

IMSP Institutul de Cardiologie

Program de Stat (2020-2023)

Proiectul „Evaluarea markerilor instrumentali și biochimici în managementul pacienților cu infarct miocardic acut fără elevare de segment ST, precum și în aprecierea gradului de afectare coronariană microvasculară” cu cifrul nr. 20.80009.8007.10.

(director de proiect – M.Popovici doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, academician al AȘM)

Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect în anul 2022

Obiectivul de fond al studiului clinic a constat în evaluarea complexă a markerilor biochimici și instrumentali cu valoare predictivă asupra dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI. Paternul endotelial-alterativ excelează prin reducerea conținutului seric al celulelor progenitoare endoteliale cu 52,5% și majorarea microparticulelor (epavelor) endoteliale cu 44,6%, iar micșorarea indicelui activității protrombotice și a proteinei anticoagulante C pe fundalul majorării duble a conținutului seric al monomerilor de fibrină sunt predictorii ai paternului protrombotic. În premieră pentru Republica Moldova disfuncția endotelială periferică s-a estimat cu ajutorul dispozitivului Endo-Pat 2000 la pacienții cu NSTEMI. Această metodă neinvazivă s-a dovedit a fi un instrument fezabil de evaluarea indirectă dereglării microcirculației coronariene, iar indicele hiperemiei reactive s-a corelat autentic cu markerii prognostici, cum ar fi hsPCR, NT-proBNP, troponina HS, LDL colesterol, cât și cu gradul de afectare coronariană ($\chi^2=5.3$, $p<0.05$).

În scopul evidențierii mecanismelor disfuncției endoteliale generalizate și a predictorilor iminenți la 58 de pacienții cu angină microcirculatorie și disbioză intestinală am determinat nivelul circulant ale lipopolizaharidelor și zonulinei, markerul integrității barierei intestinale. Elevarea lor cu 70-100% s-a corelat cu valoarea markerilor instrumentali ai disfuncției endoteliale: creșterea grosimii complexului intimă-medie a a.carotide cu 41% și deprecierea relaxării arterei brahiale mediate de flux cu 31,6%. Rezonanța magnetică nucleară s-a aplicat la 21 de pacienți cu NSTEMI în cadrul căreia s-a ținut spre consolidarea unui algoritm de markeri ai disfuncției endoteliale, gradului de perfuzie a miocardului și remodelării lui, inclusiv în asociere cu remodelarea matricei extracelulare. Fibroza subendocardică s-a constatat la toți pacienții cu NSTEMI, prezența acesteia fiind o repercusiune a infarctului NSTEMI. Lipsa unei corelații semnificative între severitatea dereglării de perfuzie a miocardului și zona fibrozei subendocardice sugerează faptul că dereglarea microcirculației coronariene nu este mecanismul solitar al dezvoltării NSTEMI.

Obiectivul studiului fundamental a constat în evaluarea efectului IL-10 asupra performanțelor funcționale ale cordului izolat în infarctul miocardic reprodus la șobolanii albi prin

izoproterenol. Datele obținute au demonstrat un beneficiu notabil al acțiunii IL-10 pe o perioadă de 7 zile în perioada post-infarct, astfel că indicii principali ce caracterizează diastola, sistola, funcția de pompă globală, reactivitatea coronariană dependentă de endoteliu, precum și toleranța anti-aritmică a cordului s-au ameliorat semnificativ. Acest beneficiu confirmă întemeiat rolul cheie al inflamației în evoluția infarctului miocardic, este în contiguitate certă cu evidențele clinice și astfel, este un reper infailibil de abordare a tratamentului post-infarct al pacienților cu NSTEMI cu IL-10, mai ales că această interleukină anti-inflamatoare este deja aplicată în studii clinice, demonstrând efecte pozitive în diferite patologii cardiace.

Summary of activity

The main objective of the clinical study has consisted in the complex evaluation of biochemical and instrumental markers with predictive value on coronary microcirculation dysregulation in patients with NSTEMI. The endothelial-alterative pattern excels by reducing the serum content of endothelial progenitor cells by 52,5% and increasing endothelial microparticles (debris) by 44,6%, but the decrease of the prothrombotic activity index and anticoagulant protein C associated by a twofold increase in the serum content of fibrin monomers are predictors of the prothrombotic pattern. For the first time for the Republic of Moldova, peripheral endothelial dysfunction was estimated using the Endo-Pat 2000 device in patients with NSTEMI. This non-invasive method proved to be a feasible tool for the indirect assessment of coronary microcirculation dysregulation, and the reactive hyperemia index correlated authentically with prognostic markers, such as hsPCR, NT-proBNP, troponin HS, LDL cholesterol, as well as with the degree of coronary damage ($\chi^2=5,3$; $p<0,05$). In order to highlight the mechanisms of generalized endothelial dysfunction and the imminent predictors in 58 patients with microcirculatory angina and intestinal dysbiosis, we determined the circulating level of lipopolysaccharides and zonulin, the marker of intestinal barrier integrity. Their elevation by 70-100% correlated with the value of the instrumental markers of endothelial dysfunction: the increase in the thickness of the intima-media complex of the carotid artery by 41% and the impairment of flow-mediated relaxation of the brachial artery by 31,6%. Nuclear magnetic resonance was applied to 21 patients with NSTEMI aiming the consolidation an algorithm of markers of endothelial dysfunction, myocardial perfusion, and extracellular matrix remodeling. Subendocardial fibrosis was found in all NSTEMI patients, its presence being a repercussion of NSTEMI infarction. The lack of a significant correlation between the severity of myocardial perfusion dysregulation and the area of subendocardial fibrosis suggests that coronary microcirculation dysregulation is not the sole mechanism of NSTEMI development.

The fundamental study goal was to evaluate the effect of IL-10 on the functional performance of the isolated heart in isoproterenol-reproduced myocardial infarction in laboratory white rats. The obtained data have demonstrated a notable benefit of IL-10 action over a period of 7 days in the post-infarction period, so that the main indices characterizing diastole, systole, global pump function, endothelium-dependent coronary reactivity, as well as anti-arrhythmia tolerance have improved significantly. This benefit suitably confirms the key role of inflammation in the evolution of myocardial infarction, is in clear contiguity with clinical evidence and thus, is an infallible landmark for approaching the post-infarction treatment of NSTEMI patients with IL-10, especially since this anti-inflammatory interleukin is already applied in clinical trials, demonstrating positive promising effects in various cardiac pathologies.

RECEȚIONAT

Agenția Națională pentru Cercetare
și Dezvoltare _____
_____ 2022

AVIZAT

Secția AȘM _____
_____ 2022

RAPORT ANUAL
privind implementarea proiectului din cadrul Programului de Stat
(2020-2023)

„Evaluarea markerilor instrumentali și biochimici în managementul pacienților cu infarct miocardic acut fără elevare de segment ST, precum și în aprecierea gradului de afectare coronariană microvasculară” cu cifrul nr. 20.80009.8007.10.

Prioritatea Strategică: SĂNĂTATE

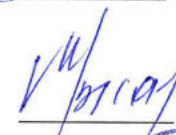
Conducătorul proiectului

Popovici Mihail



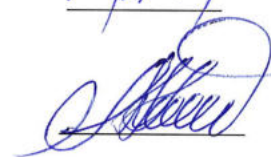
Directorul organizației

Moscalu Vitalie



Consiliul științific

Popovici Mihail



Chișinău 2022

1. Scopul etapei anuale

Evaluarea complexă a markerilor dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI și a efectului IL-10 asupra reactivității coronariene și a remodelării funcționale a miocardului în infarctul miocardic experimental.

2. Obiectivele etapei anuale

1. Evaluarea complexă a dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI prin utilizarea metodelor invazive, neinvazive și biochimice, precum și corelarea markerilor instrumentali și circulanți.
2. Evaluarea in vivo și in vitro a indicilor aritmogenității cordului în infarctul miocardic experimental pe fondalul inhibiției sau activării SERCA2a
3. Evaluarea rolului microbiotei intestinale în dereglarea microcirculației periferice și coronariene la pacienții cu angină pectorală microvasculară.
4. RMN în managementul pacienților cu NSTEMI
5. Evaluarea in vivo și in vitro a efectului IL-10 și antagonistului TNF α asupra indicilor aritmogenității cordului în infarctul miocardic experimental

3. Acțiunile planificate pentru realizarea scopului și obiectivelor etapei anuale

1. Evaluarea paternului „alterativ” al disfuncției endoteliale privind dereglarea microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI prin determinarea histochimică a epavelor endoteliocitare și a celulelor endoteliale progenitoare circulante.
2. Evaluarea paternului protrombotic al dereglării microcirculației coronariene prin aprecierea markerilor circulanți ai disfuncției hemostazei. Evaluarea hemodinamicii coronariene prin determinarea rezervei coronariene pre- și post-stenotice (indicele FFR) în repaus și efort metabolic în vederea decelării prezenței și gradului dereglării microcirculației coronariene. Evaluarea in vivo și in vitro a indicilor aritmogenității cordului în infarctul miocardic experimental pe fondalul inhibiției sau activării SERCA2a.
3. Continuarea colectării datelor în cadrul studiului RMN cardiace în managementul pacienților cu NSTEMI, inclusiv în aprecierea dereglării microcirculației coronariene. Evaluarea microcirculației periferice cu ajutorul dispozitivului EndoPat și aprecierea corelației cu microcirculația coronariană la pacienții NSTEMI. Evaluarea rolului microbiotei intestinale în dereglarea microcirculației periferice și coronariene la pacienții cu angină pectorală microvasculară
4. Evaluarea in vivo și in vitro a pragului de aritmogenitate a cordului în infarctul miocardic experimental și a efectului atenuării inflamației prin intermediul IL-10 și antagonistului TNF α , am-TNF α (anticorpul monoclonal către TNF α)

4. Acțiunile realizate pentru atingerea scopului și obiectivelor etapei anuale

1. S-a evaluat paternul „alterativ” al disfuncției endoteliale privind dereglarea microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI prin determinarea histochimică a epavelor endoteliocitare și a celulelor endoteliale progenitoare circulante.
2. Pe un lot de 54 de pacienți cu NSTEMI s-au determinat următorii markeri ai hemostazei:

monomerii solubili de fibrină (MF), indicele activității complexului protrombotic, precum și proteina anticoagulantă C.

3. Luând în considerație că investigația prin FFR poate fi aplicată util doar în fazele tardive de dezvoltare a unui sindrom coronarian acut (la 14-30 de zile de la debut), adică atunci când leziunea țintă a fost stabilizată medicamentos sau spontan iar hemodinamica intracoronariană la nivelul leziunii nu variază, iar în condițiile Republicii Moldova majoritatea pacienților cu risc ischemic foarte înalt și înalt se abordează prin angioplastia coronariană în primele ore sau zile de la debutul simptomelor de SCA. Totodată menționăm că pacienții din grupul de risc ischemic mic de regulă se internează în centrele abilitate de PCI în mod programat. De regulă spitalizarea acestor pacienți durează mai mult de 4 săptămâni timp în care pacientul cu diagnostic de SCA trece în diagnostic de Sindrom Coronarian Cronic. Astfel avem un număr mic de pacienți internați în fereastra terapeutică 14-30 zile timp când se poate aplica metoda FFR situație care a împiedicat realizarea numărului planificat de cazuri.

4. S-a evaluat in vivo și in vitro a indicilor aritmogenității cordului în infarctul miocardic experimental pe fondalul inhibiției sau activării SERCA2a.

5. S-a continuat colectarea datelor în cadrul studiului RMN cardiace în managementul pacienților cu NSTEMI, inclusiv în aprecierea dereglării microcirculației coronariene.

6. S-a evaluat microcirculația periferică cu ajutorul dispozitivului EndoPat și aprecierea corelației cu microcirculația coronariană la pacienții NSTEMI.

7. S-a studiat rolul microbiotei intestinale în dereglarea microcirculației periferice și coronariene la pacienții cu angină pectorală microvasculară.

8. S-a evaluat in vivo și in vitro a pragului de aritmogenitate a cordului în infarctul miocardic experimental și a efectului atenuării inflamației prin intermediul IL-10 și antagonistului TNF α , am-TNF α (anticorpul monoclonal către TNF α).

5. Rezultatele obținute

1. Evaluarea complexă a dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI prin utilizarea metodelor invazive, neinvazive și biochimice, precum și corelarea markerilor instrumentali și circulanți.

Leziunea endotelială manifestată prin reducerea producției de oxid nitric (NO) este o cauză cheie a periclitării reactivității arteriolelor coronariene dependente de NO la nivelul microcirculației coronariene sau circulației endocardice, recunoscută drept un mecanism patogenetic important al NSTEMI. Pe lângă paternul alterativ endotelial vizavi de evoluția NSTEMI se impune important și paternul trombotic, care are, de altfel în plan patogenetic, o conexiune strânsă cu leziunea endotelială.

Pentru a identifica severitatea leziunii endoteliale la 21 de pacienți cu NSTEMI am determinat la admitere prin metoda imunohistochimică:

1. Nivelul circulant al markerului reendotelizării – numărul celulelor progenitoare derivate de stem (CPS) în unitate de volum sangvin. CD34 a fost markerul de identificare a CPS.

2. Indicele activității funcționale a CPS privind gradul de proliferare a acestora în cultură de celule pe o perioadă de 7 zile sub acțiunea factorului de creștere endotelial (VEGF).

3. Nivelul circulant al markerului leziunii endoteliale – numărul epavelor endoteliocitare circulante (EEC) în unitate de volum sangvin. EEC reprezintă microparticule derivate de celulele endoteliale alterate cu dimensiunea de 0,1-1,0 μm , care odată desprinse de endoteliu circulă liber în sânge, declanșând acțiuni peiorative:

Indicii control au fost determinați la 20 de persoane aparent sănătoase.

Nivelul seric de admitere al CPS și EEC este prezentat în tabelul 1.1.

Tabelul 1.1

Valorile numerice ale CPS și EEC la pacienții cu NSTEMI

Indice	Control	NSTEMI	Corelarea cu numărul de artere culprit
Numărul CPS/1 ml	81,29±20,71	38,65±17,13 -52,5% vs control	r=-0,693 p<0,01
Numărul EEC/1 ml	8,27x10 ³	12,6x10 ³ +44,6% vs control	r=0,645 p<0,001

Astfel, la pacienții cu NSTEMI conținutul celulelor progenitoare derivate de stem a fost semnificativ diminuat cu 52,5% față de valoarea normală. Această evidență indică o capacitate redusă a procesului de reendotelizare și riscul unei leziuni sustenabile a endoteliului.

Totodată, markerul severității leziunii endoteliale, EEC, este semnificativ majorat la pacienții cu NSTEMI cu 44,6%. Este importantă corelarea robustă a acestor 2 markeri cu numărul de artere culprit: r=-0,693 pentru CPS și r=0,645 pentru EEC.

Reducerea numerică a CPS la pacienții cu NSTEMI este asociată cu micșorarea fezabilității lor de proliferare, astfel că la ziua a 7-ea de acțiune a VEGF în cultura de celule numărul CPS este cu 81% mai mic comparativ cu indicele control (tabelul 1.2).

Tabelul 1.2

Capacitatea de adeziune și proliferare a celulelor progenitoare în mediu de cultură

Indice	Control	NSTEMI	Corelarea cu numărul de artere culprit
Procentul CPS atașate de substratul celular	92,07±8,1	52,72±25,8 -42,74% vs control	r=-0,695 p<0,05
Numărul CPS în cultură/1 mm ² la ziua a 7-ea	497±147	95±35 -81% vs control	r=-0,716 p<0,05

Este depreciată de asemenea și capacitatea de adeziune a CPS la substratul marcat cu VEGF în medie cu 43%.

Astfel la pacienții cu NSTEMI micșorarea numărului CPS circulante este asociat cu abilitatea lor notabil redusă vis-a-vis de aderarea la sediul în regiunile alterative ale arteriolelor coronariene (în mod natural anume aici crește expresia diferitor molecule de adeziune intercelulară de captare a celulelor progenitoare), precum și de proliferare, necesară pentru asigurarea creșterii ulterioară a endoteliului structural alterat. Astfel, valoarea diminuată a indicelui funcțional indică o capacitate joasă de regenerare a endoteliului coronarian despre ce consemnează și corelarea semnificativă cu numărul arterelor coronare afectate. Această evidență fortifică valoarea diagnostică a indicelui cantitativ și oferă informație autentică despre regenerarea endoteliului, fapt ce poate justifica corectarea patogenetică a paternului alterativ

endotelial al dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI prin administrarea remediilor ce măresc aderența și proliferarea celulelor progenitoare derivate de stem.

Așadar, CPS și EEC sunt 2 markeri care se precipită în mod coerent pe interfața patogenetică a paternelui alterativ endotelial al dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI și pot fi vizați drept predictorii diagnostici de perspectivă.

Pentru evaluarea *paternelui trombotic* în dereglarea microcirculației la 54 pacienți s-au determinat următorii indicatori – monomerii de fibrină, proteina C și indicele activității complexului protrombotic (vezi tab.1.3.)

Tabelul 1.3

Indicatorii hemostaziei la pacienții cu NSTEMI

Indicii hemostazei la admitere	Lot control n=20	Lot NSTEMI n=54	p vs control
Indicele activității protrombotice, sec (60-80)	72,3±9,1	46,8±6,6	<0,01
Monomerii de fibrină, mg/ml (0,1-6,0)	4,7±0,8	9,5±1,3	<0,001
Proteina C, % (70-130)	85,4±10	59,4±7,6	<0,001

S-a constatat că monomerii de fibrină sunt mai mult ca dublu peste markerul control, fapt ce se asociază cu reducerea indicelui activității protrombotice cu 35,3% prin ce se poate deduce creșterea producției protrombokinazei.

Totodată, activarea protrombotică este în contiguitate cu micșorarea capacității sistemului anticoagulant, despre ce semnifică declinul al proteinei C cu 30,5%.

Pentru evaluarea *microcirculației periferice* la pacienții cu NSTEMI a fost utilizat dispozitivul EndoPAT 2000.

În studiu au fost incluși 19 pacienți la care s-a evaluat funcția endotelială periferică prin aprecierea indicelui hiperemiei reactive (RHI).

Valoarea medie a RHI în cadrul studiului a fost de 1.61 ± 0.33 . La compararea acestor valori cu indicii obținuți la voluntarii sănătoși, observăm că indicele RHI este mai mare la sănătoși 1.8 ± 0.5 , comparativ cu pacienții NSTEMI - 1.61 ± 0.33 .

În funcție de valoarea RHI, pacienții cu NSTEMI s-au divizat în 2 loturi: *lotul I* (n=8) a inclus pacienții cu disfuncție endotelială (RHI <1.67) și *lotul II* (n=4) - pacienții cu funcție endotelială normală (RHI >1.67).

Pacienții cu disfuncție endotelială au avut o pondere mai mare a majorității factorilor de risc comparativ cu pacienții cu funcție endotelială normală: HTA -100% , hipercolesterolemie 87.5% vs 50%, DZ 62.5% vs 50% și fumat 37.5% vs 0. Pacienții cu disfuncție endotelială s-au prezentat mai frecvent cu o fracție de eiecție moderat redusă - în 62.5% cazuri vs 25%.

Datele de laborator ne indica un nivel ușor mai mare al colesterolului total la pacienții cu afectarea funcției endoteliale: 4.8 ± 1.06 vs 4.6 ± 0.76 (p=0.78) și a colesterolului LDL 3.08 ± 0.8 vs 2.76 ± 0.6 (p=0.05). Pacienții cu disfuncție endotelială au avut și funcția renală afectată,

prezentând un nivel mai scăzut al ratei filtrării glomerulare (RFG) 63.5 ± 18.61 vs 67.8 ± 29.8 ($p=0.15$).

Markerii biochimici studiați, de asemeni au avut valori mai înalte la pacienții cu afectarea funcției endoteliale: troponina high-sensitive (15.749 vs 3986 ng/L), CK-MB (46.17 vs 23.34 U/L), NT-proBNP (3408 vs 1532 ng/ml), PCR (32.25 vs 6.0 mg), PCR hs (26.9 vs 9.7 mg/L). Totodată disfuncția endotelială a fost însoțită de un nivel mai înalt al hemoglobinei (141.7 vs 119.5 g/l) și al VSH (18.6 vs 16.7 mm/h).

Diferențe semnificative statistic între loturi s-au determinat la comparația acestora în funcție de numărul de vase coronare afectate. Astfel, disfuncția endotelială s-a observat preponderent la pacienții cu afectarea a 2 vase coronariene (37.5%) și la pacienții cu leziuni tricoronariene (37.5%), în timp ce pacienții fără afectarea funcției endoteliale au avut leziuni coronariene monovasculare în 25% cazuri și au avut artere coronare non-obstructive în 75% ($\chi^2=5.3$, $p<0.05$).

În baza rezultatelor obținute putem concluziona că evaluarea afectării microvasculare periferice cu ajutorul dispozitivului EndoPAT este fezabilă la pacienții cu NSTEMI. Disfuncția endotelială microvasculară periferică apreciată cu EndoPAT 2000 corelează cu markerii biochimici și funcționali modificați în contextul NSTEMI: troponina high-sensitive, NT-proBNP, PCR, PCRhs, RFG, fracția de ejeție a VS redusă cât și cu afectarea coronariană mai severă (bi- sau trivasculară).

2. Evaluarea in vivo și in vitro a indicilor aritmogenității cordului în infarctul miocardic experimental pe fondalul inhibiției sau activării SERCA2a

Reducerea toleranței miocardului la acțiunea stimulilor aritmogeni și dezvoltarea diferitor forme de aritmii cardiace (ARC) este o consecință iminentă a infarctului miocardic. Un factor endogen trigger al aritmiilor cardiace este surplusul de calciu în cardiomiocite, care conduce la micșorarea pragului de excitație și se impune astfel cu aport patogenetic. Un mecanism intrinsec important de control al concentrației adecvate a concentrației ionilor de calciu în timpul sistolei și diastolei este pompa de calciu a reticulului sarcoplasmic (SERCA2), care este activată de fosfolambanul fosforilat. Actualmente sunt abordări potrivit cărora modularea activității SERCA2 sau a procesului de fosforilare a fosfolambanului poate fi o pârgie de profilaxie și corectare a ARC, iar cercetările fundamentale sunt în acest context solicitate pentru a elucida particularitățile modificării pragului de aritmogenitate a cordului în condiții de inhibiție sau activare a SERCA2.

Material și metode: În studiul nostru fundamental provocarea ARC s-a realizat în lotul control de șobolani ($n=12$) și lotul cu infarct miocardic reprodus prin izoproterenol (IMI, $n=12$) in vivo și in vitro prin inducerea excesului ionilor de calciu. Thapsigargina (TG) și Ochrotoxina (OT) s-au utilizat în calitate de inhibitor și, respectiv, activator al SERCA2.

Studiul in vivo: S-a realizat pe șobolanul narcotizat cu tiopental de sodiu, la care s-a înregistrat ECG pe perioada infuziei i/v a soluției de calciu, CaCl_2 .

- Evaluarea ECG a aritmogenității cordului în IMI la infuzia i/v graduală a calciului (CaCl_2 5%; 1,5 ml/min) pe fondul inhibiției pompei SERCA prin acțiunea inhibitorului specific al ATP-asei reticulului sarcoplasmic, TG (infuzie i/v; 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$).

- Evaluarea ECG a aritmogenității cordului în IMI la infuzia i/v graduală a calciului (CaCl_2 5%; 1,5 ml/min) pe fondul activării pompei SERCA prin acțiunea stimulatorului specific al ATP-asei reticulului sarcoplasmic, OT (infuzie i/v; 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$).

Drept indici ai aritmogenității s-a utilizat timpul apariției primei extrasistole ventriculare (TEV), timpul tahicardiei ventriculare (TTV) și timpul fibrilației ventriculare (TFV).

Studiul in vitro: S-a realizat pe modelul de cord izolat perfuzat cu soluția Krebs fără recirculație, înregistrarea ECG fiind efectuată prin fixarea clamelor pe apexul cordului și atriu drept.

- Evaluarea ECG a aritmogenității cordului în IMI la creșterea graduală a calciului în perfuzat (0,1 mM/min) pe fondul inhibiției pompei SERCA cu TG (0,1 $\mu\text{g}/\text{min}$).

- Evaluarea ECG a aritmogenității cordului în IMI la creșterea graduală a calciului în perfuzat (0,1 mM/min) pe fondul activării pompei SERCA cu OT (0,1 $\mu\text{g}/\text{min}$).

Similar paternului in vivo al experimentului drept criteriile de aritmogenitate s-au estimat valorile TEV, TTV și TFV.

Datele obținute s-a prelucrat statistic în vederea determinării mediei (M), devierii standard (SD) și valorii p la compararea acestora din lotul IMI cu lotul martor.

Rezultate: Rezultatele estimării in vivo a aritmogenității pe fondul blocării SERCA2 cu TG sunt prezentate în tabelul 2.1.

Tabelul 2.1

Valorile TEV, TTV și TFV la creșterea in vivo a concentrației de Ca^{2+} pe fondul blocării SERCA2

Indici	Infuzia de Ca^{2+} fără TG		Infuzia de Ca^{2+} pe fondul TG	
	Control M±SD	IMI M±SD	Control M±SD	IMI M±SD
TEV, sec	242±25	176±20 -66 sec vs control	208±22	130±17 -78 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,05
TTV, sec	311±32	238±27 -73 sec vs control	261±21	153±18 -108 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,01
TFV, sec	385±43	293±32 -92 sec vs control	314±23	178±20 -136 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,01

Evidențele obținute au demonstrat că în IMI pragul aritmogenității la infuzia soluției de CaCl_2 este semnificativ redus, astfel că valorile TEV, TTV și TFV sunt micșorate față de indicii control cu 66, 73 și 92 sec respectiv. Blocarea SERCA2 prin acțiunea TG a afectat în ambele loturi toleranța miocardului la acțiunea aritmogenă a calciului. Cu toate acestea micșorarea valorilor TEV, TTV și TFV în IMI este mai considerabilă, fapt ce a determinat un recul mai mare al indicilor comparativ cu nivelul control, acesta atingând cote de 78, 108 și 136 sec. Prin urmare, în raport cu modificările din lotul control atestate pe fondul acțiunii TG apariția primei

extrasistole ventriculare, tahicardiei ventriculare și fibrilației ventriculare este mai timpurie cu 12, 35 și 44 sec.

Acțiunea excesului de calciu pe fondul blocării SERCA2 modifică detrimental în IMI doar valoarea TFV (tabelul 2.2.).

Tabelul 2.2

Valorile TEV, TTV și TFV la creșterea in vivo a concentrației de Ca^{2+} pe fondul activării SERCA2

Indici	Infuzia de Ca^{2+} fără OT		Infuzia de Ca^{2+} pe fondul OT	
	Control M±SD	IMI M±SD	Control M±SD	IMI M±SD
TEV, sec	242±25	176±20 -66 sec vs control	257±28	193±22 -64 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,05
TTV, sec	311±32	238±27 -73 sec vs control	324±35	252±24 -72 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,001
TFV, sec	385±43	293±32 -92 sec vs control	411±45	283±35 -128 sec vs control
p vs control		<0,01		<0,001

Pe fondul activării SERCA2 pragul aritmogenității a crescut notabil în lotul control dată fiind creșterea timpului celor 3 indici explorați: TEV cu 15 sec; TTV cu 13 sec și TFV cu 26 sec. În IMI ameliorarea toleranței aritmogene a miocardului a fost rezervată. Deși valoarea TEV și TTV a crescut la cote similare lotului control, TFV, dimpotrivă, s-a micșorat cu 10 sec, fapt ce a condiționat apariția timpului fibrilației ventriculare mai timpurie cu 36 sec comparativ cu paternul control în cadrul activării SERCA2.

Important de menționat că efecte similare au fost decelate și in vitro. Pe fondul blocării SERCA2 toleranța aritmogenă a cordului a fost periclitată în ambele loturi, dar notabil mai pronunțat în IMI (tabelul 2.3).

Tabelul 2.3

Valorile TEV, TTV și TFV la creșterea in vitro a concentrației de Ca^{2+} pe fondul blocării SERCA2

Indici	Infuzia de Ca^{2+} fără TG		Infuzia de Ca^{2+} pe fondul TG	
	Control M±SD	IMI M±SD	Control M±SD	IMI M±SD
TEV, sec	162±18	94±11 -68 sec vs control	144±15	63±7 -81 sec vs control
p vs control		<0,01		<0,001
TTV, sec	206±21	130±16 -76 sec vs control	187±22	73±9 -114 sec vs control
p vs control		<0,01		<0,001
TFV, sec	255±29	158±18 -97 sec vs control	224±26	79±10 -145 sec vs control
p vs control		<0,01		<0,001

De remarcat că atât în control, cât și IMI valorile TEV, TTV și TFV estimate la acțiunea excesului de calciu in vitro sunt reduse comparativ cu modelul in vivo. De asemenea și rata micșorării valorii acestor indici pe fondalul blocării SERCA2 este superioară în ambele loturi comparativ cu dinamica inerentă modelului in vivo. Totodată, deprecierea indicilor în IMI a fost mai concludentă, astfel că diferența față de control a devenit egală cu: pentru TEV 13 sec; pentru TTV 38 sec și pentru TFV 48 sec. În comparație cu modelul in vivo diferența atestată nu este semnificativă: 13 vs 12 sec; 38 vs 35 sec și 48 vs 44 sec.

Este de admis că micșorarea în ambele loturi a valorilor TEV, TTV și TFV în modelul in vitro comparativ cu modelul in vivo este condiționată de acțiunea calciului asupra cordului pe o pantă ascendentă mai abruptă, firească modelului de perfuzie a cordului izolat. Analogic și efectul TG este mai accentuat în condițiile in vitro, dată fiind acțiunea blocantului SERCA2 asupra cordului mult mai rapidă.

Caracterul modificării toleranței aritmogene a cordului in vitro pe fondul activării pompei SERCA 2 este reflectat în tabelul 2.4.

Tabelul 2.4

Valorile TEV, TTV și TFV la creșterea in vitro a concentrației de Ca^{2+} pe fondul activării SERCA2

Indici	Infuzia de Ca^{2+} fără OT		Infuzia de Ca^{2+} pe fondul OT	
	Control M±SD	IMI M±SD	Control M±SD	IMI M±SD
TEV, sec	162±18	94±11 -68 sec vs control	182±20	117±21 -65 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,01
TTV, sec	206±21	130±16 -76 sec vs control	225±25	154±17 -74 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,01
TFV, sec	255±29	158±18 -97 sec vs control	285±31	147±16 -138 sec vs control
p vs control		<0,05		<0,001

Două particularități distincte sunt evidențiate în modelul in vitro. În primul rând, cota de creștere a valorilor TEV, TTV și TFV în control pe fondul OT nu diferă esențial de incrementul stabilit în modelul in vivo: 20 vs 15 sec; 19 vs 13 sec și 30 vs 26 sec. În al doilea rând, timpul apariției primei extrasistole ventriculare și a tahicardiei ventriculare în IMI s-a îmbunătățit analogic modelului in vivo, iar valoarea TFV s-a redus cu 11 sec, astfel că reculul față de control a devenit egal cu 41%, comparativ cu reculul de 36% inerent modelului in vivo.

Concluzii:

1. Pragul aritmogen al cordului în infarctul miocardic experimental izoproterenolic atestat in vivo și in vitro la acțiunea excesului de calciu este micșorat, astfel că timpul apariției primei extrasistole ventriculare, tahicardiei ventriculare și fibrilației ventriculare este semnificativ redus la cote cuprinse între 66 și 97 sec sau 27,3 și 38%.

2. Blocarea SERCA2 în vivo, cât și in vitro a crescut decalajul indicilor IMI față de control: TEV cu 12-13 sec; TTV cu 35-38 sec, iar TFV cu 44-48 sec, fapt ce indică asupra unei încărcături mai

concludente a cardiomiocitelor cu calciu dependentă de pompa de calciu a reticulului sarcoplasmic, precum și incompetența altor mecanisme de control al homeostaziei Ca^{2+} .

3. Activarea SERCA2 a ameliorat toleranța aritmogenă a cordului atât în control, cât și IMI, dar la o stimulare mai îndelungată a pompei de calciu valoarea TFV este, contrar dinamicii control, în descreștere, astfel că reculul indicelui în IMI a crescut cu 36 sec in vivo și cu 41 sec in vitro sau cu 40 și, respectiv, 43%. Un mecanism plauzibil al acestui fenomen ar fi legat de periclitarea metabolismului energetic în IMI, care devine și mai accentuată la o stimulare îndelungată a SERCA2, funcționalitatea căreia necesită cheltuieli suplimentare de ATP în detrimentul reglării homeostaziei calciului.

3. Evaluarea rolului microbiotei intestinale în dereglarea microcirculației periferice și coronariene la pacienții cu angină pectorală microvasculară.

Evaluarea factorilor ce cauzează disfuncția endotelială la pacienții cu ACM este importantă la conotația evidențierii markerilor de diagnostic și prognostic, precum și a reperelor de optimizare a tratamentului patogenetic. Opinia conceptuală coroborată aduce la apel rolul factorilor de risc cardiovascular clasici (ie, diabetul zaharat, hipertensiunea arterială, dislipidemiile, tabagismul, etc.) care sunt implicați în procesul de leziune aterosclerotică, care prin paternul stenoizant se manifestă detrimental asupra perfuziei coronariene.

Un factor endogen capabil să declanșeze un răspuns inflamator și o formare exagerată de specii reactive de oxigen (SRO) este endotoxina derivată din membrana bacteriilor gram-negative, care biochimic reprezintă o lipopolizaharidă (LP). Elevarea ei în sânge are loc în cadrul translocării intestinale în cadrul afectării probiotice (sau disbiozei intestinale) pe fondalul creșterii permeabilității barierei intestinale.

Astfel, perturbarea barierei intestinale este o precondiționare importantă a elevării nivelului circulant al LP și riscului iminent al inflamației și stresului oxidativ, iar zonulina, markerul afectării joncțiunilor intercelulare în epiteliul intestinal ce facilitează translocarea rezidurilor alimentare și bacteriene impune un rol diagnostic deosebit.

Astfel evaluarea nivelurilor circulante ale LP și zonulinei în contiguitate cu markerii disfuncției endoteliale, inflamației și stresului oxidativ la pacienții cu ACM prezintă un interes deosebit.

Studiul s-a realizat pe un lot de 58 de pacienți cu ACM spitalizați în IMSP Institutul de Cardiologie, diagnosticul căreia a fost consolidat conform prevederilor grupului internațional de evaluare a tulburărilor vasomotorii (Vasomotion Disorders International Study Group).

Indicii demografici, clinici și paraclinici explorați ai pacienților cu ACM au fost incluși într-un Chestionar special cu un cumulativ de 130 de nominalizări.

Panoul multi-marker a inclus:

- Markerii morfo-funcționali ai disfuncției endoteliale determinați prin ecografie cu Doppler efect: rata dilatării arterei brahiale mediate de flux (FMD); grosimea complexului intimă-medie a arterei carotide comune (acIM).
- Markerii circulanți ai disfuncției endoteliale determinați prin metoda ELISA și kit-uri speciale de calorimetrie: NO, ET-1, S-nitrozotiolii.
- Markerii disbiozei intestinale determinați prin metoda ELISA: lipopolizaharidele (LP), zonulina.

- Markerii inflamației determinați prin metoda ELISA: proteina C reactivă înalt sensibilă (hsCRP), interleukina 6 (IL-6), factorul de necroză a tumorii alpha (TNF- α), proteina chemoattractantă a monocitelor (MCP-1), sCD-140 (markerul CD solubil), produsele finale ale glicării (AGEs).
- Markerii stresului oxidativ determinați prin metoda ELISA: NOX₂, peroxidul de hidrogen (H₂O₂), rata de degradare a peroxidului de hidrogen (RD-H₂O₂), superoxidismutaza (SOD), catalaza, dialdehida malonică (DAM).

Toți markerii funcționali și biochimici menționați au fost de terminați și la 48 de persoane aparent sănătoase (lotul control) cu valorile cărora s-au comparat markerii pacienților cu ACM.

Procesare statistică a materialului cifric a inclus determinarea mediei (M), deviației standard (SD), valorii p (<0,05 discrepanța era considerată semnificativă), precum și a indicelui de corelare Spearman, r.

Rezultate: Aprecierea markerilor remodelării vasculare periferice a stabilit prezența disfuncției endoteliale la pacienții cu ACM (tabelul 3.1).

Tabelul 3.1

Markerii morfo-funcționali ai disfuncției endoteliale

Indice	Lot ACM	Lot control	p
FMD (%)	9,3±1,7	13,6±1,9	<0,001
acIM (mm)	1,32±0,2	0,94±0,1	<0,001

Rata dilatării arterei brahiale dependente de flux este cu 31,6% mai mică comparativ cu FMD stabilită în lotul control. Totodată, grosimea complexului intimă-medie a arterei carotide comune depășește cu 41% markerul control.

Aceste evidențe sunt în acord cu modificările biomarkerilor circulanți decelate la pacienții cu ACM (tabelul 3.2).

Tabelul 3.2

Markerii biochimici ai disfuncției endoteliale

Indice	Lot ACM	Lot control	p
NO (μ M/L)	26,6±9,1	38,5±10,3	<0,001
S-nitrozotiolii (μ M/L)	2,7±0,6	4,4±0,8	<0,001
ET-1 (pg/ml)	16,5±5,9	10,7±5,2	<0,001

Astfel, biomarkerul principal al fezabilității endoteliului vascular, oxidul nitric, este cantitativ depreciat cu 31%. Nivelul circulant redus de NO este asociat cu micșorarea conținutului seric al S-nitrozotiolilor cu 38,6%. Disfuncția și leziunea endotelială este estimată drept o cauză de elevare a ET-1 circulante. În studiul nostru această oligopeptidă este cu 55% peste valoarea control.

Prin urmare markerii morfo-funcționali, cât și markerii biochimici indică sigur asupra disfuncției endoteliale la pacienții cu ACM, care a evoluat pe fondalul disbiozei intestinale (tabelul 3.3).

Tabelul 3.3

Conținutul seric al markerilor disbiozei intestinale

Indice	Lot ACM	Lot control	p
LP (pg/ml)	38,1±10,4	21,2±9,6	<0,001
Zonulin (ng/ml)	3,6±0,7	1,8±0,3	<0,001

Important de menționat în acest context creșterea cu 80% a conținutului seric al lipopolizaharidelor. Elevare LP este în sintonie cu majorarea zonulinei, markerul afectării permeabilității barierei intestinale, nivelul căreia s-a decelat dublat față de control: **3,6±0,7 vs 1,8±0,3 ng/ml**.

În contextul rolului LP în activarea programului genetic proinflamator al celulelor sunt remarcabile modificările markerilor inflamației (tabelul 3.4).

Tabelul 3.4

Nivelul circulant al markerilor inflamației

Indice	Lot ACM	Lot control	p
hsCRP (mg/L)	3,54±0,33	0,83±0,11	<0,001
IL-6 (pg/ml)	6,27±0,68	4,38±0,45	<0,001
TNF- α (pg/ml)	7,84±0,68	5,12±0,49	<0,001
MCP-1 (pg/ml)	473±52	306±44	<0,01
AGEs (μ g/L)	457±53	312±44	<0,01
sCD140 (pg/ml)	475±55	358±41	<0,01

Conținutul seric al hsCRP, markerul cheie al inflamației, depășește valoarea de 3,0 mg/L care corespunde riscului cardiovascular înalt. În lotul control hsCRP se încadrează în limitele 0-1,0 mg/L, fapt ce indică asupra riscului cardiovascular mic. Citokinele proinflamatoare expresate primar de celulele cu programul genetic activat, IL-6 și TNF- α , care stimulează producția hepatică a proteinei C reactive, fibrinogenului și amiloidului A sunt cantitativ superioare nivelurilor circulante control cu 44% și, respectiv, 54%. Un efect important al citokinelor proinflamatoare în controlul sustenabil al inflamației constă în asigurarea pasajului transendotelial al celulelor proinflamatoare (neutrofilele și monocitele) prin stimularea selectinelor și integrinelor. La pacienții cu ACM s-a stabilit elevarea cu 55% față de control a nivelului circulant al MCP-1. De asemenea conținutul seric al AGEs, care sunt implicate în stimularea activității migratoare a monocitelor, este majorat cu 47%.

Răspunsul inflamator este indispensabil de răspunsul imun, iar sistemul CD140-ligand – CD140-receptor realizează conexiunea dintre limfocitele T și limfocitele B. De menționat în acest context că nivelul circulant al markerului solubil (sCD140) este la pacienții cu ACM și disbioza intestinală crescut cu 33%.

Unul din primele efecte ale LP urmărite în cercetările fundamentale a fost efectul de stimulare a producției SRO. Markerii determinați în studiul nostru denotă activarea stresului oxidativ (tabelul 3.5).

Tabelul 3.5

Conținutul seric al markerilor stresului oxidativ

Indice	Lot ACM	Lot control	p
NOX2-s (pg/ml)	58,8±12,6	25,5±10,3	<0,001
H ₂ O ₂ (μM/L)	47,3±20,4	21,5±9,3	<0,001
RD-H ₂ O ₂ (%)	28,2±10,5	55,6±20,8	<0,001
DAM (μM/L)	8,1±1,3	4,5±0,7	<0,001
SOD (u.c.)	721±88	969±113	<0,01
Catalaza (u.c.)	817±122	1163±198	<0,01

Nivelul seric al formei solubile a enzimei membranare (NOX2-s) implicate notabil în formarea radicalilor liberi de oxigen este elevat de 2,3 ori. Acest spor marcat s-a asociat cu un exces al peroxidului de hidrogen de 120% față de control, iar rata degradării markerului, dimpotrivă, este aproape dedublată. Enzima antioxidantă care neutralizează H₂O₂, catalaza, s-a estimat semnificativ subiacentă valorii control cu 29,75%. O modificare similară este caracteristică și pentru SOD, reculul acesteia față de control constituind 25,6%.

Un marker important al statusului prooxidant este dialdehida malonică, care reflectă în proporție directă intensitatea procesului de peroxidare a lipidelor și proteinelor. Conținutul seric al DAM este cu 80% peste markerul control.

Conexiunea strânsă între markerii disbiozei intestinale, disfuncției endoteliale, inflamației și stresului oxidativ la pacienții cu ACM este confirmată și prin corelațiile robuste decantate în cadrul regresiei liniare simple (tabelul 3.6).

Tabelul 3.6

Valoarea coeficientul de corelare apreciată între markeri principali

LP	FMD	NO	TNF-α	NOX2-s	H ₂ O ₂	DAM	ET-1
	-0,673	-0,692	0,632	0,725	0,715	0,683	0,607
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Zonulina	-0,664	-0,685	0,639	0,723	0,698	0,676	0,603
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Astfel, LP și zonulina s-au apreciat într-o relație corelativă de intensitatea medie-înaltă (coeficientul r este mai reprezentativ decât ±0,6) cu markerii disfuncției endoteliale (FMD, NO și ET-1), inflamației (TNF-α) și stresului oxidativ (NOX2-s, H₂O₂ și DAM). Această evidență aduce o dovadă notabilă asupra rolului disbiozei intestinale în evoluția disfuncției endoteliale la pacienții cu angină coronariană microcirculatorie.

Concluzii:

1. La pacienții cu ACM s-au constatat niveluri circulante elevate mai mult ca dublu ale LP și zonulinei față de valoarea control, fapt ce indică asupra prezenței disbiozei intestinale.
2. LP și zonulina se corelează robust cu markerii morfofuncționali și biochimici ai disfuncției endoteliale, precum și cu markerii factorilor patogenetici principali ai acesteia, - inflamației și stresului oxidativ.

3. Luând în vedere efectul cunoscut al LP de a declanșa inflamația subclinică în contiguitate cu formarea excesivă de radicali liberi de oxigen, se poate sugera întemeiat aportul disbiozei intestinale în evoluția ACM.

4. RMN în managementul pacienților cu NSTEMI

Pentru a aprecia valoarea RMN cardiace la diferite etape de management al pacienților cu NSTEMI cât și rolul său în elucidarea paternului disfuncției microvasculare coronariene (DCM) a fost studiat un lot de 21 de pacienți cu diagnosticul de lucru NSTEMI cu artere coronare non-obstructive.

La toți pacienții s-a efectuat RMN cardiacă 1.5 Tesla cu contrast, 2 pacienți au fost excluși, din cauza depistării leziunilor coronariene obstructive. Cei 19 pacienți incluși în studiu au fost evaluați conform protocolului standard prin imagini T2-ponderate, secvențe *cine*, perfuzia în repaos și captarea tardivă de contrast (LGE).

Conform datelor RMN cardiace a fost stabilit diagnosticul clinic. Astfel, infarctul miocardic a fost confirmat doar la 37.5% pacienți, restul fiind diagnosticați cu patologie non-coronariană: miocardită - 31.25%, cardiomiopatie hipertrofică - 12.5% , cardiomiopatie dilatativă 12.5%, iar 6.25% au avut parametrii normali.

Pentru a elucida paternul disfuncției coronariene microvasculare cu ajutorul RMN cardiace, subiecții s-au divizat în 2 loturi: *lotul I* (cu afectare coronariană) și *lotul II* (cu afectare non-coronariană). A fost studiată perfuzia în repaos la primul tranzit al contrastului și LGE.

Dereglările de perfuzie au fost detectate în proporție de 30% în *lotul I* și 50% în *lotul II* ($\chi^2=0.64$, $p>0.05$). În același timp, captarea tardivă de contrast a permis identificarea fibrozei la majoritatea pacienților din ambele loturi, dar cu particularități de localizare în funcție de paternul disfuncției coronariene microvasculare. Astfel, în *lotul I* s-a determinat fibroză subendocardică la toți pacienții (100%), în timp ce în *lotul II* a predominat fibroza intramurală în proporție de 50% urmată de fibroza subepicardică 20% și varianta combinată - 20% ($\chi^2=12.44$ $p<0.05$).

RMN cardiacă s-a dovedit un instrument important în stabilirea diagnosticului final la pacienții cu NSTEMI cu artere coronare non-obstructive. Rezultatele studiului ne indică că infarctul miocardic a fost confirmat la doar 1/3 dintre pacienți, iar restul au fost diagnosticați cu patologie cardiacă de etiologie non-coronariană: miocardită sau cardiomiopatii, entități care impun un management total diferit.

Totodată, RMN cardiacă reprezintă un instrument fezabil în aprecierea paternului disfuncției coronariene microvasculare la pacienții cu NSTEMI cu artere coronare non-obstructive. Mecanismul disfuncției coronariene microvasculare este sugerat de localizarea fibrozei, determinată prin captarea tardivă de contrast.

În același timp, studierea perfuziei la primul tranzit al substanței de contrast în repaos nu s-a dovedit informativă pentru aprecierea paternului disfuncției coronariene microvasculare. Valoarea sa diagnostică în acest sens ar putea fi crescută prin includerea în protocolul de examinare a perfuziei de stres.

6. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de publicații

1. Articole în reviste științifice

1.1. în reviste din bazele de date Web of Science și SCOPUS (cu indicarea factorului de

impact IF)

1. Lorenzo Loffredo, Victoria Ivanov, Nicolae Ciobanu, Micaela Ivanov, Paolo Ciacci, Cristina Nocella, Vittoria Cammisotto, Federica Orlando, Aurora Paraninfi, Enrico Maggio, Alessandra D'Amico, Paolo Rosa, Mihail Popovici, Simona Bartimoccia, Francesco Barillà, Elena Deseatnicova, Evgenii Gutu, Francesco Violi, Roberto Carnevale. Low-grade endotoxemia and NOX2 in patients with coronary microvascular angina. "Kardiologia Polska" (Polish Heart Journal), Vol 80, No 9 (2022)

1.2. în reviste din Registrul National al revistelor de profil, cu indicarea categoriei

1. Mihail Popovici, Lucia Ciobanu, Ion Popovici, Victoria Ivanov, Mihaela Munteanu, Ion Popovici, Tatiana Danila, Valeriu Cobet. Features of hemostasis in patients with non-ST-elevation myocardial infarction. Moldovan Medical Journal. August 2022;65(1):4, 40-47.

2. Olga Dicusar, Olga Darii, Ion Popovici, Mihaela Munteanu, Lucia Ciobanu, Victoria Ivanov, Mihail Popovici. Rolul RMN cardiace în evaluarea disfuncției coronariene microvasculare și în determinarea altor cauze MINOCA la pacienții cu NSTEMI. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2022, vol.1 (72), 11-17.

3. Galina Sorici, Ion Popovici, Marina Gorohov, Lucia Ciobanu, Mihail Popovici. Afecțiunea cardiacă la pacienții Covid-19 în faza postacută. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2022, vol.1 (72), 27-36.

4. Olga Dicusar, Mihaela Ivanov, Carolina Dumanshii, Stela Fuior, Natalia Litvinenco, Victoria Ivanov, Lucia Ciobanu, Mihail Popovici. Particularitățile infarctului miocardic fără elevarea segmentului ST la femei. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2022, vol.1 (72), 43-47.

5. Mihail Popovici, Mihaela Munteanu, Ion Popovici, Victoria Ivanov, Lucia Ciobanu, Ion Moraru, Victoria Rotaru, Lilia Tacu, Mihail Todiraș, Valeriu Cobeț. Beneficiul tratamentului antiinflamator prin IL-10 dovedit în modele experimentale de insuficiență cardiacă. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2022, vol.1 (72), 65-72.

6. Tatiana Danila, Mihaela Munteanu, Lucia Ciobanu, Valeriu Cobeț, Mihail Popovici. Tulburările hemostazei la pacienții cu NSTEMI și markerii de diagnostic. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2022, vol.1 (72), 97-105.

7. Dumitru Tăriță, Tatiana Danila, Lucia Ciobanu, Ion Popovici. Rolul rezervei de flux coronarian (CFR) și a rezervei fracționale de flux (FFR) în sindromul coronarian acut – revizuire sistematică. Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe medicale. 2022, vol.1 (72), 106-109.

2. Teze ale conferințelor științifice

2.1. în lucrările conferințelor științifice naționale

2.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale

1. G.Sorici, I.Popovici, M.Gorohova, L.Ciobanu, M.Popovici. Afecțiunea cardiacă la pacienții COVID-19 în faza postacută. Lucrări rapid comentate. Al 61-lea Congres Național de Cardiologie, România, 21-24 septembrie 2022.

2. M.Popovici, M.Munteanu, I.Popovici, V.Ivanov, L.Ciobanu, L.Tacu, V.Cobeț. Ang 1-7 ameliorează toleranța miocardului la ischemie și reperfuzie periclitată de Thapsigargin. Lucrări rapid comentate. Al 61-lea Congres Național de Cardiologie, România, 21-24 septembrie 2022.

3. L.Ciobanu, O.Dicusar, O.Darii, I.Popovici, M.Munteanu, V.Ivanov, M.Popovici. Rolul RMN cardiace în evaluarea disfuncției coronariene microvasculare la pacienții cu NSTEMI fără obstrucția arterelor coronare. Poster. Al 61-lea Congres Național de Cardiologie, România, 21-24 septembrie 2022.
4. M.Popovici, M.Munteanu, I.Popovici, V.Ivanov, L.Ciobanu, L.Tacu, V.Cobet. Beneficii cardiace ale IL-10 comune pentru diferite modele experimentale de insuficiență cardiacă. Poster. Al 61-lea Congres Național de Cardiologie, România, 21-24 septembrie 2022.
5. V.Cobet, O.Hajawi, L.Tacu, V.Rotaru, A.Braniste, M.Munteanu, V.Ivanov, I.Popovici, L.Ciobanu, M.Popovici. Ang 1-7 mitigates the thapsigargin induced lowered myocardium tolerance to ischemia and reperfusion. **Poster.** Frontiers in Cardio Vascular Biomedicine 2022. SIXTH CONGRESS OF THE ESC COUNCIL ON BASIC CARDIOVASCULAR SCIENCE. 29 April - 1 May 2022, Budapest – Hungary.
6. V.Cobet, L.Tacu, V.Rotaru, M.Munteanu, V.Ivanov, I.Popovici, L.Ciobanu, M.Popovici. A common cardiac benefit of IL-10 in diverse experimental models of heart failure. **Poster.** Frontiers in Cardio Vascular Biomedicine 2022. SIXTH CONGRESS OF THE ESC COUNCIL ON BASIC CARDIOVASCULAR SCIENCE. 29 April - 1 May 2022, Budapest – Hungary.

7. Impactul științific, social și/sau economic al rezultatelor științifice obținute în cadrul proiectului.

Sunt aduse dovezi importante privind reperetele patogenetice consolidate prin exegeza diferitor markeri biochimici și instrumentali cu valoare diagnostică asupra dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI. Este completat apanajul conceptual vizavi de suportul diagnostic al paternului endotelial-alterativ și protrombotic al acesteia. Sunt elucidate mecanismele patogenetice prin care răspunsul inflamator accentuat periclitează remodelarea post-infarct a miocardului și exacerbează evoluția insuficienței cardiace. Este demonstrată fezabilitatea continuumului vascular la conotația disfuncția endotelială, dată fiind corelarea strânsă între disfuncția endotelială periferică și coronariană.

Optimizarea diagnosticului NSTEMI prin utilizarea predictorilor evidențiați în studiu va facilita urgentarea triajului pacienților și a tratamentului intervențional, iar pe de altă parte va justifica în contextul diferențierii NSTEMI de stenocardia instabilă evitarea mai frecventă a angiocoronarografiei, care este o manevră intervențională ofensivă și costisitoare. Implementarea metodei Endo-Pat în diagnosticul indirect și non-invaziv al disfuncției endoteliale coronariene va limita utilizarea metodelor diagnostice invazive costisitoare și ofensive.

8. Infrastructura de cercetare utilizată în cadrul proiectului

A fost utilizată infrastructura IMSP Institutul de Cardiologie, respectiv a secțiilor clinice de cardiologie intervențională, sala de cateterism, laboratorul clinic, Dispensarul cardiologic cât și infrastructura din cadrul Spitalului polivalent Novamed: secția de primire urgente, sala de cateterism, cabinetul de diagnostic prin rezonanța magnetică nucleară și laboratorul de diagnostic clinic.

9. Colaborare la nivel național în cadrul implementării proiectului

În cadrul național s-a colaborat cu laboratorul central al USMF „N.Testemițanu” (Acord de parteneriat nr.5 din 10.10.2019) și Spitalul Polivalent Cardiomed SRL (Acord de parteneriat nr.2 din 10.10.2019).

10. Colaborare la nivel internațional în cadrul implementării proiectului

La nivel internațional s-a colaborat cu: Spitalul Universității Skane din Lund, Suedia (Acord de parteneriat nr.1 din 08.10.2019); Universitatea de Medicină Ludwig-Maximilian și Societatea Științifică Max-Planck (Acord de parteneriat nr.3 din 08.10.2019); Universitatea Sapienza din Roma (Acord de parteneriat nr.4 din 17.10.2019) și cu Societatea Europeană de Cardiologie în cadrul proiectului EURObservational Research Programme (EOPR) conform contractului de colaborare.

11. Dificultățile în realizarea proiectului

- Medicii din domeniul cercetării concomitent cu realizarea proiectelor de cercetare din Programul de Stat îndeplinesc o activitate curativă având aceeași sarcină (numărul de pacienți tratați, consultați) ca și medicii practicieni; suplimentar dâșii elaborează, actualizează și implementează metode noi de diagnostic și tratament, pregătesc ghidurile naționale pentru toate nozologiile, organizează conferințe clinice, conferințe științifice, pregătesc publicații de specialitate, participă la pregătirea cadrelor etc., însă sunt plătiți cu un salariu mai mic. Această abordare discriminatorie față de medicii care efectuează activitate curativă trebuie neapărat corectată.
- Nu se respectă cerințele stipulate în Hotărârea de Guvern nr.53 din 05.02.2020 „Cu privire la aprobarea Metodologiei de finanțare instituțională a organizațiilor de drept public din domeniul cercetării și inovării”. Ca exemplu, cuantumul care a fost repartizat Institutului de Cardiologie în anii 2020-2021 a fost mult mai mic decât prevederile regulamentului și achitat instituției cu mari rețineri (întârzieri de circa 7 luni), iar în anul curent pentru finanțarea instituțională s-au achitat până la moment 100000 mii lei, suma care a acoperit numai 4 luni ale anului.
- În același timp ași menționa că ar fi bine pentru viitor creșterea finanțării instituționale până la circa 50-60% din cuantumul finanțării cercetării.

12. Diseminarea rezultatelor obținute în proiect în formă de prezentări la foruri științifice

Toate lucrările științifice indicate în punctul 2.2 au fost prezentate în cadrul conferințelor sub formă poster sau oral (vezi p.2.2).

13. Aprecieri și recunoașterea rezultatelor obținute în proiect (premiu, medalii, titluri, alte aprecieri).

Lucrarea cu tema „Ang 1-7 ameliorează toleranța miocardului la ischemie și reperfuție periclitată de Thapsigargin” prezentată la al 61-lea Congres Național de Cardiologie, România, 21-24 septembrie 2022, a fost menționată cu premiul pentru locul II.

Diplomă a Ministerului Educației și Cercetării a Republicii Moldova.

14. Promovarea rezultatelor cercetărilor obținute în proiect în mass-media

Am participat la 2 emisiuni TV (M.Popovici – Moldova 1, I.Popovici – TV8).

15. Teze de doctorat / postdoctorat susținute și confirmate în anul 2022 de membrii echipei proiectului

1. Artiom Surev, teza de doctorat cu titlul „Particularitățile tratamentului intervențional al infarctului miocardic acut fără supradenivelarea segmentului ST”, conducător științific Lucia Ciobanu, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar cercetător și Mihail Ciocanu, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
2. Munteanu Mihaela, teza de doctorat cu titlul „Răspunsul inflamator la pacienții cu infarct miocardic acut pe perioada dezvoltării remodelării adaptive și patologice a miocardului”, conducător științific Lucia Ciobanu, doctor habilitat în științe medicale, conferențiar cercetător și Valeriu Cobeț doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

16. Materializarea rezultatelor obținute în proiect

Rezultatele obținute sunt incluse în algoritmul diagnostic și prognostic aplicat în gestionarea pacienților cu NSTEMI în secția de cardiologie intervențională a IMSP Institutul de cardiologie și Spitalul polivalent Nova-Med, iar ulterior vor fi propuse de a fi incluse în protocolul clinic de diagnostic și management al NSTEMI. Evidențele științifice cruciale sunt implementate în programul curricular al catedrei de fiziopatologie și fiziopatologie clinică a USMF „Nicolae Testemițanu” (Certificat de Inovator nr.5902 și Certificat de Inovator nr.5903 din 06.05.2022).

17. Informație suplimentară referitor la activitățile membrilor echipei în anul 2022

Membrii echipei au tratat 1274 pacienți asigurați, astfel au adus beneficiu economic Institutului de cardiologie care depășește de multe ori suma alocată pentru proiectul respectiv.

1. Popovici Mihail, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, academician al AȘM a participat în calitate de:

- membru al Comisiei Guvernamentale pentru decernarea Premiului Național de Stat ediția 2022.
- expert evaluator în cadrul Comitetului științific pentru organizarea congresului anual al Societății Europene de Cardiologie.
- membru al consiliilor redacționale a revistelor științifice internaționale: „Кардиология”, „Евразийский Кардиологический Журнал” (Federația Rusă), „Украинский кардиологический журнал” (Ucraina), Рациональная фармакотерапия в Кардиологии (Federația Rusă).
- membru al consiliilor redacționale a revistelor științifice naționale: „Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Secția Științe Medicale”, „Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină”, „The Moldovan Medical Journal” (Moldova).
- în calitate de președinte a organizat 4 ședințe a Societății Cardiologilor din Republica Moldova
- A participat la Congresul Societății Europene de Cardiologie și a Societății Române de

Cardiologie, cât și la numeroase lecturi academice organizate de către Academia de Științe a Moldovei.

- conducător științific a 3 teze de dr. în științe medicale.
- Международная конференция «Спорные и нерешённые вопросы кардиологии 2022» 19-20 октября 2022 года. Moderator al sesiunii «Спорные и нерешённые вопросы кардиологии I».
- X Евразийский конгресс кардиологов, 16-17 мая 2022 г. Moderator al sesiunii «COVID-19 и сердечно-сосудистые заболевания»

2. *Ivanov Victoria*, doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător, a fost membru a Comisiei de doctorat pentru susținerea tezei de doctorat a dnei Munteanu Oxana, specialitatea pulmonologie.

3. *Valeriu Cobeș*, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar.

Membru al Comisiei de experți în Medicină a ANACEC din 2018.

Președinte al Seminarului științific de profil medico-biologic din USMF (Profilul: 312. Fiziologie: Specialitatea: 312.01. Fiziologie normală și patologică Profilul: 315. Biochimie și biologie moleculară: Specialitățile: 315.01. Biochimie medicală; 315.02. Biologie moleculară și genetica medical).

Președinte al Comisiei de doctorat pentru susținerea tezei de dr.șt.med., a dlui Vizdoagă Anatolie din 22.12.2021.

Membru al Consiliului științific specializat de susținere a tezei de dr.șt.med., a dnei Sârbu Oxana din 28.09.2022.

4. *Ion Popovici*, doctor habilitat în științe medicale, profesor cercetător, a participat:

- Conferința internațională dedicată abordării intervenționale a pacientului complex (11-12 februarie 2022 CHIP) București, România.
- în calitate de moderator la I Congres internațional „Tromboza cu sau fără limite”, Chișinău, 7-8 octombrie 2022.
- i s-a decernat Diploma de merit pentru coordonarea științifică a tezei de doctor de excelență de gradul II „Tratamentul hipertensiunii arteriale rezistente: indicații farmacologice și intervenționale” autor Anna Moiseeva.
- în calitate de moderator și raportor la cea de-a III-a întrunire a Societății de Cardiologie și Radiologie Intervențională din Moldova, 23 iulie 2021

18. Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect

Obiectivul de fond al studiului clinic a constat în evaluarea complexă a markerilor biochimici și instrumentali cu valoare predictivă asupra dereglării microcirculației coronariene la pacienții cu NSTEMI. Paternul endotelial-alterativ excelează prin reducerea conținutului seric al celulelor progenitoare endoteliale cu 52,5% și majorarea microparticulelor (epavelor) endoteliale cu 44,6%, iar micșorarea indicelui activității protrombotice și a proteinei anticoagulante C pe fundalul majorării duble a conținutului seric al monomerilor de fibrină sunt predictorii ai paternului protrombotic. În premieră pentru Republica Moldova disfuncția endotelială periferică s-a estimat cu ajutorul dispozitivului Endo-Pat 2000 la pacienții cu NSTEMI. Această metodă neinvazivă s-a dovedit a fi un instrument fezabil de evaluarea indirectă dereglării microcirculației

coronariene, iar indicele hiperemiei reactive s-a corelat autentic cu markerii prognostici, cum ar fi hsPCR, NT-proBNP, troponina HS, LDL colesterol, cât și cu gradul de afectare coronariană ($\chi^2=5.3$, $p<0.05$).

În scopul evidențierii mecanismelor disfuncției endoteliale generalizate și a predictorilor iminenți la 58 de pacienți cu angină microcirculatorie și disbioză intestinală am determinat nivelul circulant ale lipopolizaharidelor și zonulinei, markerul integrității barierei intestinale. Elevarea lor cu 70-100% s-a corelat cu valoarea markerilor instrumentali ai disfuncției endoteliale: creșterea grosimii complexului intimă-medie a a.carotide cu 41% și deprecierea relaxării arterei brahiale mediate de flux cu 31,6%. Rezonanța magnetică nucleară s-a aplicat la 21 de pacienți cu NSTEMI în cadrul căreia s-a ținut spre consolidarea unui algoritm de markeri ai disfuncției endoteliale, gradului de perfuzie a miocardului și remodelării lui, inclusiv în asociere cu remodelarea matricei extracelulare. Fibroza subendocardică s-a constatat la toți pacienții cu NSTEMI, prezența acesteia fiind o repercusiune a infarctului NSTEMI. Lipsa unei corelații semnificative între severitatea dereglării de perfuzie a miocardului și zona fibrozei subendocardice sugerează faptul că dereglarea microcirculației coronariene nu este mecanismul solitar al dezvoltării NSTEMI.

Obiectivul studiului fundamental a constat în evaluarea efectului IL-10 asupra performanțelor funcționale ale cordului izolat în infarctul miocardic reprodus la șobolanii albi prin izoproterenol. Datele obținute au demonstrat un beneficiu notabil al acțiunii IL-10 pe o perioadă de 7 zile în perioada post-infarct, astfel că indicii principali ce caracterizează diastola, sistola, funcția de pompă globală, reactivitatea coronariană dependentă de endoteliu, precum și toleranța anti-aritmică a cordului s-au ameliorat semnificativ. Acest beneficiu confirmă întemeiat rolul cheie al inflamației în evoluția infarctului miocardic, este în contiguitate certă cu evidențele clinice și astfel, este un reper infailibil de abordare a tratamentului post-infarct al pacienților cu NSTEMI cu IL-10, mai ales că această interleukină anti-inflamatoare este deja aplicată în studii clinice, demonstrând efecte pozitive în diferite patologii cardiace.

Summary of activity

The main objective of the clinical study has consisted in the complex evaluation of biochemical and instrumental markers with predictive value on coronary microcirculation dysregulation in patients with NSTEMI. The endothelial-alterative pattern excels by reducing the serum content of endothelial progenitor cells by 52,5% and increasing endothelial microparticles (debris) by 44,6%, but the decrease of the prothrombotic activity index and anticoagulant protein C associated by a twofold increase in the serum content of fibrin monomers are predictors of the prothrombotic pattern. For the first time for the Republic of Moldova, peripheral endothelial dysfunction was estimated using the Endo-Pat 2000 device in patients with NSTEMI. This non-invasive method proved to be a feasible tool for the indirect assessment of coronary microcirculation dysregulation, and the reactive hyperemia index correlated authentically with prognostic markers, such as hsPCR, NT-proBNP, troponin HS, LDL cholesterol, as well as with the degree of coronary damage ($\chi^2=5,3$; $p<0,05$). In order to highlight the mechanisms of generalized endothelial dysfunction and the imminent predictors in 58 patients with microcirculatory angina and intestinal dysbiosis, we determined the circulating level of lipopolysaccharides and zonulin, the marker of intestinal barrier integrity. Their elevation by 70-

100% correlated with the value of the instrumental markers of endothelial dysfunction: the increase in the thickness of the intima-media complex of the carotid artery by 41% and the impairment of flow-mediated relaxation of the brachial artery by 31,6%. Nuclear magnetic resonance was applied to 21 patients with NSTEMI aiming the consolidation an algorithm of markers of endothelial dysfunction, myocardial perfusion, and extracellular matrix remodeling. Subendocardial fibrosis was found in all NSTEMI patients, its presence being a repercussion of NSTEMI infarction. The lack of a significant correlation between the severity of myocardial perfusion dysregulation and the area of subendocardial fibrosis suggests that coronary microcirculation dysregulation is not the sole mechanism of NSTEMI development.

The fundamental study goal was to evaluate the effect of IL-10 on the functional performance of the isolated heart in isoproterenol-reproduced myocardial infarction in laboratory white rats. The obtained data have demonstrated a notable benefit of IL-10 action over a period of 7 days in the post-infarction period, so that the main indices characterizing diastole, systole, global pump function, endothelium-dependent coronary reactivity, as well as anti-arrhythmia tolerance have improved significantly. This benefit suitably confirms the key role of inflammation in the evolution of myocardial infarction, is in clear contiguity with clinical evidence and thus, is an infallible landmark for approaching the post-infarction treatment of NSTEMI patients with IL-10, especially since this anti-inflammatory interleukin is already applied in clinical trials, demonstrating positive promising effects in various cardiac pathologies.

19. Recomandări, propuneri

Dificultățile, recomandările și propunerile sunt cele prezentate și în anii precedenți fără a avea un oarecare răspuns de la autorități.

Conducătorul de proiect 

Data: 10.11.22



Anexa 1B

**Executarea devizului de cheltuieli, conform anexei nr. 2.3 din contractul de finanțare
(la data raportării)**

Cifrul proiectului: 20.80009.8007.10

Denumirea	Cheltuieli, mii lei			
	Cod		Anul de gestiune	
	Eco (k6)	Aprobat	Modificat +/-	Precizat
Remunerarea muncii angajaților conform statelor	211180	1002,4		1002,4
Contribuții de asigurări sociale de stat obligatorii	212100	240,6		240,6
Prime de asigurare obligatorie de asistenta medicală achitate de angajator și angajați pe teritoriul țării	212210			
Deplasări în interes de serviciu peste hotare	222720	44,6	-40,8	3,8
Servicii de cercetări științifice	222930			
Servicii neatribuite altor aliniate	222990			
Procurarea materialelor de uz gospodăresc și rechizite de birou	316110			
Procurarea activelor nemateriale	317110			
Procurarea pieselor de schimb	332110			
Procurarea medicamentelor și materialelor sanitare	334110			
Procurarea materialelor pentru scopuri didactice, științifice și alte scopuri	335110	227,7	+40,8	268,5
Procurarea materialelor de uz gospodăresc și rechizitelor de birou	336110	2,9		2,9
Total		1518,2	0	1518,2

Conducătorul organizației *V. Moscalu* / Moscalu VitalieContabil șef *Z. Iurașco* / Iurașco ZinaidaConducătorul de proiect *M. Popovici* / Popovici Mihail

Componența echipei proiectului

Cifrul proiectului 20.80009.8007.10

Echipa proiectului conform contractului de finanțare (la semnarea contractului)						
Nr	Nume, prenume (conform contractului de finanțare)	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării	Data eliberării
1.	Todiraș Mihail	1966	Cercetător științific superior	0,5	03.01.2022	
2.	Lîsii Dorin	1966	Cercetător științific superior	0,5	03.01.2022	
3.	Moraru Ion	1966	Cercetător științific superior	1,0	03.01.2022	
4.	Moraru Ion	1966	Cercetător științific superior	0,5	03.01.2022	
5.	Dumanschi Carolina	1979	Cercetător științific superior	1,0	03.01.2022	
6.	Jucovschi C	1946	Cercetător științific superior	0,25	03.01.2022	
7.	Dicusar Olga	1991	Cercetător științific	1,0	03.01.2022	
8.	Fuior Stela	1971	Cercetător științific	0,5	03.01.2022	
9.	Litvinenco Natalia	1988	Cercetător științific	1,0	03.01.2022	
10.	Surev Artiom	1986	Cercetător științific	0,25	03.01.2022	
11.	Tofan Victoria	1986	Cercetător științific	1,0	03.01.2022	
12.	Tofan Victoria	1986	Cercetător științific	0,5	03.01.2022	
13.	Popovici Tatiana	1956	Cercetător științific	0,5	03.01.2022	
14.	Cociu Maria	1991	Cercetător științific	1,0	03.01.2022	
15.	Negru -Cemortan Rodica	1964	Cercetător științific	0,25	03.01.2022	

16.	Tăriță Dumitru	1986	Cercetător științific	0,5	03.01.2022	
17.	Dănilă Tatiana	1992	Cercetător științific stagiar	1,0	03.01.2022	
18.	Jalbă Eulita contract suspendat	1942	Cercetător științific principal	0,5		
19.	Vacansie		Cercetător științific coordonator	1,0		
20.	Vacansie		Cercetător științific superior	0,5		
21.	Vacansie		Cercetător științific stagiar	0,5		

Ponderea tinerilor (%) din numărul total al executorilor conform contractului de finanțare	25 %
--	------

Modificări în componența echipei pe parcursul anului 2022					
Nr	Nume, prenume	Anul nașterii	Titlul științific	Norma de muncă conform contractului	Data angajării
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					

Ponderea tinerilor (%) din numărul total al executorilor la data raportării	
---	--

Conducătorul organizației *Moscalu* Moscalu Vitalie

Contabil șef *Iurașco* Iurașco Zinaida

Conducătorul de proiect *Popovici* Popovici Mihail

Data: 16.01.22

