

RAPORT ȘTIINTIFIC ȘI TEHNIC
Etapa III, 2014

*Proteomica și metabolomica în diagnosticul și scorificarea calcificărilor vasculare
din boala renală cronică (RENART)*
Contract 93/2012

Cuprins:

I.	Rezumatul etapei
II.	Raport privind înrolarea pacienților și colectarea datelor
III.	Raport privind popularea bazei de date
IV.	Raport privind elaborarea modelului matematic RENART
V.	Rezultatele etapei III
VI.	Diseminarea rezultatelor proiectului
VII.	Bibliografie

Capitolul I. Rezumatul etapei

Obiectivul general al proiectului RENART este de a dezvolta o funcție de scorificare asistată de calculator pentru evaluarea calcificărilor vasculare.

Obiectivele principale ale acestei etape au fost continuarea selectării și înrolării pacienților cu boală renală cronică, conform metodologiei de lucru stabilite și elaborate în cadrul primei etape. Pacienții înrolați au fost investigați în conformitate cu protocolul de studiu și cu metodologiile de cercetare detaliate în fazele anterioare. Datele colectate au fost încărcate și stocate în baza de date a proiectului. S-a efectuat o evaluare statistică intermediară și s-a inițiat elaborarea modelului matematic de evaluare a calcificărilor vasculare.

Capitolul II. Raport privind înrolarea pacienților și colectarea datelor

Pacienții au fost selectați din cazuistica curentă a Centrului de Medicină Internă și Nefrologie din Institutul Clinic Fundeni. Înrolarea s-a realizat conform criteriilor de includere și excludere detaliate în protocolul stabilit în etapa anterioară. Lotul de pacienți înrolați până în prezent include 96 de subiecți cu boala renală cronică în stadiile 2,3 și 4.

Datele măsurătorilor efectuate pe perioada de studiu au fost înregistrate în fișele individuale ale fiecărui pacient. Fiecare partener este responsabil pentru colectarea datelor rezultate în urma activităților specifice repartizate în cadrul protocolului de studiu, iar Coordonatorul este responsabil pentru centralizarea datelor în baza de date a proiectului.

În această etapă au fost determinate nivelurile serice pentru 5 molecule relevante implicate în metabolismul mineral și osos (OPG, OC, OPN, PTH, FGF-23) și 2 citokine pro-inflamatorii (IL6, TNF α) pe un lot de pacienți diagnosticați cu BRC comparativ cu un lot control. Analiza multiplex xMAP a evidențiat niveluri serice crescute pentru pacienții cu BRC versus lot control pentru 7 dintre molecule,

Analiza vitezei unde pulsului a fost efectuată pentru fiecare pacient inclus în studiu, iar rapoartele prezintă datele pacientului și rezultatele studiului. Parametrii clinici obținuți sunt: presiunea aortică sistolică, diastolică și medie, indicele de augmentație aortică (AIX), alura ventriculară.

Examinările ecografice stocate digitalic au fost analizate pe stații de lucru off-line de tip COMPACS sau EchoPac. S-a completat baza de date cu măsurătorile efectuate off line și s-a început analiza statistică.

Analiza statistică a datelor colectate ne-a permis comunicarea unor rezultate intermediare. Am evaluat 54 de subiecți: 44 pacienți cu BCR în pre-dializă (8 pacienți în stadiu BCR 2, 24 de pacienți cu BCR stadiu 3 și 12 pacienți cu BCR stadiu 4), și 10 subiecți sănătoși. Analiza statistică a fost realizată utilizând softul IBM SPSS Statistics Versiunea 21.

Nivelele FGF 23, IL-6 și TNF-alfa și au fost semnificativ mai mari ($p < 0,05$) la pacienții cu BCR, comparativ cu subiecții sănătoși. Nivelurile de FGF 23, IL-6 și TNF-alfa au corelat invers cu rata de filtrare glomerulară estimată. Valorile FGF23 au corelat cu markerii ai metabolismului mineral și osos, ai inflamației și cu proteinuria. Profilul non-dipper a fost identificat la 54,4% pacienți. Valorile FGF-23 și IL-6 au fost semnificativ mai crescute ($p < 0,05$) la pacienții cu BCR cu profilul non-dipper.

Calcificările valvei aortice au fost prezente la 58,2% din pacienți, iar hipertrofia ventriculară stângă în 72,2%. Procentul de pacienți cu calcificări valve aortice a fost mai mare la pacienții cu niveluri crescute de FGF-23 (împărțiți în quartile după transformarea logaritmică). Prezența calcificării valve aortice a fost corelată semnificativ cu eGFR, FGF 23 și TNF-alfa. În analiza vitezei unde pulsului, pe măsura ce nivelurile de FGF 23 au crescut (quartilele superioare ale lnFGF-23), PWV și EJD au crescut, iar SEVR a scăzut. FGF 23 s-a corelat cu ED și SEVR, dar nu cu AIX și PWV.

..... detalii în RST *in extenso*

Capitolul III. Raport privind popularea bazei de date

Colectarea datelor este accesibilă din site-ul web, dar funcțiile menu-ului pentru acestea se vor debloca numai după autentificare. URL : <http://renart.itc.ro>

Datele măsurătorilor efectuate pe perioada de studiu sunt înregistrate în fișele individuale ale fiecărui pacient. Fiecare partener este responsabil pentru colectarea datelor rezultate în urma activităților specifice repartizate în cadrul protocolului de studiu iar Coordonatorul este responsabil pentru centralizarea datelor în baza de date a proiectului folosind site-ul proiectului RENART.

..... detalii în RST *in extenso*

Capitolul IV. Raport privind elaborarea modelului matematic RENART

Baza de date RENART implicată în condensarea și procesarea unui volum mare de date astfel încât să se poată interpreta corect valorile obținute și să se permită comparațiile. Utilizarea unor teste statistice specifice permite determinarea semnificației (diferenței) statistice, astfel încât estimatorii să

poată fi aplicați la populația generală. Baza de date RENART furnizează informații privind corelarea sau relaționarea între date colectate de partenerii proiectului.

Metoda scorurilor (scoring) este o tehnică de analiză discriminantă, constituind o metodă de diagnostic care constă în măsurarea și interpretarea riscului la care se expune pacientul, dar și sistemul medical ca sistem în activitatea viitoare. Funcția scor reprezintă o funcție construită pe baza unui anumit număr de rate și a semnificației acestora în definirea stării de sanatate a subiecților.

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

Capitolul V. Rezultatele etapei II

Rezultatele obtinute in aceasta etapa a proiectului, sunt in concordanta cu planul de realizare al proiectului si cu lista de activitati corespunzatoare etapei curente:

- selecția și înrolarea pacienților;
- efectuarea determinărilor de biomarkeri plasmatici;
- efectuarea evaluării vitezei undei pulsului;
- efectuarea evaluării ecografice vasculare și valvulare;
- colectarea datelor obținute în urma evaluării pacienților înrolați în studiu;
- popularea bazei de date;
- procesarea și analiza statistică a datelor colectate; stabilirea de corelații între biomarkerii plasmatici, viteza undei pulsului și evaluarea ecografică a arterelor;
- definirea cerințelor științifice ale modelului matematic și algoritmi folosiți în realizarea funcției de scoring;
- dezvoltarea modelului de date RENART;
- achiziționarea suportului logistic și informatic necesar realizării proiectului;
- deplasări la congrese și manifestări științifice internaționale în vederea documentării pe tema proiectului.

Pe baza protocolului de studiu stabilit în etapa anterioară a proiectului, au fost selectați pacienți pentru fiecare din obiectivele propuse și colectarea datelor clinice și biologice conform CRF-urilor realizate.

Capitolul VI. Diseminarea rezultatelor proiectului

Membrii echipei de cercetare au participat activ la numeroase manifestări științifice, ocazii cu care au fost diseminate activitățile specifice și rezultatele obținute în activitatea de cercetare.

Un eveniment important a fost simpozionul ***Boala renală cronică – o provocare multidisciplinară***, (20-21 iunie 2014, București), organizat sub egida proiectului RENART. Prima zi a simpozionului s-a desfășurat la Institutul Clinic Fundeni, cuprinzând o sesiune teoretică ce a inclus conferințe și comunicări orale, precum și o parte de demonstrații practice realizate de echipa Coordonatorului și a Partenerului 2, în care participanții au putut vizualiza direct modalitatea de lucru și informațiile obținute prin aceste metode de evaluare vasculară: efectuarea măsurătorilor de rigiditate arterială cu aparatul SfygmoCor interpretarea datelor furnizate de aparat (dr. M. Ecobici, dr. T. Atășie), efectuarea ecocardiografiei și a ecografiei vasculare Doppler (dr. M. Rosca, dr. A. Calin), ecografia

Doppler de fistulă arterio-venoasă pentru hemodializă (dr. D. Zilișteanu). Un interes deosebit l-a suscitât sesiunea *Analiza statistică în cercetarea medicală*, privind utilitatea unor sisteme informatice bazate pe metodologii inovative de diagnostic și scorificare a bolilor (dl. O. Anicăi).

Rezultatele proiectului RENART au fost prezentate și în cadrul Congresului European de Nefrologie (Amsterdam, 30 mai – 3 iunie 2014). Au fost prezentate 3 lucrări ce raportează rezultate preliminare ale proiectului: *Serum Osteoprotegerin is a predictor of diastolic dysfunction and vascular stiffness in chronic kidney disease patients* (E. Rusu, D. Zilisteanu, T. Atășie, M. Ecobici, A. Cîrciumaru, F. Carștea, M. Rosca, C. Tanase, S. Mihai, M. Voiculescu), *Fibroblast Growth Factor 23 correlates with aortic valve calcifications and non-dipper status in chronic kidney disease patients* (D. Zilisteanu, E. Rusu, T. Atășie, A. Cîrciumaru, F. Carștea, M. Ecobici, M. Rosca, C. Tanase, S. Mihai, M. Voiculescu) și *Assessing cardiovascular remodeling through abpm, tnfa, il-6 and proteinuria in chronic kidney disease patients* (A. Cîrciumaru, E. Rusu, D. Zilisteanu, T. Atășie, F. Cîrștea, Monica Ecobici², M. Voiculescu, M. Rosca, C. Tanase), rezumate publicate în *Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 29 | Supplement 3: May 2014, doi:10.1093/ndt/gfu142.

La Congresul Național de Cardiologie (2-4 octombrie 2014, Sinaia), Dr. Monica Rosca a prezentat două lucrări care au inclus rezultate parțiale din analiza bazei de date din studiul RENART: *Disfuncția atriului stâng se corelează independent cu prezența simptomelor de insuficiență cardiacă la pacienții cu boală renală cronică și fracție de ejeție a ventriculului stâng normal* (Roșca M, Popescu BA, Călin A, Mateescu A, Beladan CC, Rusu E, Zilișteanu D, Ginghină C) și *Impactul etiologiei bolii renale cronice asupra funcției longitudinale și a presiunilor de umplere ale ventriculului stâng* (Roșca M, Popescu BA, Călin A, Mateescu A, Beladan CC, Jalbă M, Rusu E, Zilișteanu D, Ginghină C), rezumate publicate în *Romanian Journal of Cardiology* 2014;SupplementA:99.

La Congresul European de Ecocardiografie (3-6 decembrie Viena 2014), Dr. Monica Rosca va prezenta o lucrare poster ce include rezultate parțiale din analiza bazei de date din studiul RENART, respectiv *The impact of the etiology of chronic kidney disease on left ventricular longitudinal function and filling pressures* (Rosca M, Popescu BA, Calin A, Mateescu A, Beladan CC, Jalba M, Rusu E, Zilisteanu D, Ginghina C.), rezumat în curs de publicare în *European Heart Journal - Cardiovascular Imaging* 2014.

La congresul FEBS EMBO 2014 (Paris, 30 august – 4 septembrie 2014), ecgipa P1 a prezentat posterul *Circulating biomarkers assessment for early diagnosis of vascular calcification in chronic kidney disease* (S. Mihai, E. Rusu, E. Codrici, I.D. Popescu, R. Albușescu, A. Nita, M. Voiculescu, C. Tanase), rezumat publicat în revista FEBS.

Pe baza datelor colectate până în prezent în activitatea de documentare, precum și rezultatele obținute prin prelucrarea statistică a informațiilor adunate din evaluarea pacienților incluși, sunt în curs de finalizare două articole ce vor fi submise spre evaluare: *Correlation between Fibroblast Growth Factor 23 and cardiovascular function in chronic kidney disease patients* ce va fi submis la REVISTA ROMANA DE MEDICINA DE LABORATOR, și *Cardiovascular calcifications evaluation and scoring in chronic kidney disease* ce va fi submis la ROMANIAN JOURNAL OF INTERNAL MEDICINE.

Bibliografie:

1. Przemyslaw Pencak, Beata Czerwienska, RafalFicek, Katarzyna Wyskida, Agata Kujawa-Szewieczek, Magdalena Olszanecka-Glinianowicz, Andrzej Wiecek and Jerzy Chudek, Calcification of coronary arteries and abdominal aorta in relation to traditional and novel risk factors of atherosclerosis in hemodialysis patients, *BMC Nephrology*, 1471-2369/14/10, 2013;

2. Martin L. Ford, Edward R. Smith, Laurie A. Tomlinsons, Prabal K. Chatterjee, Chakravarthi Rajkumar and Stephen G. Holt, FGF-23 and osteoprotegerin are independently associated with myocardial damage in chronic kidney disease stages 3 and 4. Another link between chronic kidney disease-mineral bone disorder and the heart, *Nephrol Dial Transplant*, 27:727-733, 2012;
3. Janos Nemesik, Istvan Kiss, Andras Tisler, Arterial stiffness, vascular calcification and bone metabolism in chronic kidney disease, *World J Nephrol* February 6; 1(1): 25-34, 2012;
4. Marion Morena, Isabelle Jaussent, Aurore Halkovich, et al. Bone biomarkers help grading severity of coronary calcifications in non dialysis chronic kidney disease patients, *Plos One*, Volume 7(5), e36175, 2012;
5. Stompór T, Coronary artery calcification in kidney disease *World J Cardiol*, 6(4): 115-129, 2014;
6. Hassan Abdelhady, Yassin Salah Yassin, Walid Mohammed Fathy, Ahmed Ragheb Tawfik and Amira I. S.Ahmed, Serum fetuin-A “a biomarker of arterial stiffness”; its relation to carotid intima media thickness in chronic kidney disease patients, *Journal of American Science* 10(8), 2014;
7. Gutierrez OM, Mannstadt M, Isakova T et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2008; 359: 584–592
8. Parker BD, Schurgers LJ, et al. The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul study. *Ann Intern Med* 2010; 152: 640–648
9. Isakova T, Xie H, Yang W et al. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA* 2011; 305: 2432–2439
10. Kendrick J, Cheung AK, Kaufman JS et al. FGF-23 associates with death, cardiovascular events, and initiation of chronic dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 1913–1922
11. Ix JH, Katz R, Kestenbaum BR et al. Fibroblast growth factor-23 and death, heart failure, and cardiovascular events in community-living individuals: CHS (Cardiovascular Health Study). *J Am Coll Cardiol* 2012; 60: 200–207
12. Faul C, Amaral AP, Oskouei B et al. Fibroblast growth factor 23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011; 121: 4393–4408
13. Scialla JJ, et al. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int* 2013; 83: 1159-1168
14. David Bowers, *Medical Statistics from Scratch An Introduction for Health Professionals*, Second Edition, School of Medicine, University of Leeds, UK, 2008 www.medicalBiostatistics.com
15. A. Indrayan, *Medical Biostatistics*, Third Edition, Chapman & Hall/CRC Press, 2012
16. Best practices for Project Coordinators for the FP7 SSH project websites' development and maintenance, EC, Research, Socio-Economic Sciences and Economies, 2010
17. www.asp.net/web-pages
18. <http://docs.joomla.org>
19. <http://wordpress.org/>
20. [ACS 2008] American Cancer Society. 2008. American Cancer Society: Information and Resources. Available from URL: <http://www.cancer.org/docroot/home/index.asp>
21. [ALA 2008] American Lung Association. 2008. Available from URL: <http://www.lungusa.org/>
22. Bussler C. Metadata in workflow management systems. In: Coyne B, Colucci J, Musick R, Miller C, Jones M, Kobler B
23. (eds). *Proceedings of the 2nd IEEE Metadata Conference*. Silver Spring, Md.: IEEE, 1997.

24. Lee J, Gruninger M, Jin Y, et al. The process interchange format and framework. Knowledge Eng Rev. 1998;13(1):91–120.
25. Baldonado M, Chang K, Gravano L, Paepcke A. Stanford Digital Library Metadata architecture. In: Stanford Digital
26. Guha RV, Bray T. Meta Content Framework Using XML.1997. Available at: <http://www.w3.org/TR/NOTE-MCFXML>. Accessed May 15, 1998.
27. 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.
28. 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.
29. Miller RA, Masarie FEJ. The demise of the “Greek Oracle” model for medical diagnostic systems. Methods Inf Med.1990;29:1–2.
30. Voit E. O. and Ferreira A. E., Computational Analysis of Biochemical Systems, Cambridge University Press, Cambridge, 2000.

Director de proiect,

Prof. Dr. Mihai Voiculescu

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke at the bottom.