
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Biomarkeri de prognostic în insuficiența cardiacă

Doctorand: **Cerasela Mihaela Sava (căs. Goidescu)**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Petru Adrian Mircea**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	7
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Insuficiența cardiacă	12
1.1. Definiții	12
1.2. Mecanisme compensatorii activate în insuficiența cardiacă	13
1.2.1. Sistemul nervos simpatic	13
1.2.2. Sistemul renină-angiotensină-aldosteron	15
1.2.3. Sistemul peptidelor natriuretice	16
1.2.3.1. BNP, NT-proBNP	16
2. Apelinul și sistemul cardiovascular	21
2.1. Rolul sistemului apelin-APJ în fiziologia sistemului cardiovascular	21
2.2. Rolul sistemului apelin-APJ în insuficiența cardiacă	24
2.2.1. Studii experimentale pe animale	24
2.2.2. Studii pe subiecți umani	26
3. Stresul oxidativ în insuficiența cardiacă	29
3.1. Efectele stresului oxidativ asupra cordului	29
3.2. Influența radicalilor liberi de oxigen asupra structurii și funcției cardiace	30
3.3. Legătura dintre RAAS și stresul oxidativ în bolile cardiovasculare	31
3.3.1. Izoprostanii – biomakeri ai stresului oxidativ	31
3.3.2. Izoprostanii: martori inocenți sau mediatori ai progresiei bolii	35
4. Remodelarea cardiacă	35
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	39
2. Metodologie generală	43
2.1. Lotul pacienților	43
2.2. Lotul martorilor	44
2.3. Electrocardiografia	44
2.4. Ecocardiografia	44
2.5. Recoltarea probelor biologice	44
2.6. Evaluarea în dinamică	45
3. Studiul I. Analiza nivelului apelin-13 seric la pacienții cu insuficiență cardiacă	47
3.1. Introducere	47
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	48
3.3. Material și metodă	48
3.3.1. Lotul pacienților	48
3.3.2. Lotul martorilor	48
3.3.3. Electrocardiografia	49
3.3.4. Ecocardiografia	49
3.3.5. Recoltarea și analiza probelor de sânge	49
3.3.6. Analiza statistică	49
3.4. Rezultate	50
3.4.1. Analiza generală a lotului de pacienți și cel al martorilor	50

3.4.2. Remodelare, funcție sistolică cardiacă, apelin-13	52
3.4.3. Subgrupurile <i>Apelin-13 scăzut</i> și <i>Apelin-13 crescut</i>	57
3.4.4. Factori predictivi pentru supraviețuire	60
3.5. Discuții	62
3.6. Concluzii	64
4. Studiul II. Nivelul stresului oxidativ măsurat prin determinarea nivelului 8-iso-PGF_{2α} urinar la pacienții cu insuficiență cardiacă	67
4.1. Introducere	67
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	67
4.3. Material și metodă	67
4.3.1. Lotul pacienților	68
4.3.2. Lotul martorilor	68
4.3.3. Recoltarea probelor biologice	68
4.3.4. Evaluarea ecocardiografică și electrocardiografică	69
4.3.5. Analiza statistică	69
4.4. Rezultate	70
4.4.1. Analize generale	70
4.4.2. Influența remodelării cardiace și funcției sistolice cardiace asupra nivelului 8-iso-PGF _{2α} și al NT-proBNP	72
4.4.2.1. Relațiile dintre 8-iso-PGF _{2α} și parametrii ecocardiografici	72
4.4.2.2. Relațiile dintre NT-proBNP și parametrii clinici și paraclinici ai pacienților cu insuficiență cardiacă	75
4.4.2.3. Biomarkerii și parametrii ecocardiografici la pacienții cu insuficiență cardiacă	78
4.4.3. Factori predictivi pentru un nivel ridicat al stresului oxidativ la pacienții cu insuficiență cardiacă	82
4.5. Discuții	83
4.6. Concluzii	86
5. Studiul III. Modificările în dinamică ale apelin-13 și 8-iso-PGF_{2α}	87
5.1. Introducere	87
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	87
5.3. Pacienți și metodă	88
5.4. Rezultate	89
5.4.1. Modificările în dinamică ale Apelin-13	90
5.4.2. Modificările în dinamică ale nivelelor urinare ale 8-iso-PGF _{2α}	91
5.4.3. Analiza în dinamică a parametrilor biologici și ecocardiografici	95
5.5. Discuții	96
5.6. Concluzii	97
6. Studiul IV. Importanța biomarkerilor noi comparativ cu a celor consacrați în evaluarea pacienților cu insuficiență cardiacă	99
6.1. Introducere	99
6.2. Ipoteza de lucru/obiective	100
6.3. Material și metodă	100
6.3.1. Lotul pacienților	100
6.3.2. Lotul martorilor	101
6.3.3. Recoltarea probelor biologice	101

6.3.4. Evaluarea ecocardiografică și electrocardiografică	102
6.3.5. Evaluarea în dinamică	102
6.3.6. Analiza statistică	102
6.4. Rezultate	103
6.4.1. Evaluarea în dinamică	103
6.4.2. Proteina C reactivă	103
6.4.3. Acidul uric	107
6.5. Discuții	110
6.6. Concluzii	111
7. Discuții generale	113
8. Concluzii generale	117
9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	118
REFERINȚE	121

Cuvinte cheie: insuficiență cardiacă, apelin-13, stres oxidativ, 8-iso-PGF2 α , remodelare cardiacă, NT-proBNP, proteina C reactivă.

INTRODUCERE

Insuficiența cardiacă este o boală cronică, cu caracter progresiv, ce reprezintă o importantă problemă de sănătate publică; incidența ei a crescut o dată cu prelungirea duratei medii de viață și îmbătrânirea populației. Afectează aproximativ 1-2% din populația adultă și până la 10% din populația cu vârstă peste 70 ani.

Fiziopatologia progresivă a IC este influențată de supraexpresia unor molecule ce fac parte din căi de semnalizare activate cronic de hipoperfuzia tisulară și care au efecte negative asupra sistemului cardiovascular. Mecanismele compensatorii descrise până la această dată sunt activarea sistemului renină-angiotensină-aldosteron (SRAA) și a celui adrenergic cu scopul de a menține debitul cardiac, însă cu validarea unor efecte negative pe termen lung. În opoziție cu aceste sisteme, având rolul a le contrabalansa, există alte căi moleculare care au roluri cheie în fiziologia sistemului cardiovascular și care au devenit subiectul principal al cercetării în domeniul insuficienței cardiace.

Există în continuare nevoia de dezvoltare a unor biomarkeri care să ajute în evaluarea complexă, non-invazivă, a severității unei insuficiențe cardiace, atât la momentul determinării, cât mai ales pentru prezicerea dinamicii progresiei bolii. Această evaluare este necesară pentru a putea aplica măsuri terapeutice care să crească supraviețuirea pacienților dar mai ales să le amelioreze calitatea vieții și să le reducă gradul de dependență.

Apelinul este un peptid relativ recent descoperit care are o activitate complexă asupra sistemului cardiovascular și mai ales asupra miocardului și funcției sistolice cardiace. Cercetările concentrate asupra acestuia au arătat importanța lui în reglarea funcțiilor sistemului cardiocirculator în condiții fiziologice, însă au demonstrat și importante alterări ale dinamicii apelinului și a receptorului lui în condiții patologice; în contextul bolii relațiile dintre lanțurile moleculare sunt însă complexe și dificil de descifrat, rolul exact al acestui peptid nefiind încă elucidat.

Stresul oxidativ este un element important în fiziopatologia multor afecțiuni, preponderent a celor cronice, inclusiv a bolilor cardiovasculare. În insuficiența cardiacă nivelul stresului oxidativ este cunoscut a fi ridicat, însă este necesară o analiză complexă a relației dintre acesta, biomarkerii specifici insuficienței cardiace și mai ales parametrii clinici și ecocardiografici ai pacienților cu această suferință.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Studiul I. Analiza nivelului apelin-13 la pacienții cu insuficiență cardiacă.

Scopul studiului. Nivelul seric al apelin-13 variază în funcție de severitatea insuficienței cardiace, de tipul acesteia și este influențat de medicația neurohormonală administrată. Este în corelație negativă cu nivelul seric al NT-proBNP și este influențat de tipul de remodelare cardiacă. Obiectivele studiului au fost de a analiza diferențele în nivelele apelin-13 seric în funcție de tipul insuficienței cardiace și de a analiza corelațiile acestuia cu nivelul NT-proBNP, cu parametrii clinici, ecocardiografici și biologici și cu medicația utilizată de pacienți.

Metodă: 53 de pacienți cu insuficiență cardiacă secundară cardiopatiei ischemice și cardiomiopatiei dilatative au fost evaluați clinic, biologic, ECG și ecocardiografic. A fost alcătuit un lot martor din 13 pacienți cunoscuți cu hipertensiune arterială esențială controlată medicamentos. Nivelele serice ale apelin-13 și NT-proBNP au fost analizate la toți subiecții incluși și analizați în funcție de caracteristicile clinice, ecocardiografice, electrocardiografice și în funcție de restul parametrilor biologici.

Rezultate: Mediana nivelului seric al apelin-13 a fost de 515 (402-1005) pg/ml în grupul pacienților și 495 (275-845) pg/ml în grupul martorilor. Nivelul apelin-13 a fost semnificativ corelat, negativ, cu nivelul NT-proBNP [coeficient Spearman -0,83, [95% CI (-0,89) - (-0,61)], $p < 0,001$. Nivelele scăzute ale apelin-13 au fost asociate cu remodelarea de tip excentric, tulburări globale de cinetică ale ventriculului stâng, cu sexul feminin și cu clasa NYHA avansată.

Concluzii. Nivelul seric al apelin-13 este invers proporțional cu cel al NT-proBNP la pacienții cu insuficiență cardiacă incluși în studiu. Nivelele reduse ale acestui peptid au fost asociate cu remodelarea de tip excentric, cu tulburările globale de cinetică, cu sexul feminin și cu stadiile avansate ale insuficienței cardiace.

Studiul II. Nivelul stresului oxidativ măsurat prin determinarea nivelului 8-iso-PGF_{2α} urinar la pacienții cu insuficiență cardiacă.

Scopul studiului. Stresul oxidativ este ridicat în stadiile avansate ale insuficienței cardiace și este în relație cu funcția sistolică a cordului. Nivelul biomarkerilor stresului oxidativ (8-iso-PGF_{2α}) se ameliorează sub medicația neurohormonală specifică insuficienței cardiace. Obiectivele cercetării au fost de a analiza nivelul urinar al 8-iso-PGF_{2α} la pacienții cu IC acută, cronică compensată și respectiv decompensată, de a evalua corelațiile dintre acesta și parametri clinici, biologici sau ecografici (remodelarea cardiacă) ai pacienților cu IC și medicația utilizată de pacienți.

Metodă. 53 de pacienți cu insuficiență cardiacă secundară cardiopatiei ischemice și cardiomiopatiei dilatative au fost evaluați clinic, biologic, ECG și ecocardiografic. A fost alcătuit un lot martor din 13 pacienți cunoscuți cu hipertensiune arterială esențială controlată medicamentos. Nivelele serice ale NT-proBNP și cele urinare ale 8-iso-PGF_{2α} au fost analizate la toți subiecții incluși și analizați în funcție de caracteristicile clinice, ecocardiografice, electrocardiografice și în funcție de restul parametrilor biologici.

Rezultate. Valoarea mediană a nivelelor urinare ale 8-iso-PGF_{2α} în grupul pacienților cu insuficiență cardiacă a fost 267,32 pg/μmol creatinină (IQR 99,82-636,5 pg/μmol creatinină), semnificativ mai mic comparativ cu grupul martorilor, 19,82 pg/μmol creatinină (IQR 13,35-22,5 pg/μmol creatinină), $p < 0,001$. Nivelele 8-iso-PGF_{2α} au fost pozitiv corelate, semnificativ statistic, cu masa ventriculului stâng, cu un coeficient Spearman 0,38 (95% CI 0 - 0,4), $p = 0,002$, iar subgrupul cu hipertrofie VS concentrică a avut valori mai mici ale 8-iso-PGF_{2α} decât subgrupul cu hipertrofie VS excentrică.

Concluzii. Nivelul stresului oxidativ a fost semnificativ mai mare la pacienții cu insuficiență cardiacă comparativ cu martorii fără această boală. Subgrupul cu hipertrofie excentrică a avut nivelele mai ridicate ale izoprostanului decât subgrupul cu hipertrofie concentrică a ventriculului stâng.

Studiul III. Modificările în dinamică ale apelin-13 și urinar la pacienții cu insuficiență cardiacă.

Scopul studiului. Pe parcursul evoluției insuficienței cardiace, sub terapia specifică bolii, simptomele, biomarkerii serici și parametrii ecocardiografici se ameliorează. Obiectivele studiului au fost de a identifica modificările nivelelor apelin-13 seric și 8-*iso*-PGF_{2α} urinar pe parcursul evoluției insuficienței cardiace și de a analiza corelațiile dintre aceste modificări și tipul insuficienței cardiace, medicația administrată și evenimentele adverse dezvoltate în timpul evoluției.

Metodă. Au fost evaluați 27 de pacienți cu insuficiență cardiacă la două momente diferite în timp: la momentul primei internări și după un interval de urmărire de 6-12 luni. Grupul martor a fost alcătuit din 13 pacienți cunoscuți hipertensivi, tratați eficient.

Rezultate. Nivelul seric al apelin-13 a fost semnificativ mai mare la a doua evaluare (460 pg/mL, IQR 342-871 pg/mL) comparativ cu prima determinare (395 pg/mL, IQR 270-603 pg/mL), $p = 0,019$. Corelația dintre apelin-13 și NT-proBNP a avut un coeficient Spearman de $-0,7$, $p < 0,001$. Subgrupul pacienților care au decedat până la reevaluare (8 pacienți) au avut un nivel inițial al apelin-13 de 275 pg/mL (IQR 225-355pg/mL), mai mic decât al celor care au supraviețuit 395 pg/mL (IQR 270 - 603 pg/mL).

Nivelul 8-*iso*-PGF_{2α} la reevaluare a fost ușor mai mic decât la prima determinare, însă fără să atingă nivelul semnificației statistice (338,6 pg/μmol creatinină, IQR 148,07 - 587,83 vs 268,54 pg/μmol creatinină IQR 199,99 - 588,14).

Funcția sistolică a ventriculului stâng a fost constantă între cele două evaluări iar parametrii biologici nu au variat semnificativ la pacienții cu insuficiență cardiacă.

Concluzii. La pacienții cu insuficiență cardiacă evaluați în cadrul studiului nostru nivelul apelin-13 a crescut în timp pe când nivelul stresului oxidativ împreună cu parametrii ecocardiografici și biologici au rămas relativ constanți.

Studiul IV. Importanța biomarkerilor noi comparativ cu a celor consacrați în evaluarea pacienților cu insuficiență cardiacă.

Scopul studiului. Proteina C reactivă și acidul uric se modifică în insuficiența cardiacă în legătură cu severitatea bolii. Obiectivul studiului a fost de a determina nivelele proteinei C reactive și ale acidului uric la pacienții cu insuficiență cardiacă și de a le analiza în funcție de tipul insuficienței cardiace și de nivelul apelin-13 și al stresului oxidativ.

Metodă. 53 de pacienți cu insuficiență cardiacă secundară cardiopatiei ischemice și cardiomiopatiei dilatative au fost evaluați clinic, biologic, ECG și ecocardiografic. A fost alcătuit un lot martor din 13 pacienți cunoscuți cu hipertensiune arterială esențială controlată medicamentos. Nivelele serice ale NT-proBNP, apelin-13, proteinei C reactivă și acidului uric și cele urinare ale 8-*iso*-PGF_{2α} au fost analizate la toți subiecții incluși și analizați în funcție de caracteristicile clinice, ecocardiografice, electrocardiografice și în funcție de restul parametrilor biologici.

Rezultate. Nivelele proteinei C reactive au fost similare în grupul pacienților și al martorilor (0,5 mg/dL, IQR 0,4 - 0,8 mg/dL, respectiv 0,5 mg/dL, IQR 0,3 - 0,5mg/dL). Nivelul proteinei C reactive a fost corelat semnificativ, pozitiv, cu vârsta și clasa NYHA și negativ cu fracția de ejeție.

Nivelele acidului uric a fost de 7,5 mg/dL (IQR 6,5 - 8,9 mg/dL) în grupul pacienților, semnificativ mai mare decât în grupul martorilor, 4,6 mg/dL (IQR 3,8 - 5,2 mg/dL), $p < 0,001$. A fost corelat semnificativ statistic, pozitiv, cu nivelul NT-proBNP și negativ cu valoarea fracției de ejeție.

Concluzii. Nivelele proteinei C reactive și ale acidului uric cresc pe măsură ce funcția sistolică a ventriculului stâng se depreciază și statusul funcțional al pacienților (clasa NYHA) se agravează. Analiza asocierii dintre proteina C reactivă și acidul uric și nivelele apelin-13 și 8-*iso*-PGF_{2α} nu a obținut rezultate semnificative statistice.

PhD THESIS SUMMARY

Prognosis biomarkers in heart failure

PhD fellow: **Cerasela Mihaela Sava (Goidescu)**

PhD scientific coordinator: **Prof. Dr. Petru Adrian Mircea**



UMF

UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

Table of contents

Introduction	7
CURRENT STATE OF THE ART	
1. Heart failure	12
1.1. Definitions	12
1.2. Compensatory mechanism activated in the course of heart failure	13
1.2.1. Sympathetic nervous system	13
1.2.2. Renin-angiotensin-aldosterone system	15
1.2.3. Natriuretic peptide system	16
1.2.3.1. BNP, NT-proBNP	16
2. Apelin and cardiovascular system	21
2.1. The role of the apelin-APJ receptor system in the physiology of the cardiovascular system	21
2.2. The role of the apelin-APJ receptor system in heart failure	24
2.2.1. Animal experimental studies	24
2.2.2 Human studies	26
3. The oxidative stress in heart failure	29
3.1. The effects of oxidative stress on the heart	29
3.2. The impact of the free oxygen radicals on the heart structure and function	30
3.3. The link between RAAS and oxidative stress in cardiovascular diseases	31
3.3.1. Isoprostanes – oxidative stress biomarkers	31
3.3.2. Isoprostanes: innocent witness or mediators for disease progression	35
4. Cardiac remodelling	35
Personal contribution	
1. Work hypothesis and objectives	39
2. General methodology	43
2.1. Patients	43
2.2. Controls	44
2.3. Electrocardiography	44
2.4. Echocardiography	44
2.5. Collection of biological samples	44
2.6. Follow-up	45
3. Study I. Serum apelin-13 in heart failure patients	47
3.1. Introduction	47
3.2. Work hypothesis and objectives	48
3.3. Method	48
3.3.1. Patients	48
3.3.2. Controls	48
3.3.3. Electrocardiography	49
3.3.4. Echocardiography	49
3.3.5. Collection of biological samples	49
3.3.6. Statistical analysis	49
3.4. Results	50
3.4.1. The general analysis of the groups of patients and controls	50
3.4.2. Cardiac remodeling, cardiac systolic function, apelin-13	52
3.4.3. <i>Low Apelin-13</i> and <i>High Apelin-13</i> subgroups	57
3.4.4. Survival predicting factors	60

3.5. Discussion	62
3.6. Conclusion	64
4. Study II. Oxidative stress evaluated by 8-iso-PGF_{2α} urinary level determination in heart patients	67
4.1. Introduction	67
4.2. Work hypothesis and objectives	67
4.3. Method	67
4.3.1. Patients	68
4.3.2. Controls	68
4.3.3. Collection of biological samples	68
4.3.4. Electrocardiogram and echocardiogram	69
4.3.5. Statistical analysis	69
4.4. Results	70
4.4.1. General analysis	70
4.4.2. The influence of cardiac remodeling and systolic function on 8-iso-PGF _{2α} and NT-proBNP levels	72
4.4.2.1. The relations between 8-iso-PGF _{2α} and echocardiography characteristics	72
4.4.2.2. The relations between NT-proBNP and heart failure patients characteristics	75
4.4.2.3. The biomarkers and echocardiographic characteristics of the heart failure patients	78
4.4.3. The predicting factors for a high level of oxidative stress in heart failure patients	82
4.5. Discussion	83
4.6. Conclusion	86
5. Study III. How apelin-13 and 8-iso-PGF_{2α} levels change over time in heart failure patients	87
5.1. Introduction	87
5.2. Work hypothesis and objectives	87
5.3. Method	88
5.4. Results	89
5.4.1. Changes in apelin-13 serum level at follow-up	90
5.4.2. Changes in 8-iso-PGF _{2α} level at follow-up	91
5.4.3. Echocardiography and biological parameters at follow-up	95
5.5. Discussion	96
5.6. Conclusion	97
6. Study IV. The value of the new biomarkers comparing with the well-known ones for the assessment of heart failure patients	99
6.1. Introduction	99
6.2. Work hypothesis and objectives	100
6.3. Method	100
6.3.1. Patients	100
6.3.2. Controls	101
6.3.3. Collection of biological samples	101
6.3.4. Electrocardiogram and echocardiogram	102

6.3.5. Follow-up	102
6.3.6. Statistical analysis	102
6.4. Results	103
6.4.1. Follow-up	103
6.4.2. C reactive protein	103
6.4.3. Uric acid	107
6.5. Discussion	110
6.6. Conclusion	111
7. General discussion	113
8. General conclusion	117
9. Originality and innovative contribution	118
REFERENCES	121

Key words: heart failure, apelin-13, oxidative stress, 8-iso-PGF 2α , cardiac remodeling, NT-proBNP, C reactive protein.

INTRODUCTION

Heart failure is chronic, progressive disease with an important impact on the public health. Its incidence rose after prolongation of life expectancy and ageing of the population. In the developed countries it affects 1-2% of the adult population and up to 10% of the population over 70.

The progressive pathophysiology of heart failure is influenced by the overexpression of the molecules stimulated by the chronic tissular hypoperfusion. The compensatory mechanisms described up until now are the renin-angiotensin-aldosterone system and adrenergic nervous system and their purpose is to maintain the cardiac output but with deleterious effects on long term. Opposing these systems there are other molecular pathways with key roles in the cardiovascular system and which become the main research subject for heart failure.

There is continuous need to develop new biomarkers to help the complex, non-invasive, assessment of the severity of heart failure patients, both in the first assessment and in the follow-up. This evaluation is necessary in order to apply specific therapeutic measures for the improvement of the duration and quality of life. Apelin is a relatively recent discovered peptide, with a complex activity on the cardiovascular system and more specific on the myocardium and cardiac systolic function. Its importance for the fine tuning of the cardiovascular system was .

Apelin is a relatively recent peptide with a complex activity on the cardiovascular system and and more importantly on the myocardium and its systolic function. The researches on this subject showed apelin's important role in the normal conditions but also showed its alterations in pathological conditions. The exact role of apelin is still far for complete understanding.

Oxidative stress is an important factor in the pathophysiology of many diseases, mostly chronic pathologies, including cardiovascular diseases. In heart failure the level of oxidative stress is known to be high, but its relation with the biomarkers of the heart failure and the clinical and echocardiographic parameters is still to be analysed.

PERSONAL CONTRIBUTION

Study I. The analysis of the apelin-13 serum level in heart failure patients.

The aim of the study. The serum level of apelin-13 varies with the severity of the heart failure and its type and is influenced by the use of neurohormonal therapy. It is negatively correlated with the

serum level of NT-proBNP and is influenced by the cardiac remodeling. The study objectives were to evaluate the differences in the serum apelin-13 level according to the type of the heart failure, the correlations with the NT-proBNP level and with clinical, echocardiographic and biological parameters and with the type of medication used by the patients.

Method. The study included 53 patients with heart failure due to ischemic heart disease or dilated cardiomyopathy; they were clinically and biologically evaluated and electrocardiography and echocardiography were performed. A control groups was form with hypertensive, efficiently treated patients. Serum levels of apelin-13 and NT-proBNP were determined for all subjects and then were analyzed according to the clinical, biological, electrocardiographic and echocardiographic parameters.

Results. Apelin-13 median was 515 (402-1005) pg/ml in the patients group and 495 (275-845) pg/ml in the control group. Its level was significantly, negatively, correlated with NT-proBNP level [coefficient Spearman -0,83, [95% CI (-0,89) - (-0,61)], $p < 0,001$. The lower level of apelin-13 was associated with eccentric cardiac remodeling, with left ventricle global wall motion abnormalities, feminine gender and high NYHA class.

Conclusion. The serum level of apelin-13 is negative correlated with the serum level of NT-proBNP in the heart failure group. The lower serum level of apelin-13 is associated associated with eccentric cardiac remodeling, with left ventricle global wall motion abnormalities, feminine gender and high NYHA class.

Study II. Oxidative stress level evaluated by urinary level of 8-iso-PGF_{2α} determination in heart failure patients.

The aim of the study. The level of oxidative stress is high in the advanced stages of heart failure in relation with the cardiac systolic function. The level of oxidative stress biomarkers (8-iso-PGF_{2α}) lowers after neurohormonal treatment. The research objectives were to analyze the urinary level of 8-iso-PGF_{2α} in patients with acute heart failure, chronic decompensated and chronic compensated heart failure respectively and to evaluate the correlations of this biomarker with the clinical, biological and echocardiographic elements. A control groups was form with hypertensive, efficiently treated patients.

Results. The median value of the urinary level of 8-iso-PGF_{2α} in the heart failure group was 267,32 pg/μmol creatinine (IQR 99,82-636,5 pg/μmol creatinine), significantly lower than in the control group 19,82 pg/μmol creatinine (IQR 13,35-22,5 pg/μmol creatinine), $p < 0,001$. The 8-iso-PGF_{2α} level was positively correlated with left ventricle mass coefficient Spearman 0,38 (95% CI 0 – 0,4), $p = 0,002$ and the concentric hypertrophy subgroup had lower levels of 8-iso-PGF_{2α} than the eccentric hypertrophy subgroup.

Conclusion. Oxidative stress level was significantly higher in patients with heart failure compared to controls. The eccentric hypertrophy subgroup had higher level of oxidative stress than the concentric hypertrophy subgroup.

Study III. How apelin-13 and 8-iso-PGF_{2α} levels change over time in heart failure patients

The aim of the study. In the course of heart failure, under specific treatment, the patients' symptoms, serum biomarkers and echocardiographic parameters improves. The study objectives were to identify the changes in serum apelin-13 level and urinary 8-iso-PGF_{2α} level during the course of heart failure and to analyze the correlations of these changes with the type of heart failure, the treatment used and adverse events developed.

Method. We evaluated 27 patients with heart failure in two different moments: at the first admission and after a time interval of 6-12 months. The control group was formed with 13 patients with arterial hypertension, effectively treated.

Results. The serum apelin-13 was significantly higher at the second determination (460 pg/mL, IQR 342-871 pg/mL) compared with the first one (395 pg/mL, IQR 270-603 pg/mL), $p = 0,019$. The correlation of apelin-13 with NT-proBNP had a Spearman coefficient of -0,7 ($p = 0,019$). The subgroup

of patients who died before follow-up had an initial apelin-13 of 275pg/mL (IQR 225-355pg/mL), lower than the subgroup of patients who survived for follow-up, 395pg/mL (IQR 270 – 603 pg/mL).

The urinary level of 8-*iso*-PGF_{2α} was slightly lower at follow-up, but not statistically significant (338,6 pg/μmol creatinine, IQR 148,07 - 587,83 vs 268,54 pg/μmol creatinine IQR 199,99 - 588,14).

The left ventricle systolic function was constant between the two moments and the biological parameters didn't differ significantly in heart failure patients.

Conclusion. In the heart failure group the apelin-13 serum level rose while the oxidative stress level together with biological and echocardiographic parameters remained constant.

Study IV. The value of the new biomarkers comparing with the well-known ones for the assessment of heart failure patients.

The aim of the study. C reactive protein and uric acid levels changes during the course of heart failure in relation with the severity of the disease. The study objectives were to determine the levels of C reactive protein and uric acid in the heart failure patients and to analyze them in relation with the type heart failure and the level of apelin-13 and of the oxidative stress.

Method. A group of 53 heart failure patients were evaluated using clinical and biological assessment, and with the use of echocardiography and electrocardiography. A control group was formed with 13 patients with arterial hypertension, efficiently treated. We determined the serum levels of C reactive protein, uric acid, NT-proBNP, apelin-13 and the urinary levels of 8-*iso*-PGF_{2α} for all the subjects. The values were analyzed in relation with clinical, biological, echocardiographic and electrocardiographic parameters.

Results. The levels of C reactive protein were similar between the heart failure group and the control group (0,5 mg/dL, IQR 0,4 – 0,8 mg/dL, respectively 0,5 mg/dL, IQR 0,3 – 0,5mg/dL). The C reactive protein level was positively correlated with age and negatively with ejection fraction. The uric acid level was 7,5 mg/dL (IQR 6,5 – 8,9 mg/dL) in the heart failure group, significantly higher than in the control group 4,6 mg/dL (IQR 3,8 – 5,2 mg/dL), $p < 0,001$. It was significantly, positively correlated with the NT-proBNP level, and negatively with the ejection fraction.

Conclusion. The C reactive protein and uric acid levels rise with the depression of the systolic function and with the alteration of the functional status of the heart failure patients. The analyses of the association between the levels of C reactive protein and uric acid and the levels of apelin-13 and 8-*iso*-PGF_{2α} did not return significant results.