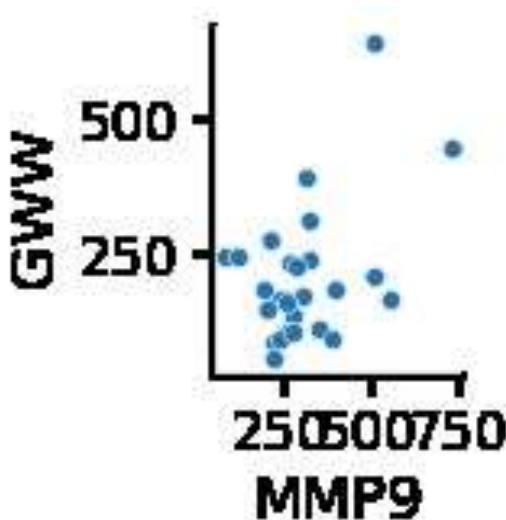


Fig 4.9. Corelație semnificativă statistic a MMP9 cu GWW la pacienți cu STEMI cu DZ la baseline

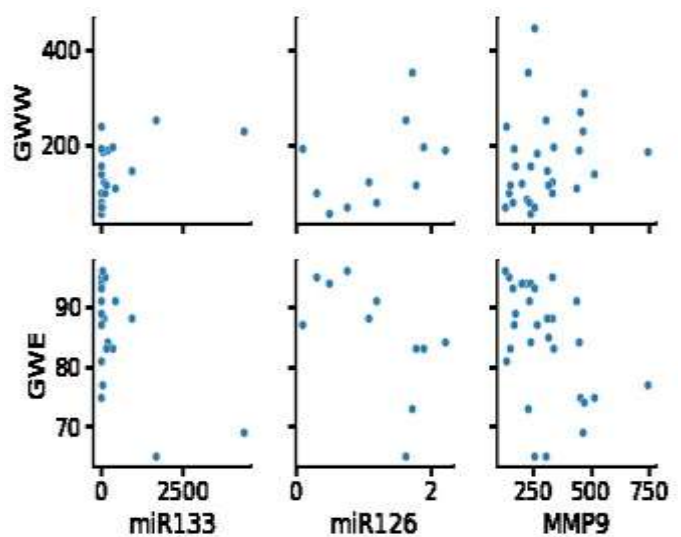


Fig 4.10. Corelații semnificative statistice ale miR133, miR126 și MMP9 cu GWW și GWE la pacienți cu STEMI fără DZ la baseline

Evaluarea parametrilor de lucru mecanic la 1 an a fost efectuată prin corelarea microARN-urilor și MMP-urilor circulante utilizând testele de corelație Pearson și am obținut următoarele rezultate. În lotul general, miR133 s-a corelat negativ cu GCW ($R=-0.33$, $p=0.01$), cu

GWE ($R=-0.38$, $p=0.004$), dar și cu GWI ($R=-0.32$, $p=0.01$). Nu am obținut corelații semnificative ale celorlalte microARN-uri sau MMP-uri circulante (Fig. 4.11).

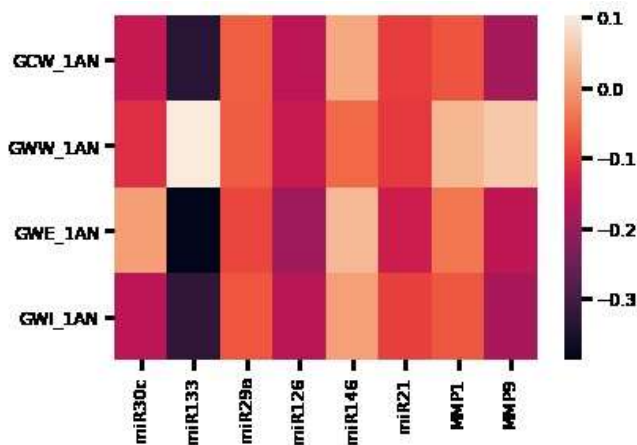


Figura 4.11. Heat map-ul corelațiilor Pearson ale parametrilor de lucru mecanic miocardic cu microARN-urile și MMP-urile circulante în lotul general la un an

Folosind modele de regresie logistică, respectiv testul Omnibus pentru coeficienții modelului, Nagelkerke R^2 , testul Hosmer și Lemeshow pentru evaluarea puterii de predicție a fiecărui microARN, respectiv MMP analizat pentru parametrii de lucru miocardic, nu au reieșit valori predictive pentru îmbunătățirea parametrilor de lucru miocardic la un an.

4.4. Discuții

Analiza lucrului mecanic miocardic (MW) a fost recent propusă ca o metodă nouă de evaluare a funcției sistolice a VS, fiind superioară fracției de ejecție și strainului longitudinal global, întrucât nu este dependentă de umplerea VS.[47] Studii anterioare au evaluat aplicațiile clinice ale acestei metode în diferite patologii cardiovasculare.[48]

Cercetarea de față demonstrează implicarea miR133, miR126, miR146 și miR21, care se cunosc în literatură ca au posibile efecte în boala coronariană asupra plăcii aterosclerotice instabile, cu parametrii de lucru miocardic atât la pacienții cu diabet zaharat cât și la pacienții care nu asociază diabet zaharat. În studiul nostru, miR133 a avut valori mai mari la pacienții cu GWW mai mare și cu valori ale GWE mai reduse la pacienții cu IMA fără diabet zaharat la baseline, iar evaluarea la un an a arătat corelații semnificative ale acestuia cu GCW, GWE și GWI în întreg lotul, precum și la pacienții cu IMA și diabet zaharat. Pe de altă parte, miR126 și miR146, implicate în procese inflamatorii așa cum am demonstrat în capitolele anterioare[49], dar și în evoluția plăcii

aterosclerotice și în necroza miocardică, au fost asociate cu GWE la pacienții cu IMA, cu corelație negativă în acest caz și respectiv cu GCW la cei cu SCC, cu corelație pozitivă, demonstrând posibilul rol în remodelarea miocardică post infarct miocardic. Nu există date suficiente în literatură care să demonstreze posibilul efect al matrix metaloproteinazelor asupra funcției sistolice ventriculare determinate prin parametrii de lucru miocardic.[50] Datele din studiul arată însă că atât MMP1 cât și MMP9 prezintă corelații semnificative statistic cu acești parametri. Astfel, MMP9 a avut corelație negativă cu GWE la pacienții cu STEMI fără diabet zaharat la baseline, precum și cu GCW și GWI la un an în același lot de pacienți, și corelație pozitivă cu GWW la pacienții cu STEMI și diabet zaharat la baseline, în timp ce MMP1 a avut valori mai mari la cei cu GWW mai mare în cazul pacienților cu SCC. Nu am obținut modele predictive semnificative statistic pentru microARN-uri sau MMP-uri circulante, demonstrând necesitatea unor studii ulterioare, mai mari pentru a evalua posibilul rol prognostic și diagnostic al acestor biomarkeri.

4.5. Concluzii

În concluzie, parametrii de lucru mecanic miocardic au un potențial prognostic și diagnostic promițător la pacienții cu boală aterosclerotică coronariană, iar microARN-urile și MMP-urile circulante au un rol complementar alături de parametrii ecocardiografici în definirea și stratificarea funcției sistolice a ventriculului stâng și procesul de remodelare post infarct miocardic. Totodată, acești biomarkeri împreună cu parametrii de lucru miocardic ar putea avea un potențial rol prognostic, ceea ce duce la facilitarea stratificării riscului cardiovascular și îmbunătățirea strategiilor de prevenție și implicit scăderea mortalității cardiovasculare.

5. Model cu elemente finite pentru analiza influenței procentului de miocard infarctat asupra fracției de ejeție

5.1. Metoda elementelor finite în biomecanica sistemului cardiovascular

Metoda elementelor finite (MEF) este cea mai utilizată metodă numerică în industrie și cercetare pentru simularea comportamentului diferitelor sisteme fizice, sub o varietate considerabilă de interacțiuni. Datorită capacității sale de a îngloba caracteristici complexe de natură geometrică, proprietăți de material, condiții la limită și interacțiuni locale între componente, MEF a devenit aplicată și în domeniul biomecanicii, cum este cazul sistemului cardiovascular. Printre altele, se poate modela funcția de pompă a inimii, cu scopul de a îmbunătăți diagnosticul

și tratamentul patologiilor cardiace. Metodele clasice de proiectare asistată de calculator (CAD) utilizate la proiectarea geometriilor structurilor mecanice inerte au aplicabilitate limitată, în cazul biomecanicii inimii, la geometrii generice, simplificate, dată fiind anatomia complexă a acesteia. Pentru reproducerea cu acuratețe a particularităților anatomice, se utilizează imagistica medicală, cum sunt tomografia computerizată sau rezonanța magnetică nucleară. În cazul modelelor de biomecanica inimii, care includ curgerea sângelui, sunt necesare în principal densitatea sângelui, având o medie de 1060g/cm^3 și viscozitatea sa dinamică, de aproximativ $4\text{ mPa}\cdot\text{s}$.

5.2. Prezentarea modelului propus

În cazul infarctului miocardic ce afectează ventriculul stâng, este de interes un model care să dea predicții asupra diminuării fracției de ejeecție în funcție de volumul de țesut infarctat. În cazul lucrării de față, este propus un model preliminar pentru abordarea acestei probleme, bazat pe interacțiunea fluid-solid, în care solidul este reprezentat prin geometria ventriculului stâng, iar fluidul, prin volumul de sânge înglobat în interiorul acestuia. Geometria ventriculului stâng a fost descărcată în format step, din site-ul GRABCAD, care pune la dispoziție utilizatorilor o varietate de modele CAD pentru diferite structuri. Modelul CAD are avantajul unei geometrii realiste, întrucât a fost realizat pe baza imagisticii medicale. Acesta este prezentat în Figura 5.1.

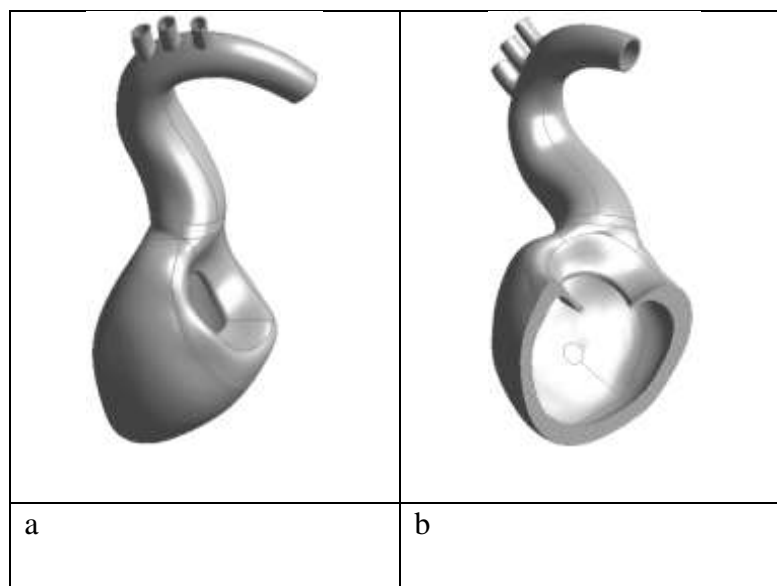


Fig. 5.1. Model CAD al ventriculului stâng – vedere (a) și secțiune (b)

Materialul miocardului a fost definit ca un compozit armat cu țesătură bidirecțională, care să reproducă fibrele musculare, fiind deci un compozit ortotrop. Abordarea se bazează pe caracteristicile de material prezentate de Bagnoli și coautori [50], dar simplifică procesul de modelare prin evitarea modelării explicite a fibrelor musculare.

Analiza are în vedere simularea contracției ventriculare pornind de la starea inițială, relaxată. În modelul propus, acest deziderat se poate atinge prin impunerea unei presiuni exterioare uniforme, pe suprafețele indicate cu roșu în figura 5.2 - a. Pentru a preveni mișcarea de corp rigid, inerentă din cauza neîndeplinirii echilibrului static, este necesară blocarea tuturor gradelor de libertate, fără să fie afectate rezultatele de interes. În acest sens, s-au constrâns toate gradele de libertate (translații și rotații) pe suprafața marcată cu galben din figura 5.2 - b.

În cazul modelului de fluid, s-a impus o presiune de 100 mmHg la intrarea în ventricul (suprafața marcată cu albastru din figura 5.2 - b). A fost definită presiunea la ieșire, având însă rol de rezultat monitorizat, nu de condiție pe la limită (suprafața roșie din figura 5.2 - c).

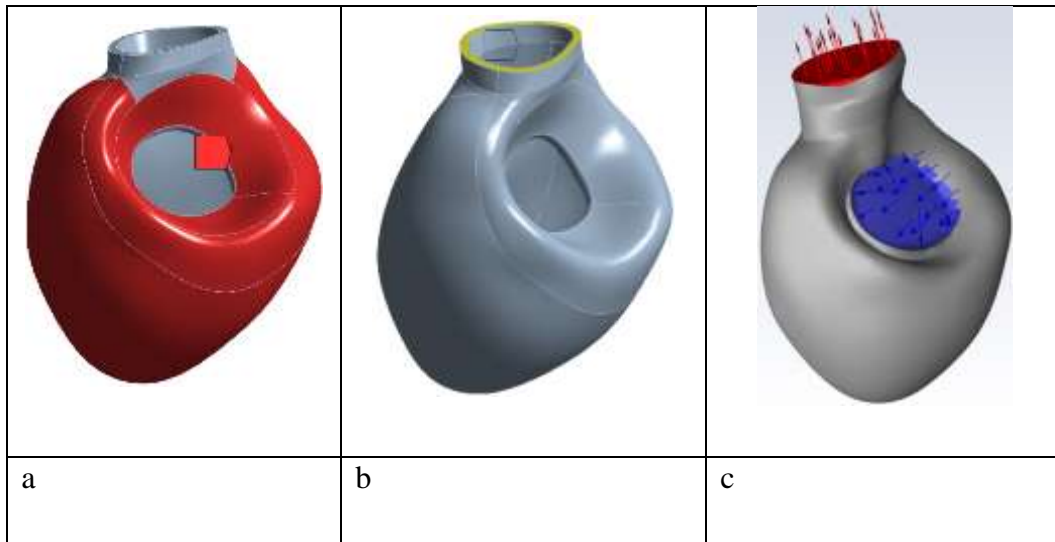


Fig. 5.2. Condiții la limită în cazul modelului solid: presiune exterioară (a), rezemare (b) și condiții la limită în cazul modelului fluid - presiune la intrare în ventricul (c)

5.3. Direcții de analiză ulterioare

Pe baza modelului propus, cercetările ulterioare au în vedere următoarele direcții bazate pe simulări: Analiza influenței procentului de miocard infarctat, precum și a locației zonei infarctate, asupra fracției de ejeecție; Analiza influenței parametrilor de curgere, în speță a viscozității dinamice a sângelui, asupra fracției de ejeecție.

5.4. Concluzii

Modelul propus în cadrul acestui capitol este unul preliminar, ca parte dintr-un studiu mai amplu al cărui scop este de a dezvolta un model complex, care să includă interacțiuni multifizice realiste, bazate pe date clinice. Modelul are ca scop crearea unei baze de simulare computerizată a hemodinamicii cardiace. Un astfel de model poate servi la înțelegerea mai profundă a mecanismelor care guvernează funcția de pompă a inimii, având aplicabilitate în diagnosticarea și tratamentul infarctului miocardic acut.

6. Concluzii finale și Contribuții personale

În ceea ce privește evaluarea modificărilor funcționale cardiace la pacienții cu infarct miocardic acut, care asociază sau nu diabet zaharat și relația acestor modificări cu micro-ARN-urile și MMP-urile circulante care a reprezentat obiectivul principal al acestei teze de doctorat sunt prezentate concluziile în paginile următoare.

1. Analizând **funcția sistolică a ventriculului stâng**, am demonstrat că FEVS determinată prin ecocardiografie bi și tridimensională, debitul cardiac precum și parametrii de deformare miocardică (strain radial, strain longitudinal și rata de strain longitudinal precum și rata de detorsiune) au fost semnificativ mai reduse la pacienții cu STEMI comparativ cu cei cu SCC, acest lucru menținându-se valabil și pentru parametrii de funcție ventriculară dreaptă unde atât diametrul cât și strainul longitudinal al VD au fost mai reduse la pacienții cu infarct miocardic acut. Din evaluarea parametrilor de funcție ventriculară la un an, am obținut că FEVS, strainul longitudinal global și rata de strain longitudinal au fost semnificativ mai crescute la un an față de momentul înrolării la pacienții cu STEMI și diabet zaharat, demonstrând încă o dată beneficiul terapiei actuale de revascularizare miocardică în remodelarea și revers remodelarea ventriculară.
2. În ceea ce privește **analiza microARN-urilor și MMP-urilor circulante**, rezultatele noastre arată că nivelurile de expresie ale *miR133*, *miR146*, *miR29a* și *miR21* circulante sunt semnificativ mai crescute la pacienții cu STEMI în comparație cu pacienții cu SCC. De asemenea, am constatat că miRNA126 și miR133 au fost asociate cu FEVS și cu parametrii de deformare miocardică la pacienții cu STEMI, comparativ cu pacienții cu boală aterosclerotică cronică. Mai mult decât atât, miR21, miR30c și miR29a au fost asociate cu parametrii de

deformare a ventriculului stâng atât la pacienții cu STEMI, cât și la cei SCC însă cu corelație inversă. În studiul nostru, atât MMP1 cât și MMP9 au avut corelații negative cu FEVS și cu parametrii de deformare ventriculară stângă la pacienții cu STEMI, fără să aibă corelații semnificative cu parametrii de ventricul drept, însă MMP9 a avut valori de asemenea mai mari la pacienții cu strain longitudinal, rotația bazei și torsiunea VS mai scăzute în lotul cu SCC.

3. Studiul nostru a demonstrat totodată că *miR133* are valoare predictivă semnificativă statistic pentru creșterea strainului radial atât la pacienții cu STEMI cât și la cei cu diabet zaharat, fără însă să aiba putere predictivă pentru ceilalți parametrii de funcție ventriculară, însă *miR133*, *miR29a*, *miR30c*, *miR146* și *miR21* au avut valoare predictivă semnificativă pentru diagnosticul de infarct miocardic acut.
4. În ceea ce privește **funcția atrială**, studiul nostru a demonstrat că nivelul de *miR126* dar și nivelurile serice ale MMP1 și MMP9, sunt asociate semnificativ cu parametrii funcției AS, inclusiv volumul maxim și minim AS și volumul de contracție preatrial, FE activă și totală, dar și cu parametrii de deformare precum strainul pozitiv, strainul negativ și strainul global AS la pacienții cu STEMI. În ceea ce privește AD, am obținut corelații semnificative ale *miR30c*, *miR133*, *miR126* și *miR146* cu parametrii de deformare atrială în lotul general dar și la pacienții cu SCC. Evaluarea pacienților la un an a arătat că nivelul de MMP1 și MMP9 se corelează cu FE activă și totală a atriului stâng la pacienții cu STEMI fără diabet zaharat, în timp ce la pacienții cu STEMI și diabet zaharat *miR133* și *miR29a* sunt cele care s-au asociat cu parametrii de deformare atrială stângă.
5. Referitor la **funcția vasculară** și rolul microARN-urilor circulante am demonstrat în capitolul 7 că valorile mai mari ale *miRNA126* s-au corelat negativ cu parametrii de rigiditate arterială CAVI și IGB și totodată *miR29* a prezentat corelație pozitivă cu parametrii de funcție vasculară CAVI la pacienții cu STEMI și diabet zaharat și corelație negativă cu CAVI și IGB la pacienții cu SCC.
6. În capitolul 8 al cercetării de față, pentru prima dată în literatură, am evaluat **parametrii de lucru mecanic miocardic** și influența microARN-urilor și MMP-urilor circulante asupra acestora. Astfel, am demonstrat că *miR133*, *miR126*, *miR146* și *miR21*, care se cunosc în literatură ca au posibile efecte în boala coronariană asupra plăcii aterosclerotice instabile, se asociază cu parametrii de lucru miocardic atât la pacienții cu diabet zaharat cât și la pacienții

care nu asociază diabet zaharat, având valori mai mari la cei cu lucru mecanic constructiv și cu eficiența lucrului miocardic mai mic.

7. În ultimul capitol al părții de contribuții personale am simulat un **model cu ajutorul metodei elementelor finite** cu scopul de a oferi predicții asupra scăderii fracției de ejeție a ventriculului stâng post infarct miocardic acut.

Bibliografie

1. Krittanawong C., et al, Acute Myocardial Infarction: Etiologies and Mimickers in Young Patients, *J Am Heart Assoc.* 2023;12:e029971.
2. Bujak M, Frangogiannis NG. The role of IL-1 in the pathogenesis of heart disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2009;57: 165-176.
3. Loyer, X., Vion, A. C., Tedgui, A., & Boulanger, C. M., Microvesicles as cell-cell messengers in cardiovascular diseases. *Circulation Research*, 2014;114(2), 345–353.
4. Jortveit J, Pripp AH, Langorgen J, Halvorsen S. Incidence, risk factors and outcome of young patients with myocardial infarction. *Heart.*, 2020;106:1420–1426.
5. Arora S, Stouffer GA, Kucharska-Newton, AM, Qamar A, Vaduganathan, M, Pandey A, Porterfield D, Blankstein R, Rosamond WD, Bhatt DL, et al. Twenty-year trends and sex differences in young adults hospitalized with acute myocardial infarction. *Circulation.*, 2019;139:1047–1056.
6. Kannel WB, Abbott RD. Incidence and prognosis of unrecognized myocardial infarction: an update on the Framingham Study. *N Engl J Med.*, 1984;311(18):1144-1147.
7. Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation.* 2003;108(14):1664-1672.
8. Toutouzas K, Colombo A, Stefanadis C. Inflammation and restenosis after percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J.*, 2004;25:1679–87.
9. Singh M, Rihal CS, Lennon RJ, Spertus JA, Nair KS, Roger VL. Influence of frailty and health status on outcomes in patients with coronary disease undergoing percutaneous revascularization. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2011; 4: 496 – 502.
10. Matsukawa R, Masuda S, Matsuura H, Nakashima H, Ikuta H, Okabe K, et al. Early follow-up at outpatient care after discharge improves long-term heart failure readmission rate and prognosis. *ESC Heart Fail*, 2021; 8: 3002 – 3013.
11. J. Kaminska, O. M. Koper, E. Siedlecka-Czykier, J. Matowicka-Karna, J. Bychowski, and H. Kemonia, The utility of inflammation and platelet biomarkers in patients with acute coronary syndromes, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2018;vol. 25, no. 7, pp. 1263–1271.

12. L. C. van Vark, I. Lesman-Leegte, S. J. Baart et al., Prognostic value of serial galectin-3 measurements in patients with acute heart failure, *Journal of the American Heart Association*, 2017; vol. 6, no. 12.
13. Xi-Ying Wang, et. al., The Biomarkers for Acute Myocardial Infarction and Heart Failure, *BioMed Research International*, 2020 Jan 17:2020:2018035.
14. Chaoran Dong, et. al., Gut microbiota combined with metabolites reveals unique features of acute myocardial infarction patients different from stable coronary, artery disease, *Journal of Advanced Research* 46, 2023;101–112.
15. Kazemian N, Mahmoudi M, Halperin F, Wu JC, Pakpour S. Gut microbiota and cardiovascular disease: opportunities and challenges. *Microbiome* 2020;8:36.
16. Thomas Thum, MicroRNA therapeutics in cardiovascular medicine, *EMBO Mol Med.*, 2012 Jan; 4(1): 3–14.
17. Gupta SK, Bang C, Thum T, Circulating microRNAs as biomarkers and potential paracrine mediators of cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet* 2010;3: 484-488.
18. F.-J. Tian, L.-N. An, G.-K. Wang et al., Elevated microRNA-155 promotes foam cell formation by targeting HBP1 in atherogenesis, *Cardiovascular Research*, 2014;vol. 103, no. 1, pp. 100–110.
19. F. H. Rutten and A. W. Hoes, Natriuretic peptide tests in suspected acute heart failure, *BMJ*, 2015; 350, 22:1164.
20. A. Lax, J. Sanchez-Mas, M. C. Asensio-Lopez et al., Mineralocorticoid receptor antagonists modulate galectin-3 and interleukin-33/ST2 signaling in left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction, *JACC: Heart Failure*, 2015;3,1: 50–58.
21. Heymans S, Hirsch E, Anker SD, Aukrust P, Balligand JL, Cohen-Tervaert JW, Drexler H, Filippatos G, Felix SB, Gullestad L, Inflammation as a therapeutic target in heart failure? A scientific statement from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail*, 2009; 11: 119-129.
22. Hinkel R, Trenkwalder T, Kupatt C, Gene therapy for ischemic heart disease. *Expert Opin Biol Ther*, 2011; 11: 723-737
23. Adam O, Löhfelme B, Thum T, et al.: Role of miR-21 in the pathogenesis of atrial fibrosis . *Basic Res Cardiol*. 2012, 107:278.

24. Wu G, Huang ZP, Wang DZ: MicroRNAs in cardiac regeneration and cardiovascular disease . *Sci China Life Sci.* 2013, 56:907-13.
25. Duisters RF, Tijssen AJ, Schroen B, et al.: miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling. *Circ Res.* 2009, 104:170-8.
26. van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al.: Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008, 105:13027-32.
27. Thomas Thum, et al., MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts, *Nature*, 2008 Dec 18;456(7224):980-4.
28. Ying Liu et al., Roles of MicroRNA-122 in Cardiovascular Fibrosis and Related Diseases, *Cardiovascular Toxicology*, 2020;20:463–473
29. Danielle L Michell, HDL and microRNA therapeutics in cardiovascular disease, *Pharmacol Ther.*, 2016 Dec;168:43-52.
30. Krutzfeldt J., et al., Silencing of microRNAs in vivo with “antagomir”. *Nature*, 2005;438:685-9.
31. Dong S, Cheng Y, Yang J, et al. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction. *J Biol Chem* 2009;284:29514-25
32. **Iacobescu L**, Ciobanu A, Corlatescu A, Simionescu M., Iacobescu G., Dragomir E., Vinereanu D., The Role of Circulating MicroRNAs in Cardiovascular Diseases: A Novel Biomarker for Diagnosis and Potential Therapeutic Targets?. *Cureus*, 2024; 16(7):e64100. DOI 10.7759/cureus.64100.
33. Pan Z, Sun X, Shan H, Wang N, Wang J, Ren J, Feng S, Xie L, Lu C, Yuan Y, Zhang Y, Wang Y, Lu Y, Yang B. MicroRNA-101 inhibited postinfarct cardiac fibrosis and improved left ventricular compliance via the FBJ osteosarcoma oncogene/transforming growth factor-1 pathway. *Circulation* 2012;126: 840–50.52
34. van Rooij E, Olson EN: MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets. *J Clin Invest.* 2007, 117:2369-76. 10.1172/JCI33099.
35. Matthew Amin, et. al., Regulation and involvement of matrix metalloproteinases in vascular diseases, *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2016 Jan 1; 21: 89–118.

36. Hanna Bräuninger, Matrix metalloproteinases in coronary artery disease and myocardial infarction, *Basic Research in Cardiology*, 2023;118:18.
37. K. Fujiu, J. Wang, and R. Nagai, Cardioprotective function of cardiac macrophages, *Cardiovascular Research*, 2014; 102, 2:232–239.
38. Sugawara M, et al., Relationship between the pressure and diameter of the carotid artery in humans. *Heart Vessels*, 2000; 15:49–51
39. B. Ikitimur, H. A. Cakmak, E. Coskunpinar, H. A. Barman, and V. A. Vural, The relationship between circulating microRNAs and left ventricular mass in symptomatic heart failure patients with systolic dysfunction, *Kardiologia Polska*, 2015;73, 9:740–746.
40. **Iacobescu, L.;** Ciobanu, A.O.; Macarie, R.; Vadana, M.; Ciortan, L.; Tucureanu, M.M.; Butoi, E.; Simionescu, M.; Vinereanu, D. Diagnostic and Prognostic Role of Circulating microRNAs in Patients with Coronary Artery Disease—Impact on Left Ventricle and Arterial Function. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2024, 46, 8499–8511. <https://doi.org/10.3390/cimb46080500>.
41. Tijssen AJ, Pinto YM, Creemers EE. Non-cardiomyocyte microRNAs in heart failure. *Cardiovasc Res* 2012; 93: 573-82.
42. Diana J. Mihalcea, et al, Comparison of pulse wave velocity assessed by three different techniques: Arteriograph, Complior, and Echo-tracking, *Heart Vessels* 2016 Apr;31(4):568-77.
43. Chenghui Zhang , et al., Association Between Atherosclerosis and Diabetic Retinopathy in Chinese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus, *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020 Jun 8;13:1911-1920.
44. Harris TA, et al., MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A.*,2008;105:1516–21.
45. Beibei Dai, et al., The Cell Type-Specific Functions of miR-21 in Cardiovascular Diseases, *Front Genet*, 2020 Nov 20;11:563166.
46. Xiaoqing Wang, et al., Diagnostic and prognostic value of circulating miRNA-499 and miRNA-22 in acute myocardial infarction, *J Clin Lab Anal.* 2020 Aug; 34(8): e23332.
47. J. Fiedler, et al., MicroRNA-Based Therapeutic Approaches in the Cardiovascular System, *Cardiovascular Therapeutics*, 2012;30: e9-e15.

48. Xinhao Li, Pengfei Zhang, Mengmeng Li, Mei Zhang Myocardial work: The analytical methodology and clinical utilities, *Hellenic Journal of Cardiology* 68, 2022; 46e59.
49. Ilardi, F.; D'Andrea, A.; D'Ascenzi, F.; Bandera, F.; Benfari, G.; Esposito, R.; Malagoli, A.; Mandoli, G.E.; Santoro, C.; Russo, V.; et al. Myocardial Work by Echocardiography: Principles and Applications in Clinical Practice. *J. Clin. Med.* 2021, 10, 4521. <https://doi.org/10.3390/jcm10194521>.
50. Bagnoli P, Malagutti N, Gastaldi D, Marcelli E, Lui E, Cercenelli L, Costantino ML, Plicchi G, Fumero R. Computational finite element model of cardiac torsion. *Int J Artif Organs.* 2011 Jan;34(1):44-53.