

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
"VICTOR BABES" DIN TIMIȘOARA  
FACULTATEA DE MEDICINĂ  
DEPARTAMENTUL VI CARDIOLOGIE**

**BRĂESCU LAURENȚIU-ANDREI**



# **Teza de doctorat**

**EVALUAREA ECOCARDIOGRAFICĂ ȘI MODULAREA  
FARMACOLOGICĂ A ȚESUTULUI ADIPOS EPICARDIC**

## **REZUMAT**

**Coordonator științific  
CONF. UNIV. DR. CRISTIAN MORNOS**

**Coordonator științific în Cotutela  
PROF. UNIV. DR. DANINA M. MUNTEAN**

**Timisoara  
2024**

# CUPRINS

LISTĂ DE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE .....	V
LISTĂ DE ABREVIERI .....	VI
LISTĂ DE FIGURI .....	VIII
LISTA TABELURILOR .....	X
MULȚUMIRI .....	XI
INTRODUCERE .....	XII

PARTEA GENERALĂ: DATE DIN LITERATURA .....	1
--	---

CAPITOLUL 1. TESUTUL ADIPOS CARDIOVASCULAR: O PREZENTARE GENERALĂ .	1
---	---

CAPITOLUL 2. ROLURILE FIZIOLOGICE ȘI FIZIOPATOLOGICE ALE TESUTULUI ADIPOS EPICARDIC .....	7
2.1. TESUTUL ADIPOS EPICARDIC SI BOALA CORONARIANĂ .....	12

CAPITOLUL 3. EVALUAREA NON-INVAZIVĂ A TESUTULUI ADIPOS CARDIAC .....	17
--	----

CAPITOLUL 4. INFLAMAȚIA ȘI STRESUL OXIDATIV – MECANISME FIZIOPATOLOGICE MAJORE ALE DISFUNȚIEI TESTULUI ADIPOS EPICARDIC .....	21
4.1. MEDIATORII INFLAMATORII ȘI SURSELE DE STRES OXIDATIV .....	21
4.2. MODULAREA FARMACOLOGICĂ A TESUTULUI ADIPOS EPICARDIC: MOLECULE VECHI ȘI NOI .....	26

PARTE SPECIALĂ: CONTRIBUȚII PERSONALE .....	29
---	----

CAPITOLUL 5. CONTRIBUȚII LA EVALUAREA ECOCARDIOGRAFICĂ A GROSIMII TESUTULUI ADIPOS EPICARDIC CA PREDICTOR INDEPENDENT ÎN BOALA CORONARIANĂ .....	29
--	----

5.1. CONTEXTUL ȘI MOTIVAȚIA STUDIULUI .....	29
5.2. MATERIALE ȘI METODE .....	29
5.2.1. Descrierea lotului de studiu .....	29
5.2.2. Evaluarea ecocardiografică .....	31
5.2.3. Evaluarea stresului oxidativ .....	33
5.3. REZULTATE .....	33
5.4. DISCUȚII .....	46
5.5. CONCLUZII .....	51

CAPITOLUL 6. CONTRIBUȚII LA EVALUAREA RELAȚIEI DINTRE GROSIMEA INDEXATA A TESUTULUI ADIPOS EPICARDIC, STRESUL OXIDATIV ȘI COMPLEXITATEA BOLII CORONARIENE LA PACIENȚII SUPUȘI CHIRURGIEI PE CORD DESCHIS .....	53
--	----

6.1. CONTEXTUL ȘI MOTIVAȚIA STUDIULUI .....	53
6.2. MATERIALE ȘI METODE .....	54

6.2.1. Descrierea lotului de studiu.....	54
6.2.2. Evaluarea ecocardiografică .....	55
6.2.3. Evaluarea stresului oxidativ .....	58
6.3. REZULTATE .....	58
6.4. DISCUȚII.....	68
6.5. CONCLUZII.....	71
<b>CAPITOLUL 7. CONTRIBUȚII LA EVALUAREA ROLULUI TERAPIEI CU STATINE ÎN MODULAREA STRESULUI OXIDATIV AL ȚESUTULUI ADIPOS EPICARDIC ȘI PERIVASCULAR.....</b>	<b>73</b>
7.1 CONTEXTUL ȘI MOTIVAȚIA STUDIULUI.....	73
7.2 MATERIALE ȘI METODE.....	74
7.2.1. Descrierea lotului de studiu.....	74
7.2.2. Evaluarea stresului oxidativ .....	76
7.2.3. Evaluarea ecocardiografică .....	76
7.3 REZULTATE .....	77
7.4 DISCUȚII.....	79
7.5 CONCLUZII.....	84
<b>CAPITOLUL 8. CONTRIBUȚII LA EVALUAREA INTERACȚIUNII ALBASTRU DE METILEN - MONOAMINOOXIDAZĂ ȘI A STRESULUI OXIDATIV ÎN ȚESUTUL ADIPOS CARDIOVASCULAR UMAN .....</b>	<b>85</b>
8.1. CONTEXTUL ȘI MOTIVAȚIA STUDIULUI.....	85
8.2. MATERIALE ȘI METODE.....	86
8.2.1. Descrierea lotului de studiu.....	86
8.2.2. Evaluarea expresiei MAO .....	87
8.2.3. Evaluarea stresului oxidativ .....	88
8.3 REZULTATE .....	90
8.4 DISCUȚII.....	94
8.5 CONCLUZII.....	100
<b>CAPITOLUL 9. CONCLUZII GENERALE.....</b>	<b>101</b>
<b>BIBLIOGRAFIE: .....</b>	<b>107</b>
<b>ANEXĂ .....</b>	<b>I</b>

**Cuvinte cheie:** țesut adipos epicardic, țesut adipos perivascular, boală coronariană, supraponderabilitate, obezitate, insuficiență cardiacă, ecocardiografie, marker de prognostic, stratificarea riscului, chirurgie pe cord deschis, stres oxidativ, monoaminoxidază, albastru de metilen

## I. CONTEXTUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Bolile cardiovasculare reprezintă principala cauză a mortalității ca urmare a afectării arterelor coronare (boala coronariană, BC) și a morbidității datorită insuficienței cardiace (IC). Odată cu îmbătrânirea populației, acest din urmă sindrom a devenit o povară majoră pentru sistemele de sănătate din întreaga lume.

Țesutul adipos epicardic (TAE) reprezintă grăsimea viscerală a inimii care acoperă până la 80% din suprafața miocardului și are o continuitate anatomică cu acesta. În ultimul deceniu, TAE organ biologic activ cu rol de protecție mecanică și termică a inimii și a arterelor coronare, a fost sistematic studiat pentru rolul central în fiziopatologia bolilor cardiace. Cercetări recente au identificat TAE drept un factor de risc independent pentru progresia accelerată a aterosclerozei coronariene subclinice. Expansiunea și disfuncția TAE în cadrul BC sunt agravate în prezența bolilor metabolice (sindrom metabolic, supraponderalitate/obezitate și diabet), ceea ce contribuie la schimbarea fenotipului TAE de la un tip protector la un tip pro-inflamator și pro-oxidant, accelerând evoluția către IC.

În prezent, pentru cuantificarea TAE sunt utilizate tehnici imagistice neinvazive clasice, cum ar fi ecocardiografia convențională (care evaluează grosimea TAE), dar și tehnici mai noi (costisitoare), cum ar fi imagistica prin rezonanță magnetică și tomografia computerizată (care evaluează și volumul TAE), parametrii imagistici fiind corelați cu diversi markeri cardiaci și sistemici de laborator sau cu prezența unor comorbidități.

Includerea măsurării TAE în evaluarea de rutină a riscului cardiovascular sau în scorurile de diagnostic, ceea ce ar putea permite o intervenție mai timpurie la populațiile cu risc, reprezintă actual un deziderat pentru comunitatea medicală. În prezent, TAE este considerat un factor de risc cardiovascular măsurabil care adaugă plus-valoare la stratificarea riscului cardiovascular, deși *puține studii au evaluat rolul său la pacienții cu IC determinată de BCI supuși unei intervenții pe cord deschis.*

Țesutul adipos perivascular (TAP) reprezintă un depozit de grăsime care înconjoară arterele și deține un rol major în reglarea tonusului vascular și a funcției endoteliale. Ca și TAE, TAP exprimă un fenotip inflamator în patologia cardiometabolică.

Pe lângă inflamația cronică de tip „low-grade”, un alt mecanism fiziopatologic central al disfuncției țesutului adipos epicardic și perivascular este reprezentat de *stresul oxidativ, fără ca sursele speciilor reactive de oxigen (SRO) de la nivelul țesutului adipos cardiovascular să fie complet elucidate.*

Pe de altă parte, în literatura de specialitate a fost raportat faptul la pacienții cu IC, TAE reprezintă o sursă importantă de catecolamine și, de asemenea, de enzime implicate în sinteza acestora (tirozină hidroxilază și dopamină β-hidroxilază). Catecolaminele sunt substratul principal al monoaminooxidazei (MAO), o enzimă cu 2 izoforme MAO-A și MAO-B, localizată la nivelul membranei mitocondriale externe și care este responsabilă de generarea constantă de peroxid de hidrogen ( $H_2O_2$ ) ca produs secundar al reacției de dezaminare a neurotransmițătorilor și a aminelor biogene. Cunoscută drept sursă importantă de SRO în creier de mai bine de jumătate de secol, în ultimele două decenii, creșterea activității/expresiei MAO a fost identificată ca având un rol major în stresul oxidativ de la nivelul sistemului cardiovascular. Recent, a fost raportată supraexpresia enzimei la nivelul țesutului adipos visceral al persoanelor obeze (dar nu și al celor normoponderale). *Există un număr foarte redus de date în literatură privind prezența MAO la nivelul TAE și al TAP, contribuția acestora la stresul oxidativ local și respectiv, posibilitatea modulării sale farmacologice.*

TAE este considerat actual ca un factor de risc modificabil farmacologic cu ajutorul unor medicamente cu efecte pleiotrope, atât clasice, cum sunt statinele, cât și noi, cum sunt antidiabeticele orale, cei mai recentți agenți modifikatori de boală în cadrul IC.

Albastrul de metilen (methylene blue, MB), un compus sintetic utilizat de peste 100 de ani, acționează ca un antioxidant și transportor de electroni capabil să îmbunătățească metabolismul energetic în condițiile afectării lanțului respirator mitocondrial. S-a raportat anterior că MB inhibă MAO în creier și are efecte benefice de îmbunătățire a funcției mitocondriale și modulare a stresului oxidativ la nivelul cordului de șobolan diabetic. *Nu există date în literatura de specialitate privind posibilitatea modulării MAO la nivelul TAE și TAP uman cu MB.*

Scopul lucrării de doctorat a fost dublu, respectiv de a: i) efectua o analiză complexă a datelor echocardiografice ale țesutului adipos epicardic (în principal) la pacienții cu BC supuși unei intervenții chirurgicale cardiace electivă, pentru o mai bună stratificare a riscului și a ii) evalua posibilitatea modulării farmacologice a stresului oxidativ la nivelul țesutului adipos cardiovascular, respectiv a expresiei MAO cu ajutorul MB.

Lucrarea de doctorat a fost realizată printr-o colaborare interdisciplinară între Clinicile universitare de Cardiologie și Chirurgie Cardiovasculară din cadrul Institutului de Boli Cardiovasculare din Timișoara și catedra de Fiziopatologie/Centrul de Cercetare Translațională și Medicină Sistemelor din cadrul Departamentului Științe Funcționale al Universității de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara, România. Studiile originale incluse în teză au primit aprobarea Comisiei de Etică a Cercetării Științifice a universității, respectiv a Comisiei de Etică în Cercetare și Dezvoltare din cadrul Institutului de Boli Cardiovasculare din Timișoara.

Obiectivele cercetării, în conformitate cu cele 4 studii originale desfășurate în cadrul acestei lucrări de doctorat, sunt:

1. Evaluarea ecocardiografică a grosimii TAE ca predictor independent al severității bolii coronariene.
2. Evaluarea ecocardiografică a rolului grosimii TAE indexate la suprafața corporală (EATTi - indexed epicardial adipose tissue thickness) ca marker prognostic la pacienții cu BC supuși chirurgiei pe cord deschis, în vederea unei mai bune stratificări a riscului la pacienții chirurgicali.
3. Evaluarea efectului modulator al tratamentului cronic cu statine asupra magnitudinii stresului oxidativ local la nivelul probelor de TAE și TAP prelevate de la pacienții menționați mai sus și stabilirea de corelații cu parametrii ecocardiografici.
4. Evaluarea expresiei MAO la nivelul probelor de TAE și TAP prelevate de la acești pacienți, precum și rolul albastrului de metilen în modularea expresiei MAO și a stresului oxidativ local.

## **II. STUDIUL 1: EVALUAREA ECOCARDIOGRAFICĂ A GROSIMII ȚESUTULUI ADIPOS EPICARDIC SI VALOAREA PREDICTIVA ÎN BOALA CORONARIANA**

Primul studiu a analizat relația complexă dintre grosimea țesutului epicardic ("epicardial adipose tissue thickness", EATT), stresul oxidativ la acest nivel și complexitatea BC, pentru a contribui la înțelegerea rolului EAT în patogeniza BC la un lot pilot (n=24) de pacienți supuși chirurgiei pe cord deschis. Lotul a fost împărțit în 2 subloturi, pacienți cu BC (n=14) și respectiv, fără BC (n=11).

Probele de TAE au fost recoltate de la nivelul peretelui anterior al ventriculului drept imediat după inițierea by-pass-ului cardiopulmonar. De asemenea, PVAT a fost prelevat din regiunile peri-aortice și peri-pulmonare. Stresul oxidativ a fost evaluat cu ajutorul unei metode spectrofotometrice (tehnica FOX). La toți pacienții a fost efectuată ecocardiografia transtoracică înainte de intervenția chirurgicală și de prelevarea tesuturilor.

Ipoteza de lucru a fost că stresul oxidativ este crescut la nivelul țesutului adipos cardiovascular și respectiv, EATT se corelează cu stresul oxidativ crescut la nivelul țesutului epicardic prelevat de la pacienții coronarieni, reflectând astfel diferențele în complexitatea bolii la pacienții cu și fără BC.

### **1. Grosimea țesutului adipos epicardic (EATT) crescută a fost identificată ca un predictor independent al BC.**

Pacienții din lotul cu BC au prezentat o EATT medie de  $8,15 \text{ mm} \pm 2.09 \text{ mm}$ , comparativ cu  $5,12 \pm 1.8 \text{ mm}$  în cazul lotului fără BC, o diferență semnificativă din punct de vedere statistic (valoare  $p = 0,001$ ) ceea ce sugerează o relație potențială între grosimea crescută a EAT și prezența BC. În ceea ce privește masa ventriculului stâng, lotul de pacienți cu BC a avut o masă medie a ventriculului stâng semnificativ mai mică ( $251,51 \text{ g}$ ) comparativ cu cea a pacienților din lotul fără BC ( $352,94 \text{ g}$ ,  $p = 0,012$ ). Aceste rezultate subliniază potențialul grosimii EAT ca parametru diagnostic valoros în evaluarea cardiacă.

### **2. Grosimea țesutului adipos epicardic (EATT) crescută a fost corelată cu un stres oxidativ accentuat la nivelul TAE.**

Nivelul SRO epicardice au fost semnificativ crescute la lotul cu BC, în medie  $21,4 \pm 2,47 \text{ nmol H}_2\text{O}_2/\text{mg țesut/h}$ , comparativ cu  $15,7 \pm 1,55 \text{ nmol H}_2\text{O}_2/\text{mg țesut/h}$  la lotul npr-coronarian. Această diferență s-a dovedit a fi semnificativă din punct de vedere statistic ( $p < 0,001$ ). În mod similar, nivelul SRO în grăsimea periaortică a fost, de asemenea, semnificativ crescut la lotul cu BC ( $p < 0,001$ ).

În plus, evaluarea ecocardiografică descrisă mai sus a evidențiat o diferență clară a grosimii țesutului adipos epicardic între cele două loturi. Analiza de regresie a demonstrat în continuare o corelație semnificativă din punct de vedere statistic între nivelurile EATT și SRO atât în țesutul adipos epicardic ( $r = 0,75$ ,  $p < 0,001$ ), cât și în țesutul adipos periaortic ( $r = 0,65$ ,  $p = 0,001$ ).

### **3. S-a constatat că o EATT mai mare de 6,05 mm identifică cu o bună acuratețe pacienții cu BC.**

În analiza ROC (receiver operating characteristics), parametrii EATT, împreună cu nivelul SRO atât în grăsimea epicardică, cât și în cea periaortică, au prezentat o acuratețe diagnostică importantă în identificarea pacienților cu BC. În mod specific, un prag EATT mai mare de 6,05 mm a fost asociat cu diagnosticul de CAD, obținând o sensibilitate de 86% și o

specificitate de 73% (Fig.1). Aria sub curba ROC (AUC) pentru acest parametru a fost de 0,87, indicând un nivel ridicat de precizie a diagnosticului. În plus, AUC pentru nivelul SRO în TAE a atins 0,99, reflectând o capacitate de diagnostic foarte ridicată. Aceste rezultate au subliniat relația semnificativă dintre stresul oxidativ crescut în grăsimea epicardică și periaortică și prezența BC, confirmând astfel utilitatea măsurătorilor EATT și SRO ca markeri importanți în evaluarea clinică a bolii coronariene ( $p < 0,001$ ).

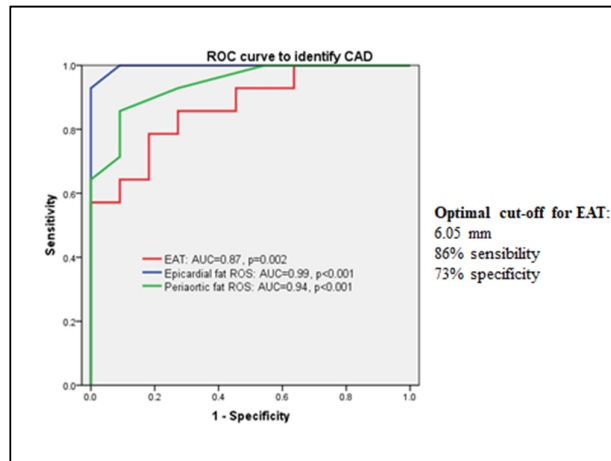


Figura 1 - Curbe ROC pentru EATT, SRO la nivelul țesutului adipos epicardic și perivascular în predicția BC.

#### 4. Nivelul SRO a fost mai crescut la nivelul TAE prelevat de la pacienții cu BC comparativ cu pacienții fără BC, documentandu-se astfel conexiunea dintre stresul oxidativ și severitatea BC.

Au fost identificate diferențe semnificative între nivelul SRO din grăsimea epicardică între loturi în funcție de scorul lor Syntax:  $< 23$ , între 23 și 32 și  $> 32$ . Nivelul ROS au crescut cu scoruri Syntax mai mari, măsurând 19,2 pentru lotul  $< 23$ , 20,8 pentru lotul 23-32 și 21,43 pentru lotul  $> 32$  (valoare  $p = 0,002$ ). Această tendință sugerează o potențială corelație între complexitatea afecțiunii coronariene, reflectată de scorul Syntax mai mare și stresul oxidativ crescut în grăsimea epicardică. Rezultate similare au fost obținute și pentru nivelul SRO din grăsimea periaortică, care, de asemenea, a crescut odată cu creșterea scorului Syntax: 19,7 la lotul  $< 23$ , 20,7 la lotul 23-32 și 24,01 la lotul  $> 32$  ( $p = 0,021$ ) - Fig. 2.

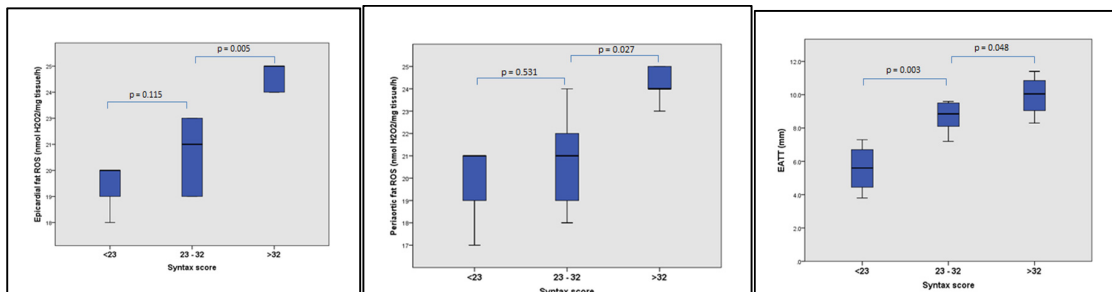


Figura 2 - Analiza Boxplot a relației dintre: (a) - scorul Syntax și SRO din țesutul adipos epicardic; (b) - scorul Syntax și SRO din grăsimea periaortică; (c) - scorul Syntax și TAE.

### III. STUDIUL 2: EVALUAREA RELAȚIEI DINTRE GROSIMEA ȚESUTULUI ADIPOS EPICARDIC INDEXAT, STRESUL OXIDATIV ȘI COMPLEXITATEA CAD LA PACIENȚII CU OPERAȚIE PE CORD DESCHIS

Al doilea studiu a explorat relația dintre grosimea țesutului adipos epicardic indexat în raport cu suprafața corporală (EATTi) și stresul oxidativ de la nivelul TAE în contextul complexității BC la pacienții supuși unei intervenții chirurgicale pe cord deschis.

#### 1. EATTi se corelează semnificativ cu stresul oxidativ local la nivelul TAE la pacienții supuși unei intervenții chirurgicale pe cord deschis.

Măsurarea țesutului adipos epicardic utilizând metoda Iacobelli și grosimea țesutului adipos epicardic indexat au prezentat o corelație foarte semnificativă cu nivelul SRO din TAE ( $p < 0,001$ ). Această constatare subliniază faptul că grosimea crescută a TAE este direct asociată cu creșterea stresului oxidativ la nivelul acestui țesut adipos (Fig. 3).

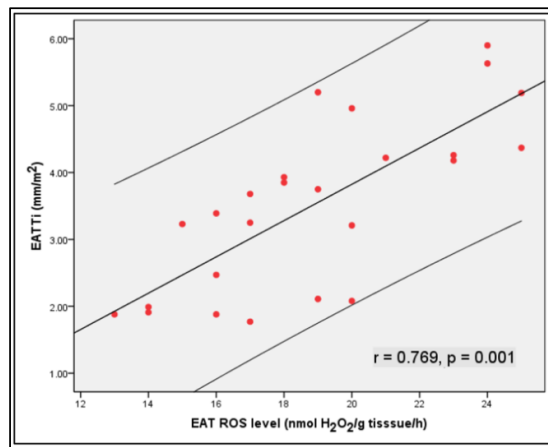


Figura 3 - Diagrama de dispersie a relației dintre grosimea țesutului adipos epicardic indexată la suprafața corporală (EATTi) și nivelul SRO în TAE la pacienții supuși intervențiilor chirurgicale pe cord deschis

#### 2. O valoare EATTi mai mare de 4,15 mm/m<sup>2</sup> a estimat prezenta unei BC mai complexe cu o sensibilitate și o specificitate ridicate (80% și respectiv 86%), putând reprezenta un marker important pentru planificarea chirurgicală

Rezultatele evidențiază faptul că un EATTi care depășește 4,15 mm/m<sup>2</sup> poate identifica în mod acurat persoanele cu forme mai complexe de CAD, după cum reiese din scorurile SYNTAX de peste 22, susținute de sensibilitatea observată de 80% și specificitatea de 86% pentru acest prag EATTi. Reproducibilitatea intra- și inter-observator, evaluată într-un subset de 15 pacienți selectați aleatoriu, a fost excelentă, cu coeficienți de corelație intra-clasă și inter-clasă de 0,911 (95% CI = 0,883-0,939) și, respectiv, 0,895 (95% CI = 0,872-0,918), afirmând fiabilitatea acestor măsurători în evaluările clinice (Fig. 4).



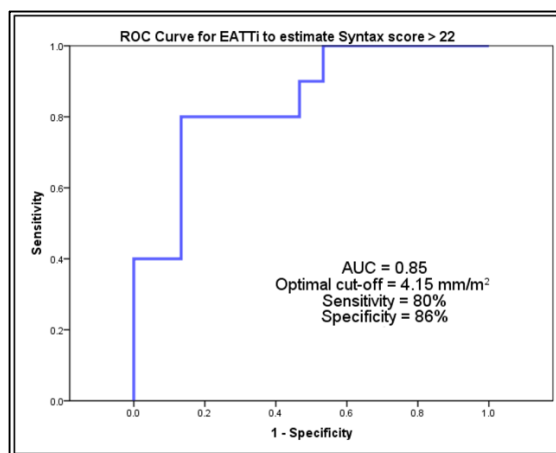


Figura 4 - Curbe ROC pentru EATTi pentru a prezice boala coronariană cu un scor SYNTAX > 22 la pacienții supuși operației pe cord deschis.

### 3. Valorile mai ridicate ale EATTi la pacienții cu BC și diabet, comparativ cu cei cu BC izolată sau doar cu boală valvulară, sugerează aplicabilitatea largă a EATTi în diverse scenarii clinice

Participanții au fost subclasați în trei subgrupuri în funcție de prezența CAD și a diabetului zaharat (DZ): Non-BC (n = 11), BC-DZ (n = 10) și BC+DM (n = 4). Analiza indicelui de masă corporală între aceste grupuri nu a evidențiat diferențe semnificative din punct de vedere statistic. Cu toate acestea, lotul BC+DZ a prezentat un scor SYNTAX I mediu mai mare față de lotul BC-DZ, o diferență care a fost semnificativă din punct de vedere statistic. Această tendință a continuat cu scorurile SYNTAX II, unde lotul BC+DZ a prezentat, de asemenea, valori medii superioare, deși aceste diferențe nu au atins semnificația statistică.

Aceste rezultate evidențiază potențialul EATTi ca marker prognostic în evaluarea echocardiografică asociată chirurgiei cardiace, ajutând la optimizarea strategiilor de gestionare a pacienților supuși intervențiilor chirurgicale.

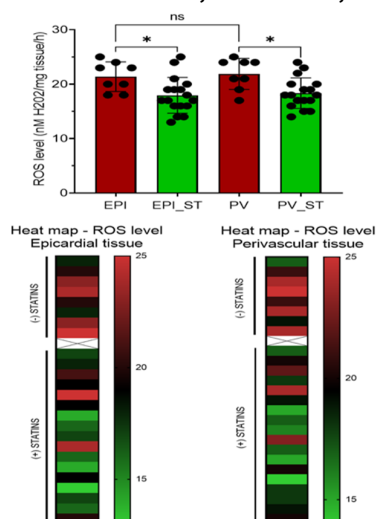
*Acest studiu pilot este primul care demonstrează în premieră internațională că EATTi se corelează semnificativ cu complexitatea BC, subliniind potențialul său ca predictor independent pentru evaluarea severității bolii coronariene.*

## IV. STUDIUL 3: EVALUAREA ROLULUI TRATAMENTULUI CRONIC CU STATINE ÎN MODULAREA STRESULUI OXIDATIV DIN ȚESUTUL ADIPOS CARDIOVASCULAR

Cel de-al treilea studiu a urmărit să evalueze nivelul stresului oxidativ la nivelul probelor de TAE și TAP recoltate de la pacienți supraponderali/obezi și cu IC cu FE ușor redusă care au fost tratați cronic (n=17) sau nu (n=8) cu statine (atorvastatin sau rosuvastatin) supuși chirurgiei cardiace electivă. Probele de TAE au fost recoltate din peretele anterior al ventriculului drept (VD), iar TAP a fost obținut din regiunile peri-aortice și peri-pulmonare imediat după inițierea bypassului cardiopulmonar.

Pentru a înțelege mai bine implicațiile stresului oxidativ asupra funcției cardiace și beneficiile potențiale ale terapiei pe termen lung cu statină, s-au căutat, de asemenea, corelații între amplitudinea stresului oxidativ și parametrii ecocardiografici.

**1. Pacienții tratați cronic cu statine au prezentat un nivel semnificativ mai redus de SRO la nivelul TAE și a TAP față de cei netratați.**

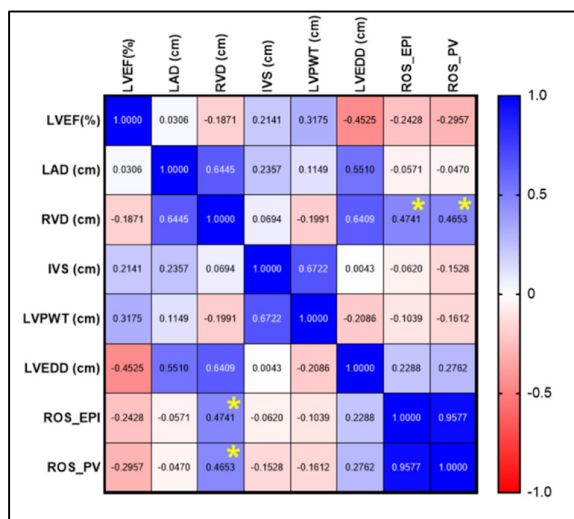


**Figura 5 - Severitatea stresului oxidativ la nivelul țesutului adipos epicardic (EPI) și perivascular (PV).**

Această observație susține efectele pleiotrope ale statinelor dincolo de efectul hipolipemiant, confirmând beneficiul terapeutic al statinelor în reducerea stresului oxidativ la nivelul țesutului adipos cardiovascular care este deja prezent la pacienții cu acest tip de IC (Fig. 5).

**2. S-a observat o corelație pozitivă între nivelul SRO în TAE și diametrul ventriculului drept, ceea ce sugerează că stresul oxidativ local poate avea un impact asupra structurii cardiace.**

Analiza de corelație a fost utilizată pentru a explora relațiile potențiale dintre parametrii ecocardiografici (cum ar fi FEVS, diametrul atriului stâng, diametrul ventriculului drept, septul interventricular, grosimea peretelui posterior al ventriculului stâng și diametrul diastolic final al ventriculului stâng) și gradul de stres oxidativ (măsurat ca nivel de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> prin testul FOX). S-a observat o corelație pozitivă semnificativă între nivelurile de ROS din EAT și diametrul ventriculului drept ( $r = 0,47$ ,  $p < 0,05$ ), indicând faptul că un stres oxidativ crescut poate interfera cu dimensiunea VD (eșantionul EAT a fost recoltat de la nivelul peretelui anterior al VD). Rezultate similare au fost obținute și pentru PVAT (Fig. 6).



**Figura 6 - Matricea de corelație între parametrii ecocardiografici și stresul oxidativ.**

Aceste rezultate sunt sugestive pentru impactul stresului oxidativ asupra structurii/funcției cardiace, evidențiind interacțiunile fiziopatologice complexe din cadrul sistemului cardiovascular.

## V. STUDIUL 4: EVALUAREA INTERACȚIUNII ALBASTRU DE METILEN – MAO ȘI STRES OXIDATIV LA NIVELUL ȚESUTULUI ADIPOS CARDIOVASCULAR UMAN

În cel de-al patrulea studiu, am emis ipoteza că izoformele MAO sunt exprimate la nivelul TAE și TAP la un lot de pacienți (n = 25) obezi/supraponderali cu IC cu FE păstrată sau ușor redusă și indicație de chirurgie cardiacă electivă. De asemenea, am presupus că albastrul de metilen (MB) ar putea reduce atât expresia MAO, cât și producția de SRO, oferind o nouă modalitate terapeutică pentru atenuarea stresului oxidativ în bolile cardio-metabolice.

### 1. Ambele izoforme MAO-A și MAO-B au fost detectate la nivelul TEA și TAP, MAO-A fiind izoforma predominantă

MAO-A este izoforma predominantă la nivelul țesutului adipos cardiovascular (așa cum s-a raportat în literatura de specialitate și pentru miocardul uman), iar expresia sa pare să fie mai mare la nivelul TAE comparativ cu TAP (Fig. 7). Această expresie diferențiată evidențiază rolul metabolic unic al depozitului EAT (și se datorează, cel mai probabil, concentrației crescute de catecolamine, substratele MAO).

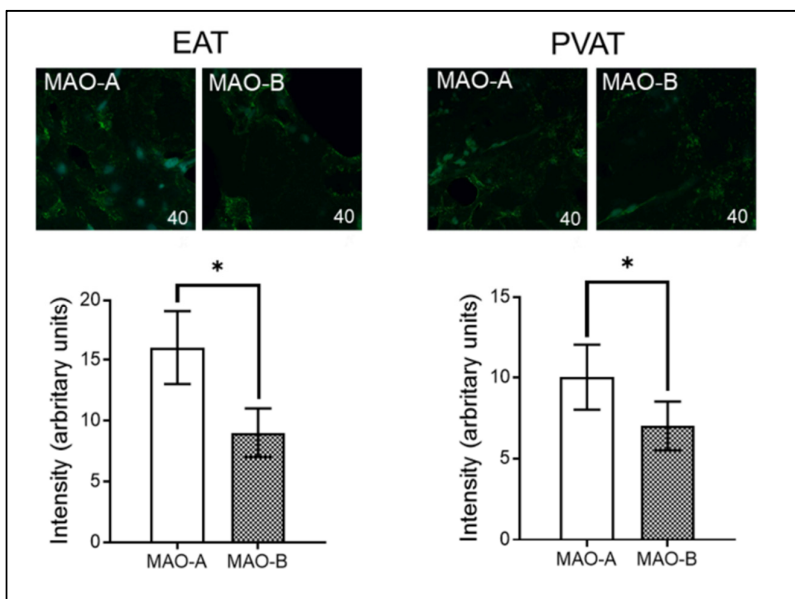
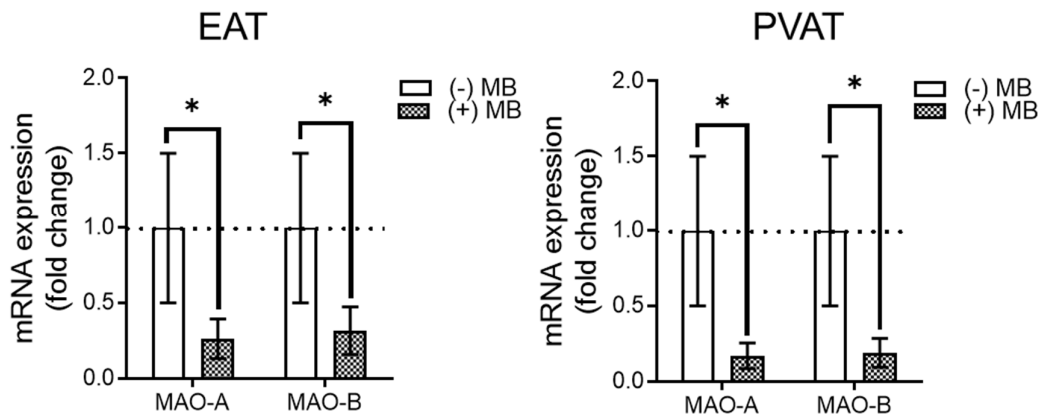


Figura 7 - Expresia proteică a izoformelor MAO la nivelul probelor de TAE și TAP uman (imunofluorescență).

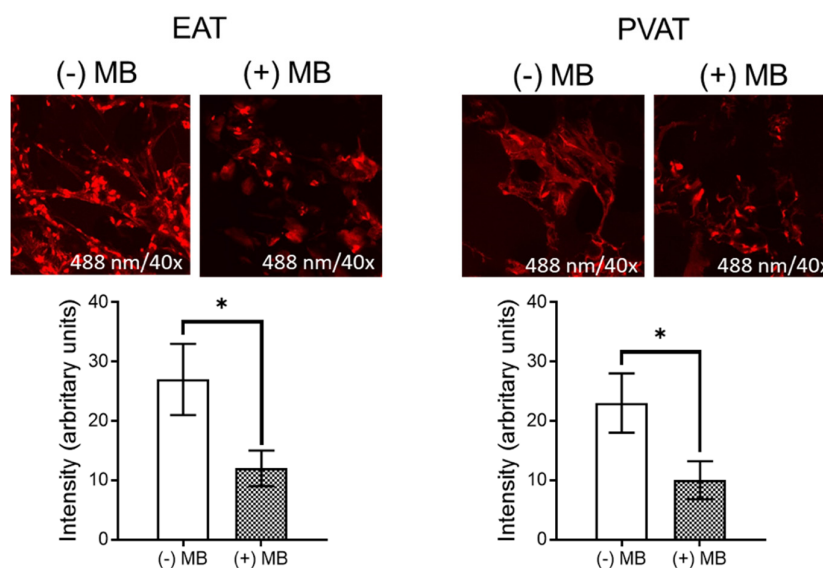
### 2. Albastrul de metilen a redus expresia MAO și stresul oxidativ la nivelul probelor de TAE și TAP

Expresia genică a MAO a fost cuantificată cu ajutorul tehnicii PCR în prezența și absența albastrului de metilen. Incubarea acută *ex vivo* cu MB (0,1  $\mu$ M, 24 h) a probelor de TAE și TAP a condus la o reducere semnificativă a expresiei ambelor izoforme MAO la nivelul țesuturilor adipoase cardiace (Fig. 8).



**Figura 8 - Expresia genică a MAO la nivelul TAE și a TAP uman în prezență vs. absența MB (RT-PCR).**

Evaluarea stresului oxidativ a fost efectuată utilizând colorația cu dihidroethidium (DHE) (microscopie confocală) - Fig. 9 și testul FOX (spectrofotometrie) - Fig. 10 în prezență vs absența MB.



**Figura 9 - Evaluarea SRO cu colorația cu DHE în prezență vs absența MB.**

La nivelul TAE se observă o producție ușor mai crescută de SRO cuantificată în imunofluorescență comparativ cu cea din TAP, ceea ce sugerează că acesta poate fi mai predispus la un stres oxidativ crescut la pacienții cu IC și afectare metabolică. Cu toate acestea, MB a atenuat în mod egal producția de SRO atât la nivelul TAE, cât și a TAP, la colorația cu DHE (Fig. 9).

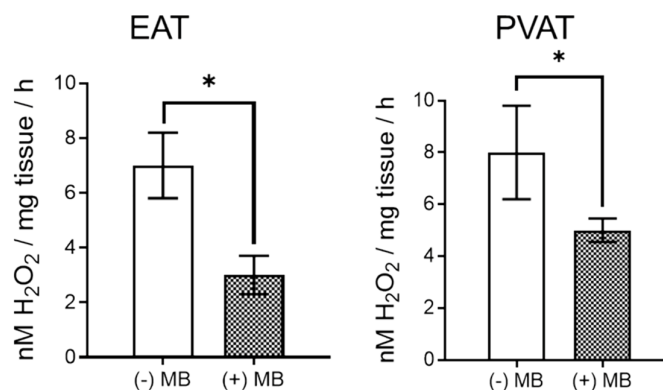


Figura 10 - Evaluarea SRO cu ajutorul tehnicii FOX în prezența vs absența MB.

Rezultatele au fost confirmate și cu ajutorul tehnicii FOX, respectiv, producția de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a fost redusă semnificativ în prezența MB, atât la nivelul TAE, cât și a TAP (Fig.10).

## 2. Incubarea *ex vivo* a TAE și TAP cu serotonină, un substrat al MAO-A, a dus la creșterea producției de SRO, efect parțial contracarat de către MB

Pe lângă catecolamine, serotoninina este un alt substrat MAO-A investigat pe scară largă în inimă, dar sunt disponibile mai puține informații despre contribuția sa la stresul oxidativ în țesutul adipos cardiac uman. Ca atare, am recapitulat experimentele *ex vivo* de evaluare a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> prin intermediul testului FOX în probele EAT și PVAT în prezența vs absența serotoninei, substratul MAO-A. Adăugarea de serotonină a crescut semnificativ producția de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> atât la nivelul EAT, cât și a PVAT, efect care a fost parțial atenuat de către MB (Fig. 11).

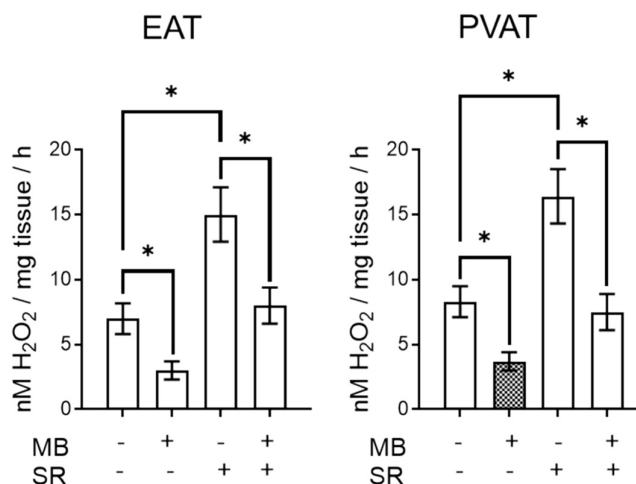


Figura 11 - Evaluarea ROS cu ajutorul tehnicii FOX la nivelul țesuturilor adipoase cardiace incubate sau nu cu serotonină (SR) și MB.

Studiul a demonstrat pentru prima dată că albastru de metilen poate fi benefic în reducerea stresului oxidativ și a expresiei MAO la nivelul adipozității cardiace a pacienților cu IC cu FEP și IC cu FEUR în prezența comorbidităților metabolice. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a confirma aceste rezultate pe cohorte de pacienți și totodată pentru a elucida mecanismele care stau la baza acestora.

## VI. CONCLUZII

1. Grosimea EAT determinată prin evaluare ecocardiografică reprezintă un predictor independent al BC, subliniind rolul potențial al acestui marker ecocardiografic alături de alți parametrii în elaborarea unor scorului de risc,
2. Pacienții cu BC au prezentat o grosime EAT statistic semnificativ mai mare comparativ cu pacienții non-coronarieni, subliniind rolul acestui parametru pentru identificarea diferitelor severități ale bolii cardiace.
3. S-a constatat că o grosime a EAT mai mare de 6,05 mm identifică în mod acurat pacienții cu BC, cu o sensibilitate și o specificitate ridicate, sugerând astfel utilitatea sa în practica medicală zilnică.
4. La pacienții supuși unei intervenții chirurgicale pe cord deschis, grosimea EAT indexată la suprafața corporală (EATTi) se corelează semnificativ cu gradul de complexitate al BC, demonstrându-se pentru prima dată valoarea acestui parametru în aprecierea severității bolii coronariene.
5. Un EATTi mai mare de 4,15 mm/m<sup>2</sup> a estimat o BC de o complexitate crescută, cu o sensibilitate și specificitate ridicată (80% și respectiv, 86%), demonstrându-se pentru prima dată valoarea acestui parametru în aprecierea severității bolii coronariene.
6. Valorile crescute ale EATTi la pacienții cu BC și diabet, comparativ cu cei doar cu BC sau cu boală valvulară, sugerează aplicabilitatea mai largă a EATTi în diverse scenarii clinice.
7. Studiul a demonstrat o reproductibilitate excelentă intra- și interobservator a măsurătorilor EATTi, asigurând fiabilitatea acestora pentru utilizarea în practica zilnică.
8. Studiul evidențiază potențialul EATTi ca marker de prognostic în evaluările chirurgicale cardiace, ajutând la optimizarea strategiilor de gestionare a pacienților.
9. La nivelul țesutului adipos epicardic al pacienților cu boală coronariană producția de specii reactive de oxigen a fost mai crescută comparativ cu pacienții fără boală coronariană, ceea ce reconfirmă asocierea dintre magnitudinea stresului oxidativ și severitatea bolii coronariene.
10. Grosimea crescută a EAT este corelată cu un stres oxidativ mai mare la nivelul țesutului epicardic, sugerând o legătură mecanicistă între grosimea țesutului adipos și patogeneza BC.
11. Pacienții tratați cronic cu statine (atorvastatină și rosuvastatină), au prezentat un nivel semnificativ mai redus de SRO la nivelul țesutului adipos epicardic și perivascular, comparativ cu cei care nu au urmat terapia cu statine.
12. Stresul oxidativ s-a corelat cu diametrul ventriculului drept, ceea ce sugerează un impact potențial al acestuia asupra structurii cardiace de vecinătate.
13. Ambele izoforme MAO-A și MAO-B au fost detectate în țesutul adipos epicardic și perivascular, MAO-A fiind izoforma predominantă, ceea ce sugerează contribuția sa potențială la stresul oxidativ local la pacienții cu insuficiență cardiacă.
14. Tratamentul cu albastru de metilen a redus atât expresia MAO cât și stresul oxidativ în EAT și PVAT prelevate de la pacienții cu insuficiență cardiacă supuși unei intervenții chirurgicale cardiace. Co-incubarea cu serotonină, un substrat MAO-A cunoscut, a condus la creșterea producției de SRO, dar albastrul de metilen a inversat parțial acest efect, demonstrând potențialul său terapeutic, prin modularea stresului oxidativ la nivelul țesutului adipos cardiovascular.

15. Albastrul de metilen poate fi benefic în reducerea stresului oxidativ și a expresiei MAO la nivelul țesutului adipos cardiac al pacienților cu insuficiență cardiacă și comorbidități metabolice.

#### **Contribuții originale:**

1. Demonstrarea în premieră a faptului că EATTi se corelează semnificativ cu gradul de complexitate al BC, subliniind astfel potențialul său în identificarea severității bolii coronariene.
2. Demonstrarea expresiei MAO, în special a izoformei MAO-A și a producției de SRO la nivelul țesutului adipos epicardic și al celui perivascular la pacienții supraponderali și obezi cu insuficiență cardiacă cu fracție de ejeție păstrată și ușor redusă.
3. Demonstrarea în premieră a faptului că albastrul de metilen poate atenua *ex vivo* stresul oxidativ la nivelul ambelor tipuri de țesut adipos implicate în fiziopatologia bolilor cardiometabolice.

#### **VII. PUBLICAȚII ȘTIINȚIFICE**

1. **Braescu Laurentiu**, Gaspar Marinica, Buriman Darius, Aburel Oana Maria, Merce Adrian Petru, Bratosin Felix, Aleksandrovich KS, Alambaram S, Mornos Cristian. *The Role and Implications of Epicardial Fat in Coronary Atherosclerotic Disease*. Journal of Clinical Medicine. 2022 Aug 12;11(16):4718. doi: 10.3390/jcm11164718. (IF - 4.9)
2. **Braescu Laurentiu**, Sturza Adrian, Sosdean Raluca, Aburel Oana M., Lazar Mihai Andrei, Muntean Mirela-Danina, Luca Constantin Tudor, Brie Daniel Miron, Feier Horea, Crisan Simina, Mornos Cristian. *Echocardiographic Assessment of Epicardial Adipose Tissue Thickness as Independent Predictor in Coronary Artery*. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2024 Sept 3 Just-In doi.org/10.1139/cjpp-2024-0188 (IF - 1,7)
3. **Braescu Laurentiu**, Sturza Adrian, Aburel Oana M, Sosdean Raluca, Muntean Mirela-Danina, Luca Constantin Tudor, Brie Daniel Miron, Feier Horea, Crisan Simina, Mornos Cristian. *Assessing the Relationship between Indexed Epicardial Adipose Tissue Thickness, Oxidative Stress in Adipocytes, and Coronary Artery Disease Complexity in Open-Heart Surgery Patients*. Medicina (Kaunas). 2024 Jan 19;60(1):177. doi: 10.3390/medicina60010177. (IF- 2.4)
4. **Braescu Laurentiu**, Maria D. Danila, Karla A.S. Pop, Darius G. Buriman, Silvia Ana Luca, Adrian P. Merce, Oana M. Aburel, Raluca Sosdean, Horea B. Feier, Danina M. Muntean, Adrian Sturza, Cristian Mornos. *Statin Therapy Mitigates Oxidative Stress in Epicardial and Perivascular Adipose Tissue: A Pilot Study in Cardiac Surgery Patients*. Timisoara Medical Journal. 2024 (1):3. doi: 10.35995/tmj20240103.
5. Oana-Maria Aburel, **Braescu Laurentiu**, Darius G. Buriman, Adrian P. Merce, Anca M. Bina, Claudia Borza, Cristian Mornos, Adrian Sturza, Danina M. Muntean. *Methylene Blue Reduces Monoamine Oxidase Expression and Oxidative Stress in Human Cardiovascular Adipose Tissue*. Molecular and Cellular Biochemistry 2024 Aug. doi: 10.1007/s11010-024-05092-z. (IF - 3.5)