

US8.1. PRIMENA TRANSKRIPTOMIKE I METODA MAŠINSKOG UČENJA ZA OTKRIVANJE SPECIFIČNIH MOLEKULARNIH OBRAZACA CIRKULIŠUĆIH MIKRO RNK U AKUTNOM INFARKTU MIOKARDA

T. Ratković¹, J. Munjas¹, S. Vladimirov¹, N. Popov¹, D. Kardassis^{2,3}, C. Tsatsanis^{2,3}, A. Davidović^{4,5}, L. Vukmirović⁵, M. Milanov⁵, D. Cvijanović⁵, L. Dodić⁵, A. Petković⁶, I. Perović Blagojević⁶, P. Magni^{7,8}, M. Sopić¹

¹Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Beograd, Srbija, ²Medicinski fakultet Univerziteta na Kritu, Grčka, ³Institut za molekularnu biologiju i biotehnologiju, FORTH, Heraklion, Grčka, ⁴Interna klinika, odeljenje za kardiovaskularne bolesti, Kliničko-bolnički centar Zvezdara, Beograd, Srbija, ⁵Katedra za internu medicinu, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija, ⁶Kliničko-bolnički centar „Dr Dragiša Mišović–Dedinje“, Beograd, Srbija, ⁷Odeljenje za farmakološke i biomolekularne nauke „Rodolfo Paoletti“, Univerzitet u Milanu, Italija, ⁸IRCCS MultiMedica, Milano, Italija

Cirkulišuće mikroRNK (miRNK) sve više se prepoznaju kao minimalno invazivni i osetljivi biomarkeri akutnog infarkta miokarda (AIM), ali je njihova klinička primena ograničena varijabilnošću analitičkih pristupa i nedovoljnom primenom integrativnih multivarijantnih modela. Cilj studije bio je razvoj pouzdanog miRNK panela za razlikovanje AIM od stabilne angine pektoris (SAP) na osnovu podataka sekvenciranja malih RNK iz plazme osiromašene trombocitima, uspostavljanje reproduktivnog toka rada od eksplorativne faze do validacije, kao i procena da li odabrane miRNK mogu služiti kao prognostički biomarkeri za ranu predikciju redukcije funkcije leve komore (LVEF<50%) godinu dana nakon AIM.

U studiju je uključeno 574 pacijenta (286 AIM, 288 SAP), raspoređenih u eksplorativnu (n=200) i validacionu kohortu (n=374). U eksplorativnoj fazi sprovedeno je sekvenciranje malih RNK sledeće generacije, praćeno bioinformatičkim analizama u programu R (DESeq2, sPLS-DA, LASSO regresija sa unakrsnom validacijom i bootstrap uzorkovanjem). Dizajnirani paneli su evaluirani ROC analizom i potvrđeni kvantitativnim PCR-om (qPCR). Multivarijabilna logistička regresija korišćena je za procenu sposobnosti odabranih miRNK u predikciji smanjene LVEF.

Panel od pet miRNK (miR-133a-3p, miR-208b-3p, miR-378a-3p, miR-143-3p, miR-99a-5p) pokazao je visoku diskriminativnu sposobnost za razlikovanje AIM i SAP u obe kohorte (AUC=0,95; 95%CI:0,93–0,98 i AUC=0,95; 95%CI:0,92–0,97). Dodatno, miR-143-3p je, zajedno sa inicijalnim LVEF, bila nezavisni prediktor očuvane funkcije leve komore (LVEF≥50%) 12 meseci nakon AIM (AUC=0,847; 95%CI:0,782–0,912).

Predloženi panel miRNK iz plazme osiromašene trombocitima pokazao je visoku dijagnostičku tačnost i međuplatformsku reproduktivnost, dok miR-143-3p pruža dodatnu prognostičku vrednost za oporavak srčane funkcije i može doprineti formiranju klinički primenljivih biomarkerskih panela.

Zahvalnica

Ovo istraživanje finansirano je u okviru projekta HORIZON-MSCA-2021-SE-01-01—MSCA Staff Exchanges, CardioSCOPE, broj granta 101086397 i zasnovano je na aktivnostima sprovedenim u okviru COST akcije AtheroNET, CA21153, koju podržava COST (Evropska saradnja u nauci i tehnologiji).

US8.1. TRANSCRIPTOMIC AND INTEGRATIVE MACHINE LEARNING ANALYSIS REVEALS SPECIFIC CIRCULATING MICRORNA SIGNATURES IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

T. Ratković¹, J. Munjas¹, S. Vladimirov¹, N. Popov¹, D. Kardassis^{2,3}, C. Tsatsanis^{2,3}, A. Davidović^{4,5}, L. Vukmirović⁵, M. Milanov⁵, D. Cvijanović⁵, L. Dodić⁵, A. Petković⁶, I. Perović Blagojević⁶, P. Magni^{7,8}, M. Sopić¹

¹University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Belgrade, Serbia, ²Medical School, University of Crete, Greece, ³Institute for Molecular Biology and Biotechnology, FORTH, Heraklion, Greece, ⁴Intern Clinic, Clinical Ward for Cardiovascular Diseases, Clinical-Hospital Centre Zvezdara, Belgrade, Serbia, ⁵Department for Internal Medicine, Faculty of Dentistry, University of Belgrade, Serbia, ⁶Clinical-Hospital Centre „Dr Dragiša Mišović–Dedinje“, Belgrade, Serbia, ⁷Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences „Rodolfo Paoletti“, Università degli Studi di Milano, Italy, ⁸IRCCS MultiMedica, Milan, Italy

Circulating microRNAs (miRNAs) are increasingly recognized as sensitive, minimally invasive biomarkers for acute myocardial infarction (AMI), but clinical translation is hindered by variability in analytical approaches and limited use of integrative multivariate models. This study aimed to develop a reliable miRNA panel from small RNA sequencing data of platelet-poor plasma for discriminating AMI from stable angina pectoris (SAP), establish a reproducible workflow from discovery to validation, and evaluate whether selected miRNAs may also serve as prognostic biomarkers for early prediction of LVEF reduction (LVEF<50%) one year post-AMI.

574 patients (286 AMI, 288 SAP) were divided into discovery (n=200) and validation (n=374) cohorts. In the discovery phase, platelet-poor plasma samples underwent small RNA sequencing, followed by bioinformatics analyses in R, including DESeq2, sPLS-DA, and LASSO regression with cross-validation and bootstrap resampling. Candidate panels were evaluated using ROC analysis and validated by qPCR. Multivariable logistic regression was applied to assess the ability of selected miRNAs to predict depressed LVEF (LVEF<50%) one year post-AMI.

A five-miRNA panel (miR-133a-3p, miR-208b-3p, miR-378a-3p, miR-143-3p, miR-99a-5p) showed excellent discrimination between AMI and SAP in both cohorts (AUC=0.95; 95%CI:0.93–0.98 and AUC=0.95; 95%CI:0.92–0.97). Additionally, miR-143-3p, with baseline LVEF, independently predicted preserved function (LVEF≥50%) 12 months post-AMI (AUC=0.847, 95%CI:0.782–0.912).

The sequencing-derived miRNA signature in platelet-poor plasma demonstrated high diagnostic accuracy and cross-platform reproducibility, while miR-143-3p added prognostic value, supporting its potential role in clinically applicable biomarker panels.

Acknowledgement

This research was funded by the and HORIZON-MSCA-2021-SE-01-01—MSCA Staff Exchanges CardioSCOPE grant No 101086397 and is based on the work from COST Action AtheroNET, CA21153, supported by COST (European Cooperation in Science and Technology).