



ȘCOALA DOCTORALĂ INTERDISCIPLINARĂ

Facultatea de Medicină

Alexandra Maria BOIERIU (CRIȘAN)

DISFUNȚIA ENDOTELIALĂ ȘI MODIFICĂRILE TONSULUI AUTONOM LA PACIENȚII CU BOALĂ CARDIACĂ ISCHEMICĂ

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM ALTERATIONS IN ISCHEMIC CARDIOMIOPATHY

REZUMAT

Conducător științific

Prof.dr. DIANA ȚÎNȚ

BRAȘOV, 2025

CUPRINS TEZĂ

LISTA TABELELOR ŞI FIGURILOR	6
LISTA ABREVIERILOR	9
PARTEA I-NOȚIUNI TEORETICE	
INTRODUCERE	11
1. CAPITOLUL 1 Boala cardiacă ischemică-evaluare clinică şi paraclinică	12
1.1 Sindromul coronarian cronic-evaluare clinică şi paraclinică	12
1.2 Revascularizarea în sindromul coronarian cronic- utilitatea scorului SYNTAX	15
1.3 Angina microvasculară	16
1.4 Inflamația şi ateroscleroza-evaluarea markerilor inflamației	18
1.5 Concluzii	19
2. CAPITOLUL 2 Disfuncția endotelială în sindromul coronarian cronic	20
2.1 Evaluarea disfuncției endoteliale coronariene	20
2.2 Evaluarea disfuncției endoteliale periferice	23
2.3 Markerii serici ai disfuncției endoteliale	26
2.4 Concluzii	27
3. CAPITOLUL 3 Diagnosticarea disfuncției autonome în SCC ; corelația disfuncție autonomă-disfuncție endotelială în ateroscleroză	28
3.1 Evaluarea disfuncției autonome	28
3.2 Activarea sistemului nervos vegetativ simpatic şi dilatația mediată de flux	30
3.3 Conexiunea disfuncție autonomă-disfuncție endotelială	30
3.4 Concluzii	34
PARTEA A II-A-CERCETAREA PROPRIU-ZISĂ	
1. CAPITOLUL1-Cercetarea propriu-zisă	34



1.1 Scopul şi obiectivele cercetării	34
1.2 Designul cercetării	35
1.3 Înrolarea pacienţilor	37
1.4 Calcularea scorului SYNTAX I	40
1.5 Măsurarea dilataţiei mediate de flux	42
1.6 Metodele de evaluare ale markerilor serici	43
1.7 Analiza statistică a datelor	45
2. CAPITOLUL 2 - Rezultate	46
2.1 Factorii de risc cardiovascular în lotul studiat	46
2.2 Frecvenţa infarctului miocardic vechi	47
2.3 Disfuncţia contractilă cardiacă	48
2.4 Frecvenţa aterosclerozei carotidiene şi a arterelor membrelor inferioare	49
2.5 Scorul SYNTAX I şi dilataţia mediată de flux	50
2.6 Rezultatele determinărilor serice	52
2.7 Tratamentul medicamentos	53
3. CAPITOLUL 3 - Studiul 1-Dilataţia mediată de flux şi corelaţia cu ateroscleroza coronariană şi sistemică la pacienţii propuşi pentru revascularizare miocardică chirurgicală	57
3.1 Introducere şi obiective	57
3.2 Metodologia studiului 1	58
3.3 Analiza statistică	58
3.4 Rezultate	59
3.5 Discuţii	64
3.6 Concluziile studiului 1	66
4. CAPITOLUL 4 – Studiul 2- Impactul inflamaţiei şi al biomarkerilor stresului oxidativ asupra sistemului nervos simpatic în ateroscleroza coronariană severă	67
4.1 Introducere şi obiective	67
4.2 Metodologia studiului 2	68
4.3 Analiza statistică	68



4.4 Rezultate	69
4.5 Discuții	81
4.6 Concluziile studiului 2	84
5. CAPITOLUL 5 – Studiul 3- Impactul diabetului zaharat asupra disfuncției endoteliale și a stresului oxidativ la pacienții cu boală cardiacă ischemică severă	86
5.1 Introducere și obiective	86
5.2 Metodologia studiului 3	88
5.3 Analiza statistică	88
5.4 Rezultate	89
5.5 Discuții	95
5.6 Concluziile studiului 3	98
CONCLUZII GENERALE	99
ORIGINALITATEA CERCETĂRII	100
BIBLIOGRAFIE	101
ANEXE	119
Anexa 1 - Etapele de calculare ale scorului SYNTAX I	119
Anexa 2 - Formularul de consimțământ informat	119
Anexa 3 - Criterii de includere	126
Anexa 4 – Criterii de excludere	127
Anexa 5 - Cuantificarea stenozei de arteră carotidă internă	127
Anexa 6 - Limite ale dilatației mediate de flux	127
Lista lucrărilor publicate	129
Declarația de originalitate	130
CUPRINS REZUMAT	
LISTA ABREVIERILOR	6
SCURT REZUMAT	7



PARTEA I-NOȚIUNI TEORETICE	11
PARTEA II-CERCETAREA PROPRIU-ZISĂ	14
Studiul 1-Dilatația mediată de flux și corelația cu ateroscleroza coronariană și sistemică la pacienții propuși pentru revascularizare miocardică chirurgicală	18
Studiul 2- Impactul inflamației și al biomarkerilor stresului oxidativ asupra sistemului nervos simpatic în ateroscleroza coronariană severă	22
Studiul 3- Impactul diabetului zaharat asupra disfuncției endoteliale și a stresului oxidativ la pacienții cu boală cardiacă ischemică severă	25
Originalitatea cercetării	30
Lista lucrărilor publicate	30

Lista de abrevieri

ACI= arteră carotidă internă

BAC= bypass aorto-coronarian

BAP= boală arterială periferică

BCI= boală cardiacă ischemică

BCC=blocant al canalelor de calciu

BCV= boală cardiovasculară

CFR=rezerva de flux coronarian

CT= computer tomografie

ECG= electrocardiograma

eNOS= nitric oxid sintetaza endotelială

DE= disfuncție endotelială

DZ tip 2= diabet zaharat tip 2

FMD=dilatația mediată de flux

HIF 1 α = factorul indus de hipoxie 1- α

HTA= hipertensiune arterială esențială

hsPCR= proteina C reactivă înalt sensibilă

IL-1= interleukina 1

IL-1 β = interleukina 1 β

IL-6= interleukina 6

IMC= indice de masă corporală

IMR=indicele de rezistență al microcirculației

INOCA= ischemie miocardică fără stenoze coronariene epicardice semnificative

IRM= imagistica prin rezonanță magnetică

ISRS=Tratament cu inhibitori selectivi ai recaptării serotoninei

LDL= lipoproteine cu densitate mică

LOX 1= receptorul 1 lectin-like al LDL oxidat

MBG= gradarea blush-ului miocardic

NE= norepinefrină

NO= oxid nitric

PAT= tonometria arterială periferică

SRO= specii reactive de oxigen

SCA= sindrom coronarian acut

SCC= sindrom coronarian cronic

SNV-S= sistemul nervos vegetativ simpatic

SOD= superoxid dismutaza

SRAA=sistem renină-angiotensină-aldosteron

SYNTAX I= Synergy Between Percutaneous Coronary Intervention with Taxus and Cardiac Surgery

Tn= troponina

5-HT=5-hidroxitriptamină

SCURT REZUMAT

Introducere: Bolile cardiovasculare rămân un conglomerat cu substrat fiziopatologic comun, cu factori de risc similari și impact major asupra morbidității și mortalității la nivel global. În boala cardiacă ischemică (BCI), cercetarea recentă pune accentul pe substratul morfo- și fizio-patologic al procesului aterosclerotic, cu scopul identificării unor noi terapii, țintite pe moleculele implicate în acest proces complex.

Obiective: Cercetarea de față își propune să studieze interacțiunea dintre disfuncție endotelială, inflamație, stres oxidativ și sistemul nervos vegetativ simpatic (SNV-S) la pacienții cu BCI severă propuși pentru revascularizare miocardică chirurgicală (bypass aorto-coronarian-BAC).

Materiale și metode: Lucrarea de față a inclus 88 pacienți de pacienți adulți, în perioada ianuarie 2020 și iunie 2021. Subiecții au fost evaluați clinic și paraclinic (analize de sânge, ECG, ecocardiografie și ultrasonografie vasculară-ecografia arterelor carotide și măsurarea dilatației mediate de flux-FMD- la nivelul arterei brahiale), coronarografic (cu calcularea scorului SYNTAX I) și CT (pt diagnosticarea arteriopatiei periferice membre inferioare). Cercetarea a constatat în 3 studii.

Primul studiu a evaluat FMD şi corelaţia acesteia cu ateroscleroza coronariană (evaluată prin scorul SYNTAX I) şi sistemică (stenoza arteră carotidă internă şi boala arterială periferică-BAP). În al doilea studiu, am pus accentul pe obiectivarea impactului inflamaţiei şi stresului oxidativ (markerii serici studiaţi fiind IL 1 β , IL 6, HIF 1 α , LOX-1, SOD 1) asupra SNV-S (evaluată prin nivelul circulant al norepinefrinei). Studiul al treilea a investigat impactul diabetului zaharat asupra disfuncţiei endoteliale şi a stresului oxidativ la pacienţii candidaţi pentru BAC. Rezultatele studiilor au fost analizate statistic prin diverse metode specifice.

Rezultate: La nivelul populaţiei studiate am observat o corelaţie semnificativă statistic între FMD şi scorul SYNTAX I. De asemenea, am obiectivat faptul că FMD se corelează cu severitatea stenozelor carotidiene şi afectarea aterosclerotică a membrelor inferioare. Severitatea BCI, reflectată de un scor SYNTAX ridicat, s-a asociat cu niveluri serice crescute de norepinefrină, surrogat al activării sistemului nervos autonom simpatic. Au fost observate corelaţii semnificative statistic între parametrii inflamaţiei şi ai stresului oxidativ şi norepinefrină. În plus, pacienţii diabetici au o afectarea coronariană aterosclerotică mai severă (scor SYNTAX I mai mare), disfuncţie endotelială mai pronunţată (FMD mai mică) şi concentraţii serice mai mari ale serotoninei (5-HT). De asemenea, am observat asocieri semnificative între scorul SYNTAX I, FMD, nivel circulant al 5-HT, pe de o parte, şi diabet, pe de altă parte.

Discuţii: Lucrarea de faţă a investigat DE, stresul oxidativ, inflamaţia şi activarea sistemului nervos autonom simpatic la o categorie mai puţin inclusă în studii clinice centrate pe aceste procese fiziopatologice, şi anume pacienţii propuşi pentru BAC. Primul studiu din cadrul lucrării de cercetare a demonstrat că persistă o relaţie puternică a FMD cu scorul SYNTAX şi la această categorie, FMD fiind utilă ca metodă surrogat de evaluare atât a DE periferice, cât şi a DE coronariene. În plus, DE evaluată prin FMD se asociază cu prezenţa şi severitatea plăcilor aterosclerotice carotidiene şi cu BAP, rezultatele fiind reflectate şi de alte studii. BCI este considerată la ora actuală o patologie care asociază inflamaţia, stresul oxidativ şi activarea SNV-S. IL 1 β şi IL 6 joacă un rol central în inflamaţia locală şi în activarea cascadei de citokine şi a proteinelor de fază acută la nivel sistemic. O serie de studii recente au considerat citokinele proinflamatorii ca ţinte terapeutice. HIF 1 α , mediator al inflamaţiei şi al stresului oxidativ, prezintă interes în special pentru că modularea la acest nivel ar putea limita efectele leziunii de ischemie/reperfuzie (entitate prezentă în cursul BAC). SOD 1, cu

efect antioxidant, s-ar putea dovedi o cale terapeutică esențială pentru înclinarea balanței oxidant/antioxidant în cazul leziunii de ischemie/reperfuzie asociată BAC. LDL oxidat contribuie la formarea și progresia plăcilor de aterom prin intermediul receptorului LOX 1. Nivelul de LOX 1 suferă un proces de up regulation la nivel cardiac după un eveniment care induce ischemie/reperfuzie, cum ar fi BAC, sugerând că ar putea fi o potențială țintă terapeutică. Al doilea studiu efectuat a utilizat o combinație unică de biomarkeri ai inflamației (IL 1 beta, IL 6 și HIF 1 α) și ai stresului oxidativ (SOD 1 și LOX 1). Mai mult, comparând cercetarea prezentă cu literatura existentă, acesta a fost prima evaluare a acestei combinații de biomarkeri (IL 1 β , IL 6, HIF 1 α , SOD 1 și LOX 1) la pacienții cu BCI severă programați pentru BAC. Studiul a demonstrat o asociere semnificativă statistic între acești parametri ai inflamației și stresului oxidativ și nivelul circulant al NE, care poate fi considerat surogat pentru activarea SNV –S. Datele din literatură au evidențiat că la pacienții cu diabet afectarea coronariană aterosclerotică este difuză și severă, deci scorul SYNTAX I este mai mare, observație validată și de al treilea studiu efectuat. În urma studierii literaturii de specialitate am dedus că studiul efectuat reprezintă primul desfășurat pe pacienți cu BCI severă programați pentru BAC și care a evaluat comparativ FMD în funcție de DZ tip 2. Cea mai importantă observație a cercetărilor recente pare să fie că 5-HT acționează sinergic cu DZ tip 2, potențând DE indusă de hiperglicemie, și având ca rezultat ateroscleroza accelerată. Studiul pe care l-am efectuat a fost primul care a evaluat 5-HT la pacienții propuși pentru BAC și a comparat rezultatele pe baza prezenței DZ tip 2. O altă concluzie interesantă a studiului a fost lipsa asocierii între SOD-1 și LOX-1, ca markeri ai stresului oxidativ, și DZ tip 2. A fost considerat că activitatea crescută a SOD-1 exercită un rol protector împotriva stresului oxidativ, prezent în BCI alături de DE. Cu toate acestea, studii recente care au înrolat pacienți cu BCI nu au identificat corelații semnificative între SOD 1 circulant și severitatea BCI. O posibilă explicație ar fi aceea că în BCI este înregistrat și un nivel circulant mai crescut al SRO, neutralizate de SOD 1. Studiul prezent a inclus pacienți care aveau deja un nivel foarte crescut al stresului oxidativ prin prisma afectării severe coronariene, indiferent de prezența diabetului.

Concluzii: FMD măsurat la nivelul arterei brahiale, ca surogat pentru evaluarea DE, se corelează cu scorul SYNTAX I coronarian și ateroscleroza sistemică. La pacienții cu BCI propuși pentru BAC scorul SYNTAX I, biomarkerii inflamației și ai stresului oxidativ se asociază cu niveluri plasmatice crescute

ale NE, biomarker care poate fi folosit ca surogat al activării SNV-S. La pacienţii cu diabet scorul SYNTAX I are valori mai mari comparativ cu cei fără diabet, reflectând o afectare coronariană difuză şi severă la această categorie de pacienţi, iar FMD este semnificativ mai redusă la pacienţii diabetici. Pentru 5-HT, totodată indicator al DE şi neurotransmiţător, am înregistrat concentraţii serice mult crescute la pacienţii cu diabet comparativ cu cei fără diabet, deducând că aceasta ar putea servi ca un biomarker mai sensibil sau ca ţintă terapeutică la pacienţii cu BCI severă care asociază şi diabet.

PARTEA I NOȚIUNI TEORETICE

Ateroscleroza arterelor coronare epicardice reprezintă principala cauză de ischemie miocardică. Boala cardiacă ischemică (BCI) poate fi considerată un continuum, cu faze de stabilitate (sindromul coronarian cronic-SCC) alternând cu perioade de instabilitate-reprezentate de sindroamele coronariene acute (SCA).

BCI stabilă este punctată de episoade de ischemie miocardică reversibilă, datorate dezechilibrului între aportul și necesarul de oxigen miocardic. Diagnosticul anginei pectorale este unul clinic în 90 % din cazuri. Istoricul personal de boală cardiovasculară (BCV) și factorii de risc (istoric familial BCV, genul, fumatul, dislipidemia, diabetul zaharat, hipertensiunea arterială) au o pondere importantă. Investigațiile paraclinice de bază constau în investigații de laborator, electrocardiograma (ECG) de repaus, monitorizarea Holter ECG, ecocardiografia și imagistica de rezonanță magnetică cardiacă (IRM). În funcție de probabilitatea pretest și rezultatul investigațiilor de bază se stabilește următorul pas în strategia de diagnostic, alegerea unui test de stres pentru evidențierea ischemiei inductibile și ulterior stratificarea riscului de infarct miocardic și deces de cauză cardiovasculară. Pacienții cu risc crescut beneficiază de pe urma revascularizării miocardice.

Scorul SYNTAX I este o metodă frecvent utilizat atât în cercetare cât și în practica clinică pentru evaluarea complexității anatomice a BCI. Calcularea scorului SYNTAX este recomandată de Ghidul European de revascularizare miocardică (clasă I nivel de evidență B), acesta fiind un factor predictiv independent al supraviețuirii pe termen lung și al evenimentelor cardiace și cardiovasculare majore și deces după angioplastie percutană cu stent.

În cazul ischemiei fără stenoze coronariene epicardice semnificative (INOCA) este vorba de stenoze apreciate angiografic la <50 %, o afectare difuză a patului coronarian/ la nivelul microcirculației sau stenoze epicardice dinamice, datorate spasmului sau punților intramiocardice.

Noile concepte despre ateroscleroză o definesc ca un status de inflamație cronică, în principal un proces de acumulare a lipidelor la nivelul intimei arterelor medii și mari, la care se asociază inflamația cronică activă.

Endoteliul vascular este principalul factor de menținere al homeostaziei vasculare. Disfuncția endotelială (DE) perturbă fluxul sangvin coronarian și favorizează apariția și progresia plăcilor de aterom.

În ceea ce priveşte evaluarea DE, angiografia coronariană rămâne standardul de aur pentru evaluarea funcţiei endoteliale la nivelul macrocirculaţiei coronariene (arterele epicardice). Pentru evaluarea microcirculaţiei coronariene se folosesc metode invazive şi non invazive. Printre metodele non invazive se numără: tehnicile care folosesc radionuclizi-SPECT şi PET, ecocardiografia miocardică cu contrast, IRM şi CT cardiac. Metodele invazive sunt reprezentate de: coronarografie (cu estimarea semicantitativă a fluxului TIMI şi gradarea MBG), măsurarea Doppler a fluxului coronarian, rezerva de flux coronarian (CFR) şi termodiluţie (cu măsurarea IMR). În prezenţa unei angiografii coronariene normale, dar a persistenţei simptomelor anginoase şi a ischemiei miocardice, a fost recent definită INOCA (Ischemia and No Obstructive Coronary Arteries). Fiziopatologia INOCA include DE la nivelul coronarelor epicardice şi/sau DE microvasculară.

Oxidul nitric (NO) este cea mai importantă substanţă vasodilatatoare eliberată la nivelul endoteliului vascular. NO este sintetizat la nivelul celulelor endoteliale din L-arginină, reacţia fiind catalizată de eNOS. Pe lângă vasodilataţia dependentă de endoteliu, pe care o induce NO, molecula este de asemenea implicată în reducerea agregării plachetare, are efect antiinflamator şi antioxidant, efect antitrombotic şi antiproliferativ.

Având în vedere că tehnicile coronariene de evaluare a disfuncţiei endoteliale sunt dificil de aplicat şi costisitoare, metodele non invazive de evaluare a reactivităţii endoteliale la nivel periferic (dilataţia mediata de flux-FMD, tonometria arterială periferică-PAT) sunt folosite ca surogat pentru cea coronariană.

Inflamaţia joacă un rol central în toate stadiile aterosclerozei, de la DE subclinică la afectarea severă aterosclerotică şi evenimentele cardiovasculare acute. Dintre markerii inflamaţiei, interleukina 1 (IL 1), interleukina 6 (IL 6) şi proteina C reactivă (PCR) sunt de interes pentru cercetare. Zonele hipoxice din plăcile de aterom generează factorul indus de hipoxie 1- α (HIF 1 α), care influenţează funcţiile celulare şi expresia de citokine la nivelul macrofagelor, celulelor musculare netede vasculare şi celulelor endoteliale, celule cheie în ateroscleroză. În procesul aterogen stresul oxidativ determină formarea în exces de specii reactive de oxigen (SRO), care determină conversia LDL (lipoproteinelor cu densitate moleculară mică) în LDL-oxidat, compus pro-aterogen. La nivel endotelial LDL-oxidat este captat de receptorul LOX-1, cu implicarea în DE. Superoxid dismutaza 1 (SOD 1) şi enzimele din familia SOD protejează celulele de stresul oxidativ prin neutralizarea radicalilor superoxid. Nivelul

circulant crescut al serotoninei (5-hidroxitriptamină, 5-HT), implicată în agregarea plachetară, se asociază cu vasoconstricție și ateroscleroză accelerată.

Dovezile din studii clinice sugerează că evaluarea funcției endoteliale periferice cu ajutorul FMD și al markerilor serici ar putea fi inclusă în practica clinică, permițând statificarea pacienților cu BCI în grupe de risc și ghidarea mai precisă a tratamentului.

FMD este influențată și de sistemul nervos vegetativ simpatic (SNV-S). Studiile existente au identificat răspunsuri diferite ale vasodilatației dependente de endoteliu și implicit a FMD. Disfuncția autonomă este prezentă în bolile cardiovasculare, cu un interes crescut pentru neuromodulare ca potențial tratament. NE, ca neurotransmițător, acționează la nivelul receptorilor alfa și beta adrenergici. Sistemul imun și SNV-S par să fie, de asemenea, interconectate, citokinele inflamatorii stimulând SNV-S. 5-HT este un alt neurotransmițător implicat în modularea funcției sistemului nervos autonom. Deși este sintetizată în principal la nivelul celulelor enterocromafine intestinale, 5-HT este captată și eliberată de nervii simpatici și este de asemenea implicată în agregarea plachetară.

Cardiopatia ischemică este asociată și cu alterări ale funcției autonome. În plus, este importantă evidențierea conexiunilor dintre DE, inflamație, stres oxidativ și disfuncție autonomă, demonstrate prin intermediul markerilor serici.

PARTEA II CERCETAREA PROPRIU-ZISĂ

Scopul și obiectivele cercetării

O categorie aparte a bolnavilor diagnosticați cu BCI este reprezentată de cei care suferă de bypass-ul aorto-coronarian (BAC). Pe lângă afectarea aterosclerotică coronariană în general severă, aceștia trec printr-un proces de ischemie/reperfuzie asociat intervenției chirurgicale.

Scopul cercetării a fost de a studia DE, inflamația, stresul oxidativ și activarea SNV-S la pacienții cu BCI severă la care se efectuează revascularizare miocardică chirurgicală și de a evidenția conexiunile dintre aceste procese fiziopatologice.

Obiectivele studiului au fost de a:

1. Evalua lotul de pacienți în ceea ce privește distribuția factorilor de risc cardiovascular (indexul de masă corporală-IMC, fumatul, diabetul zaharat tip 2, dislipidemia, hipertensiunea arterială esențială-HTA)
2. Caracteriza pacienții din studiu în funcție de prezența infarctului miocardic în antecedente și în funcție de performanța sistolică a ventriculului stâng (evaluată prin fracția de ejeție ventriculară stângă-FEVS)
3. Stabili frecvența afectării aterosclerotice în alte teritorii arteriale decât cel coronarian, și anume ateroscleroza arterelor carotide și boala arterială periferică
4. Raporta valorile scorului SYNTAX I și ale FMD în lotul studiat
5. Măsurarea concentrațiilor serice ale unor parametri de laborator de rutină (hemoglobina, trombocite, leucocite, profilul lipidic, glicemia bazală), precum și a proteinei C reactive înalt sensibile (hsPCR) și a troponinei I
6. Determinarea concentrațiilor serice ale unor biomarkeri ai inflamației, DE, stresului oxidativ și ai activității SNV-S (HIF 1 α , IL 1 β , IL 6, NE, 5-HT, SOD 1 și LOX 1)
7. Studia corelația FMD cu ateroscleroza coronariană (evaluată prin intermediul scorului SYNTAX) și cu ateroscleroza carotidiană și de la nivelul arterelor membrelor inferioare
8. Evalua asocierea dintre concentrația plasmatică a norepinefrinei (NE), ca marker pentru activarea SNV-S, și severitatea BCI, evaluată prin scorul SYNTAX I.

9. Investiga potenţiale corelaţii între markeri ai inflamaţiei (hsPCR, IL-1 β , IL-6 şi HIF-1 α) sau ai stresului oxidativ (cum ar fi LOX-1 şi SOD-1) şi activarea SNV-S (evaluată prin nivelul circulant de NE).

10. Stabili dacă DE (având ca surogat FMD şi markerii serici-5-HT, SOD-1 şi LOX-1) este mai severă la pacienţii cu BCI programaţi pentru BAC şi având DZ tip 2 , faţă de pacienţii cu BCI, dar fără diabet.

Înrolarea pacienţilor

Am desfăşurat un studiu prospectiv longitudinal care a selectat 88 de pacienţi adulţi cu BCI stabilă severă, propuşi pentru BAC, între ianuarie 2020 şi iunie 2021, internaţi în cadrul Clinicii ICCO Braşov, secţia de Chirurgie Cardiovasculară. Protocolul studiului a fost aprobat de Comisia de Etică a Universităţii Transilvania Braşov (număr de înregistrare 1/2.03.2019) şi a respectat principiile etice ale Declaraţiei de la Helsinki şi ale Codului de Bună Practică Clinică.

Criteriile de includere au fost următoarele :

- BCI severă-pacienţi cu BCI stabilă care prezentau angină de efort/echivalent anginos (clasa CCS III sau IV) programaţi pentru BAC;
- Vârsta peste 18 ani;
- Semnarea consimţământului informat;
- Prezenţa factorilor de risc cardiovascular (fumat, dislipidemie, hipertensiune arterială esenţială, diabet zaharat tip 2);

Au fost excluşi din studiu pacienţii care prezentau:

- Sindroame coronariene acute (la internare sau în ultima lună);
- Valvulopatii semnificative asociate cu indicaţie de corecţie chirurgicală;
- Insuficienţă hepatică severă;
- Insuficienţă renală severă;
- Hemoragie activă sau recentă (în ultima lună);
- Tulburări de coagulare;
- Neoplazii active;
- Sindrom carcinoid;
- Boli inflamatorii (infecţioase , autoimune);

- Feocromocitom;
- Afecţiuni psihiatrice severe;
- Tratament cu inhibitori selectivi ai recaptării serotoninei (ISRS) şi inhibitori de monoamin oxidază;
- Tratament cu α -2 blocante.

Dintre cei 88 de pacienţi selectaţi iniţial, 4 au fost ulterior excluşi ulterior din studiu, 2 prezentând un eveniment acut cardiovascular la 2 zile de la internare (infarct miocardic acut), iar ceilalţi 2 retrăgându-se din studiu din motive personale.

Metodologie

Pacienţii selectaţi pentru studiu au fost evaluaţi din punct de vedere clinic, biologic (markeri ai inflamaţiei, stresului oxidative, DE şi ai activării SNV-S), ultrasonografic (ecocardiografic, măsurarea ultrasonografică a FMD la nivel brahial, ecografie duplex a arterelor carotide şi ale membrelor inferioare), angio-CT arterial de membre inferioare (pentru confirmarea diagnosticului de BAP), coronarografic (pentru calcularea scorului SYNTAX I). Pentru evaluarea scorului SYNTAX I am utilizat resurse electronice (<https://syntaxscore.org/>).

Determinările serice/plasmatică au fost efectuate din sângele venos periferic, à jeune, cu 3 zile anterior de intervenţia BAC. Probele au fost centrifugate şi supernatantul rezultat conservat la -80 grade Celsius până la efectuarea măsurătorilor. Concentraţiile serice ale IL 1 β , IL 6, HIF 1 α , LOX-1, SOD-1 şi NE au fost determinate cu metoda ELISA, utilizând kiturile comercializate.

Caracteristicile lotului studiat

Cercetarea efectuată a inclus preponderent subiecţi de gen masculin (67 din cei 84). Vârsta medie a fost de 65.09 ani (studiul incluzând subiecţi cu vârsta minimă de 46 ani şi maximă de 88 ani). La nivelul populaţiei studiate s-a înregistrat frecvenţa factorilor de risc cardiovascular: IMC (medie de 28.36 kg/m²), fumatul (studiul a inclus 17 fumători) , DZ de tip 2 (33 pacienţi), dislipidemia (80 pacienţi), HTA esenţială (79 de pacienţi).

Majoritatea subiecţilor din studiu nu prezentaseră infarct miocardic documentat (51 de pacienţi). Funcţia sistolică globală a ventriculului stâng a fost estimată ecografic prin fracţia de ejeecţie (FEVS), pe baza metodei Simpson biplan. Majoritatea pacienţilor aveau o FEVS între 40 şi 50 % (38) dintre subiecţi, urmaţi de cei cu o FEVS cuprinsă între 50 şi 60 %-32 de pacienţi. Deşi în număr mai redus,

studiul a inclus şi pacienţi cu FEVS sub 40 % (valoare care defineşte limita pentru disfuncţia sistolică severă de ventricul stâng), respectiv 14 dintre subiecţi.

În funcţie de prezenţa şi severitatea stenozei ACI participanţii la studiu au fost încadraţi în 3 grupe, conform criteriilor NASCET. 20 dintre subiecţii incluşi în studiu nu au prezentat stenoze semnificative la nivelul ACI, 34 dintre pacienţi au fost diagnosticaţi cu stenoză carotidiană între 50 şi 69 %, iar 30 aveau stenoză carotidiană severă, între 70-99 %. Din totalul de 84 de pacienţi incluşi în studiu, doar 11 prezentau stenoze la nivelul arterelor membrelor inferioare.

Pacienţii incluşi în studiu au avut o valoare mediană a scorului SYNTAX de 29.75 cu un minim de 17 şi maxim de 54. În ceea ce priveşte FMD, am înregistrat o valoare mediană de 2.79 %, cu minimul de 0.95 % şi maximul de 6.75 %.

Din punct de vedere al tratamentului medicamentos, toţi pacienţii din studiu se aflau în tratament cu o asocieră de betablocant, antitrombotic şi hipolipemiant. Dintre betablocantele utilizate, cel mai frecvent a fost bisoprololul (43 din pacienţi), urmat de nebivolol (21 de subiecţi) şi metoprolol (20 de pacienţi). Dintre pacienţii cu HTA din studiu, 46 se aflau în tratament cu inhibitori ai sistemului renină-angiotensină-aldosteron (SRAA), 7 aveau în tratament doar diuretic tiazidic, 11 un blocant al canalelor de calciu dihidropiridinic (BCC), iar 14 se aflau în tratament cu o combinaţie a celor 3 (inhibitor SRAA+diuretic tiazidic+BCC). Majoritatea subiecţilor aveau în tratament o statină (73), 2 pacienţi aveau ca hipolipemiant un fibrat, iar 8 aveau în tratament o combinaţie de statină şi fibrat. În ceea ce priveşte tratamentul antitrombotic, 48 dintre pacienţi aveau acid acetilsalicilic în tratament, 17 erau trataţi cu acid acetilsalicilic şi clopidogrel, iar 19 aveau clopidogrel asociat unui anticoagulant. 38 dintre pacienţi nu se aflau sub tratament diuretic la momentul includerii în studiu. Subiecţii care au necesitat tratament diuretic au fost împărţiţi în cei care aveau doar diuretic de ansă în schema de tratament (reprezentând 2 pacienţi), care aveau tratament cu diuretic antialdosteronic (12 subiecţi) şi care aveau o combinaţie de diuretic de ansă cu antialdosteronic (32 de pacienţi).

Studiul 1-Dilatația mediată de flux și corelația cu ateroscleroza coronariană și sistemică la pacienții propuși pentru revascularizare miocardică chirurgicală

Obiective

Scopul studiului a fost de a evalua DE, cu ajutorul FMD, la pacienții cu BCI severă (evaluată prin scorul SYNTAX) programați pentru BAC. În plus, pacienții au fost evaluați pentru ateroscleroză carotidiană și BAP (ateroscleroza membrelor inferioare). De asemenea, am testat ipoteza conform căreia FMD se asociază cu BCI și afectarea aterosclerotică sistemică (obiectivată prin stenoza ACI – diagnosticată ecografic și BAP-cuantificată prin angio CT arterial).

Metodologie

Au fost înrolați în studiu 84 de pacienți, după aplicarea criteriilor de includere și excludere. Pe baza coronarografiei a fost calculat scorul SYNTAX I. Pentru evaluarea FMD s-a folosit ultrasonografia Doppler. Scopul FMD este de a măsura diametrul arterei brahiale înainte de ocluzionarea (D1) cu ajutorul unei manșete de sfigmomanometru și după eliberarea presiunii (D2) prin dezumflarea manșetei, la momentul hiperemiei maxime. FMD se calculează ulterior cu ecuația $FMD = \frac{D2 - D1}{D1} \times 100\%$. Se folosește ocluzia arterială distală (la nivelul antebrațului), în acest fel stimulându-se eliberarea de NO și producerea vasodilatației. Pentru standardizarea examinării și compararea rezultatelor cercetării au fost elaborate o serie de ghiduri, stabilindu-se că o valoare a $FMD < 6.5\%$ este diagnostică pentru DE.

Ultrasonografia Doppler a fost folosită pentru cuantificarea stenozei la nivelul arterei carotide interne (ACI) conform criteriilor NASCET: ușoară (sub 50 %), moderată (50-69 %) și severă (70-99 %). BAP (boala arterială periferică) a fost diagnosticată pe baza elementelor clinice și a ultrasonografiei Doppler, severitatea acesteia fiind evaluată prin angio-CT. Pe baza angio-CT am clasificat pacienții în 6 grupe: 0-fara PAD; 1-stenoze ușoare (sub 49%); 2-stenoze moderate (50-74 %); 3-stenoze severe (75-99 %); 4-ocluzie.

Analiza statistică

Datele au fost analizate cu Microsoft Office Excel 2019 și JASP 0.19. Caracteristicile pacienților au fost comparate cu ajutorul testului T, Hi pătrat și testul U Mann-Whitney. Pentru testarea corelațiilor s-au folosit testele statistice Pearson (pentru variabilele cu distribuție normală),

Spearman (pentru variabilele fără distribuție normală) și testul unidirecțional ANOVA. Valoarea lui $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic.

Rezultate

Studiul a inclus pacienți cu vârsta între 46 și 88 de ani, 79.76 % fiind bărbați. Vârsta medie a fost de 64.25 ± 7.24 pentru bărbați și 68.41 ± 10.44 pentru femei. Majoritatea subiecților au fost supraponderali (indice de masa corporală-IMC de 28.07 kg/m^2 pentru bărbați și 29.48 kg/m^2 pentru femei). HTA și dislipidemia au fost cei mai frecvenți factori de risc identificați. Dintre bărbați 22.38 % au fost fumători și 38.8 % aveau DZ tip 2 asociat, iar dintre femei 11.76 % fumau și 41.17 % erau diabetice. Pacienții incluși în studiu au avut o valoare mediană a FMD de 2.79 %, cu o valoare minimă de 0.95 % și maximă de 6.75 %. Valoarea FMD nu s-a corelat semnificativ statistic cu vârsta participanților la studiu ($p > 0.05$; $r = -0.072$).

În ceea ce privește scorul SYNTAX I, mediana la nivelul populației studiate a fost de 29.75, cu valoarea minimă de 17 și maximă de 54. Scorul SYNTAX I nu s-a corelat cu vârsta ($p > 0.05$; $r = 0.09$).

La nivelul populației studiate am observat o corelație semnificativă statistic între FMD și scorul SYNTAX I ($r = 0.898$; $p < 0.001$).

În ceea ce privește aterosleroza din alte teritorii vasculare, FMD s-a corelat statistic semnificativ cu stenoza ACI ($p < 0.001$; p calculat folosind testul ANOVA unidirecțional). De asemenea, am observat o diferență semnificativă statistic între media FMD la pacienții cu PAD și cei fără PAD, cu $p < 0.001$ (p rezultat din testul ANOVA unidirecțional).

Discuții

Caracteristicile clinice ale subiecților incluși în studiu au fost similare comparând genul masculin cu cel feminin. Deși nu au existat diferențe semnificative statistic între genuri, sunt de notat unele aspecte. În primul rând, media vârstei în lotul feminin a fost de 68.41 ani versus 64.25 ani în cel masculin, posibil reflectând protecția cardiovasculară dată de estrogeni la genul feminin. În plus, majoritatea pacienților au fost supraponderali, femeile având un IMC mai mare decât bărbații. În ceea ce privește factorii de risc cardiovascular, majoritatea pacienților (atât bărbați, cât și femei) au fost hipertensivi și dislipidemici. În lotul de gen masculin am întâlnit mai frecvent fumători decât în cel feminin, iar diabeticii din studiu au fost distribuiți în proporții relativ egale pe genuri. Stenoza ACI a fost diagnosticată la 52 dintre pacienții de gen masculin și 12 dintre cei de gen feminin, distribuție

pe gen similară cu alte loturi de subiecţi supuşi BAC. BAP a fost înregistrată la 11 pacienţi din studiu, toţi fiind de gen masculin, date din literatură consemnând debutul tardiv al simptomelor şi prezentarea atipică a patologiei arteriale periferice la femei faţă de bărbaţi.

Atât bărbaţii cât şi femeile au avut valori ale FMD sub valoarea prag de 6.5% (cu o valoare mediană de 2.55 % pentru genul masculin şi 4.46% pentru genul feminin). Deşi s-a observat o valoare a FMD mai mică în cazul bărbaţilor (mediană de 2.55 % faţă de 4.46 %), aceasta nu a avut semnificaţie statistică ($p=0.214$). La studiu au participat femei aflate la menopauză (vârsta medie 68.41 ± 10.44), explicând valorile FMD similare la vârstnici, rezultate obţinute şi de alţi cercetători.

Totuşi, cu vârsta se observă o tendinţă a reducerii FMD, reflectând DE, deşi fără semnificaţie statistică în studiul nostru. În contrast, studii anterioare au raportat o reducere a FMD la nivel femural/brahial direct proporţională cu vârsta.

Scorul SYNTAX I a avut o valoare mediană de 30.5 în lotul masculin şi 26 în cel feminin, reflectând patologia coronariană aterosclerotică mai complexă la bărbaţii supuşi CABG, diferenţa fiind totuşi fără semnificaţie statistică. Studiile precedente au raportat valori ale scorului SYNTAX mai mari la femei. De asemenea, în lotul studiat, scorul SYNTAX nu a fost influenţat de vârsta pacienţilor.

Am obţinut corelaţii semnificative statistic între FMD şi scorul SYNTAX I ($r=0.898$ şi $p<0.001$), subliniind că răspunsul vasodilatator este diminuat la pacienţii cu BCI severă. Studii precedente au concluzionat că există o legătură între FMD şi SYNTAX la pacienţii fără patologie cardiovasculară diagnosticată. Pacienţii cu afectare BCI importantă au fost mai puţin studiaţi. Studiul prezent este primul care evaluează FMD la pacienţii cu BCI severă propuşi pentru revascularizare miocardică chirurgicală şi care demonstrează că persistă o relaţie puternică a FMD cu scorul SYNTAX şi la această categorie, FMD fiind util ca metodă surogat de evaluare atât a DE periferice, cât şi a DE coronariene.

În plus, DE evaluată prin FMD se asociază cu prezenţa şi severitatea plăcilor aterosclerotice carotidiene, o valoare redusă a FMD, semnificând DE severă, fiind corelată cu stenoza semnificativă carotidiană. Rezultate asemănătoare au fost obţinute şi în alte studii care au evaluat DE la pacienţii cu stenoza ACI.

Până în acest moment, FMD are puține aplicații în chirurgia vasculară, deși cercetarea anterioară a identificat FMD ca un instrument util de evaluare a DE în boala arterială periferică. În studiul de față, valoarea mică a FMD s-a asociat cu BAP avansată.

Studiul prezent are o serie de limitări. În primul rând, măsurarea FMD poate fi influențată de factori multipli, o parte fiind corecți înainte de investigație. O altă limită este numărul redus de pacienți cu PAD incluși în studiu, care ar putea să afecteze rezultatele legate de BAP și relația cu DE. De asemenea, este greu de extrapolat rezultatele obținute și asupra femeilor, având în vedere că nici un pacient din studiu de gen feminin nu a avut BAP diagnosticată. Este nevoie de studii mai mari pentru PAD, incluzând și subiecți de gen feminin, pentru a valida rezultatele obținute la această categorie.

Datorită evoluției spre standardizare a metodologiei FMD această metodă ar putea fi utilă în evaluarea intervențiilor terapeutice. Cum ar fi cuantificarea DE la pacienții supuși BAC la care se aplică proceduri de ameliorare a DE (de exemplu: administrarea de medicație antioxidantă, stimularea sintezei de NO după preconditionare ischemică). Fiind o metodă non invazivă, FMD se poate folosi repetat, fără efecte secundare, și ar putea depista devreme efectul terapiilor experimentale, ghidând pașii cercetătorilor spre continuarea/întreruperea studiului.

Concluzii

La pacienții cu BCI severă programați pentru revascularizare miocardică chirurgicală, caracteristicile clinice au fost similare la genul masculin și la cel feminin.

Studiul prezent a obiectivat o corelație statistic semnificativă între FMD și scorul SYNTAX I, demonstrând că DE periferică (evaluată prin FMD) reflectă afectarea aterosclerotică coronariană, asociere care se menține și la pacienții propuși pentru BAC.

Suplimentar, FMD se asociază și cu ateroscleroza carotidiană și de la nivelul arterelor membrelor inferioare, deci poate fi considerată marker al aterosclerozei sistemice.

Ca și aplicație clinică, FMD, ca metodă non invazivă de evaluare a DE, s-ar putea dovedi utilă pentru depistarea mai precoce a efectelor terapiilor experimentale cu impact pe funcția endotelială.

Studiul 2- Impactul inflamației și al biomarkerilor stresului oxidativ asupra sistemului nervos simpatic în ateroscleroza coronariană severă

Obiective

Obiectivele studiului au fost să evalueze asocierea dintre concentrația plasmatică de NE, ca marker pentru activarea SNV-S, și severitatea BCI, evaluată prin scorul SYNTAX I. În plus, am investigat potențiale corelații între markeri ai inflamației (hsPCR, IL-1 β , IL-6 și HIF-1 α) sau ai stresului oxidativ (cum ar fi LOX-1 și SOD-1) și activarea SNV-S (evaluată prin nivelul circulant de NE), la pacienții propuși pentru BAC.

Metodologie

Cei 84 de pacienți care au participat în acest studiu prospectiv longitudinal au semnat consimțământul informat și au fost selectați conform criteriilor de includere și excludere. Pacienții au fost evaluați din punct de vedere clinic, biologic (hsPCR, IL 1 β , IL 6, HIF 1 α , SOD-1, LOX-1, NE), ecocardiografic și coronarografic (calcularea scorului SYNTAX I).

Analiza statistică

Variabilele categorice au fost exprimate ca n (%) , datele cu distribuție normală și fără distribuție normală ale variabilelor continue au fost exprimate ca medie $\pm$ deviație standard, și respectiv mediană (cu raportarea valorilor minime și maxime). Normalitatea variabilelor continue a fost testată folosind testul Shapiro-Wilk. Pentru a testa asocierile la nivelul datelor analizate s-au aplicat testele de corelație Pearson (pentru variabilele cu distribuție normală) și Spearman (pentru variabilele fără distribuție normală). Semnificația statistică a fost stabilită la $p < 0.05$. Analiza statistică a fost efectuată în programele Microsoft Excel 2019 și Jasp 0.19.

Rezultate

Severitatea BCI, reflectată de un scor SYNTAX ridicat, s-a asociat cu niveluri serice crescute de NE, surogat al activării SNV-S.

Au fost observate corelații statistic semnificative între IL 1 β și NE ($p < .001$; r 0.49), IL 6 și NE ($p = 0.003$; r 0.32), HIF 1 α și NE (p 0.049; r 0.21).

Biomarkerii stresului oxidativ (LOX 1 şi SOD 1) s-au corelat de asemenea cu nivelul circulant de NE (p.004; r 0.31 pentru LOX 1 şi NE, respectiv p 0.016; r 0.26 pentru SOD 1 şi NE), legătură semnificativă statistic.

Având în vedere că populaţia studiată prezenta factori de risc cardiovascular asociaţi care ar fi putut influenţa asocierile observate, am testat dacă aceştia (IMC, fumat, dislipidemie, HTA, DZ tip 2) se asociază cu NE, markerii inflamaţiei (IL 1 β , IL 6, HIF 1 α) sau ai stresului oxidativ (SOD 1, LOX 1). Nu am obţinut rezultate cu semnificaţie statistică pentru nici una dintre asocierile testate.

Discuţii

Clasa interleukinelor, ca biomarkeri ai inflamaţiei, a fost mai recent studiată şi în patologia cardiovasculară. IL 1 β mediază producţia de IL 6 care, la rândul lui, acţionează sistemic prin activarea cascadei de citokine şi a proteinelor de fază acută. O serie de studii recente au considerat citokinele proinflamatorii ca ţinte terapeutice. Cel mai mare dintre studii, trialul CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcome Study) , care a testat Canakinumab, un anticorp monoclonal selectiv al IL 1 β , a înrolat pacienţi cu BCI diagnosticată şi niveluri crescute ale inflamaţiei. Studiul a obiectivat o scădere semnificativă a evenimentelor cardiovasculare şi cerebrale acute , precum şi reducerea deceselor de cauză cardiovasculară. Pe de altă parte, cercetarea efectuată cu Tocilizumab, anticorp selectiv al IL 6, nu a demonstrat beneficii clinice până la această dată. În cazul pacienţilor la care se efectuează BAC, un nivel preoperator crescut al IL 6 a fost asociat cu ocluzia precoce a graftului şi evenimente cardiovasculare tardive.

Calea HIF prezintă interes în special pentru că modularea la acest nivel ar putea limita efectele leziunii de ischemie/reperfuzie (entitate prezentă în cursul BAC) sau ar putea fi utilă în cadrul procedurilor de pre-/post-condiţionare ischemică. Totuşi, dovezi recente arată că ar fi preferabilă menţinerea unei homeostazii intracelulare a HIF 1 α , mai degrabă decât anularea efectelor acestei căi de semnalizare. Unele dintre aceste abordări ar putea duce la noi strategii de tratament pentru prevenirea şi tratarea leziunilor de organ la pacienţii supuşi intervenţiilor chirurgicale.

În cazul creşterii activităţii SOD, cum ar fi în cazul stărilor însoţite de ischemie/reperfuzie, efectul antioxidant pare să fie anihilat şi apare leziunea celulară. Clamparea aortei din timpul procedurii de BAC determină leziune de ischemie/reperfuzie importantă şi augmentarea nivelului stresului

oxidativ. Sistemul de enzime SOD s-ar putea dovedi o cale terapeutică esențială pentru înclinarea balanței oxidant/antioxidant.

Sinteza crescută de SRO duce și la oxidarea LDL, cu formarea LDL oxidate, care contribuie la formarea și progresia plăcilor de aterom, cu exercitarea acestor efecte pro-aterosclerotice prin intermediul receptorului LOX 1. Nivelul de LOX 1 suferă un proces de up regulation la nivel cardiac după un eveniment care induce ischemie/reperfuzie, cum ar fi BAC, sugerând că ar putea fi o potențială țintă terapeutică.

Studiul pe care l-am efectuat a utilizat o combinație unică de biomarkeri ai inflamației (IL 1 beta, IL 6 și HIF 1 α) și ai stresului oxidativ (SOD 1 și LOX 1). Fiecare dintre acești parametri s-au dovedit a fi corelați cu nivelul crescut de NE, neurohormon folosit pentru evaluarea SNV-S. Mai mult, comparând studiul prezent cu literatura existentă, acesta a fost prima evaluare a acestei combinații de biomarkeri la pacienții cu BCI severă programați pentru revascularizare miocardică chirurgicală (BAC)-intervenție majoră care expune subiecții la ischemie/reperfuzie semnificativă. Studiul a demonstrat o asocieră semnificativă statistic între acești parametri ai inflamației și stresului oxidativ și nivelul circulant al NE, care poate fi considerat surogat pentru activarea SNV –S.

Disfuncția autonomă însoțește patologia cardiovasculară, interesul pentru neuromodulare rămânând crescut. NE acționează la nivelul α și β receptorilor adrenergici. Totuși, consecințele anihilării efectelor SNV-S asupra aterosclerozei prin proceduri de denervare renală necesită investigații suplimentare, studiile efectuate demonstrând efecte adverse severe limitante .

Numeroși markeri inflamatori și ai stresului oxidativ formează o rețea complexă și este dificil de demonstrat asocierea unuia sau a câtorva dintre aceștia cu riscul și evenimentele cardiovasculare.

O serie de limite ale studiului trebuie menționate. În primul rând, markerii inflamației și ai stresului oxidativ care au fost testați sunt doar o mică parte a moleculelor implicate în procesul aterosclerotic. În al doilea rând, determinările markerilor serice au fost efectuate doar o dată, iar măsurători seriate ar putea fi mai potrivite pentru a stabili corelații puternice.

Concluzii

Pacienții cu BCI propuși pentru BAC au înregistrat niveluri serice crescute ale markerilor inflamatori testați (IL 1 β , IL 6 și HIF 1 α), cu excepția hsPCR. De asemenea, stresul oxidativ, evaluat prin 2 molecule intens studiate în ultimii ani, LOX-1 și SOD-1 și activarea SNV-S, pentru care am folosit

concentraţia plasmatică a NE, au prezentat valori crescute la aceşti pacienţi cu afectare severă aterosclerotică.

Severitatea BCI, evaluată prin scorul SYNTAX I a fost corelată cu activarea SNV-S, indicată de nivelul plasmatic de NE.

În plus, nivelul de NE a fost asociat cu markerii inflamaţiei şi ai stresului oxidativ, sugerând că inflamaţia, stresul oxidativ şi activarea SNV-S sunt partea a unei reţele interconectate.

Nu am identificat asocieri între factorii de risc cardiovascular (IMC, fumat, dislipidemie, HTA, DZ tip 2) şi niciunul dintre parametrii serici testaţi, sugerând că aceştia nu influenţează nivelul lor seric.

Prezentul studiu are aplicaţii clinice importante. Ar putea fi promiţătoare dezvoltarea unui scor care să cuprindă markeri inflamatori şi ai stresului oxidativ pentru identificarea pacienţilor care au nevoie de o strategie mai agresivă de reducere a inflamaţiei, stresului oxidativ şi a activării SNV-S. Un asemenea sistem ar putea fi util mai ales în cazul intervenţiilor BAC pentru personalizarea tratamentului şi îmbunătăţirea prognosticului.

Studiul 3- Impactul diabetului zaharat asupra disfuncţiei endoteliale şi a stresului oxidativ la pacienţii cu boală cardiacă ischemică severă

Obiective

Scopul prezentului studiu a fost să stabilească dacă DE este mai severă la pacienţii cu BCI programaţi pentru BAC şi având DZ tip 2 , faţă de pacienţii cu BCI, dar fără diabet. Pentru evaluarea DE s-au folosit metode ultrasonografice (FMD la nivelul arterei brahiale) şi determinări ale markerilor serici (5-HT, SOD-1 şi LOX-1).

Metodologie

Au fost incluşi în studiu 84 de pacienţi cu BCI severă programaţi pentru revascularizare miocardică chirurgicală (BAC), între ianuarie 2020 şi iunie 2021, după semnarea consimţământului informat şi aplicarea criteriilor de includere şi excludere, cu calcularea scorului SYNTAX I, măsurarea FMD şi determinarea markerilor serici.

Analiza statistică

Variabilele categorice au fost exprimate ca n (%) , datele cu distribuţie normală şi fără distribuţie normală ale variabilelor continue au fost exprimate ca medie±deviaţie standard, şi respective

mediană (cu raportarea valorilor minime şi maxime). Normalitatea distribuţiei variabilelor continue a fost testată folosind testul Shapiro-Wilk. Pentru a testa asocierile la nivelul datelor analizate s-au aplicat testele de corelaţie Pearson (pentru variabilele cu distribuţie normală) şi Spearman (pentru variabilele cu fără distribuţie normală). Semnificaţia statistică a fost stabilită la $p < 0.05$. Analiza statistică a fost efectuată în programele Microsoft Excel 2019 şi Jasp 0.19.

Rezultate

Am obiectivat valori mai mari ale scorului SYNTAX I în grupul cu diabet ($p=0.050$), reflectând o încărcătură aterosclerotică severă la nivel coronarian la această categorie de pacienţi.

Am observat valori mai mici ale FMD brahială la pacienţii cu diabet comparativ cu cei fără diabet ($p=0.079$), chiar dacă rezultatul a fost la limita semnificaţiei statistice.

Cel mai interesant rezultat al studiului au fost concentraţiile serice ale 5-HT (SER) semnificativ mai mari la pacienţii cu DZ tip 2 comparativ cu cei fără diabet ($p < 0.001$).

La nivelul lotului studiat am înregistrat valori comparabile ale stresului oxidativ în ambele grupuri de pacienţi, cu şi fără diabet, cum au arătat concentraţiile serice ale SOD 1 şi LOX 1.

Corelaţii semnificative statistic au fost observate între diabet şi scorul SYNTAX I ($p=0.029$; $r=0.238$), diabet şi FMD ($p=0.042$; $r=-0.223$) şi diabet şi nivelul seric al 5-HT ($p < 0.001$; $r=0.423$).

Discuţii

La pacienţii cu diabet, mai ales la cei cu diabet cu evoluţie îndelungată, afectarea coronariană aterosclerotică este difuză şi severă, deci scorul SYNTAX I este mai mare, observaţie validată şi de studiul prezent. A existat de asemenea o diferenţă statistic semnificativă ($p=0.05$) între pacienţii cu BCI şi DZ tip 2 versus cei cu BCI fără DZ tip 2.

Endoteliul vascular este principalul modulator al tonusului şi homeostazei vasculare, DE fiind acompaniată de vasoconstricţie şi un status pro aterogen şi protrombotic. Tehnicile de evaluare ale DE în practica clinică se bazează pe inducerea hiperemiei reactive, datorată eliberării de NO. FMD este o metodă de măsurare validată a funcţiei endoteliale, având avantajul că se asociază şi cu DE coronariană. În studiul efectuat valorile FMD au fost sub cut-off-ul stabilit de ghidurile în vigoare ($< 6.5\%$), atât pentru pacienţii care aveau asociat DZ tip 2, cât şi pentru cei fără diabet. Totuşi, pacienţii cu DZ tip 2 au avut un răspuns vasodilatator mai mic la hiperemia reactivă comparativ cu pacienţii fără diabet, chiar dacă semnificaţia statistică a fost la limită pentru populaţia studiată.

Studiul pe care l-am efectuat a arătat că FMD este influențată de DZ tip 2 ($p=0.042$; $r=-0.223$), deci vasodilatația este mai redusă la pacienții cu BCI care au diagnosticat și diabet. În urma studierii literaturii de specialitate am dedus că studiul efectuat reprezintă primul studiu desfășurat pe pacienți cu BCI severă programți pentru BAC și care a evaluat comparativ FMD în funcție de DZ tip 2. Există puține studii care să compare DE (folosind ca surrogat FMD) la pacienți cu BCI și diabet versus pacienți cu BCI fără diabet. Având rezultate asemănătoare studiului nostru, alte 2 studii anterioare au concluzionat că subiecții care asociau diabetul și BCI aveau FMD mai redusă față de cei cu BCI, dar fără diabet.

Pacienții cu DZ tip 2 au niveluri crescute de 5-HT serică, fiind documentat de asemenea un status protrombotic datorat agregării plachetare induse de 5-HT. Cea mai importantă observație a cecetărilor recente pare să fie că 5-HT acționează sinergistic cu DZ tip 2, potențând DE indusă de hiperglicemie, și având ca rezultat ateroscleroza accelerată. Pacienții cu BCI au deja un grad de DE, deci sistemul lor cardiovascular este afectat mai ușor de nivelul seric crescut al 5-HT. Corelații inverse au fost identificate între nivelul circulant al 5-HT și DE la fumători, relații stabilite prin evaluarea FMD și a tonometriei arteriale periferice, surrogate ale DE. Stresul oxidativ ar putea reprezenta un mecanism comun al DE. În plus, 5-HT și stresul oxidativ par să fie complementare în procesul aterosclerotic.

În populația studiată, nivelul seric al 5-HT s-a corelat semnificativ statistic cu DZ tip 2 ($p<0.001$; $r=0.423$). De asemenea, am obiectivat o diferență semnificativă statistic ($p<0.001$) comparând concentrația serică a 5-HT la pacienții cu diabet versus cei fără diabet. Studiul pe care l-am efectuat este primul care a evaluat 5-HT la pacienții cu BCI severă (propuși pentru revascularizare miocardică chirurgicală) și a comparat rezultatele pe baza prezenței DZ tip 2.

Inhibitorii selectivi ai recaptării serotoninei sunt o terapie eficientă a depresiei. Dovezile din trialuri sugerează că depresia și bolile cardiovasculare sunt interconectate, având ca numitor comun inflamația și DE. Studiile clinice recente au fost centrate pe efectele cardiovasculare ale acestor medicamente, dar cu rezultate echivoce.

Sarpogrelat, antagonist al receptorilor 5-HT_{2A} și 5-HT_{2B}, inhibă agregarea plachetară dependentă de serotonină. În căutarea unor noi terapii pentru diminuarea afectării aterosclerotice severe, în special în DZ tip 2, sarpogrelatul se dovedește un compus promițător, care a redus volumul plăcilor

de aterom. Mai mult, 5-HT pare să fie implicată în proliferarea celulelor musculare netede vasculare, cauza principală de ocluzie a graftului după BAC. O serie de studii in vitro efectuate pe vene porcine izolate, venă safenă izolată umană și arteră mamară internă izolată umană au concluzionat că sarpogrelatul ar putea preveni vasospasmul și ocluzia precoce a graftului. Este nevoie de studii suplimentare pentru a stabili profilul clinic al pacienților care ar beneficia cel mai mult de pe urma tratamentului cu sarpogrelat, îndeosebi pacienții cu DZ tip 2 supuși BAC.

O altă concluzie interesantă a studiului a fost lipsa asocierii între SOD-1 și LOX-1, ca markeri ai stresului oxidativ, și DZ tip 2. A fost considerat că activitatea crescută a SOD-1 exercită un rol protector împotriva stresului oxidativ, prezent în BCI alături de DE. Cu toate acestea, studii recente care au înrolat pacienți cu BCI nu au identificat corelații semnificative între SOD 1 circulant și severitatea BCI. O posibilă explicație ar fi aceea că în BCI este înregistrat și un nivel circulant mai crescut al SRO, neutralizate de SOD 1. Studiul prezent a inclus pacienți care aveau deja un nivel foarte crescut al stresului oxidativ prin prisma afectării severe coronariene, indiferent de prezența diabetului.

Printre limitările studiului trebuie menționată standardizarea redusă a metodei de evaluare a FMD, chiar dacă este o tehnică folosită în practica clinică. În plus, diferența mică a scorului SYNTAX I și a FMD în grupul cu diabet comparativ cu grupul fără diabet este posibil să fi fost influențată de numărul mic de pacienți din studiu.

Concluzii

Studiul desfășurat a obiectivat că încărcătura aterosclerotică coronariană (evaluată prin scorul SYNTAX I) este mai ridicată la subiecții cu diabet, chiar și la pacienții cu BCI severă, cum sunt cei programați pentru BAC.

Chiar dacă FMD și nivelul circulant al 5-HT indică o DE mai pronunțată la pacienții cu diabet asociat comparativ cu pacienții fără diabet, concentrațiile serice ale SOD-1 și LOX-1, markeri ai stresului oxidativ, nu sunt afectate de DZ tip 2 la subiecții cu BCI severă.

Serotonina ar putea servi ca un biomarker mai sensibil sau ca țintă terapeutică la pacienții cu BCI severă care asociază și diabet, dar studii suplimentare sunt necesare pentru validarea rezultatelor pe care le-am obținut. Determinarea 5-HT serică înainte de BAC ar putea identifica subiecții cu un risc mai crescut de spasm al graftului sau ocluzie precoce a graftului postoperator.

De remarcat că populația studiată, cu BCI severă propuși pentru BAC, este o categorie specială, la care se întâlnesc DE, stresul oxidativ și inflamația. Cum DE pare să fie reversibilă în orice stadiu al aterosclerozei, chiar și după apariția complicațiilor aterotrombotice, posibilitățile terapeutice care țintesc acest proces patologic ar merita explorate în continuare.

ORIGINALITATEA CERCETĂRII

Studiul prezent este primul care evaluează FMD la pacienții cu BCI severă propuși pentru BAC și care demonstrează că FMD (surogat al DE periferice) se corelează cu afectarea coronariană aterosclerotică evaluată prin scorul SYNTAX I. Mai mult, FMD reflectă ateroscleroza sistemică, asociindu-se cu stenoza carotidiană și boala arterială periferică.

Primul studiu care folosește această combinație de markeri ai inflamației și stresului oxidativ, și ai activării SNV-S. Ar putea fi promițătoare dezvoltarea unui scor care să cuprindă markeri inflamatori și ai stresului oxidativ pentru identificarea pacienților care au nevoie de o strategie mai agresivă de reducere a inflamației, stresului oxidativ și a activării SNV-S.

În plus, studiul prezent a comparat populația studiată în funcție de prezența DZ tip 2, obiectivând niveluri similare ale stresului oxidativ (evaluat prin concentrația serică a SOD 1 și LOX 1), dar niveluri mult crescute ale 5-HT circulantă la pacienții diabetici. Serotonina ar putea servi ca un biomarker mai sensibil sau ca țintă terapeutică la pacienții cu BCI severă care asociază și diabet, dar studii suplimentare sunt necesare pentru validarea rezultatelor pe care le-am obținut.

LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE

1. Boieriu A, Luca CD, Tint D. Flow Mediated Dilation and Its Correlation with Coronary and Systemic Atherosclerosis in Patients Scheduled for Surgical Myocardial Revascularization. *Research Reports in Clinical Cardiology*. 2025;16:1-7. <https://doi.org/10.2147/RRCC.S489002>.
2. Boieriu AM, Dumitrel Luca C, Neculoiu CD, în D. The impact of inflammatory and oxidative stress biomarkers on the sympathetic nervous system in severe coronary atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med*. 2024;11:1480925. doi: 10.3389/fcvm.2024.1480925.
3. Boieriu AM, Luca CD, Neculoiu CD, Bisoc A, Ținț D. Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress in Patients with Severe Coronary Artery Disease: Does Diabetes Play a Contributing Role? *Medicina (Kaunas)*. 2025;61(1):135. doi: 10.3390/medicina61010135.
4. Luca CD, Boieriu AM, Neculoiu D, Ținț D. Cardioprotection in coronary artery bypass graft surgery: the impact of remote ischemic preconditioning on modulating LOX-1 and SOD-1 to counteract

oxidative stress. *Front Cardiovasc Med.* 2024 Oct 25;11:1502326. doi:

10.3389/fcvm.2024.1502326.

5. Luca C, Boieriu AM, Neculoiu D, Tint D. The Impact of Remote Ischemic Preconditioning on Inflammation Markers in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Grafting. *Cardiol Res.* 2024 Oct;15(5):369-376. doi: 10.14740/cr1702.

6. Luca C, Boieriu A, Neculoiu D, ȚinȚ D. "Connections Between Oxidative Stress, Inflammation, and Cardiovascular Risk Factors in CABG Patients Undergoing Remote Ischemic Preconditioning" *Romanian Journal of Cardiology*, 2025, <https://doi.org/10.2478/rjc-2025-0006>