

RAPORT STIINTIFIC

Etapa I, 2012

Proteomica si metabolomica in diagnosticul si scorificarea calcificarilor vasculare din boala renala cronica (RENART)

Contract 93/2012

Cuprins:

1.	Obiective generale
2.	Obiectivele etapei I
3.	Rezumatul etapei I
4.	Raport privind elaborarea protocolului de studiu pentru evaluarea calcificarilor vasculare la pacientii cu boala renala cronica
5.	Raport privind elaborarea metodologiei de cercetare
	<i>5.1. Protocol de lucru pentru determinarea biomarkerilor</i>
	<i>5.2. Protocol de studiu non-invaziv al modificarilor structurale vasculare utilizand metoda velocitatii undei pulsului</i>
	<i>5.3. Protocol de lucru pentru evaluarea ultrasonografica vasculara: protocol de examinare standard a arterelor carotide si arterelor membrelor inferioare</i>
	<i>5.4. Protocol de examinare cu substanta de contrast a arterelor carotide</i>
	<i>5.5. Protocol de evaluare rigiditate locala arteriala la nivel carotidian prin tehnica e- tracking</i>
	<i>5.6. Protocol de examinare ecocardiografica</i>
	<i>5.7. Protocol de lucru pentru evaluarea computer tomograf a calcificarilor vasculare</i>
6.	Raport privind proiectarea bazei de date
7.	Raport privind constructia paginii web
8.	Raport privind studiul in vederea elaborarii modelului matematic RENART
9.	Rezultatele etapei I
10.	Bibliografie

1. Obiectivele proiectului RENART

Obiectivul general al proiectului RENART este de a dezvolta o functie de scor (asistata de calculator) pentru calcificarile vasculare utilizand o abordare compozita a biomarkerilor la pacientii cu boala renala cronica. Proiectul va evalua raportul dintre anomaliiile metabolice minerale prin factori care reglementează în mod activ homeostazia de calciu și fosfor precum și severitatea calcificării vasculare. Prezența și severitatea calcificării vasculare vor fi diagnosticate prin ecografie vasculara si tomografie computerizata spirala.

Obiectivele specifice ale proiectului sunt:

1. Analiza biomarkerilor pentru calcifierile arteriale la pacienții cu boală renală cronică, pe baza pe proteomica, biologie moleculara si celulara de cercetare.
2. Determinarea asociațiilor dintre biomarkeri și severitatea calcificărilor arteriale (intimala si mediala) în insuficiența renală cronică.
3. Elaborarea unui model matematic pentru determinarea unui scor al calcifierii vasculare.
4. Dezvoltarea unui scor pentru calcifiere vasculare in boala renală cronică - ArterioTest.
5. Crearea unei rețele de grupuri de studiu naționale și internaționale (axa os-inima-rinichi), prin publicații si organizarea de ateliere de lucru.
6. Dezvoltarea unui site care faciliteaza comunicarea între participanti si necesara activitatilor de diseminare.

2. Obiectivul etapei I

Obiectivul principal al acestei etape a fost de a elabora protocolului de studiu si a metodologiei de cercetare, prin efortul tuturor participantilor la proiect.

In cadrul acestei etape s-au stabilit modalitatile de realizare ale obiectivelor generale si specifice ale proiectului, atat in cadrul intalnirii de lansare a proiectului si in urma studiului teoretic realizat de fiecare partener in parte.

Protocolul de studiu a fost elaborat de catre Coordonator, care a stabilit calendarul de desfasurare al studiului (perioada de recrutare si durata de urmarire a subiectilor), criteriile de includere si de excludere ale subiectilor de studiu, periodicitatea si protocolul de evaluare corespunzator fiecarei vizite de studiu, modalitatea de inregistrare a datelor.

..... detalii in RST *in extenso*

3. Rezumatul etapei I

In aceasta prima etapa a proiectului au fost realizate urmatoarele obiective initial propuse:

- organizarea intalnirii de lansare a proiectului;
- definirea Unitatii de Management a Proiectului;
- stabilirea strategiei de management de proiect;

- elaborarea protocolului de studiu: protocolul de lucru pentru studiul biomarkerilor, protocolul de lucru pentru evaluarea radiologica a calcificarilor vasculare, protocolul de lucru pentru masurarea velocitatii undei pulsului, a evaluarii ultasonografice vasculare si valvulare;
- elaborarea protocolului de lucru pentru recrutarea pacientilor si a CRF (Clinical Research file) pentru colectarea datelor clinice si biologice ale pacientilor pentru fiecare obiectiv propus;
- elaborarea structurii bazei de date, a procedurilor de lucru si a nivelurilor de acces;
- arhitectura paginii web, probleme de acces si securitate;
- achizitionarea suportului logistic si informatic necesar realizarii proiectului;
- deplasari la congrese si manifestari stiintifice internationale in vederea documentarii pe tema proiectului.

..... detalii in RST *in extenso*

4. Raport privind elaborarea protocolului de studiu pentru evaluarea calcificarilor vasculare la pacientii cu boala renala cronica

Tipul de studiu: studiu prospectiv non-interventional, observational.

Pe durata de urmarire, investigatorul nu va interveni in medicatia curenta a pacientilor. Colectarea datelor de studiu include proceduri minim invazive (recoltare de probe biologice, realizata cu ocazia controalelor periodice programate), si proceduri non-invazive (ecografie vasculara, masurarea velocitatii undei pulsului).

Recrutarea pacientilor

Pacientii sunt selectati din cazuistica curenta a Centrului de Medicina Interna si Nefrologie din Institutul Clinic Fundeni, in cadrul unei vizite de screening considerata drept vizita preliminara.

Inrolarea se realizeaza conform criteriilor de includere si excludere; fiecare subiect va semna consimtamantul informat inainte de initierea activitatilor din studiu.

..... detalii in RST *in extenso*

5. Raport privind elaborarea metodologiei de cercetare

5.1. Protocol de lucru pentru determinarea biomarkerilor

DOZAREA BIOMARKERILOR DIN SER/PLASMA PRIN TEHNOLOGIA XMAP SI/SAU ELISA

Obiectiv: Determinarea unor markeri din ser/plasma (25(OH)D3, 1,25(OH)2D3, iPTH, hsCRP, osteoprotegerin, osteocalcin, FGF-23, fetuin-A, TNF-alfa, IL-6) prin tehnologia xMAP (Luminex 200™) sau prin ELISA.

..... detalii in RST *in extenso*

5.2. Protocolul de studiu non-invaziv al modificarilor structurale vasculare utilizand metoda velocitatii undei pulsului. Rigiditatea vasculara va fi masurata non-invaziv cu ajutorul dispozitivului SphygmoCor (AtCor Medical, PWV Inc., Westmead, Sydney, Australia). Explorarea poate fi efectuata de personal medical special instruit, pacientul poate veni ambulator, costurile examinarii sunt mici, si nu exista expunere la iradiatii.
..... detalii in RST *in extenso*

5.3. Protocol de lucru pentru evaluarea ultrasonografica vasculara: protocol de examinare standard a arterelor carotide si arterelor membrelor inferioare

Protocol de examinare Doppler a arterelor carotide

Examinarea se va realiza cu ajutorul unui aparat Aloka echipat cu un transductor linear 7-4MHz.

..... detalii in RST *in extenso*

5.4. Protocol de examinare cu substanta de contrast a arterelor carotide

Urmatoarea etapa in evaluarea arterelor carotide consta in examinarea cu contrast in timp real utilizand softul special al aparatului pentru aceasta modalitate. Substanta de contrast folosita este Sonovue (Bracco, Milan, Italy) (microparticule de sulphur hexafluoride in seringi preumplute ce necesita mixarea anterior utilizarii: 25 mg de pudra liofilizata si 5 ml de solvent).

..... detalii in RST *in extenso*

5.5. Protocol de evaluare rigiditate locala arteriala la nivel carotidian prin tehnica e-tracking

Subiectii vor fi studiatii dupa 15 minute de repaus in pozitie de clinostatism, intr-o incapere cu temperatura controlata. Evaluarea se va efectua cu un sistem de e-tracking de inalta rezolutie, care permite masurarea cu acuratete a modificarilor diametrului carotidian in sistola (Ds) si diastola (Dd) (6). Curbele de presiune la nivel carotidian vor fi obtinute noninvaziv pe baza modificarilor de diametru carotidian calibrate pentru presiunea sistolica (Ps) si diastolica (Pd) masurate la nivelul arterei brahiale.

..... detalii in RST *in extenso*

5.6. Protocol de examinare ecocardiografica

Examinarea se va realiza cu ajutorul unui ecograf Vivid 7 (GE Healthcare, Horten, Norway) echipat cu sonda M5S si 4V. Toate achizitiile vor fi efectuate conform recomandarilor Asociatiei Europene de Ecocardiografie (8). Toate imaginile achizitionate vor fi stocate in format raw-data si analizate separat cu ajutorul unui software dedicat (EchoPac BT08, GE Healthcare, Horten, Norway).

..... detalii in RST *in extenso*

6. Raport privind proiectarea bazei de date

Definirea bazei de date RENART

În proiectul RENART se utilizează statistica inferențială (inductivă) care reprezintă partea de analiză a datelor și permite extrapolarea unei concluzii trase pe baza eșantionului ales spre populația țintă pentru care a fost efectuat studiul. Scopul analizei statistice este de a evidenția efectul unui factor de risc (calcificarea vasculară) prin datele obținute din eșantionul studiat spre populația țintă. Aceasta implică testarea ipotezelor statistice sau altfel spus testarea semnificației statistice. Testele statistice ne ajută să apreciem în ce măsură rezultatele sunt întâmplătoare și mai ales în ce măsură și dacă se pot aplica populației generale.

..... detalii în RST *in extenso*

7. Raport privind construcția paginii web

A fost inițiat site-ul RENART (<http://renart-proiect.itc.ro>)

Cerintele funcționale ale SITE-lui WEB RENART

1. Site-ul WEB va putea fi accesat cu ajutorul celor mai populare programe de tip Web-Browser (Internet Explorer, Mozilla Firefox, Opera, Google Chrome etc.).
2. Componenta WEB va conține un modul de Administrare, care va fi accesat în exclusivitate numai de Administratorul Sistemului.
3. Conținutul paginilor WEB din portal va fi ascuns sau afișat funcție de informația afișată este publică sau ține de un anumit profil atribuit utilizatorilor înregistrați. Soluția WEB va permite Administratorului Sistemului controlul asupra drepturilor și profilelor utilizatorilor pentru a particulariza informația afișată.
4. Componenta WEB trebuie să fie ușor navigabilă, fără prea multe ramificații și acțiunea de finalizare pentru utilizatorul care accesează accesul la portal să se facă cu un număr minim de click-uri. Acest lucru este în avantajul navigatorilor care au diferite nivele de cunoaștere în navigarea pe paginile web din internet.
5. Paginile WEB vor conține Antete și Subsoluri pentru prezentarea informațiilor publice din cadrul proiectului pentru toți partenerii.
6. Anunțurile și Informațiile noi vitale pentru utilizatorii portalului vor fi evidențiate în mod obligatoriu în pagina de pornire a portalului.
7. De pe portalul WEB va fi posibilă și descărcarea materialelor puse la dispoziție pentru toți utilizatorii.

..... detalii în RST *in extenso*

8. Raport privind studiul in vederea elaborarii modelului matematic RENART

Modelul RENART va fi un program informatic care urmărește un grup de cunoștințe pentru obținerea în același mod ca și experții umani (doctori) a rezultatelor despre activități dificil de examinat cu principala caracteristică derivată din baza de cunoștințe împreună cu un algoritm de căutare specific metodei de raționare.

Modelul functional RENART este in legatura cu doua idei de baza:- implica studierea proceselor umane de gandire (doctor);- reprezentarea altor procese, via calculator.

..... detalii in RST *in extenso*

8. Rezultatele Etapei I

In urma activitatilor efectuate in etapa I a proiectului au rezultat:

- protocolul de studiu
- protocolul de lucru pentru studiul biomarkerilor
- protocolul de lucru pentru evaluarea imagistica a calcificarilor vasculare
- protocolul de lucru pentru masurarea velocitatii undeii pulsului
- protocolul de evaluare ultasonografica vasculara si valvulara
- baza de date
- pagina web a proiectului: <http://renart-proiect.itc.ro>

Bibliografie:

1. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European stroke conferences, mannheim, Germany, 2004, brussels, belgium, 2006, and hamburg, Germany, 2011. Cerebrovasc Dis 2012;34:290-6.
2. Serfaty JM, Chaabane L, Tabib A, et al. Atherosclerotic plaques: classification and characterization with T2-weighted high-spatial-resolution MR imaging—an in vitro study. Radiology 2001;219:403–10
3. Grant EG, Benson CB, Moneta GL, et al. Carotid artery stenosis: gray-scale and Doppler US diagnosis--Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference. Radiology 2003;229:340-6.
4. Coli S, Magnoni M, Sangiorgi G, et al. Contrast enhanced ultrasound imaging in intraplaque neovascularization in carotid arteries: correlation with histology and plaque echogenicity. J Am Coll Cardiol 2008; 52:223–230
5. Staub D, Patel MB, Tibrewala A, et al. Vasa vasorum and plaque neovascularization on contrastenhanced carotid ultrasound imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events. Stroke 2010; 41:41–47
6. Kawasaki T, Sasayama S, Yagi S, et al: Non-invasive assessment of the age related changes in stiffness of major branches of the human arteries. Cardiovasc Res 1987;21:678–687.
7. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, et al: European network for non-invasive investigation of large arteries. Expert consensus document on arterial stiffness: Methodological issues and clinical applications. Eur Heart J 2006;27:2588–2605.
8. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification. Eur J Echocardiography 2006;7:79-108.
9. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. Am J Cardiol 1986;57:450-8.
10. Mor-Avi V, Lang RM, Badano LP, et al. Current and Evolving Echocardiographic Techniques for the Quantitative Evaluation of Cardiac Mechanics: ASE/EAE Consensus Statement on Methodology and Indications. Endorsed by the Japanese Society of Echocardiography. J Am Soc Echocardiogr 2011;24:277-313.
11. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography. European Journal of Echocardiography 2009;10:165–93.
12. Rosenhek R, Binder T, Porenta G, Lang I, Christ G, Schemper M, Maurer G, Baumgartner H. Predictors of outcome in severe, asymptomatic aortic stenosis. N Engl J Med 2000;343:611.

13. David Bowers, Medical Statistics from Scratch An Introduction for Health Professionals, Second Edition, School of Medicine, University of Leeds, UK, 2008 www.medicalBiostatistics.com
14. A. Indrayan, Medical Biostatistics, Third Edition, Chapman & Hall/CRC Press, 2012
15. Best practices for Project Coordinators for the FP7 SSH project websites' development and maintenance, EC, Research, Socio-Economic Sciences and Economics, 2010
16. www.asp.net/web-pages
17. <http://docs.joomla.org>
18. <http://wordpress.org/>
19. [ACS 2008] American Cancer Society. 2008. American Cancer Society: Information and Resources. Available from URL: <http://www.cancer.org/docroot/home/index.asp>
20. [ALA 2008] American Lung Association. 2008. Available from URL: <http://www.lungusa.org/>
21. [Bussler C. Metadata in workflow management systems. In: Coyne B, Colucci J, Musick R, Miller C, Jones M, Kobler B (eds). Proceedings of the 2nd IEEE Metadata Conference. Silver Spring, Md.: IEEE, 1997.
22. Lee J, Gruninger M, Jin Y, et al. The process interchange format and framework. Knowledge Eng Rev. 1998;13(1):91–120.
23. Baldonado M, Chang K, Gravano L, Paepcke A. Stanford Digital Library Metadata architecture. In: Stanford Digital Library Project.
24. Guha RV, Bray T. Meta Content Framework Using XML. 1997. Available at: <http://www.w3.org/TR/NOTE-MCFXML>. Accessed May 15, 1998.
25. Middleton, B, Shwe M, Heckerman D, et al. Probabilistic diagnosis using a reformulation of the INTERNIST-1/QMR knowledge base, part II: evaluation of diagnostic performance. Methods Inf Med. 1991;30:256–67.
26. Heckerman DE, Nathwani BN. Toward Normative Expert Systems, part II: probability-based representations for efficient knowledge acquisition and inference. Methods Inf Med. 1992;31:106–16.
27. Miller RA, Masarie FEJ. The demise of the “Greek Oracle” model for medical diagnostic systems. Methods Inf Med. 1990;29:1–2.
28. Voit E. O. and Ferreira A. E. , Computational Analysis of Biochemical Systems, Cambridge University Press, Cambridge, 2000
29. Marias K., Multi-level analysis and information extraction considerations for validating 4D models of human function, 2nd International Advanced research Workshop on Silico Oncology, Kolympari, Chania, Greece, 2006
30. Moe SM, O'Neill KD, Fineberg N, et al. Assessment of vascular calcification in ESRD patients using spiral CT. Nephrol Dial Transpl 2003; 18: 1152-1158.
31. Mizobuchi M, Towler D, Slatopolsky E. Vascular calcification: the killer of patients with chronic kidney disease. J Am Soc Nephrol 2009; 20: 1453-1464.
32. Spasovski G, Ortiz A, Vanholder R and El Nahas M. Proteomics in chronic kidney disease: the issues clinical nephrologists need an answer for. Proteomics Clin Appl. 2011; 5: 233-240.
33. Cannata-Andia JB, Gracia PR, Hruska K. The connections between vascular calcification and bone health. Nephrol Dial Transpl 2011; 26: 3429-3436.

Director de proiect,

Prof. Dr. Mihai Voiculescu