

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTAMENTUL ȘTIINȚE FUNCȚIONALE**

MERCE ADRIAN PETRU



TEZĂ DE DOCTORAT

**CONTRIBUȚII LA IDENTIFICAREA UNOR NOI ABORDĂRI
FARMACOLOGICE CARDIO - ȘI VASCULOPROTECTOARE
PE MODEL ANIMAL ȘI LA PACIENȚII SUPUȘI CHIRURGIEI
CARDIACE**

R E Z U M A T

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. MUNTEAN MIRELA-DANINA

Conducător de doctorat în cotutelă:

PROF. UNIV. DR. PETRESCU LUCIAN

**Timișoara
2022**

CUPRINS

Lista lucrărilor publicate	VI
Lista cu abrevieri.....	VII
Lista figurilor	IX
Lista tabelelor	XI
Mulțumiri	XII
INTRODUCERE.....	XIII
PARTEA GENERALĂ	1
Capitolul 1. Metforminul și protecția cardio-vasculară.....	1
1.1. Mecanismele protecției cardiovasculare oferite de metformin.....	1
Capitolul 2. Disfuncția mitocondrială în patologia cardio-metabolică	5
2.1. Funcția și disfuncția mitocondrială: aspecte generale	5
2.2. Rolul stresului oxidativ mediat de monoamino oxidază	10
2.3. Succinatul permeabil și protecția mitocondrială	13
Capitolul 3. Aspecte fiziopatologice ale bypass-ului cardiopulmonar	18
3.1. Bypass-ul cardiopulmonar: generalități.....	18
3.2. Fiziopatologia leziunilor asociate bypass-ului cardiopulmonar	24
PARTEA SPECIALĂ	
Studiul 1. Contribuții la elucidarea efectului cardioprotector al metforminului: Interacțiunea cu MAO pe un model experimental de obezitate indusă prin dietă	33
1.1. Scop și obiective	33
1.2. Materiale și metode	34
1.2.1. Materialul de studiu.....	34
1.2.2. Metodologia cercetării.....	35
1.2.3. Analiza statistică.....	36
1.3. Rezultate	37
1.3.1. Evaluarea greutateii și a glicemiei.....	37
1.3.2. Expresia proteică a MAO este crescută la nivelul cordului șobolanilor cu obezitate și prediabet	38
1.3.3. Metforminul a redus atât expresia genică a MAO, cât și producția de SRO în cazul modelului experimental de obezitate la șobolan	39
1.3.4. Efectele metforminului asupra expresiei MAO pe cordul normal și investigarea proprietății de scavenger	42
1.4. Discuții	44

Studiul 2. Contribuții la elucidarea efectului vasculoprotector al metforminului: Interacțiunea cu sintetazele oxidului nitric la nivelul arterei mamare interne	49
2.1. Scop și obiective	49
2.2. Material și metode	50
2.2.1. Materialul de studiu.....	50
2.2.2. Metodologia cercetării.....	51
2.2.3. Analiza statistică	53
2.3. Rezultate	53
2.3.1. Metforminul a îmbunătățit funcția vasomotorie a inelelor de arteră mamară internă	53
2.3.2. Metforminul a redus stresul oxidativ la nivelul inelelor de arteră mamară internă	56
2.3.3. Metforminul a modulat expresia genică a sintetazelor oxidului nitric la nivelul inelelor de arteră mamară internă.....	57
2.4. Discuții	60
Studiul 3. Contribuții la elucidarea efectului protector al succinatului permeabil NV118 la nivelul respirației trombocitelor izolate de la pacienții supuși bypass-ului cardiopulmonar	63
3.1. Scop și obiective	63
3.2. Material și metode	64
3.2.1. Materialul de studiu.....	64
3.2.2. Metodologia cercetării.....	65
3.2.3. Analiza statistică	67
3.3. Rezultate	68
3.3.1. Solventul DMSO nu influențează respirația bazală trombocitară	68
3.3.2. Succinatul permeabil celular a îmbunătățit respirația trombocitară pre- bypass cardiopulmonar	68
3.3.3. Succinatul permeabil celular a îmbunătățit respirația trombocitară post- bypass cardiopulmonar	70
3.4. Discuții	71
DISCUȚII GENERALE	79
CONCLUZII	86
BIBLIOGRAFIE	91
ANEXE	I

Cuvinte cheie: by-pass cardiopulmonar, monoamino oxidază, obezitate, arteră mamară internă, disfuncție mitocondrială, metformin, oxid nitric, succinat permeabil.

1. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Stresul oxidativ reprezintă deopotrivă un mecanism fiziopatologic și o țintă terapeutică în patologii metabolice. Cu toate acestea, complexitatea surselor și a tipurilor de specii reactive de oxigen (SRO) implicate, precum și contribuția acestora în diferitele patologii, este departe de a fi elucidată.

Monoamino-oxidaza (MAO), cu 2 izoforme, MAO-A și MAO-B, este o flavin-dehidrogenază localizată la nivelul membranei mitocondriale externe care este implicată în catabolismul neurotransmițătorilor și al aminelor biogene și alimentare, proces în care se produce în mod constant peroxid de hidrogen (H_2O_2) drept produs secundar de reacție. Inhibitorii MAO au fost introduși în terapia bolilor neuropsihiatrice încă de la jumătatea secolului trecut. În ultimele 2 decenii, a fost evidențiat rolul stresului oxidativ asociat creșterii activității/expresiei MAO în patogeneza afecțiunilor cardio-metabolice.

Metforminul este medicamentul de primă linie pentru tratamentul diabetului zaharat de tip 2 (DZ2). Asociația Americană de Diabet recomandă metforminul ca terapie preventivă la pacienții cu obezitate, prediabet, precum și la persoanele < 60 de ani cu factori de risc multipli. Medicamentul are efecte pleiotrope, printre care cel antioxidant – care a fost investigat pe scară largă, fără ca mecanismele celulare și moleculare să fie pe deplin elucidate. *Nu există date în literatura de specialitate cu privire la o posibilă interacțiune între metformin și stresul oxidativ asociat MAO la nivel cardiac și vascular, în contextul patologiei cardiometabolice, pe modele animale sau la om.*

Cercetările ultimelor decenii au identificat elementele figurate din sângele periferic, în principal trombocitele, drept o sursă de mitocondrii perfect funcționale, accesibilă în mod repetitiv prin metode minim invazive. Evaluarea în dinamică a dis/funcției mitocondriale a elementelor circulante poate servi drept oglindă a dis/funcției bioenergetice la nivel de organ cu potențial rol diagnostic, prognostic și de evaluare a răspunsului terapeutic. Pe de altă parte, există un interes crescut la ora actuală pentru dezvoltarea de compuși farmacologici care au mitocondria drept țintă terapeutică și permit susținerea funcției mitocondriale respiratorii într-o multitudine de entități patologice. Un astfel de compus este succinatul permeabil, NV118. *Nu există date în literatura de specialitate cu privire la posibilitatea susținerii funcției mitocondriale trombocitare la pacienții cu patologii cardiovasculare care necesită intervenții chirurgicale pe cord deschis și respectiv, bypass cardiopulmonar.*

Scopul prezentei teze de doctorat a constatat în evaluarea efectelor cardio- și vasculoprotectoare a doi agenți farmacologici, clasic (Metforminul) și nou (succinatul permeabil – NV118), pe un model experimental de obezitate și prediabet induse prin dietă hipercalorică la șobolan și respectiv, pe probe vasculare și sanguine prelevate de la pacienți cu patologie cardiovasculară și indicație de chirurgie pe cord deschis cu bypass cardiopulmonar.

Obiectivele specifice au fost realizate în cadrul a 3 studii originale:

- I. **Primul studiu**, efectuat pe probe cardiace (țesut ventricular) prelevat de la șobolani cu obezitate indusă prin dietă hipercalorică de tip „cafeteria”, a fost destinat evaluării efectelor metforminului asupra expresiei și a stresului oxidativ mediat de monoamino-oxidază (MAO) în vederea contribuției la elucidarea mecanismelor cardioprotecției.
- II. **Al doilea studiu**, efectuat pe probe vasculare (inele de arteră mamară internă) prelevate de la pacienți coronarieni supuși intervențiilor chirurgicale de

revascularizare (bypass aorto-coronarian) a constatat în evaluarea efectelor metforminului asupra expresiei sintetazelor oxidului nitric (NO) și a stresului oxidativ mediat de angiotensina 2 (Ang2) în vederea contribuției la elucidarea mecanismelor vasculoprotecției.

III. Al treilea studiu, efectuat pe trombocite izolate din sângele venos al pacienților coronarieni și/sau valvulari supuși intervențiilor chirurgicale pe cord deschis, a fost destinat evaluării efectelor unui compus nou de tip succinat permeabil, NV118, asupra funcției mitocondriale respiratorii, pre-și post bypass cardiopulmonar.

Tema aleasă, investigarea mecanismelor protecției cardiovasculare pe model animal și la om, are un caracter translațional și se înscrie în direcțiile de cercetare ale Centrului de Cercetare Translațională și Medicina Sistemelor din cadrul Departamentului III Științe funcționale – Disciplina de Fiziopatologie, în cadrul căruia am fost afiliat în calitate de doctorand, precum și în cele stipulate în Strategia de cercetare a Universității de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” din Timișoara.

Rezultatele studiilor cuprinse în Partea specială a tezei sunt prezentate succint în continuare:

2. Contribuții la elucidarea efectului *cardioprotector* al metforminului: interacțiunea cu MAO pe un model experimental de obezitate indusă prin dietă

În ultimul deceniu, o multitudine de date experimentale și clinice au susținut existența "cardiomiopatiei asociate obezității", o entitate patologică asociată obezității (și sindromului metabolic) și care se dezvoltă independent de prezența bolilor cardiace (hipertensiune arterială, boală coronariană) ce induc cardiopatie. Ca atare, este necesară identificarea mecanismelor ce stau la baza apariției acestora, inclusiv a rolului disfuncției mitocondriale în contextul stresului metabolic, precum și a unor abordări farmacologice capabile să o atenueze. Metforminul, medicamentul de primă linie al DZ tip 2, recent indicat pentru efectul benefic și la pacienții cu obezitate și supraponderali, are efecte terapeutice complexe, pleiotrope.

Studiul de față a avut drept scop investigarea unui nou mecanism cardioprotector al metforminului, respectiv interacțiunea cu MAO în contextul obezității induse experimental.

Lotul de studiu a inclus șobolani masculi Wistar (Institutul Cantacuzino, București) cărora li s-a administrat zilnic, timp de 24 de săptămâni (lotul obez, $n = 8$), hrană hipercalorică (conținut nutrițional - 5,2 kcal/g) pe lângă hrana standard. Lotul martor (non-obezi, $n = 8$) a primit hrană standard de laborator (2,5 kcal/g).

Glicemia și greutatea corporală au fost monitorizate ca markeri ai tulburărilor metabolice.

Țesutul ventricular prelevat de la șobolani obezi și non-obezi a fost și incubat (12 h, 37°C) în mediul de cultură de creștere a celulelor endoteliale suplimentat cu 0,1% albumină serică bovină, în prezența vs. absența metforminului (M, 10 μ M) sau a inhibitorilor MAO: clorgilină (Clorg, inhibitor ireversibil al MAO-A) și selegilină (Seleg, inhibitor ireversibil al MAO-B, 10 μ M). Ulterior, țesutul a fost utilizat pentru măsurători ale nivelului de SRO

(spectrofotometrie și microscopie confocală) și respectiv, evaluarea expresiei genice și proteice a MAO (RT-PCR și imunofluorescență).

În cazul probelor ventriculare recoltate de la lotul de control (CTL), izoforma MAO-A a fost mai abundentă comparativ cu MAO-B (Fig. 1). Douăzeci și patru de săptămâni de dietă obezogenă a determinat o expresie crescută a ambelor izoforme ale MAO la nivelul cordului murin (Fig. 1).

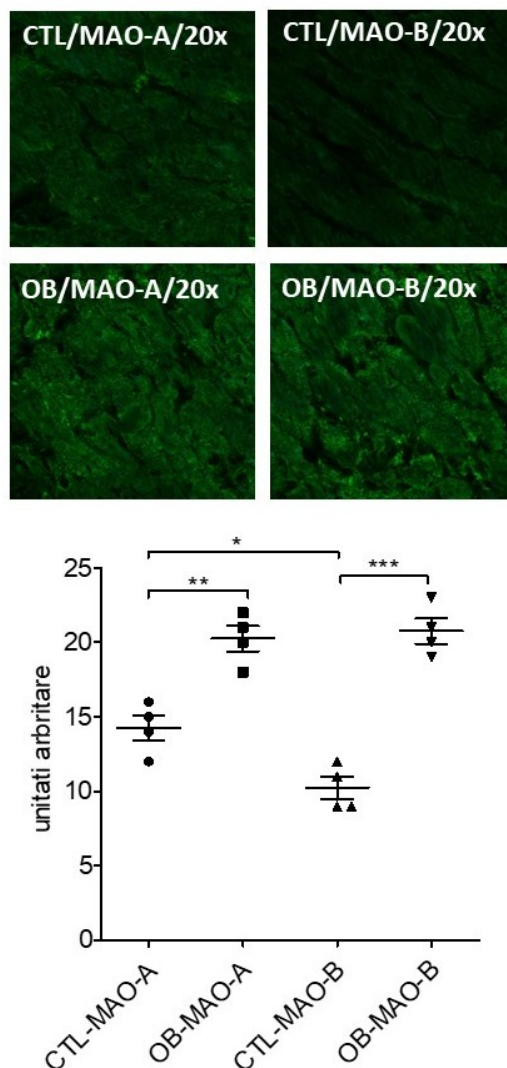


Figura 1. Expresia proteică a MAO-A și MAO-B la nivelul cordului de șobolan obez (OB) și martor (CTL), (CTL-MAO-A vs. OB-MAO-A, CTL-MAO-A vs. CTL-MAO-B, CTL-MAO-B vs. OB-MAO-B; *P ≤ 0,05, **P ≤ 0,01, ***P ≤ 0,001).

Dieta obezogenă a indus și creșterea producției cardiace de H₂O₂ determinată spectrofotometric (tehnica FOX). Acest efect a fost atenuat prin incubarea *ex vivo* a probelor ventriculare cu ambii inhibitori MAO-A și MAO-B (clorgilină și respectiv, selegilină, 10 μM, 12 h) - Fig. 2.

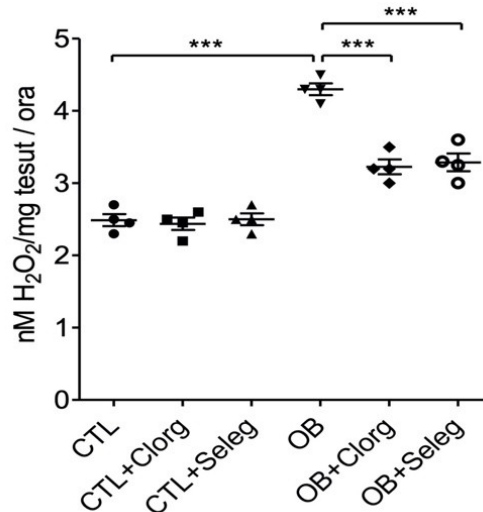


Figura 2. Evaluarea spectrofotometrică a H₂O₂ în prezența sau absența inhibitorilor MAO (Clorg - clorgilină, Seleg - selegilină, 10 μM), n=4, ANOVA și posthoc Bonferroni (CTL vs. OB, OB vs. OB+Clorg, OB vs. OB+Seleg; ***P ≤ 0,001).

Expunerea acută *in vitro* la metformin a fost capabilă să reducă expresia genică a ambelor izoforme, MAO-A (Fig. 3A) și respectiv, MAO-B (Fig. 3B) la nivelul țesutului ventricular izolat de la șobolani obezi (OB) și nu a avut niciun efect pe eșantioanele prelevate de la lotul martor (CTL).

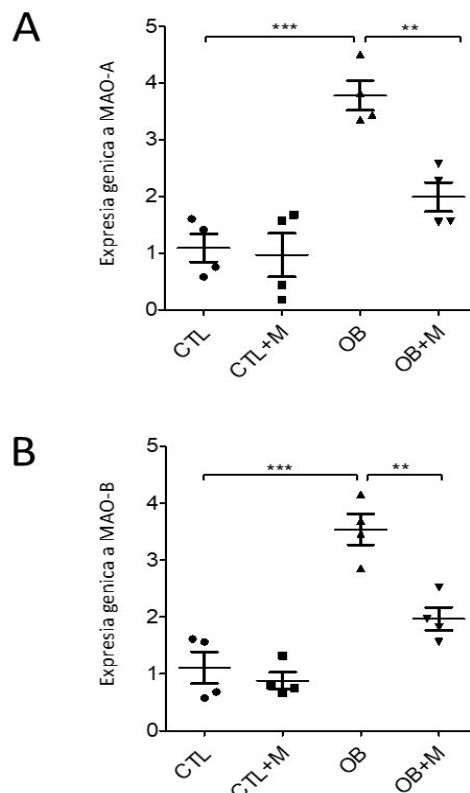


Figura 3. Metforminul a redus expresia ARNm al MAO-A (A) și MAO-B (B) la nivelul cordului ventricular izolat de la șobolani obezi. CTL-control, OB- obezi, M- metformin (CTL vs. OB, OB vs. OB+Clorg, OB vs. OB+Seleg; **P ≤ 0,01, ***P ≤ 0,001).

De asemenea, metforminul a fost capabil să reducă nivelul de stres oxidativ, așa cum a fost evidențiat atât la evaluarea spectrofotometrică (tehnica FOX, Fig. 4) cât și în microscopie confocală (colorația cu DHE, Fig. 5).

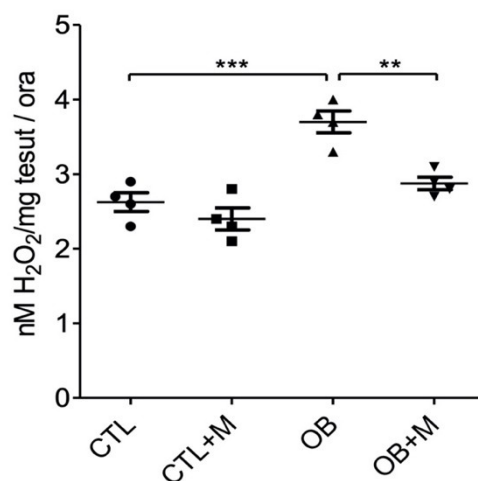


Figura 4. Metforminul a redus stresul oxidativ la nivelul cordului ventricular izolat de la șobolani obezi la evaluarea spectrofotometrică; CTL- control, OB- obezitate, M- metformin, n=4. (CTL vs. OB, OB vs. OB+M; **P ≤ 0,01, ***P ≤ 0,001).

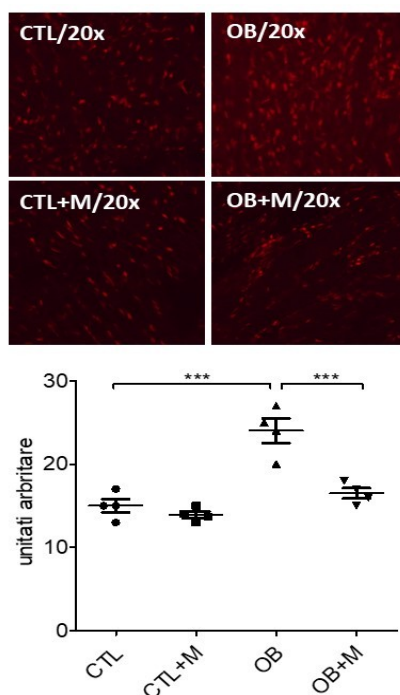


Figura 5. Metforminul a redus stresul oxidativ la nivelul cordului ventricular izolat de la șobolani obezi la colorația cu DHE; CTL- control, OB- obezitate, M- metformin, n=4. (CTL vs. OB, OB vs. OB+M; ***P ≤ 0,001).

3. Contribuții la elucidarea efectului vasculoprotector al metforminului: interacțiunea cu sintetazele oxidului nitric la nivelul arterei mamare interne

Studiul de față a avut drept scop investigarea mecanismului vasculoprotector al metforminului la om, modularea expresiei sintetazelor oxidului nitric, după stimularea cu angiotensină 2 (Ang2) a fragmentelor de arteră mamară internă prelevate de la pacienți cu boală coronariană supuși intervenției de by-pass aorto-coronarian.

Studiul pilot a inclus 7 pacienți spitalizați la Institutul de Boli Cardiovasculare din Timișoara, cu indicație de revascularizare, având ca diagnostice principale: angină pectorală stabilă, angină pectorală instabilă, infarct miocardic, boală coronariană trivasculară (și diagnostice secundare: boală aterosclerotică a arterelor carotide, regurgitare mitrală/tricuspidiană, hipertensiune arterială, insuficiență cardiacă NYHA II, hipercolesterolemie).

Ang2 a determinat disfuncție vasculară prin creșterea contractilității și reducerea relaxării, iar metforminul a fost capabil să atenueze aceste efecte, prin reducerea contractilității (Fig. 6) și respectiv, creșterea relaxării (Fig.7).

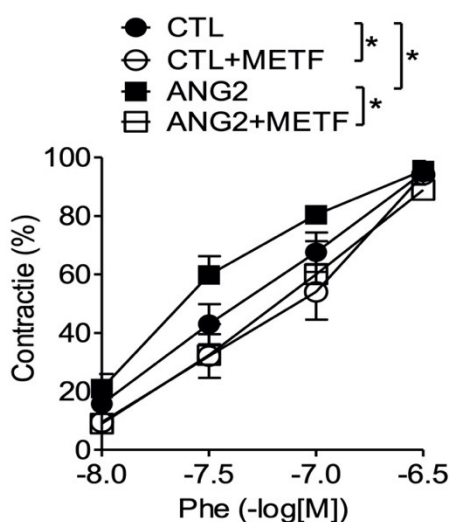


Figura 6. Metforminul îmbunătățește funcția vasculară a inelelor de arteră mamară stimulate sau nu cu Ang2 prin reducerea contracției induse de fenilefrină (Phe). (n=7, *p<0,05)

Efectele benefice ale metforminului asupra funcției vasomotorii au fost observate pentru toate inelele vasculare (stimulate sau nu cu Ang2), demonstrând activarea sistemului renină-angiotensină local în arterele mamare interne recoltate de la pacienții cu boală coronariană. Cu toate acestea, magnitudinea răspunsului a fost mai mare la lotul stimulat cu Ang2.

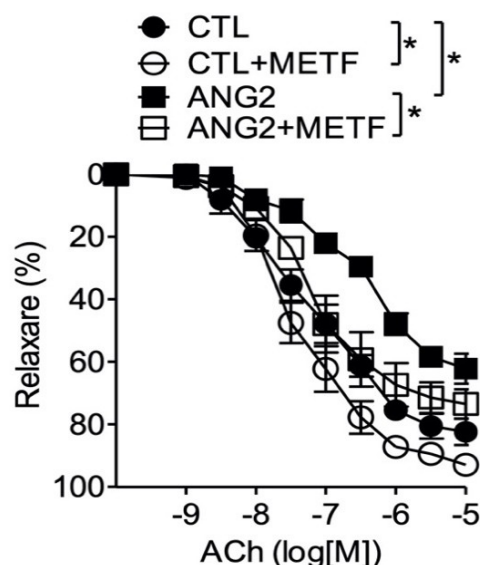


Figura 7. Metforminul îmbunătățește funcția vasculară a inelelor de arteră mamară stimulate sau nu cu Ang2 prin creșterea relaxării dependente de endoteliu induse de acetilcolină (ACh). (n=7, *p<0,05).

În prezența L-NAME (inhibitorul eNOS), incubarea acută cu Ang2 a amplificat răspunsul contractil, dar aditia metforminului a fost capabilă să atenueze acest efect, sugerând interferența cu căile de semnalizare intracelulară responsabile de generarea NO ca posibil mecanism de vasculoprotecție oferită de către principalul medicament antidiabetic utilizat la pacienții cu DZ tip 2 (Fig. 8).

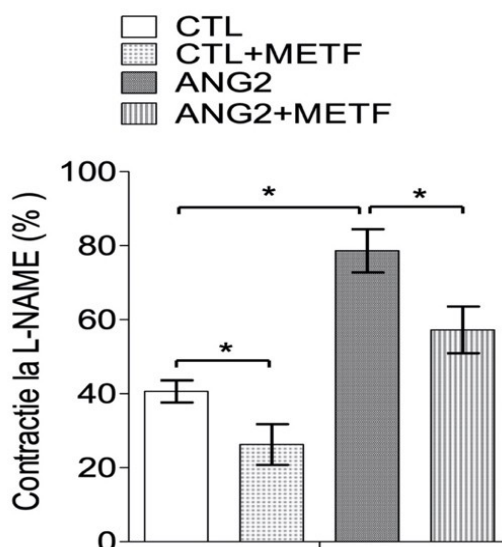


Figura 8. Metforminul îmbunătățește funcția vasculară a inelelor de arteră mamară stimulate sau nu cu Ang2 prin reducerea contracției induse de Ang2 în prezența L-NAME. (n=7, *p<0,05)

Incubarea segmentelor vasculare cu Ang2 a scăzut semnificativ expresia eNOS (Fig. 9) și nNOS (Fig. 10) și, respectiv, a crescut expresia iNOS (Fig.11). Metforminul a fost capabil să inverseze toate aceste efecte.

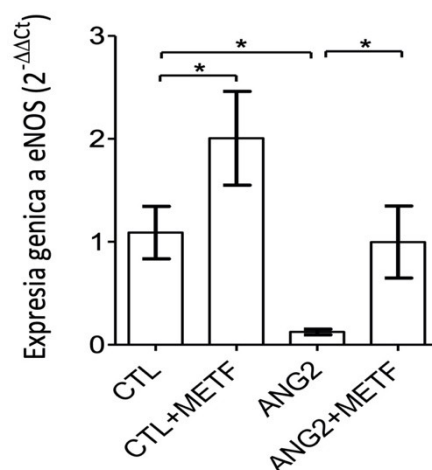


Figura 9. Metforminul modulează expresia izoformelor NOS la nivelul inelelor de arteră mamară internă stimulate sau nu cu Ang2: creșterea expresiei eNOS, scăzută de către Ang2 la RT-PCR. (n=7, *P<0,05)

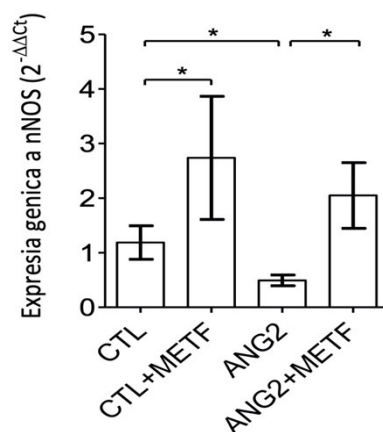


Figura 10. Metforminul modulează expresia izoformelor NOS la nivelul inelelor de arteră mamară internă stimulate sau nu cu Ang2: creșterea expresiei nNOS, scăzută de către Ang2 la RT-PCR. (n=7, *P<0,05)

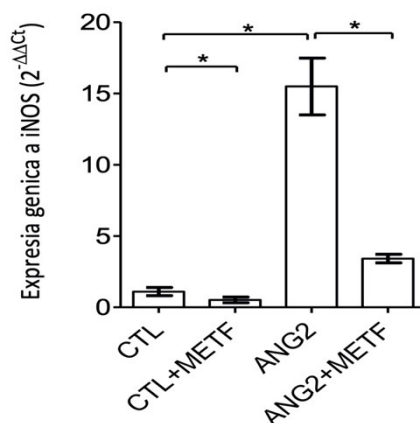


Figura 11. Metforminul modulează expresia izoformelor NOS la nivelul inelelor de arteră mamară internă stimulate sau nu cu Ang2: scăderea expresiei iNOS, crescută de către Ang2 la RT-PCR. (n=7, *P<0,05)

4. Contribuții la elucidarea efectului protector al succinatului permeabil NV118 la nivelul respirației trombocitelor izolate de la pacienții supuși bypass-ului cardiopulmonar

Prezentul studiu a avut ca scop evaluarea efectelor NV118 (diacetoximetil succinat) asupra bioenergeticii trombocitelor prelevate de la un lot pilot de pacienți supuși chirurgiei cardiace pe cord deschis, respectiv bypass-ului cardiopulmonar.

În studiu au fost incluși 13 pacienți (4 M, 9F) spitalizați în cadrul Institutului de Boli Cardiovasculare din Timișoara, fiind diagnosticați cu boală coronariană plurivasculară, patologie valvulară sau ambele, cu indicație de chirurgie cardiacă / bypass cardiopulmonar (BPC).

Trombocitele au fost izolate din sângele venos colectat înainte (înainte de administrarea de heparină) și după CPB (în decurs de 10 minute după administrarea de sulfat de protamină).

Respirația mitocondrială a fost evaluată prin respirometrie de înaltă rezoluție.

Compusul NV118 a determinat o creștere globală a parametrilor respiratori (exprimați ca $\text{pmol O}_2 \times \text{s}^{-1} \times 2 \times 10^{-8}$ celule) la nivelul trombocitelor izolate pre- (Fig. 12) și post- (Fig 13) BPC.

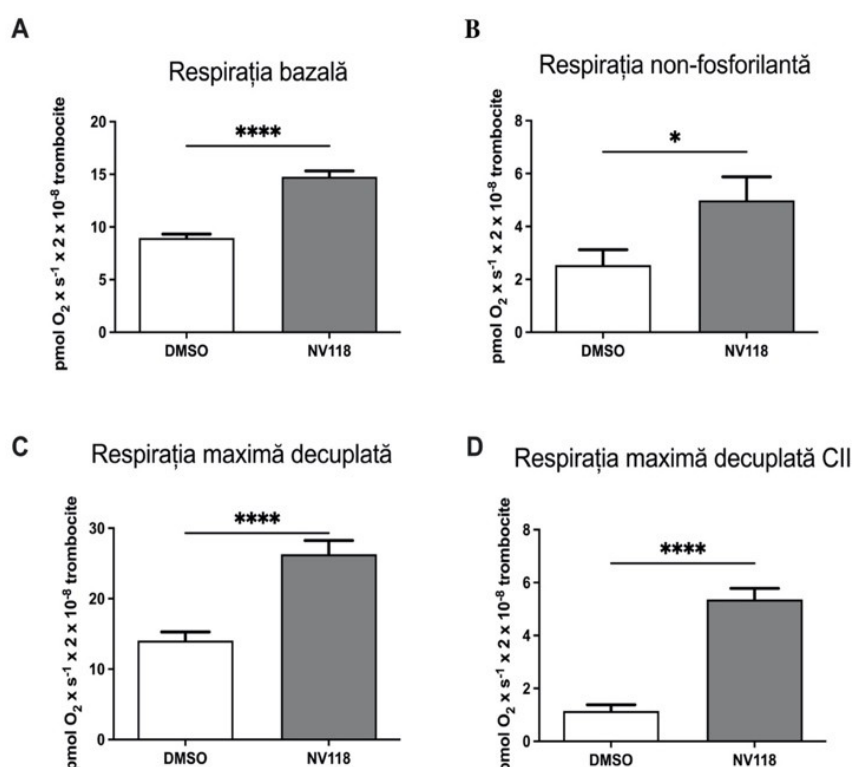


Figura 12. Respirometria mitocondrială trombocitară PRE-bypass cardiopulmonar în absența vs. prezența succinatului permeabil NV118. A. Respirația bazală. B. Respirația non-fosforilantă C. Respirația maximă decuplată CI+CII. D. Respirația maximă decuplată CII. Datele sunt exprimate ca medie \pm ESM a respirației corectate față de consumul residual de oxigen. *P < 0,5; ****P < 0,0001.

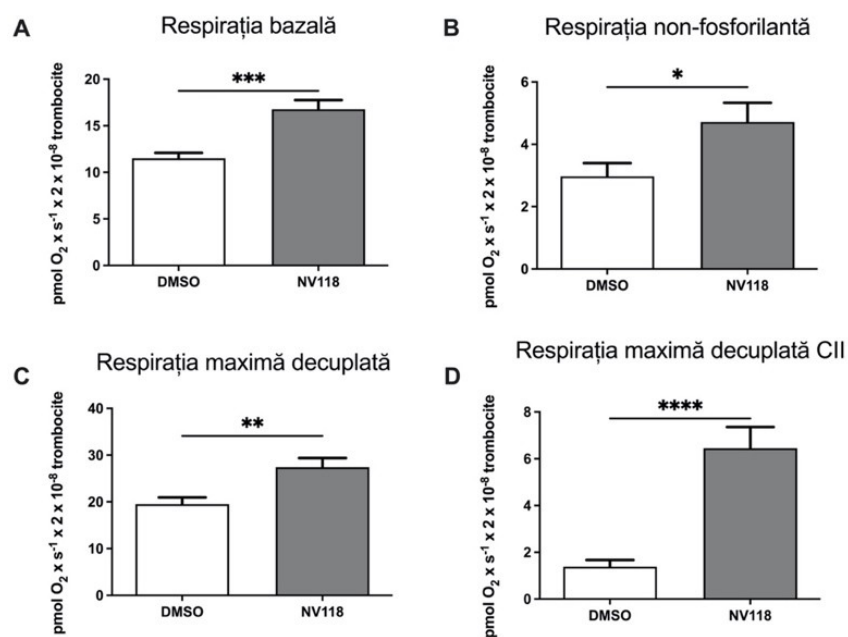


Figura 1. Respirimetria mitocondrială trombocitară POST bypass cardiopulmonar în absența vs. prezența succinatului permeabil NV118. A. Respirația bazală. B. Respirația non-fosforilantă. C. Respirația maximă decuplată CI+CII. D. Respirația maximă decuplată CII. Datele sunt exprimate ca medie \pm ESM a respirației corectate față de consumul residual de oxigen. *P < 0,5; *P < 0,0001; ****P < 0,0001.**

CONCLUZII

Scopul prezentei teze de doctorat, cu pronunțat caracter translațional, a constat în evaluarea efectelor cardio- și vasculoprotectoare a doi agenți farmacologici pe un model animal și la om.

Obiectivele cercetării au fost atinse prin derularea celor 3 studii originale descrise în cadrul Părții speciale a tezei.

Finalizarea cercetărilor doctorale permite formularea următoarelor **concluzii generale**:

1. Izoformele MAO-A și MAO-B prezintă o expresie genică crescută la nivel ventricular și contribuie la stresul oxidativ cardiac în cazul șobolanilor cu obezitate indusă prin dietă hipercalorică și cu prediabet, model experimental care mimează fidel principala cauză a obezității în populația infantilă și adultă.
2. În cazul probelor ventriculare prelevate de la lotul martor, al șobolanilor non-obezi, izoforma MAO-A a fost mai abundentă față de MAO-B.
3. Dieta obezogenă a indus și creșterea producției de H_2O_2 , efect care a fost atenuat prin incubarea acută *ex vivo* a probelor ventriculare cu inhibitorii izofomelor MAO-A, clorgilină și respectiv, MAO-B, selegilină.
4. Acești compuși nu au avut niciun efect în cazul lotului martor demonstrând că în condiții fiziologice activitatea enzimei nu determină stres oxidativ.
5. Expresia proteică a ambelor izoforme MAO este crescută la nivelul cordului șobolanilor cu obezitate și prediabet.
6. Metforminul a redus atât expresia genică cât și cea proteică ventriculară a izoformelor MAO în cazul șobolanilor cu obezitate și prediabet și nu a avut niciun efect în cazul animalelor din lotul martor.
7. Metforminul a redus stresul oxidativ evaluat la nivelul cordului șobolanilor obezi atât prin metoda spectrofotometrică cât și prin microscopie confocală.
8. Efectul de reducere a stresului oxidativ este secundar scăderii expresiei MAO, deoarece metforminul nu prezintă efect de scavenger al speciilor reactive de oxigen (așa cum a fost demonstrat pentru catalază).
9. Angiotensina 2 a determinat disfuncție vasculară obiectivată prin creșterea contractilității și reducerea relaxării dependente de endoteliu la nivelul fragmentelor de arteră mamară internă prelevată de la pacienții cu boală coronariană supuși intervențiilor de revascularizare.
10. Metforminul în aplicare acută *in vitro* a îmbunătățit funcția vasomotorie a inelelor de arteră mamară internă, prin scăderea contractilității și creșterea relaxării.
11. Efectul benefic al metforminului a fost prezent și la nivelul inelelor de arteră mamară martor (nestimulate cu Ang2), atestând activarea sistemului renină – angiotensină local, vascular.
12. Răspunsul contractil la angiotensina 2 a fost amplificat în prezența L-NAME, inhibitorul sintetazei endoteliale a oxidului nitric, iar incubarea cu metformin a atenuat acest efect, sugerând interferența cu cascada intracelulară de generare a NO ca mecanism de vasculoprotecție.
13. Angiotensina 2 a determinat stres oxidativ obiectivat prin creșterea generării de peroxid de hidrogen la nivelul arterelor mamare interne umane.

14. Metforminul a redus stresul oxidativ indus de A2 la nivelul inelelor de arteră mamară internă.
15. Metforminul a redus generarea de peroxid de hidrogen și la nivelul inelelor vasculare mator (nestimulate cu Ang2), demonstrând astfel că stresul oxidativ este prezent, asociat cu disfuncția endotelială, la nivelul arterelor mamare utilizate pentru revascularizare.
16. Efectele cardio- și vasculoprotectoare ale metforminului, de ameliorare a disfuncției endoteliale și de reducere a stresului oxidativ ventricular și arterial, atât pe modelul animal cât și la om, au fost realizate la o concentrație relevantă clinic, 10 μ M fiind valoarea minimă a ferestrei plasmatice terapeutice.
17. Metforminul a modulat expresia genică a sintetazelor oxidului nitric la nivelul inelelor de arteră mamară internă, inducând:
 - creșterea expresiei sintetazelor constitutive ale oxidului nitric, endotelială (eNOS) și neuronală (nNOS), scăzute de Ang2
 - scăderea expresiei sintetazei inductibile a oxidului nitric (iNOS), crescută de Ang
18. NV118, un compus de tip succinat permeabil celular de primă generație, a îmbunătățit funcția mitocondrială respiratorie a trombocitelor izolate de la pacienții cu patologie valvulară și coronariană supuși chirurgiei pe cord deschis.
19. Efectul de creștere semnificativă a tuturor parametrilor respiratori ai trombocitelor în prezența NV118 a fost observat, indiferent de momentul prelevării lor, pre- și post bypass cardiopulmonar cu durata de 1,5 ore.

Contribuțiile originale constau în evaluarea *în premieră* a:

- Interacțiunii metformin-monoamino oxidază la nivel cardiac pe un model animal relevant de obezitate și prediabet induse la șobolan, specie care prezintă o distribuție similară cu cea de la om a izoformelor MAO la nivelul sistemului cardiovascular.
- Interacțiunii metformin-sintetazele oxidului nitric în condițiile stresului oxidativ mediat de angiotensina 2 la nivel vascular, pe artere mamare interne prelevate de la pacienți coronarieni în cadrul procedurii de revascularizare.
- Efectelor succinatului permeabil la nivelul funcției mitocondriale respiratorii a trombocitelor periferice izolate de la pacienții cu indicație de chirurgie cardiacă pentru patologie valvulară și/sau coronariană, anterior și după instituirea bypass-ului cardiopulmonar.

Direcțiile viitoare de cercetare potențiale sunt următoarele:

- Investigarea căilor de semnalizare intracelulară prin care metforminul atenuează stresul oxidativ cardiac indus de MAO în contextul obezității.
- Investigarea mecanismelor/căilor de semnalizare care stau la baza interacțiunii metformin-sintetazele oxidului nitric.
- Investigarea capacității serului prelevat de la pacienți, pre- și post bypass cardiopulmonar, de a induce disfuncție mitocondrială la nivelul trombocitelor izolate de la voluntari sănătoși.
- Investigarea efectelor succinatului permeabil asupra disfuncției mitocondriale atriale la nivelul probelor prelevate de la pacienții supuși chirurgiei cardiace.